

VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

TESIS DOCTORAL

EFECTO DE LA QUINAGOLIDA EN LA PREVENCIÓN DEL SÍNDROME DE HIPERESTIMULACIÓN OVÁRICA TEMPRANO

CRISTIANO EDUARDO BUSSO

UNIVERSIDAD DE VALENCIA
FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA, OBSTETRICIA Y GINECOLOGÍA

VALENCIA, 2013

Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología
Universidad de Valencia

"EFECTO DE LA QUINAGOLIDA EN LA PREVENCIÓN DEL SÍNDROME
DE HIPERESTIMULACIÓN OVÁRICA TEMPRANO"

Autor

Cristiano Eduardo Busso

Director

José Bellver Pradas

Codirectores

José Remohí Giménez

Joan-Carles Arce

A mis padres Marcia Maria Pallotta Busso y Newton Eduardo Busso

AGRADECIMIENTOS

Al Profesor Antonio Pellicer, jefe, profesor, compañero y amigo.

Al Profesor José Remohí, por haber proporcionado la experiencia de aprender y convivir con el equipo del IVI – Valencia.

A Pepe Bellver, gran científico y gran amigo.

A mis padres Newton e Marcia, por ser los mayores incentivadores (y patrocinadores) de mis conquistas.

A mi esposa Jessica Torres, por estar a mi lado, apoyándome durante toda esta jornada y por el trabajo con las figuras y tablas de esta tesis.

A Pilar Alamá, por la amistad y el apoyo durante la elaboración de este trabajo.

A los directores de las Clínicas IVI que participaron en el estudio: Agustín Ballesteros (Barcelona), Sandra González (Bilbao), Juan Antonio García-Velasco (Madrid), José Landeras (Murcia), Manuel Fernández (Sevilla) y Elkin Muñoz (Vigo).

A Ferring Pharmaceuticals en el nombre de Joan-Carles Arce por el apoyo y soporte.

A los ginecólogos del IVI – Valencia Juana Crespo, Javier Domingo, Juan Giles, Elena Labarta, Ernesto Bosch, Carmina Vidal, Jaime Ferro, Sergio Reis, Erdal Budak, Marco Melo que colaboraron en este estudio y me enseñaron medicina reproductiva.

A los equipos de laboratorio y de enfermería del IVI – Valencia.

A las parejas infértiles que participaron de este estudio de manera desinteresada, espero que este trabajo pueda contribuir para que su búsqueda sea más amena y más segura.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	10
1.1 HISTORIA	10
1.2 SÍNDROME DE HIPERESTIMULACIÓN OVÁRICA	15
1.2.1 Definición, prevalencia clínica y factores de riesgo	15
1.2.2 Fisiopatología: Papel del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)	18
1.2.3 Estrategias para la prevención del SHO	29
1.2.4 Agonistas de la dopamina	37
2. HIPÓTESIS	41
3. OBJETIVOS DEL ESTUDIO	42
3.1 OBJETIVO PRINCIPAL	42
3.2 OBJETIVOS SECUNDARIOS	42
4. MATERIAL Y MÉTODOS	44
4.1 DISEÑO	44
4.2. LOCALIZACIÓN Y POBLACIÓN DEL ESTUDIO	44
4.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN	45
4.3.1 Criterios de inclusión	45
4.3.2 Criterios de exclusión	47
4.4 PROCEDIMIENTO	48
4.5 VISITAS DEL ESTUDIO	51
4.5.1 Procedimientos realizados durante el periodo de evaluación	52
4.6 TRATAMIENTOS ADMINISTRADOS	53
4.7 CLASIFICACIÓN DEL SHO PRECOZ UTILIZADA	54
4.8 FINANCIACIÓN	54

5. RESULTADOS	55
5.1 DIAGRAMA DE FLUJO DE LAS PACIENTES BAJO ESTUDIO	56
5.2 VARIABLES DEMOGRÁFICAS	57
5.3 CARACTERÍSTICAS DEL CICLO DE ESTIMULACIÓN	58
5.4 NIVELES DE PROLACTINA	58
5.5 INCIDENCIA DE SHO _p MODERADO Y/O SEVERO	59
5.6 RESULTADOS CLÍNICOS Y RELACIÓN CON EL SHO	61
5.7 ACONTECIMIENTOS ADVERSOS	65
5.8 SEGUIMIENTO DE LAS PACIENTES	67
6. DISCUSIÓN	69
7. CONCLUSIONES	73
8. BIBLIOGRAFÍA	74

ABREVIATURAS

- ARNm** - Ácido ribonucleico mensajero
- βHCG** - Fracción beta de la gonadotropina coriónica humana
- CB₂** - Cabergolina
- Dp-r2** - Receptor 2 de la dopamina
- E₂** - Estradiol
- FIV** - Fertilización *in vitro* (FIV)
- FSH** - Hormona folículoestimulante
- FSH_R** - Hormona folículoestimulante recombinante
- FSH_U** - Hormona folículoestimulante urinaria
- FVEGF** - Factor de crecimiento vascular endotelial libre
- GnRH_A** - Análogos agonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas
- GnRH_{ANT}** - Análogos antagonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas
- HCG** - Gonadotropina coriónica humana
- HMG** - Gonadotropina menopáusica humana (HMG)
- HOC** - Hiperestimulación ovárica controlada
- ICSI** - Inyección intracitoplásmica de espermatozoides
- IL** - Interleuquinas
- IMC** - Índice de masa corporal
- ITT** - *Intention to treat*
- IVI** - Instituto Valenciano de Infertilidad
- LH** - Hormona luteinizante (LH)
- PMSG** - Suero de hembras gestantes
- PV** - Permeabilidad vascular
- RT-PCR** - Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real
- SHO** - Síndrome de Hiperestimulación Ovárica
- SHO_p** - Síndrome de Hiperestimulación Ovárica precoz
- SHO_T** - Síndrome de Hiperestimulación Ovárica tardío
- SOP** - Síndrome del Ovario Poliquístico (SOP)
- TRA** - Técnicas de reproducción asistida
- UI** - Unidades internacionales
- VEGF** - Factor de crecimiento vascular endotelial
- VEGFR-1** - Receptor 1 del factor de crecimiento vascular endotelial
- VEGFR-2** - Receptor 2 del factor de crecimiento vascular endotelial
- sVEGFR-1** - Forma soluble del receptor 1 del factor de crecimiento vascular endotelial
- VEGFA** - Factor de crecimiento vascular endotelial total

TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1 - Clasificaciones del SHO (1967 - 1999) (Aboulghar y Mansour, 2003)

Tabla 2 - Distribución de las pacientes

Tabla 3 - Variables demográficas

Tabla 4 - Etiología de la infertilidad

Tabla 5 - Características del ciclo

Tabla 6 - Visión general de los resultados

Tabla 7 - Transferencia embrionaria

Tabla 8 - Señales del SHO

Tabla 9 - Frecuencia de acontecimientos adversos

Tabla 10 - Edad gestacional, sexo, peso y tamaño

Figura 1 - Permeabilidad vascular durante el transcurso del tiempo

Figura 2 - Concentración de colorante en el líquido ascítico de las ratas hiperestimuladas

Figura 3 - Evolución del VEGF total, el VEGF libre y su receptor soluble

Figura 4 - Permeabilidad vascular y densidad luteal vascular en los grupos control, prolactina y CB₂

Figura 5 - Visitas del estudio

Figura 6 - Flujo de pacientes

Figura 7 - Niveles de prolactina

Figura 8 - Frecuencia de SHO moderado/severo precoz y frecuencia de evidencia ecográfica de ascitis

Figura 9 - Acumulación de líquido peritoneal en pacientes con y sin embarazo clínico

Figura 10 - Acontecimientos adversos

[1] INTRODUCCIÓN

1.1 HISTORIA

El desarrollo de las gonadotropinas y su utilización en la estimulación ovárica fue uno de los más importantes avances en el tratamiento de la infertilidad en el siglo pasado. Desde la década de 1930 se utilizaron las gonadotropinas, entonces extraídas de orina de animales. El uso de gonadotropinas extraídas del suero de equinos fue complejo debido a la formación de anticuerpos contra la gonadotropina heteróloga (Schenken and Weinstein, 1978). Además, fueron descritas complicaciones relacionadas con la hiperrespuesta de los ovarios a estos medicamentos, incluyendo dos muertes (Figueiroa-Casas, 1958; Schenker and Weinstein, 1978).

En la década de 1950 se pasó a la utilización de gonadotropinas humanas, extraídas de hipófisis de cadáveres o de orina de mujeres menopáusicas, esta última con la ventaja de presentar una mayor disponibilidad y concentración. En la misma década se informó del primer embarazo tras inducción de la ovulación con hormona folículoestimulante (FSH) extraída de pituitaria de cadáver (Gemzel *et al.*, 1958). En 1963 Gemzel y colaboradores publicaron 4 casos de hiperestimulación ovárica en 22 ciclos de estimulación con FSH (Gemzel *et al.*, 1963). Después de la descripción de la transmisión de la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob tras la utilización de hormona del crecimiento extraída de pituitaria humana, el uso de este modo de obtención quedó abolido. En 1974 se logró la extracción urinaria de gonadotropina menopáusica humana (HMG) y en 1962 y 1963 Bruno Lunenfeld tuvo éxito utilizando la HMG en la inducción de la ovulación en mujeres con hipogonadismo hipogonadotropo (Lunenfeld, 1962; Lunenfeld, 1963). Al final de la década de 1960 aumentó la atención sobre la hiperestimulación ocasionada por el

uso de estos compuestos y fueron publicados estudios que intentaron relacionar las dosis utilizadas y la incidencia de complicaciones (Rabau *et al.*, 1967; Schenker and Weinstein, 1978).

A finales de la década de 1970 nació Louise Brown, el primer recién nacido por fertilización *in vitro* (FIV). Aunque Louise Brown fue generada de un ovocito obtenido en ciclo espontáneo, en la década siguiente el interés por la inducción de la ovulación para ciclos de FIV aumentaría, así como las complicaciones derivadas de estas terapias.

En la década de 1980 se dispuso del uso de FSH urinaria o urofolitropina. Se sugirió entonces que la ausencia de efecto de la hormona luteinizante (LH), presente en la HMG y ausente en la FSH, traería beneficios, especialmente en la estimulación de pacientes con síndrome del ovario poliquístico (SOP), aumentando las tasas de embarazo y disminuyendo la posibilidad de hiperestimulación (Raj *et al.*, 1977). La disponibilidad de gonadotropinas modernas y la utilización de los análogos agonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas ($GnRH_{\alpha}$) para la supresión hipofisaria inhibiendo el pico endógeno de LH permitieron la elaboración de protocolos más agresivos para la inducción de la ovulación, que pasaron a incluirse en el término de hiperestimulación ovárica controlada (HOC). Con estos tratamientos fue posible aumentar el número de ovocitos madurados en un único ciclo, aumentando así el número de embriones, lo que proporcionó posibilidades mucho mejores de embarazo. En esta misma década, se describieron altas tasas de lo que se denominó Síndrome de Hiperestimulación Ovárica (SHO), tanto con HMG como con FSH (Check *et al.*, 1985; Garcea *et al.*, 1985; Buvat and Buvat-Herbaut, 1985; Buvat *et al.*, 1989).

En los años 90 surgió la urofolitropina altamente purificada, con baja contaminación

proteica lo que disminuía las reacciones adversas y la hipersensibilidad local, y en esta misma década se desarrollaron las gonadotropinas recombinantes, con moléculas idénticas a las naturales pero con la ventaja de tener menor variabilidad en su actividad y mayor pureza biológica, permitiendo así su administración por vía subcutánea. A pesar de estas ventajas las nuevas formas de gonadotropinas no disminuyeron las tasas de complicaciones, en especial de SHO (Daya, 2002).

En la década de 1990 se inició también la utilización de una nueva clase de análogos de la GnRH: los antagonistas de la GnRH ($GnRH_{ANT}$). Estos compuestos logran una supresión inmediata de la función hipofisaria, permitiendo mayor comodidad en los tratamientos al reducir su duración. Los primeros estudios con los $GnRH_{ANT}$ no mostraron diferencias en la incidencia de SHO, pero estudios más recientes muestran que el uso de protocolos con $GnRH_{ANT}$ son más seguros al reducir el riesgo de SHO (Al Inany *et al.*, 2007).

Los nuevos compuestos utilizados en la estimulación ovárica, la utilización de ecografía para la monitorización del ciclo y la recuperación de ovocitos, la modernización de los laboratorios de manipulación de gametos y el cultivo embrionario, han aumentado significativamente las tasas de éxito de las técnicas de reproducción asistida (TRA).

Estos avances han generado también efectos no deseados como el embarazo múltiple y el SHO, que también aumentaron significativamente en las últimas dos décadas.

El grupo de Rabau (1967) fue el primero en proponer una clasificación para lo que se llamó SHO, entonces basada en hallazgos clínicos y de laboratorio. En 1978 Schenker y Weinstein reorganizaron la clasificación de Rabau y colaboradores en 3

categorías y 6 grados, de acuerdo con la severidad de los síntomas y los hallazgos de laboratorio (Tabla 1).

Golan y colaboradores (1989) propusieron una nueva clasificación, incorporando una importante característica: la evidencia ecográfica de ascitis (Tabla1). La clasificación de Golan es una de las más utilizadas hasta los días actuales, aunque Navot y colaboradores (1992) sugirieron separar la forma severa de SHO de la forma crítica.

En 1999 Rizk y Aboulghar clasificaron el SHO en 2 categorías, moderada y severa en un intento de correlacionar la clasificación de los grupos con el pronóstico del síndrome, de manera que se pudiera proponer un tratamiento de acuerdo con el grupo en el que se encontrara la paciente (Tabla1).

Tabla 1 Clasificaciones del SHO (1967 - 1999) (Aboulghar y Mansour, 2003)

Estudio	Leve	Moderado	Severo		
Rabau et al., 1967	Grado 1: Estrogenio > 150µg/24hs y pregnanediol > 10mg/24hs Grado 2: Grado 1 + ovarios aumentados y quistes palpables	Grado 3: Grado 2 + quistes palpables y distensión abdominal Grado 4: Grado 3 + vómitos y diarrea	Grado 5: Grado 4 + ascitis y posibilidad de hidrotórax	Grado 6: Grado 5 + alteraciones del volumen sanguíneo, viscosidad y tiempo de coagulación	
Schenker y Weinstein, 1978	Grado 1: Estrogenio > 150µg/24hs y pregnanediol > 10mg/24hs Grado 2: Grado 1 + ovarios aumentados y pequeños quistes	Grado 3: Grado 2 + distensión abdominal Grado 4: Grado 3 + vómitos y diarrea	Grado 5: Grado 4 + quistes ovarianos voluminosos, ascitis y/o hidrotórax	Grado 6: hemoconcentración importante + aumento de la viscosidad sanguínea y alteraciones de la coagulación	
Golan et al., 1989	Grado 1: Distensión y molestias abdominales Grado 2: Grado 1 + náusea, vómitos y/o diarrea, ovarios aumentados (5-12cm)	Grado 3: Grado 2 + evidencia ecográfica de ascitis	Grado 4: Grado 3 + evidencia clínica de ascitis y/o hidrotórax y disnea	Grado 5: Grado 4 + hemoconcentración, aumento de la viscosidad sanguínea, alteraciones de la coagulación y disminución de la perfusión renal	
Navot et al., 1992			SHO severo: Ovarios aumentados; ascitis masiva com o sin hidrotórax; HTC > 45%; RCB > 15.000; oliguria; creatinina 1,0-1,5; clearance de creatinina > 50ml/min; alteraciones hepáticas; anasarca	SHO crítico: Ovarios aumentados; ascitis tensa com o sin hidrotórax; HTC > 55%; RCB > 25,000; oliguria; creatinina >1,6; clearance de creatinina < 50 ml/min; insuficiencia renal; fenomenos tromboembólicos; síndrome del distrés respiratório	
Rizk y Aboulghar, 1999		Molestias, dolor, distensión, evidencia ecográfica de ascitis y ovarios aumentados, parámetros bioquímicos y biológicos normales	Grado A: dispnea, oliguria, vómitos, diarrea, dolor abdominal, evidencia clínica de ascitis, distensión abdominal importante o hidrotórax, ecografía mostrando ovarios aumentados y ascitis importante, perfil bioquímico normal	Grado B: Grado A + Ascitis masiva tensa, ovarios aumentados, dispnea severa, oliguria, HTC aumentado, creatinina elevada y alteraciones hepáticas	Grado C: Complicaciones como el síndrome del distrés respiratorio, insuficiencia renal o trombosis venosa

HTC: Hematocrito
RCB: Recuento de células blancas

1.2 SÍNDROME DE HIPERESTIMULACIÓN OVÁRICA

1.2.1 DEFINICIÓN, PREVALENCIA CLÍNICA Y FACTORES DE RIESGO

La HOC con gonadotropinas en técnicas de reproducción asistida (TRA) induce al desarrollo de múltiples folículos con el objetivo de obtener un gran número de ovocitos y finalmente una cantidad máxima de embriones en un único ciclo de estimulación. En un grupo de pacientes, la respuesta a la estimulación con gonadotropinas puede ser exagerada, llevando a complicación conocida como SHO.

El SHO es la complicación iatrogénica más frecuente de la HOC y puede, en algunos casos, ser fatal (Whelan y Vlahos, 2000). El diagnóstico del SHO se basa en la presencia de un espectro de signos clínicos y cambios bioquímicos (Bergh y Navot, 1992; Whelan y Vlahos, 2000). En casos leves se observa un aumento de los ovarios asociado a distensión/molestias abdominales, náuseas, vómitos y diarrea. Además de estos síntomas, en los casos moderados se asocia la evidencia ecográfica de líquido ascítico. En los casos graves, el SHO puede conllevar a evidencia clínica de líquido ascítico, hidrotórax, dificultades en la respiración, función renal disminuida y características bioquímicas de hemoconcentración, hipercoagulabilidad y alteraciones electrolíticas tales como hiponatremia e hipercalcemia (Tabla 1).

Se estima que el SHO ocurre en hasta un 20% de los ciclos de HOC, aunque los valores varían ampliamente en la bibliografía (Smitz *et al.*, 1990; Forman *et al.*, 1990; Abramov *et al.*, 1999). Un estudio prospectivo sugirió que la incidencia de SHO en una población no seleccionada durante HOC es de aproximadamente el 12%, siendo la incidencia de los casos graves de aproximadamente el 4% (Enskog *et al.*, 1999). La incidencia de SHO es muy superior en pacientes con factores de

riesgo tales como múltiples folículos en desarrollo o niveles de estradiol (E_2) altos durante la HOC, SOP, edad mayor de 35 años, índice de masa corporal (IMC) bajo y ciclos en los que se utilizan GnRH_A en un protocolo largo (Whelan y Vlahos, 2000; Tinkanen *et al.*, 1999), como a continuación se desarrollará.

Además de las consecuencias clínicas, hay una carga económica significativa asociada con el SHO debido al absentismo laboral y a las necesidades de hospitalización y manejo intensivo de los casos graves.

Existen dos patrones claramente distintos de aparición del síndrome: el SHO precoz (SHO_p) que se presenta hasta 9 días tras la administración de la HCG y el SHO tardío (SHO_t) que se presenta a partir del día 10 tras la administración de la HCG (Lyons *et al.*, 1994; Mathur *et al.*, 2000). Posiblemente existen dos mecanismos distintos en la inducción del SHO, aunque ambos mediados por la HCG: el SHO_p es un efecto agudo de la administración de la HCG exógena al final de la estimulación ovárica, está directamente relacionado con la magnitud de la respuesta ovárica obtenida y puede ocurrir en pacientes que no logran quedarse embarazadas. Sin embargo, el SHO_t es inducido por HCG endógena producida por el trofoblasto del embarazo inicial, por lo que solamente aparece si hay gestación.

Los factores de riesgo para el SHO se describen a continuación:

Edad: Las mujeres jóvenes tienen más receptores de gonadotropinas, un mayor número de folículos antrales (Whelan y Vlahos, 2000; Navot *et al.*, 1992) y están más predispuestas a desarrollar SHO. Las pacientes mayores de 35 años de edad desarrollan el SHO más raramente, posiblemente debido a una menor reserva ovárica (Hughes *et al.*, 1990). En cambio, el punto de corte de edad a partir del cual el riesgo de SHO aumenta claramente no ha sido determinado (van Dop, 2006).

Índice de masa corporal (IMC): El IMC puede ser un factor de riesgo para el desarrollo de SHO. Algunos autores han descrito que un IMC bajo puede aumentar el riesgo de SHO (Navot *et al.*, 1992), posiblemente por las mayores concentraciones de gonadotropinas alcanzadas a nivel ovárico ante una determinada dosis empleada para la HOC. Sin embargo, otros estudios no han conseguido reproducir esta asociación o encontrar alguna correlación entre el peso corporal y la incidencia de SHO (Delvigne *et al.*, 1993, Lewis *et al.*, 1990, Enskog *et al.*, 1999).

El SOP: En pacientes con SOP, la respuesta ovárica a la estimulación con gonadotropinas es poco predecible. Estas pacientes tienen un mayor número de folículos antrales y diversas alteraciones endocrinas que pueden afectar a la respuesta a la FSH y aumentar los niveles de la LH y E_2 (Kelestimur y Sahin, 1999). Los niveles de insulina también están elevados en un grupo importante de pacientes con SOP (Chang *et al.*, 1983). Los receptores de las células de la granulosa tienen una alta afinidad por la insulina que potencializa la actividad de la aromatasa en estas células, aumentando la relación estradiol/androstenediona (Fulghetsu *et al.*, 1997). Altos niveles de insulina alteran la respuesta de los ovários a la FSH y aumentan la producción de folículos antrales. Pacientes con SOP producen 3 veces más folículos que las pacientes normoovuladoras (Dor, 1990, Buyalos y Lee, 1996) y tienen una expresión aumentada del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) (Kamat, 1995). Cuando el SOP está presente, la *odds ratio* para la ocurrencia de SHO es de 6,8 (Tummon, 2005). El SOP se considera en muchos estudios el factor de riesgo más importante para el SHO (Amso *et al.*, 1990; Smitz, 1990; Asch *et al.*, 1991; Rizk y Smitz, 1992; Delvigne *et al.*, 1993; Todorow *et al.*, 1993).

Niveles de E_2 : El papel del E_2 en la fisiopatología del SHO es aún desconocido. Parece haber consenso en que los altos niveles de E_2 alcanzados durante la HOC

son un factor de riesgo importante para el desarrollo del síndrome (Haning *et al.*, 1983, Navot *et al.*, 1982). Asch y colaboradores (1991) estudiaron 637 ciclos de FIV dividiéndolos en 3 grupos, en función del E_2 alcanzado el día de la administración de la HCG: $E_2 < 3500$ pg/ml; E_2 entre 3500 pg/ml y 5999 pg/ml; $E_2 > 6000$ pg/ml. Encontraron una incidencia de SHO de 0%, 1,5% y 38%, respectivamente, con una sensibilidad del 83% y una especificidad del 99% para este marcador.

Número de folículos y número de ovocitos recuperados: Las pacientes con un elevado número de folículos antrales, folículos preovulatorios y/o un elevado número de ovocitos recuperados se consideran de alto riesgo para el SHO. Algunos autores han relacionado no sólo el número de folículos preovulatorios, sino también que su tamaño como factor importante en la predicción del SHO. En un estudio, en las pacientes que desarrollaron SHO leve el 69% de los folículos medía entre 9 y 15 mm, y en las que desarrollaron SHO moderado/grave el 95% de los folículos medía más de 16mm (Blankstein *et al.*, 1987). En el estudio de Asch y colaboradores (1991), cuando los ciclos fueron divididos por número de ovocitos recuperados, los resultados fueron: ningún caso de SHO cuando se recuperaron menos de 20 ovocitos; un 1,4% de SHO en el grupo en que se recuperaron entre 20 y 29 ovocitos; y un 22,7% cuando se recuperaron 30 o más ovocitos.

1.2.2 FISIOPATOLOGÍA: PAPEL DEL FACTOR DE CRECIMIENTO ENDOTELIAL VASCULAR (VEGF)

La fisiopatología del SHO está directamente relacionada con la alteración de permeabilidad vascular (PV). Los ovarios hiperestimulados contienen una gran masa de células de la granulosa, que activadas por la HCG (exógena o endógena) producen sustancias vasoactivas, incrementando la PV y así permitiendo la extravasación de líquido del espacio intravascular hacia el tercer espacio. Esto

provoca ascitis, derrame pleural e hidrotórax, derrame pericárdico y anasarca, además de las consecuencias de la disminución del volumen intravascular: riesgo de trombosis, fallo renal y otras complicaciones. Por lo tanto, la gravedad del síndrome es determinada por el aumento de la PV.

Muchas sustancias relacionadas con la regulación de la PV han estado implicadas en el origen del SHO (Rizk y Aboulghar, 1991). Algunas de ellas todavía están siendo estudiadas. La lista de posibles mediadores incluye el E_2 (Schenker y Weinstein, 1978), los antihistamínicos (Knox, 1974), las prostaglandinas (Navot *et al.*, 1992), el sistema renina-angiotensina ovárico (Navot *et al.*, 1987), las interleuquinas (IL) IL-6, IL-2, e IL-8 (Loret de Mola *et al.*, 1996), la angiogenina (Aboulghar *et al.*, 1998), la endotelina-1 (Magini *et al.*, 1996), la insulina (Fulghetsu *et al.*, 1997), y el sistema cinina-caliceína ovárico (Ujioka *et al.*, 1998), entre otros (Rizk *et al.*, 1992).

Rizk y colaboradores (1997) señalaron la importancia del VEGF como uno de los principales factores angiogénicos responsables, debido al aumento de la PV que lleva a la extravasación de líquido rico en proteínas y, posteriormente, a la aparición del SHO. Las propiedades vasoactivas del VEGF y el incremento de expresión por parte del ovario durante el desarrollo del SHO sugieren que esta sustancia tiene un papel importante en la fisiopatología de este síndrome.

El VEGF fue descrito originalmente como una proteína secretada por tumores, que causaba pérdidas vasculares substanciales (Senger *et al.*, 1983). Se trata de una proteína señalizadora que estimula la vasculogénesis y la angiogénesis y es producida por muchos tipos de células (Senger *et al.*, 1993), incluyendo una variedad de tumores, células folículo-steladas, macrófagos, posiblemente podocitos, células capsulares epiteliales de los glomérulos renales y células de la granulosa (Yan *et al.*, 1993), entre otras. El VEGF tiene un potente efecto sobre la permeabilidad

endotelial, siendo 50.000 veces más potente que la histamina (Senger *et al.*, 1990). El VEGF aumenta la pérdida capilar y venular a través de la apertura de las uniones intercelulares, así como por la génesis de otras modificaciones morfológicas que se pueden producir 10 minutos después de la aplicación tópica, tales como la inducción de fenestras en el endotelio venular y capilar, que normalmente no es fenestrado (Roberts y Palade, 1995).

El gen humano del VEGF ha sido mapeado en el cromosoma 6p12 (Wei *et al.*, 1996) y se compone de ocho exones (Rizk, 2006). Los exones 1 al 5 y 8 están siempre presentes en el ácido ribonucleico mensajero (ARNm) del VEGF, mientras que la expresión de los exones 6 y 7 se hace por *splicing* alternativo. Este proceso permite la formación de diferentes isoformas de VEGF que difieren en longitud, aunque todos los subproductos del VEGF tienen un área común. En los humanos, se han identificado cinco diferentes ARNm para el VEGF que codifican las isoformas VEGF121, VEGF145, VEGF165, VEGF189 y VEGF206 (Neufeld *et al.*, 1999). Las isoformas VEGF121 y VEGF165 parecen estar involucradas en el proceso de angiogénesis (Watkins *et al.*, 1999) y, de hecho, son las únicas que el ovario es capaz de secretar (Olson *et al.*, 1994; Gómez *et al.*, 2002).

El gen del VEGF muestra la misma estructura exónica en roedores y en seres humanos (Shima *et al.*, 1996). Las isoformas expresadas en murinos (VEGF120, VEGF144, VEGF164, VEGF188 y VEGF205) presentan apenas un aminoácido menos en comparación con las isoformas expresadas por humanos y hay una homología proteica del 95% entre ellos (Burchardt *et al.*, 1999). Así como ocurre en seres humanos (Neulen *et al.*, 1995; Gordon *et al.*, 1996; Otani *et al.*, 1999; Yamamoto *et al.*, 1997), los estudios de hibridación en ovarios de ratas han demostrado una expresión significativa de ARNm del VEGF sobre todo después del pico de LH (Phillips *et al.*, 1990).

Los receptores del VEGF están presentes en la superficie de las células endoteliales y pertenecen a la familia de receptores tirosina quinasa (de Vries *et al.*, 1992). También están presentes en el interior de la teca de folículos humanos (Yan *et al.*, 1993). Han sido identificados dos receptores específicos de membrana de la célula endotelial del VEGF: el receptor 1 (VEGFR-1 o Flt-1) y el receptor 2 (VEGFR-2 o Flk1/KDR) (de Vries *et al.*, 1992; Waltenberger *et al.*, 1994). El VEGFR-2 parece estar involucrado principalmente en la regulación de la PV, angiogénesis y vasculogénesis (Shalaby *et al.*, 1995; Verheul *et al.*, 2000). El VEGFR-1 se produce también en la forma de receptores solubles (sVEGFR-1) por *splicing* alternativo del ARNm precursor (Kendall *et al.*, 1996), actuando como un modulador de la actividad biológica del VEGF (Hornig *et al.*, 1999). De hecho, las moléculas solubles compiten con el VEGFR-1 por la unión con el VEGF inhibiendo la PV (Kendall y Thomas, 1993). Estudiar el receptor VEGFR-2 ha sido un objetivo de los investigadores que trabajan en oncología ginecológica. Se han utilizado diferentes bloqueadores específicos del VEGFR-2 en modelos animales para reducir el crecimiento tumoral y la ascitis (Xu *et al.*, 2000; Yukita *et al.*, 2000). Aunque el mecanismo de formación de ascitis puede ser diferente en los tumores y en el SHO (Yukita *et al.*, 2000), inicialmente no se había intentado revertir la formación de ascitis en el SHO interfiriendo en el sistema del VEGF.

Hay varios hallazgos que apoyan el papel del VEGF en el desarrollo del SHO en los seres humanos. Las mujeres con alta respuesta a la estimulación ovárica y en riesgo para el SHO presentan niveles de VEGF aumentados tras la administración de la gonadotrofina coriónica humana (HCG) (Pellicer *et al.*, 1999). De hecho, se han utilizado los niveles séricos de VEGF como marcadores para el desarrollo posterior de SHO (Agrawal *et al.*, 1999). Por otra parte, los niveles de VEGF en plasma se correlacionan con el cuadro clínico del SHO (Abramov *et al.*, 1997) y los cambios de los niveles de VEGF en la ascitis se han relacionado con la evolución clínica del

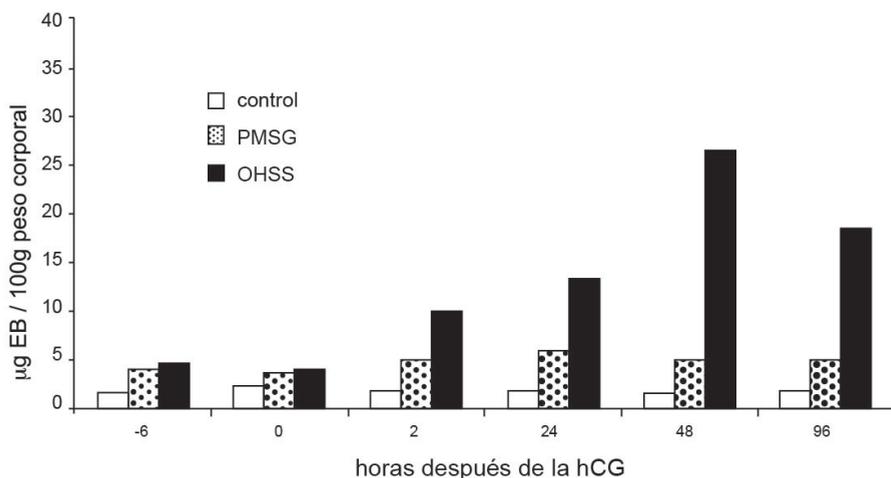
SHO (Chen *et al.*, 1999).

En las mujeres que desarrollan SHO, el VEGF está sobre-expresado. Es producido por las células de la granulosa (Neulen *et al.*, 1995; Gordon *et al.*, 1996; Otani *et al.*, 1999; Yamamoto *et al.*, 1997) y liberado en el líquido folicular (Neulen *et al.*, 1995; Wang *et al.*, 2002) en respuesta a la HCG (Burchardt *et al.*, 1999), induciendo un aumento de la permeabilidad de los capilares (Neulen *et al.*, 1995; Albert *et al.*, 2002). La HCG induce a la expresión de VEGF en cultivos celulares de la granulosa de mujeres que desarrollan SHO (Wang *et al.*, 2002). Del mismo modo, se ha demostrado que la HCG estimula la liberación del VEGF en las células endoteliales humanas que, a su vez, actúa de manera autocrina aumentando la PV (Albert *et al.*, 2002). Así, tanto la granulosa como las células endoteliales pueden estar involucradas en la producción y liberación del VEGF en las mujeres que desarrollan SHO, aunque también se ha propuesto el concepto de que las células de la granulosa se comportan como las células endoteliales (Antczak y Van Blerkom, 2000).

En un intento por establecer el papel del VEGF en el SHO, se ha desarrollado un modelo *in vivo* de roedores que permite inducir el SHO de manera consistente, incluidas las dos características principales: el aumento del tamaño de los ovarios y el aumento de la PV, lo que lleva a la formación de ascitis. En ratas inmaduras, el eje hipotálamo hipófisis está inactivo y, por tanto, el desarrollo folicular es casi inactivo, ya que estos animales carecen de producción endógena de gonadotropinas. En estos animales se puede inducir el desarrollo folicular por la administración exógena de hormonas. En un experimento (Gómez *et al.*, 2002), el desarrollo folicular fue inducido con 10 unidades internacionales (UI) de suero de hembras gestantes (PMSG) (es el equivalente a la gonadotropina menopáusica humana - HMG) durante cuatro días consecutivos. En el quinto día, a estos animales les fueron inyectados

30 UI de HCG para desencadenar la ovulación. De acuerdo con estudios previos de Ujioka (1998), las manifestaciones del SHO en ratones incluyen ascitis, aumento de los ovarios y de la PV. La cuantificación de la PV en el modelo animal puede ser evaluada objetivamente con la medición de la extravasación de un medio de contraste inyectado previamente. Se utilizó la inyección del colorante azul de Evans en la vena femoral y se cuantificó la cantidad de colorante recuperado después de irrigar la cavidad abdominal con un volumen fijo de solución salina 30 minutos más tarde. Los resultados de estos experimentos validaron el modelo animal empleado porque se observó un aumento de los valores de PV durante el transcurso del tiempo en animales estimulados con PMSG cuando se administró HCG para desencadenar la ovulación. No se observó la ocurrencia de SHO en animales que recibieron PMSG sin administración de HCG. La PV máxima fue observada 48 horas después de la administración de HCG (Figura 1).

Figura 1: Permeabilidad vascular durante el transcurso del tiempo tras la administración de HCG en ratas no estimuladas (control), estimuladas sin recibir HCG (PMSG) y que recibieron HCG (OHSS).



Además de los experimentos de PV, se midió la expresión de ARNm del VEGF en el mesenterio y ovarios empleando la técnica de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR) para determinar la fuente de producción del VEGF. Los resultados de estos experimentos mostraron una estrecha correlación entre la PV y la expresión de ARNm del VEGF por parte del ovario, las cuales se incrementaron durante el transcurso del tiempo, alcanzando valores máximos después de 48 horas. En cambio, en mesenterio no se observó ningún cambio significativo en la expresión del ARNm. A fin de demostrar el origen ovárico de VEGF, la PV no se alteró cuando las ratas ovariectomizadas fueron tratadas con PMSG + HCG (Gómez *et al.*, 2002).

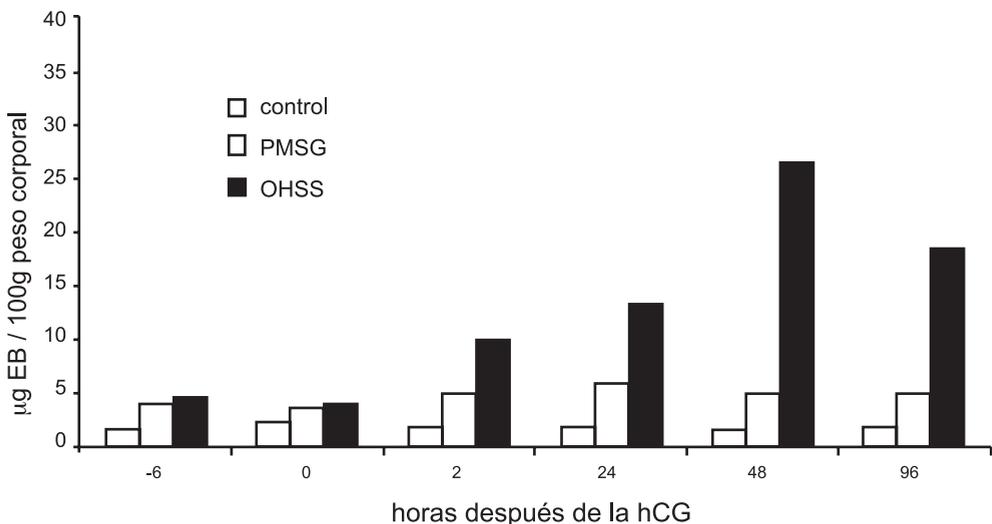
Además, se ha analizado cuál de las isoformas del VEGF se expresa por los ovarios de los animales hiperestimulados. El ovario expresó las isoformas VEGF120 y VEGF164. Hubo también un aumento de la expresión del VEGFR-2 en los ovarios, coincidiendo en el tiempo con la PV máxima (Kobayashi *et al.*, 1998), lo que demuestra la participación del sistema VEGF-VEGFR-2 en la fisiopatología del SHO. La inmunohistoquímica mostró la presencia del VEGF en la granulosa los folículos preovulatorios y en atresia y en la granulosa y las células endoteliales del cuerpo lúteo (Gómez *et al.*, 2002; Gómez *et al.*, 2003).

En resumen, estos experimentos mostraron que el sistema VEGF (VEGF y VEGFR-2) está intensificado en los ovarios de los animales hiperestimulados, coincidiendo en el tiempo con la PV máxima, sugiriendo claramente un papel crucial para el VEGF producido por los ovarios en el desencadenamiento del SHO.

Una vez establecida la importancia del VEGF y su reacción con la PV, han sido diseñados experimentos para estudiar la utilización del SU5416, un compuesto inhibidor del VEGFR-2, como una nueva estrategia para prevenir y tratar el SHO, en

un intento de evitar el aumento de PV. Como se trataba de un concepto totalmente nuevo, que había sido diseñado principalmente para ser empleado con una finalidad antiangiogénica en pacientes con cáncer, se utilizaron diferentes protocolos de SU5416 para bloquear la PV en los modelos animales de SHO. Se demostró que la administración de una sola dosis del SU5416 después de la HCG puede ser tan eficaz como inyecciones múltiples (Gómez *et al.*, 2002) (Figura 2). Las razones para este comportamiento se pueden encontrar en el hecho de que el síndrome se desarrolla sólo durante la formación del cuerpo lúteo, una vez que el proceso de la ovulación es desencadenado.

Figura 2: Concentración de colorante en el líquido ascítico de las ratas hiperestimuladas. La concentración de colorante se relaciona con la PV. La PV fue significativamente inhibida con el SU5416 en el grupo que recibió una dosis del fármaco el día de la HCG y 24 horas después (Grupo 3) y en el grupo que recibió el fármaco a cada 48 horas (Grupo 2). El grupo que recibió SU 5416 a cada 24 horas (Grupo 1) tuvo reducción en la PV pero sin significancia estadística.



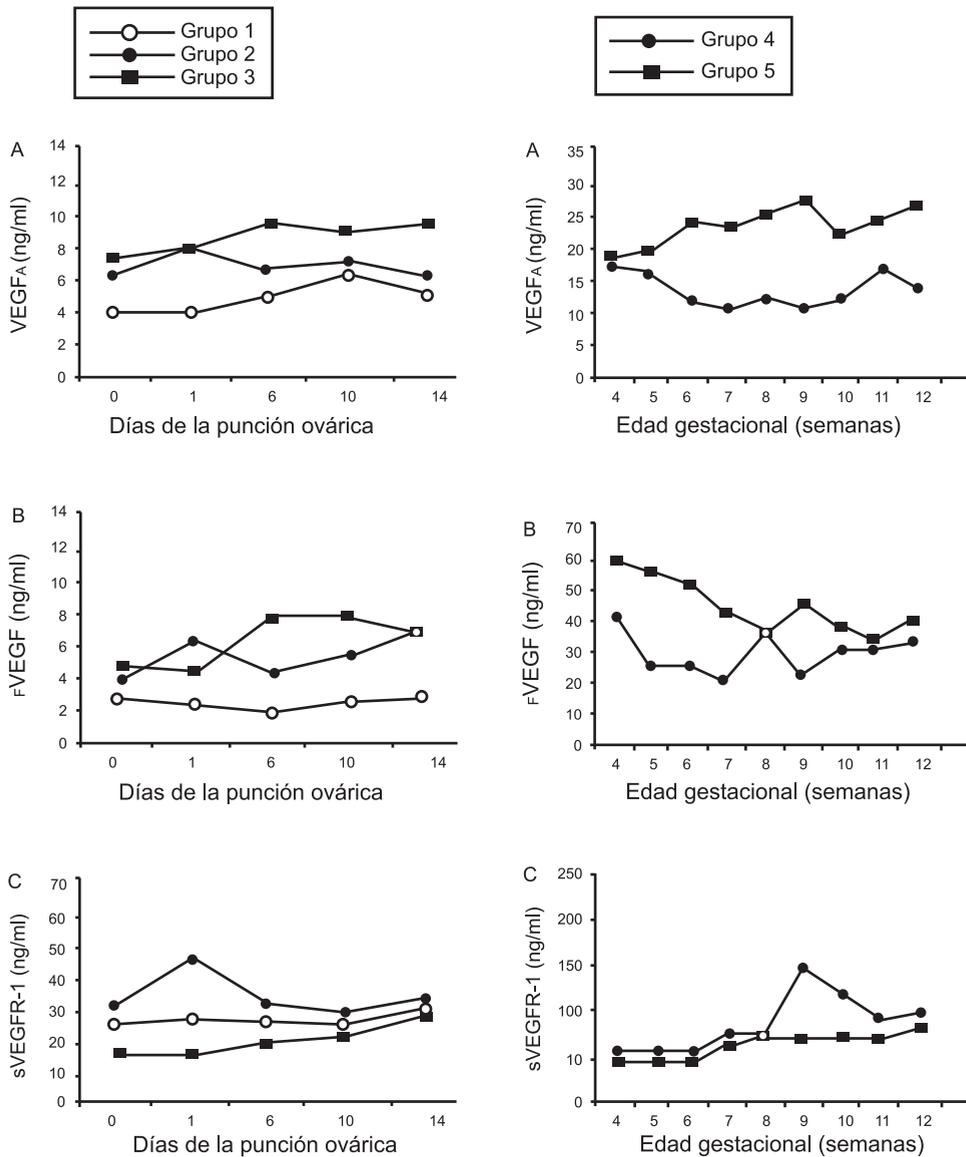
La capacidad del SU5416 en revertir la acción de la HCG en la PV teniendo el VEGFR-2 como diana, no sólo fue clarificadora del papel clave del VEGF en el SHO, sino que también proporciona nuevos conocimientos sobre el desarrollo de estrategias para prevenir y tratar el síndrome en base a su mecanismo fisiopatológico. De hecho, se ha inhibido el crecimiento tumoral, la neoangiogénesis y la formación de ascitis en los animales con diferentes neoplasias de ovario manipulándose el sistema VEGF (Brekken *et al.*, 2000; Wedge *et al.*, 2000), en concreto el VEGFR-2, mediante SU5416 (Vajkoczy *et al.*, 1999). Debido a los efectos secundarios (tromboembolismo y vómitos) (Kuenen *et al.*, 2003; Glade-Bender *et al.*, 2003) y la posibilidad de interferencia en el embarazo inicial a través del bloqueo de la angiogénesis en el ovario (Wulff *et al.*, 2001; Pauli *et al.*, 2005; Zimmermann *et al.*, 2001; Zimmermann *et al.*, 2001a; Zimmermann *et al.*, 2003) y útero (Rockwell *et al.*, 2002; Heryanto *et al.*, 2003), este fármaco no puede ser utilizado clínicamente en el tratamiento del SHO.

El primer intento de entender la importancia del VEGF en la fisiopatología del SHO en seres humanos fue un estudio prospectivo, observacional de mujeres sometidas a FIV (Pau *et al.*, 2006). El objetivo fue analizar la dinámica del VEGF en el SHO_p y el SHO_T. Para el estudio del SHO_p, los sujetos fueron divididos en 3 grupos: mujeres embarazadas sin riesgo de SHO (grupo 1), mujeres en riesgo de SHO que no desarrollaron (grupo 2) y mujeres que desarrollaron el síndrome en su forma grave (grupo 3). Se analizaron muestras séricas del día de la recuperación de óvulos (día 0) y de los días 3, 6, 10 y 14. Para el estudio del SHO_T las pacientes fueron divididas en: pacientes con embarazo único que no desarrollaron (grupo 4) y que desarrollaron SHO (grupo 5). El grupo control fue compuesto de mujeres embarazadas a través de donación de ovocitos. Las muestras de sangre fueron tomadas semanalmente (entre las semanas 4 y 12 de gestación). El VEGF total (VEGF_A), el VEGF libre (VEGF_F) y su receptor soluble (VEGFR-1) fueron medidos. En

el grupo SHO_p, las mujeres que desarrollaron SHO tenían niveles significativamente más altos de VEGF_A y _F VEGF y niveles significativamente más bajos de _s VEGFR-1 en el día 6 (Figura 3). En el grupo SHO_T, las mujeres que desarrollaron SHO secretaron cantidades más altas de VEGF_A en las semanas 6, 9 y 12 de embarazo y una mayor cantidad de _F VEGF durante las semanas 5 y 9. El _s VEGFR-1 fue menor en mujeres que desarrollaron SHO (Figura 3).

Este estudio muestra que la capacidad de secretar _s VEGFR1 y reducir la disponibilidad de _F VEGF son los factores que determinan el futuro desarrollo del SHO_p. También se confirma en los seres humanos lo que se observó previamente en ratones (Gómez *et al.*, 2002): todo el fenómeno se limita a los ovarios ya que las mujeres embarazadas a través de donación de ovocitos, por lo tanto no sometidas a HOC, no desarrollaron SHO, a pesar de de los altos niveles de _F VEGF.

Figura 3: Evolución del VEGF total ($VEGF_A$), el VEGF libre ($FVEGF$) y su receptor soluble ($sVEGFR-1$) en los grupos de estudio.



1.2.3 ESTRATEGIAS PARA LA PREVENCIÓN DEL SHO

La importancia de prevenir el SHO está en el hecho de que se trata de una condición iatrogénica y potencialmente mortal que afecta a pacientes jóvenes y sanas. Además de las consecuencias clínicas, existe una importante carga económica y social asociada.

Evitar el SHO, sin comprometer los resultados de las TRA es uno de los aspectos más desafiantes de la HOC. Como se ha comentado anteriormente, la incidencia del SHO en ciclos de estimulación ovárica puede variar de un 12 a un 20%, con una incidencia de casos graves que puede llegar a un 4% (Rizk, 1996) en grupos de pacientes no seleccionadas. En mujeres con factores de riesgo esta incidencia puede ser mucho mayor.

Si uno o más factores de riesgo son identificados, el clínico debe actuar prontamente, para prevenir la ocurrencia del SHO. Las acciones para la prevención del SHO se inician ya durante la planificación del ciclo de estimulación ovárica y están descritas a continuación:

Elección del protocolo de estimulación: La obtención de un número satisfactorio de ovocitos sin poner a la paciente en riesgo de SHO es un reto. Dosis elevadas de gonadotropinas se asocian a una mayor incidencia y severidad del SHO, determinada por el tamaño de los ovarios, la ascitis y el derrame pleural (Fauser *et al.*, 2002). En pacientes de riesgo, las dosis iniciales de gonadotropinas no deben exceder 150 UI/día (Homburg y Insler, 2002) y la reducción gradual de las dosis (protocolo *step down*) también puede ser eficaz en la prevención del síndrome, sin comprometer el resultado de la FIV (van Santbrink *et al.*, 1995). En cuanto al tipo de gonadotropinas utilizadas, las revisiones sistemáticas de la Biblioteca Cochrane

no muestran diferencias en la incidencia de SHO al comparar: FSH recombinante (FSH_R) y FSH urinario (FSH_U) en pacientes con SOP (Bayram *et al.*, 2000); FSH_R y FSH_U en ciclos de inyección intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI) (Daya y Gunby, 2007); FSH_R y HMG en ciclos de reproducción asistida en general (Westergaard *et al.*, 2011). El uso de $GnRH_A$ se asocia con una mayor incidencia de SHO, probablemente debido a un reclutamiento folicular más importante. Estudios prospectivos aleatorios han observado una menor incidencia de SHO cuando se utilizan $GnRH_{ANT}$ (The ganirelix dose finding group, 1998; Albano *et al.*, 2000; Olivennes *et al.*, 2000; Borm y Mannaerts, 2000; Ragni *et al.*, 2005). Los datos disponibles en metanálisis confirman estos hallazgos: Ludwig y colaboradores (2001) encontraron una reducción significativa en la incidencia de SHO cuando se utilizó Cetorelix (un $GnRH_{ANT}$) y en otro metanálisis en 2007 Al Inany y colaboradores mostraron una reducción significativa en la incidencia de SHO cuando se utilizó un protocolo con $GnRH_{ANT}$.

Control riguroso del ciclo: Dado que el desarrollo de múltiples folículos y los altos niveles de E_2 son importantes factores de riesgo, la detección temprana de estos signos puede ayudar a prevenir el SHO (Golan *et al.*, 1989; Westergaard *et al.*, 2011; Kahnberg *et al.*, 2009). D'Angelo y colaboradores (2004) mostraron, en un estudio retrospectivo, que niveles de E_2 de 3.354 pg/ml o mayores en el día 11 de la estimulación ovárica tenían una sensibilidad y especificidad del 85% para la detección de mujeres que desarrollarán SHO. El seguimiento ecográfico del crecimiento folicular es una herramienta importante. Se demostró en un estudio que el número de folículos medianos/grandes puede ser el único predictor independiente de SHO antes de la administración de la HCG, con una sensibilidad del 82,1% y una especificidad del 79,4% (Delvigne *et al.*, 2002).

Coasting: El *coasting* se describe como la suspensión de la terapia con

gonadotropinas, mientras se continua con la administración de GnRH_A / GnRH_{ANT}, hasta que son alcanzados niveles seguros de E₂. Esta estrategia reduce el número de células de la granulosa para la luteinización (Sher *et al.*, 1995) y conduce a la atresia los folículos pequeños permitiendo, sin embargo, la maduración de los folículos más grandes al tiempo que reduce el riesgo de SHO. Además, el líquido folicular de las pacientes en *coasting* en el día de la HCG tiene concentraciones más bajas de VEGF, disminuyendo la alteración de PV (García-Velasco *et al.*, 2004). El *coasting* debe iniciarse cuando el folículo dominante es > 16 mm y con niveles de E₂ > 4.500 pg/ml, aunque no hay consenso en la literatura acerca de dicho nivel (varía desde 3.000 hasta 6.000 pg/ml) (Delvigne *et al.*, 2002). Una vez que el *coasting* se inicia, deben ser realizados controles diarios de ecografía y niveles de E₂. La maduración folicular final se indica cuando los niveles de E₂ son menores de 3.500 pg/ml. Algunos autores recomiendan un máximo de 3 a 4 días de *coasting* (Mansour *et al.*, 2005), pues a partir del 5° día las tasas de embarazo e implantación pueden estar perjudicadas (Isaza *et al.*, 2001; Moreno *et al.*, 2004). El *coasting* fue durante más de una década el método más popular para la prevención del SHO, disminuyendo el riesgo de SHO, especialmente en casos de alto riesgo (Delvigne *et al.*, 2001). Incluso si el SHO se desarrollaba después del *coasting*, su gravedad será menor (Levinsohn-Tavor *et al.*, 2003). Además, permite la transferencia de embriones frescos, evitando la criopreservación, las terapias complementarias o el uso de medicamentos.

Administración de GnRH_{ANT} durante la HOC en un protocolo con GnRH_A:

La administración de GnRH_{ANT} causa inhibición inmediata de la actividad de las células de la granulosa y, por lo tanto, podría prevenir el SHO en ciclos con GnRH_A. En estudio retrospectivo controlado, a pacientes bajo HOC en protocolo con GnRH_A, candidatas a suspensión del ciclo debido al alto riesgo de SHO, se les redujeron las dosis de gonadotropinas y recibieron dosis diarias de GnRH_{ANT} hasta el final

de la HOC. Los datos fueron comparados con los obtenidos de un grupo control pareado por edad y diagnóstico de infertilidad también bajo protocolo con GnRH_A. El tratamiento con GnRH_{ANT} resultó en reducción de los niveles de E₂. No hubo diferencias en el número de ovocitos recuperados, número de ovocitos maduros, tasas de fertilización y de embarazo e incidencia de SHO severo. La presencia de receptores de la GnRH en los ovarios puede explicar el posible mecanismo de acción de los GnRH_{ANT}, posiblemente por su efecto en las células de la granulosa (Kang *et al.*, 2003; Khosravi y Leung, 2003). Un estudio prospectivo aleatorizado comparó *coasting* (n=96) con la administración de GnRH_{ANT} más 75UI de HMG (n=94) en pacientes de riesgo para SHO. No ocurrió ningún caso de SHO en ninguno de los dos grupos y las tasas de embarazo fueron similares entre ellos. La proporción de embriones de buena calidad fue significativamente mayor (2.87 ± 1.2 versus 2.21 ± 1.1 ; $P < 0.0001$) y se obtuvieron más ovocitos (16.5 ± 7.6 versus 14.06 ± 5.2 ; $P = 0.02$) en el grupo con GnRH_{ANT} (Aboulghar *et al.*, 2007).

Suspensión del ciclo: Existe evidencia suficiente en la literatura para apoyar que la HCG es la principal causa desencadenante del SHO. Suspender la administración de la HCG es una alternativa segura para evitar el SHO (Rizk y Aboulghar, 1991). La suspensión del ciclo tiene importantes implicaciones económicas y emocionales, frustra a la paciente y al médico, y puede resultar en la cancelación de un alto porcentaje de ciclos que no hubiesen evolucionado para SHO. Sin embargo, si se sospecha que se puede producir un cuadro grave de SHO, es una alternativa válida y segura que impide que ambas formas de aparición (precoz y tardía) ocurran (Rizk y Aboulghar, 1991).

Maduración ovocitaria final con bajas dosis de HCG: Como se mencionó anteriormente, la HCG desempeña un papel crucial en la activación del SHO. En las pacientes de riesgo, es teóricamente plausible suponer que, cuanto mayor sea

la dosis de HCG, mayor será la secreción de VEGF por las células de la granulosa, las concentraciones séricas del VEGF y el riesgo de SHO (Agrawal *et al.*, 1999; Pellicer *et al.*, 1999). En un estudio retrospectivo de 94 ciclos de FIV se demostró que una dosis de HCG de 3.300 UI de hGC urinario resulta en una proporción similar de ovocitos maduros y similares tasas de fertilización y embarazo en comparación con 5.000 IU (Schmidt *et al.*, 2004). Sin embargo, la presencia de SHO en grupos de alto riesgo no fue eliminada con la dosis inferior: 2 de las 47 pacientes que utilizaron 3.300 UI desarrollaron SHO grave mientras ninguna de las 47 pacientes que utilizaron 5.000 UI de HCG desarrolló el síndrome. Esta diferencia no fue estadísticamente significativa. Un estudio clínico prospectivo, aleatorizado, controlado, también demostró que una reducción en la dosis de HCG utilizada para desencadenar la maduración final del ovocito no parece afectar la probabilidad de embarazo en pacientes de FIV con GnRH_{ANT} y FSH_R (Kolibianakis *et al.*, 2007). En este ensayo, 80 pacientes recibieron 10.000 IU (n=28), 5.000 IU (n=26) o 2.500 UI (n=26) de HCG urinaria. Las tasas de fertilización fueron, respectivamente: 52,8%, 65,4% y 55,6%. Las tasas de embarazo en curso fueron similares en todos los grupos. Dos pacientes tuvieron SHO grave, una en el grupo de 5.000 IU y otra en el grupo de 10.000 IU. Con este tamaño muestral, no fue posible documentar diferencias estadísticamente significativas. Un estudio piloto no controlado con 21 pacientes mostró que las pacientes de alto riesgo para SHO que recibieron 2.500 UI de HCG no desarrollaron SHO moderado o severo y que estas dosis fueron suficientes para madurar adecuadamente los folículos (Nargund *et al.*, 2007). La comparación entre el número de folículos verificados por ecografía y el número de ovocitos recuperados, fertilizados y embriones transferidos demostró que ninguno de los procesos críticos pos HCG en FIV parece ser perjudicado por estas dosis. Una reciente revisión sistemática de todos los estudios que compararon el efecto de al menos 2 diferentes dosis de HCG para la maduración final de ovocitos sobre los resultados de FIV y la incidencia de SHO (Tsoumpou *et al.*, 2009), y en la que

apenas 2 de los 6 estudios incluidos eran ensayos controlados aleatorios, concluyó que el resultado clínico es similar entre las mujeres que reciben 5.000 UI o 10.000 UI de HCG. Sin embargo, la incidencia de SHO no se redujo en la población de alto riesgo que recibió la dosis inferior de HCG.

Albúmina: El mecanismo de acción de la albúmina en el tratamiento de mujeres con alto riesgo de SHO puede relacionarse tanto con sus propiedades oncóticas, ya que la albúmina es responsable del 75% de la presión oncótica del plasma, como por su capacidad de transporte de proteínas: se especula que la albúmina humana se une a un factor no definido (sistema renina-angiotensina, VEGF) en un momento específico y crítico del ciclo y, por lo tanto, ayuda a prevenir el desarrollo de SHO. Ambos factores podrían impedir la fuga del líquido del espacio intra-vascular hacia la cavidad peritoneal (Asch *et al.*, 1993; Shoham *et al.*, 1994). Un metanálisis de cinco ensayos, demostró una reducción significativa en el SHO grave con la administración de albúmina en el momento de la recuperación de ovocitos en pacientes de alto riesgo. El riesgo relativo fue de 0,35 (0,14 a 0,87) y la reducción en riesgo absoluto fue de 5,5 (Aboulghar *et al.*, 2002). Estos hallazgos no fueron confirmados posteriormente en un estudio prospectivo, donde Bellver y colaboradores seleccionaron aleatoriamente 988 pacientes con riesgo de SHO en dos grupos: el primer grupo recibió 40 g de albúmina intravenosa y el segundo grupo no recibió tratamiento. No hubo diferencias en las tasas de SHO moderada/grave o grave entre los grupos (Bellver *et al.*, 2003).

GnRH_A para la maduración folicular final: En los ciclos de estimulación ovárica que utilizan protocolo con GnRH_{ANT}, la administración de un GnRH_A al final de la HOC induce un aumento endógeno de LH y FSH, mostrándose eficaz para inducir la ovulación (Bentick *et al.*, 1990; Olivennes *et al.*, 1996; Buckett *et al.*, 1998; De Jong *et al.*, 2001; Griesinger *et al.*, 2006; Griesinger *et al.*, 2007).

De hecho, ha sido recomendado como estrategia importante para reducir la incidencia de SHO (Acevedo *et al.*, 2006; Babayof *et al.*, 2006; Engman *et al.*, 2006). Esta estrategia fue olvidada después de la publicación de estudios que mostraron menores tasas de embarazo (Humaidan *et al.*, 2005; Kolibianakis *et al.*, 2005; Orvieto *et al.*, 2006), probablemente debido a la luteolisis temprana y a la reducción de las concentraciones de esteroides en la fase lútea. En un ensayo prospectivo reciente, Melo y colaboradores estudiaron cien donantes de ovocitos bajo protocolo con GnRH_{ANT} y las dividieron en dos grupos: HCG recombinante y triptorelina (un GnRH_A) para la maduración de los ovocitos. Se observó una mayor tasa de SHO en las donantes que recibieron HCG recombinante (0% frente a un 16%, P=0,003). No hubo diferencias significativas entre los parámetros de FIV o en sus resultados, mostrando que la calidad de los ovocitos utilizándose este método no se ve afectada (Melo *et al.*, 2009). El uso de GnRH_A para desencadenar la maduración final ovocitaria es un método útil en pacientes de alto riesgo y previene ambas formas (precoz y tardía) de SHO. Como los resultados de la FIV pueden verse afectados, esta estrategia puede ser utilizada en programas de donación de ovocitos o seguida por la criopreservación de ovocitos o embriones. Existen, sin embargo, datos recientes demostrando que con una suplementación correcta de la fase lútea las tasas de embarazo y aborto permanecerían inalteradas, aunque la administración del GnRH_A no impediría la forma tardía de SHO (Humaidan *et al.*, 2012)

Maduración in vitro de ovocitos: La maduración *in vitro* (MIV) consiste en la conversión *in vitro* de ovocitos en la etapa de vesícula germinal a ovocitos en metafase II. Para tener éxito, esta tecnología debe implicar no sólo maduración nuclear, sino también maduración citoplasmática de los ovocitos y generar embriones que tengan un potencial de desarrollo similar al de embriones obtenidos de FIV estándar. La aplicabilidad clínica teórica de la MIV es inmensa e incluye

pacientes con riesgo de SHO. La aspiración de ovocitos inmaduros de folículos antrales pequeños y seguida de su maduración *in vitro* evitaría la secuencia de eventos que pueden conducir al SHO. Lamentablemente, todavía se considera una técnica experimental en seres humanos debido a las bajas tasas de fertilización y a la calidad embrionaria subóptima obtenida (Grondahl, 2008). Pensando en una alternativa para las pacientes con riesgo de SHO, Lim y colaboradores propusieron administrar HCG prematuramente, con un diámetro del folículo dominante entre 12 y 14 mm, promover la recuperación de los ovocitos y someterlos a MIV, seguida por ICSI y transferencia de embriones. En este estudio se realizaron 123 ciclos y el 18,9% de los ovocitos obtenidos fueron madurados con éxito. La tasa de embarazo fue del 36,6% y ningún caso de SHO fue descrito (Lim *et al.*, 2002; Lim *et al.*, 2007). La alta incidencia de anomalías cromosómicas en embriones resultantes de MIV podría ser la razón de las bajas tasas de implantación reportadas en otros estudios. Aunque no se detectó mayor incidencia de aborto espontáneo o anomalías congénitas en ciclos de MIV, el diagnóstico genético preimplantacional podría ser una opción más segura en estos casos. Los avances tecnológicos en la MIV pueden ayudar a reducir la exposición a las gonadotropinas, reduciendo sus complicaciones inmediatas (como el SHO) y otras posibles complicaciones a largo plazo, aún desconocidas.

Criopreservación de embriones y ovocitos: El SHO es provocado por la administración de HCG. Normalmente, cuando el embarazo no se logra, la enfermedad es autolimitada y se resuelve espontáneamente, lo que caracteriza al SHO_p. En pacientes embarazadas, debido a los niveles de HCG endógena, el SHO_t puede ocurrir, especialmente en los embarazos múltiples. Para evitar este evento en pacientes de alto riesgo, puede ser propuesta la criopreservación electiva de todos los embriones. Muchos estudios muestran buenas tasas de embarazo con la transferencia de embriones descongelados en estos casos (Pattinson *et al.*, 1994;

Tiitinen *et al.*, 1995; Queenan *et al.*, 1997), pero no elimina completamente el riesgo de SHO, al no evitar el de aparición precoz. Ferraretti publicó un estudio prospectivo y aleatorizado de 125 pacientes con riesgo de SHO. Los sujetos fueron divididos en dos grupos: criopreservación de todos los embriones y transferencia de embriones frescos. Encontraron tasas de embarazo similares (46,3% vs 48,3%). La incidencia de SHO fue del 6% en el grupo de transferencia de embriones frescos, mientras que no se produjo ningún caso de SHO en el grupo en que todos los embriones fueron criopreservados (Ferraretti *et al.*, 1999). Más recientemente, la vitrificación de ovocitos ha abierto un nuevo horizonte en el campo de la criopreservación. En los últimos años, diferentes centros han publicado tasas de supervivencia con vitrificación/desvitrificación de ovocitos superiores al 95%, tasas de fertilización del 75%-90%, tasas de embarazo del 32%-65% por transferencia de embriones y tasa de nacidos vivos superiores a un 50 % (Katayama *et al.*, 2003; Selman *et al.*, 2006; Kuwayama, 2007; Al-Hasani *et al.*, 2007; Antinori *et al.*, 2007; Cobo *et al.*, 2008). Esta técnica parece tener un mejor desempeño en comparación con la congelación de embriones. Además, elimina los problemas éticos de la criopreservación de un elevado número de embriones que nunca serán utilizados por la pareja infértil y que no pueden ser eliminados.

1.2.4 AGONISTAS DE LA DOPAMINA

El VEGF se ha convertido en el principal factor angiogénico que participa en la modulación de la PV, responsable del transporte de fluido hacia el compartimento extravascular y, por tanto, del SHO. Las propiedades vasoactivas y su expresión por parte del ovario durante el desarrollo del SHO sugieren que el VEGF tiene un papel crucial en el desarrollo de este síndrome (Rizk *et al.*, 1997).

Gómez y colaboradores (Gómez *et al.*, 2002; Gómez *et al.*, 2003) demostraron la

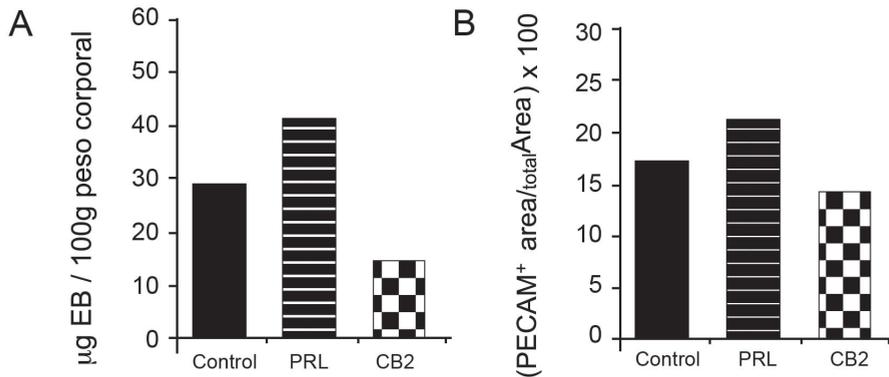
relación del VEGF y el aumento de PV utilizando un modelo animal de SHO. Se demostró en estos ensayos que: (I) La PV se incrementa después de la administración de HCG en animales estimulados; (II) Existe una estrecha correlación entre la expresión del VEGF ARN_M en el ovario y la PV (también se demuestra el origen ovárico del VEGF); (III) El momento de expresión ovárica máxima del VEGFR-2 coincide en el tiempo con la máxima PV, lo que demuestra la participación del sistema VEGF-VEGFR-2 en el SHO; (IV) El SU5416, un inhibidor del VEGFR-2, puede revertir la acción de la HCG sobre la PV.

Varios estudios han demostrado que la administración de dopamina puede disminuir la PV en modelos de cáncer *in vitro* (Basu *et al.*, 2001) e *in vivo* (Sarkar *et al.*, 2004) al disminuir la fosforilación del VEGFR-2, que es el primer paso en la cadena de acción del VEGF hacia el aumento de la PV (Quinn *et al.*, 1993). El mecanismo por el cual la dopamina es capaz de disminuir la fosforilación del VEGFR2 sigue siendo desconocido. Estudios *in vitro* han sugerido que el mecanismo molecular sería la internalización del VEGFR-2, que es inducida por la activación del receptor 2 de la dopamina (Dp-r2) (Basu *et al.*, 2001). Los agonistas del Dp-r2, que se utilizan en el tratamiento de la hiperprolactinemia en humanos, inhiben el VEGFR-2, el aumento de PV y la angiogénesis en los modelos animales de cáncer.

Para testar si la cabergolina (CB₂) (un agonista del Dp-r2) es capaz de inhibir el aumento de PV y la angiogénesis de forma dosis-dependiente, un estudio (Gómez *et al.*, 2006) utilizó un modelo animal de SHO en ratas suplementadas con prolactina, con el fin de eliminar el efecto luteolítico descrito en estos animales por la reducción de prolactina tras la administración de dopamina. Una dosis de 100 mg/kg de CB₂ fue capaz de revertir el aumento de PV dependiente del VEGFR-2 sin afectar a la angiogénesis (Figura 4). No se observaron efectos luteolíticos (niveles séricos de progesterona y apoptosis lútea no afectados). Los niveles de ARN_M y VEGF/

VEGFR-2 en el ovario tampoco se alteraron.

Figura 4: Permeabilidad vascular (A) y densidad luteal vascular (B) en los grupos control, prolactina y CB_2 .



Álvarez y colaboradores diseñaron un estudio prospectivo, aleatorizado, doble ciego, que incluyó 54 donantes de ovocitos que presentaron entre 20-30 folículos > 12 mm tras la estimulación ovárica y > 20 ovocitos recuperados. Inmediatamente después de la administración de HCG, las pacientes fueron aleatorizadas en 2 grupos: el grupo de estudio ($n = 29$) recibió 0,5mg de CB_2 por vía oral al día durante 8 días; el grupo control ($n = 25$) recibió una tableta de placebo al día durante el mismo tiempo. Las mujeres fueron monitorizadas cada 48 horas durante los 8 días, a partir del día de la HCG. La hemoconcentración y el volumen de líquido ascítico se redujeron significativamente en el grupo de estudio. La aparición de SHO se redujo de 43,8% (controles) a 20% (tratamiento). Se utilizó resonancia magnética dinámica para evaluar la PV: las pacientes que utilizaron CB_2 tuvieron una reducción significativa de las pérdidas de líquido extravascular (Álvarez *et al.*, 2007a).

En otro estudio los mismos autores demostraron que la implantación y las tasas

de embarazo a término de las pacientes de FIV en riesgo de SHO no se vieron afectados por la administración de CB_2 (Álvarez *et al.*, 2007b).

Un estudio prospectivo realizado por Carrizza y colaboradores (2008) confirmó las conclusiones de Álvarez: 166 mujeres en riesgo de SHO fueron aleatorizadas en dos grupos: CB_2 0,5 mg al día durante 3 semanas versus ningún tratamiento. En el grupo de cabergolina ninguna paciente presentó SHO_p y un 10,8% presentó SHO_T . En el grupo que no recibió tratamiento un 15% presentó SHO_T y un 3,8% SHO_T . No se observaron diferencias en la implantación o en las tasas de aborto.

La CB_2 sin embargo, ha sido asociada a patología valvular cardíaca cuando era administrada de manera continua a pacientes con enfermedad de Parkinson (Antonini y Poewe, 2007). Aunque la prevalencia de patología valvular cardíaca no parece estar aumentada en pacientes con prolactinoma que utilizan la CB_2 en bajas dosis, el uso continuo se asoció incluso con alteraciones fibroticas valvulares (Kars *et al.*, 2008 Martin *et al.*, 2009). Por esta razón se ha querido investigar en este estudio una sustancia con acción similar, pero sin los citados efectos adversos: la quinagolida.

[2] HIPÓTESIS

La administración diaria del agonista dopaminérgico quinagolida por vía oral durante 3 semanas a partir del día de la administración de la HCG previene el SHO_T moderado/severo en mujeres sometidas a HOC para FIV.

[3] OBJETIVOS DEL ESTUDIO

3.1 OBJETIVO PRINCIPAL

- Identificar la dosis efectiva de quinagolida para la prevención del SHO moderado/severo precoz.

3.2 OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Estimar la dosis-respuesta de la quinagolida en la prevención del SHO moderado/severo precoz, en base a tres dosificaciones distintas.
- Estimar los efectos de tres dosis distintas de quinagolida en la reducción de la incidencia de ascitis (evidencia ecográfica o clínica), en la reducción del volumen de la misma y en la frecuencia de pacientes sometidas a culdocentesis.
- Estimar los efectos de tres dosis de quinagolida (comparadas con el placebo) en la proporción de pacientes hospitalizadas por SHO o limitadas a reposo domiciliario en cama debido a este síndrome, y en la duración de la hospitalización/reposo.
- Estimar los efectos de tres dosis de quinagolida (comparadas con el placebo) en los cambios de las medidas antropométricas de la paciente (peso y circunferencia abdominal).
- Estimar los efectos de tres dosis de quinagolida (comparadas con el placebo) sobre la concentración plasmática, alteraciones

electrolíticas, transaminasas, oliguria, anuria, derrame pleural, derrame pericárdico, síndrome del distrés respiratorio, eventos tromboembólicos y torsión ovárica.

- Estimar los efectos de tres dosis de quinagolida (comparadas con el placebo) en la prevención de SHO moderado/severo tardío.
- Estimar los efectos de tres dosis de quinagolida (comparadas con el placebo) en las tasas de implantación, de embarazo clínico y de aborto.
- Establecer los efectos secundarios de tres dosis distintas de quinagolida (comparadas con el placebo).

[4] MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 DISEÑO

Se trata de un estudio aleatorizado, doble-ciego, en grupos paralelos, placebo-controlado, multi-dosis y multicéntrico. Es un estudio de búsqueda de concepto, evaluando el efecto de la quinagolida en la prevención del SHO moderado/grave, así como su dosis mínima efectiva.

4.2 LOCALIZACIÓN Y POBLACIÓN DEL ESTUDIO

Las mujeres incluidas en el estudio estaban en tratamiento de HOC para FIV y presentaban una respuesta ovárica considerada de riesgo para el desarrollo del SHO caracterizada por 20-30 folículos (ambos incluidos) de 10mm o mayores en el día de la administración de HCG documentados por ecografía transvaginal.

En el proyecto se planteó la inclusión de 200 sujetos (50 en cada grupo de tratamiento) de 7 centros IVI en España (aproximadamente 30-70 sujetos por centro). Se estimó que al menos 240 sujetos deberían ser seleccionados inicialmente para completar 200 sujetos elegibles para la aleatorización.

El poder estadístico de la muestra fue definido para demostrar la superioridad de la dosis más alta de Quinagolida en comparación con el placebo. La superioridad de las dosis de Quinagolida con respecto al placebo fue investigada en orden decreciente de dosis, es decir, la comparación entre la dosis alta de Quinagolida y el placebo se consideró como principal. No se aplicó un ajuste de la multiplicidad debido a la estrategia de ensayo jerárquica. El cálculo del tamaño de la muestra se basa en el criterio de valoración principal (proporción de SHO temprano moderado/

grave) y supone una comparación de dos proporciones binomiales usando un nivel de significancia de dos aspectos, α , de 0,05 y una potencia del 80%. El cálculo se basa en:

$$n = \frac{2}{p(1-p)} \left(\frac{1,96 + 0,84}{\theta} \right)^2,$$

donde $\theta = \log$ (Proporción de Probabilidad) = $\log [(p_{\text{Quinagolida}}(1 - p_{\text{placebo}}) / (p_{\text{placebo}}(1 - p_{\text{Quinagolida}}))]$, $p = (p_{\text{Quinagolida}} + p_{\text{placebo}})/2$, y $p_{\text{Quinagolida}}$ y p_{placebo} indican la proporción de SHO temprano moderado/grave esperada en el grupo de Quinagolida y el grupo de placebo, respectivamente.

El cálculo del tamaño de la muestra deriva de los resultados del estudio piloto de Álvarez (2007), que sugieren ser posible demostrar la superioridad de la dosis más alta de Quinagolida en comparación con el placebo con 50 pacientes en cada grupo de tratamiento.

La evaluación de la muestra se hizo sobre todas las pacientes asignadas a uno de los grupos de estudio que recibieron al menos una dosis de la medicación en investigación (*intention to treat* (ITT)).

El período de estudio abarcó desde Junio de 2006 hasta Mayo de 2008.

4.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

4.3.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Consentimiento informado firmado previamente a la inclusión.
- Edad entre 21-37 años (ambos incluidos).
- Infertilidad de al menos 1 año en el momento de la inclusión.
- Estar en ciclo de tratamiento de HOC para FIV (con/sin ICSI).
- Histerosalpingografía, histeroscopia y/o ecografía transvaginal documentando un útero normal, excepto la presencia de miomas considerados no relevantes clínicamente (subserosos o intramurales < 4 cm, no deformantes).
- Presencia de ambos ovarios por ecografía transvaginal sin evidencias de patología ovárica incluyendo quistes ováricos de cualquier naturaleza, ni sospecha de hidrosálpinx.
- Niveles de FSH en fase folicular temprana dentro de los límites normales (1-12 UI/L) (resultados obtenidos dentro de los 12 meses previos a la inclusión).
- IMC entre 18 y 29 Kg/m² (ambos incluidos).
- 20-30 folículos (ambos incluidos) de 10mm o mayores en el día de la administración de HCG documentados por ecografía transvaginal.
- Deseo de transferencia de 1 o 2 embriones.

4.3.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Enfermedades crónicas sistémicas.
- Historia de patología psiquiátrica crónica.
- Alteración conocida de la función renal o hepática.
- Hipotensión ortostática o síncope recurrente dentro de los 6 meses previos a la inclusión.
- Historia de aborto recurrente (3 o más pérdidas gestacionales consecutivas antes de la semana 24 de gestación).
- Tumores de ovarios, mamas, útero, glándula adrenal, hipófisis o hipotálamo.
- Sangrado vaginal no diagnosticado.
- Historia de quimioterapia (excepto por mola hidatiforme) o radioterapia.
- Uso de anti-psicóticos, antidepresivos, ansiolíticos, hipnóticos, sedantes o uso continuado de inhibidores de prostaglandinas (AINES) dentro de los 2 meses previos a la inclusión.
- Historia de abuso de alcohol o drogas en los 12 meses previos a la inclusión y/o actual consumo de alcohol (más de 14 dosis por semana en el último mes previo a la inclusión).
- Historia de tabaquismo de más de 20 cigarros por día en los 3 meses previos a la inclusión.
- Uso de cualquier medicamento en investigación durante los 3 meses previos a la inclusión.

- Baja tolerancia conocida a los agonistas dopaminérgicos (mujeres que hayan presentado efectos secundarios importantes tras la utilización de un agonista dopaminérgico).
- Hipersensibilidad al principio activo o cualquiera de los excipientes.
- Niveles de E_2 en suero ≥ 6000 pg/mL en el momento de la administración de la HCG.
- *Coasting* u otros tratamientos realizados previamente a la administración de la HCG para la prevención del SHO en pacientes de riesgo.
- Participación previa en este estudio.

4.4 PROCEDIMIENTO

Las pacientes seleccionadas para el estudio eran mujeres en tratamiento para FIV/ICSI mediante HOC en protocolo largo o protocolo corto.

El protocolo largo consiste en un bloqueo hipofisario con GnRH_A que tiene inicio en la fase lútea media del ciclo previo a la HOC. Son administradas dosis diarias de GnRH_A hasta la menstruación. Tras la confirmación de la quiescencia ovárica por ecografía se reduce a la mitad la dosis de GnRH_A, que se mantendrá hasta el día de la administración de la HCG, y se inicia la inyección de gonadotropinas (HMG o FSH_R). La paciente es sometida a controles ecográficos y analíticos intermitentes (entre 1 y 3 días) donde se monitoriza el número y tamaño de los folículos, y las concentraciones de estradiol sérico. Cuando 2 o más folículos llegan a un tamaño de 18 mm de diámetro medio, se administra la HCG para la maduración folicular final, extrayéndose los ovocitos 36 horas después.

El protocolo corto tiene inicio en los 3 primeros días del ciclo menstrual. Se realiza una ecografía para verificar la situación basal de los ovarios y la paciente inicia la administración de gonadotropinas (HMG o r FSH), siguiendo los mismos controles ecográficos y analíticos que en el protocolo largo. Cuando el folículo dominante llega a un tamaño de 14 mm, se inicia la administración del GnRH_{ANT} hasta que 2 o más folículos alcanzan 18 mm de diámetro medio, momento en el que también se pauta la HCG para la maduración folicular final y la extracción ovocitaria 36 horas después.

Tras la HOC, en el día de la administración de la HCG, las pacientes que cumplieron los criterios de inclusión y exclusión fueron distribuidas de manera aleatoria a uno de los cuatro siguientes grupos de tratamiento: quinagolida 50 μ g/día, quinagolida 100 μ g/día, quinagolida 200 μ g/día o placebo. El tratamiento se inició el día de la administración de la HCG (lo que se consideró Día 1 del estudio). La quinagolida tarda 2 horas en alcanzar su efecto pleno, por lo cual la primera dosis fue administrada al menos 2 horas antes de la inyección de HCG. El tratamiento continuó hasta el día del test de β HCG (prueba de embarazo en sangre) que tuvo lugar el Día 20 (\pm 2) del estudio.

Todas las pacientes recibieron una única dosis de HCG (OVITRELLE 250 μ g SC, MERCK SERONO, Geneva, Suiza) para desencadenar la maduración final de los ovocitos cuando al menos ≥ 2 folículos de ≥ 18 mm fueron identificados por ecografía transvaginal. La punción ovárica se realizó en el Día 3 de tratamiento (36 ± 2 horas después de la administración de HCG) y la transferencia de 1 o 2 embriones en el Día 6 (embriones de día 3 de desarrollo) o Día 8-9 (blastocistos de día 5 o 6 de desarrollo).

El soporte lúteo se hizo con progesterona por vía vaginal (UTROGESTAN, SEID,

Barcelona, España; 200 mg 2 veces al día) desde el día siguiente a la punción ovárica hasta test de β HCG negativo o el día de evaluación del embarazo clínico (Día 41 (± 4)).

Todos los signos/síntomas del SHO fueron documentados y el SHO fue clasificado como moderado o severo según los criterios predefinidos (sistema de clasificación de Golan – Tabla 1). La forma severa de SHO fue definida en base a la presencia de ascitis, derrame pleural, derrame pericárdico, anasarca, hemoconcentración (hematocrito $> 45\%$ y hemoglobina > 16.5 g/dL), alteraciones electrolíticas (sodio < 132 mmol/L y/o potasio > 5.9 mmol/L), elevación de transaminasas (ALAT ≥ 40 UI/L y/o ASAT ≥ 40 UI/L), oliguria (débito urinario < 500 mL en 24 horas), anuria, síndrome del distrés respiratorio del adulto, eventos tromboembólicos y torsión ovárica. El manejo del SHO fue documentado e incluyó datos sobre culdocentesis, manejo hídrico, tratamiento de alteraciones pulmonares, tratamiento de alteraciones renales o hepáticas, y profilaxis y tratamiento para trombosis.

Para verificar si la administración y absorción del fármaco se hicieron de manera correcta, los niveles de prolactina también fueron medidos en las visitas del estudio.

Se registraron aun, los acontecimientos adversos. Se consideró acontecimiento adverso los síntomas o señales que aparecieron durante el uso del medicamento del estudio, aunque no estuviesen asociados a este medicamento.

Los siguientes parámetros acerca de los resultados de la FIV también fueron registrados: β HCG sérica positiva, tasa de implantación, embarazo clínico y embarazo evolutivo.

La tasa de implantación se calculó dividiéndose el número de sacos gestacionales

intraútero por el número de embriones transferidos. Se consideró embarazo clínico si la paciente presentó al menos un saco gestacional intraútero con embrión con latido cardiaco presente a las 5 semanas tras la transferencia embrionaria. Se consideró embarazo evolutivo si al menos un saco gestacional intraútero con embrión con latido cardiaco llegó a las 10 semanas tras la transferencia embrionaria. Se realizó un seguimiento posestudio para recoger datos acerca de la evolución de los embarazos (tasa de aborto, número de nacidos vivos, edad gestacional de finalización e incidencia de malformaciones).

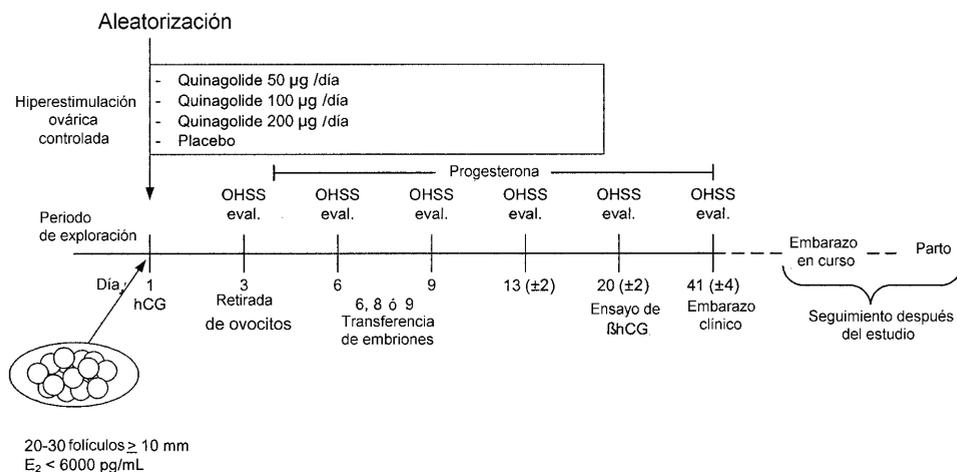
4.5 VISITAS DEL ESTUDIO

Las pacientes incluidas en el estudio pasaron por una serie procedimientos/ evaluaciones durante el periodo en que la quinagolida o el placebo fueron administrados. Las visitas fueron realizadas en los siguientes momentos (Figura 5):

- HCG – Día 1 de toma del fármaco asignado
- Punción Ovárica – Día 3
- Visita SHO 1 – Día 6
- Visita SHO 2 – Día 9
- Visita SHO 3 – Día 13 (± 2)
- β HCG – Día 20 (± 2)
- Embarazo Clínico – Día 41 (± 4)
- Fin-de-Estudio*

*En los casos en que no hubo embarazo, la visita de Fin-de-Estudio se hizo el día de la β HCG. En los casos en que hubo embarazo la visita de Fin-de-Estudio se hizo el día del la visita de Embarazo Clínico.

Figura 5: Visitas del estudio.



4.5.1 PROCEDIMIENTOS REALIZADOS DURANTE EL PERIODO DE EVALUACIÓN:

- El consentimiento informado fechado y firmado fue obtenido antes de cualquier procedimiento relacionado al estudio, tras la visita informativa.
- Signos vitales (presión arterial, frecuencia cardiaca y respiratoria en decúbito y bipedestación).
- Medidas corporales: talla (metros), peso (kilogramos) y circunferencia abdominal (centímetros).
- Ecografía transvaginal: tamaño de los ovarios (centímetros; en las tres dimensiones), número y medida de los folículos (centímetros; en dos dimensiones: mayor diámetro y su mayor perpendicular), tamaño del útero y grosor endometrial (centímetros; diámetro antero-posterior, en corte longitudinal uterino) y líquido peritoneal (centímetros cuadrados; las bolsas de fluido en la pelvis fueron

medidas en su mayor diámetro y su mayor perpendicular y estas dos cifras fueron multiplicadas; la cantidad de líquido peritoneal es la suma de las medidas de cada bolsa).

- Evaluación del SHO (signos/síntomas, grado).

4.6 TRATAMIENTOS ADMINISTRADOS

Las pacientes fueron aleatorizadas a uno de los 4 siguientes grupos de tratamiento:

- Quinagolida 50 µg/día
- Quinagolida 100 µg/día
- Quinagolida 200 µg/día
- Placebo

Cada paciente tomó cuatro tabletas diarias (una combinación de tabletas de 50 µg y placebo, dependiendo del grupo de tratamiento). El periodo de tratamiento fue de aproximadamente 3 semanas. Una caja conteniendo la medicación fue preparada para cada paciente. La caja contenía sobres con 4 pastillas idénticas (las pastillas de placebo eran indistinguibles de las pastillas de quinagolida). Los sobres fueron preparados de acuerdo con cada grupo de estudio de la siguiente manera:

- Quinagolida 50 µg/día: 1 pastilla de quinagolida 50 µg + 3 pastillas de placebo.
- Quinagolida 100 µg/día: 2 pastillas de quinagolida 50 µg + 2 pastillas de placebo.
- Quinagolida 200 µg/día: 4 pastillas de quinagolida 50 µg.
- Placebo: 4 pastillas de placebo.

4.7 CLASIFICACIÓN DEL SHO PRECOZ UTILIZADA

La presencia/ausencia de cada signo o síntoma de SHO fue documentada en todas las visitas tras la administración de la HCG. En base en estas evaluaciones, el sistema de clasificación de Golan *et al.* descrito en la Tabla 1 fue utilizado para determinar el nivel (leve/moderado/severo) y grado (1, 2, 3, 4, 5) de SHO.

El momento de aparición de los síntomas de SHO determinó si el síndrome fue clasificado como precoz o tardío. El SHO moderado/severo precoz fue definido cuando se inició hasta 9 días después de la administración de la HCG. El SHO_T fue caracterizado por el apareamiento del síndrome después de 9 días de la HCG.

4.8 FINANCIACIÓN

El estudio fue financiado por Ferring Pharmaceuticals A/S, Copenhague, Dinamarca.

[5] RESULTADOS

Un total de 182 pacientes bajo tratamiento de FIV/ICSI fueron aleatorizadas con la siguiente distribución: 53 (29%) para el grupo placebo, 51 (28%) para recibir quinagolida 50 mg/día, 52 (29%) para recibir quinagolida 100 mg/día y 26 (14%) para recibir quinagolida 200 mg/día (Tabla 2). La randomización para el grupo quinagolida 200 mg/día fue detenida tras la inclusión de 97 sujetos en el ensayo, debido a la baja tolerancia al fármaco dentro de los 3 primeros días de tratamiento. La distribución de los pacientes en los cuatro grupos de tratamiento fue equilibrado dentro de cada centro.

Se consideró dentro del grupo ITT la paciente que recibió al menos una dosis de medicamento y el análisis se hizo a este grupo.

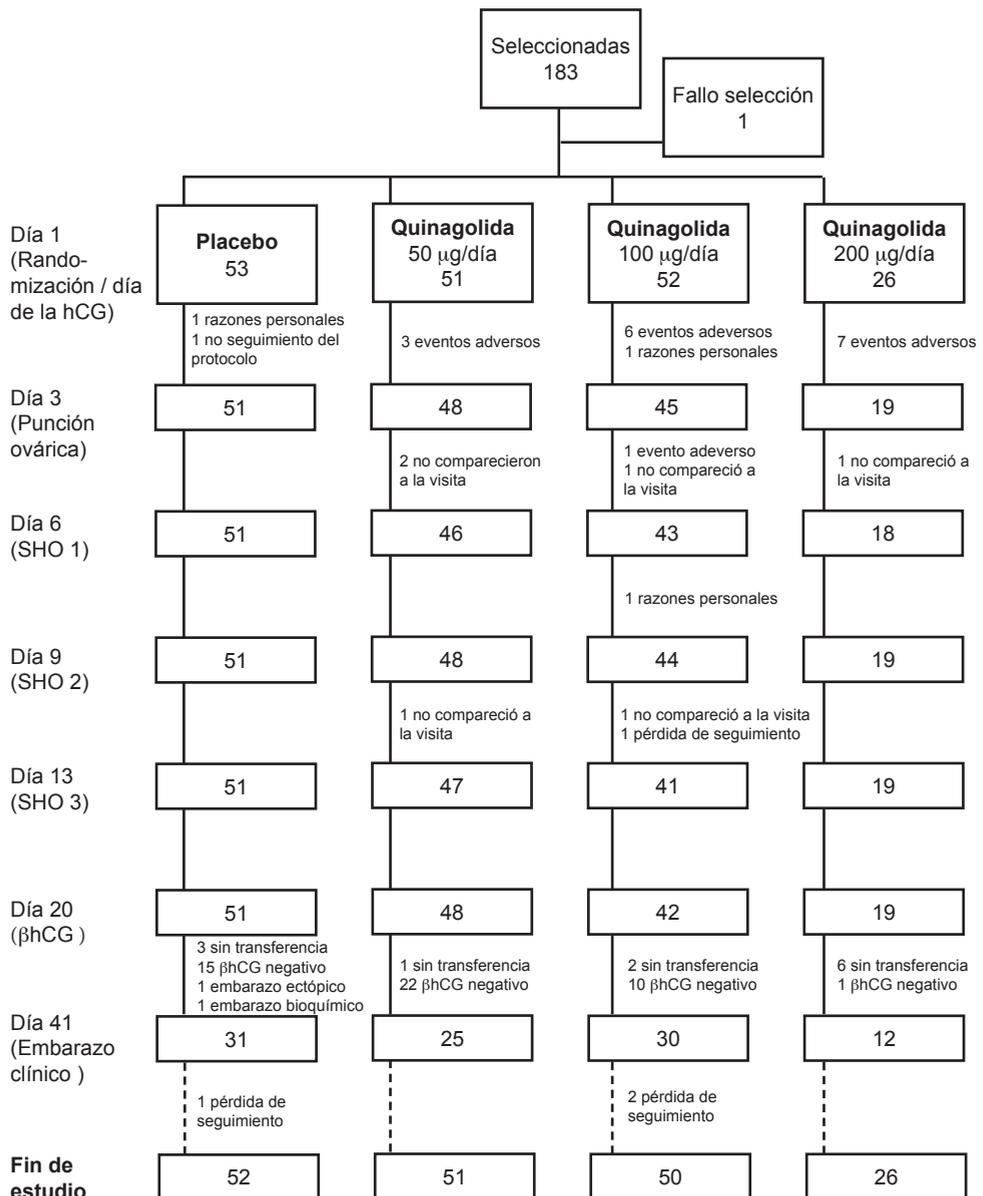
Tabla 2 Distribución de las pacientes

	Placebo	50 µg/día	100 µg/día	200 µg/día
Randomizadas / ITT	53	51	52	26
Completaron el estudio	50 (94%)	48 (94%)	40 (77%)	19 (73%)
Discontinuaron	3 (6%)	3 (6%)	12 (23%)	7 (27%)
Acontecimientos adversos	0	3 (6%)	7 (13%)	7 (27%)
No adhesión al protocolo	1 (2%)	0	0	0
Razones personales	1 (2%)	0	3 (6%)	0
Pérdida del seguimiento	1 (2%)	0	3 (6%)	0

5.1 DIAGRAMA DE FLUJO DE LAS PACIENTES BAJO ESTUDIO

El flujo de los participantes se ilustra en la Figura 6, que muestra el número de pacientes que asisten a cada visita del estudio.

Figura 6: Flujo de pacientes



5.2 VARIABLES DEMOGRÁFICAS

En la Tabla 3 se resumen las principales características basales y demográficas de la población del ensayo. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de tratamiento con respecto a la edad, IMC o etiología de la infertilidad (Tabla 4). La duración de la infertilidad fue similar entre los grupos y la media fue de 2.5 + 1.9 años.

Tabla 3 Variables demográficas

	Placebo	50 µg/día	100 µg/día	200 µg/día
Randomizadas / ITT	53	51	52	26
Edad (años)	30.9 ± 2.7	31.7 ± 2.6	32.0 ± 3.3	31.8 ± 3.8
Altura (m)	1.63 ± 0.06	1.64 ± 0.06	1.62 ± 0.05	1.62 ± 0.05
Peso (kg)	60.6 ± 7.7	63.1 ± 9.9	60.5 ± 8.8	61.0 ± 7.4
IMC (kg/m²)	22.8 ± 2.6	23.7 ± 3.2	23.0 ± 2.3	23.2 ± 2.5
Cintura (cm)	78.4 ± 7.6	79.6 ± 8.3	78.8 ± 7.8	78.7 ± 7.5

Tabla 4 Etiología de la infertilidad

	Placebo	50 µg/día	100 µg/día	200 µg/día
Randomizadas / ITT	53	51	52	26
Anovulación (Grupo I OMS)	0	0	1 (2%)	2 (8%)
Anovulación (Grupo II OMS)	6 (11%)	5 (10%)	12 (24%)	3 (12%)
Factor tubárico	5 (9%)	6 (12%)	2 (4%)	5 (19%)
Endometriosis	1 (2%)	1 (2%)	2 (4%)	1 (4%)
Factor masculino	31 (58%)	29 (57%)	28 (55%)	11 (42%)
Infertilidad inexplicada	8 (15%)	8 (16%)	6 (12%)	4 (15%)
Otra	2 (4%)	2 (4%)	0	0

5.3 CARACTERÍSTICAS DEL CICLO DE ESTIMULACIÓN

Los grupos de tratamiento también fueron comparables con respecto a los niveles de estradiol, el número de folículos en el día de la administración de la HCG, así como en el número de ovocitos recuperados. El número medio de folículos > 10 mm en el día de la HCG varió entre 23,2 y 25,0 en los cuatro grupos de tratamiento con un promedio de 21,0 ovocitos recuperados (Tabla 5).

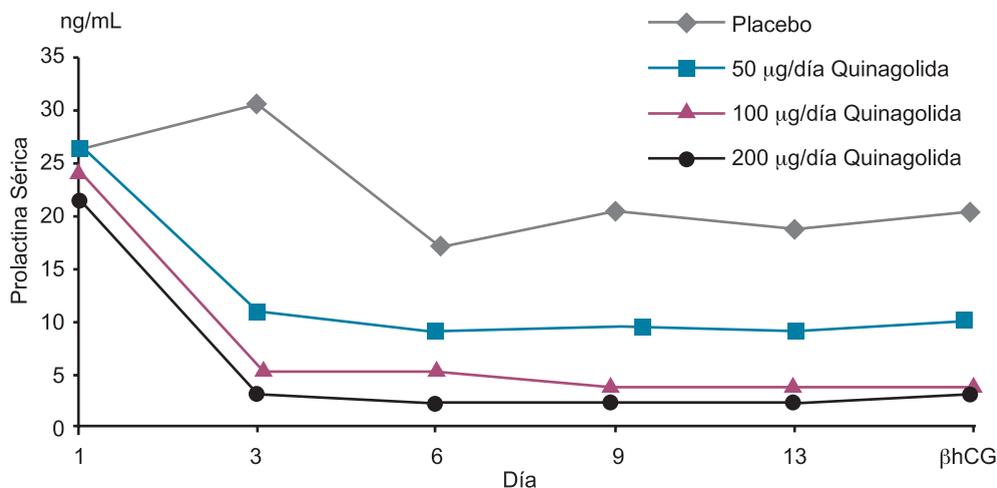
Tabla 5 Características del ciclo

	Placebo	50 µg/día	100 µg/día	200 µg/día
Randomizadas / ITT	53	51	52	26
Estradiol (pg/mL)	2795 ± 1221	3068 ± 1140	3262 ± 1079	2741 ± 967
Folículos ≥ 10 mm	23.7 ± 3.2	23.8 ± 3.2	25.0 ± 4.0	20.1 ± 2.7
Ovocitos recuperados	21.4 ± 8.7	19.5 ± 7.0	22.4 ± 7.8	20.1 ± 6.0

5.4 NIVELES DE PROLACTINA

Las concentraciones de prolactina en suero a través del tiempo se muestran en la Figura 7. Se observó una reducción rápida y dosis-dependiente de los niveles de prolactina sérica con quinagolida. El día de la recuperación de ovocitos (antes de la administración de la tercera dosis de quinagolida), la concentración media de prolactina fue de 30.7 ng/ml en el grupo placebo en comparación con 10.8, 5.4 y 2.9 ng/ml en los grupos quinagolida 50, 100 y 200 mg/día, respectivamente. Es importante resaltar que las evaluaciones de los niveles de prolactina no fueron hechas en las condiciones adecuadas para la evaluación de esta hormona (en ayunas, por la mañana, con la paciente en reposo), lo que explica los niveles elevados en el Día 1 de estudio en los 4 grupos de pacientes.

Figura 7: Niveles de prolactina



5.5 INCIDENCIA DE SHO_p MODERADO Y/O SEVERO

El SHO_p moderado y/o severo ocurrió en las siguientes frecuencias: 23% (12/53) para el placebo, 12% (6 / 51) para quinagolida 50 mg/día, 13% (7 / 52) para quinagolida 100 µg/día y 4% (1 / 26) para quinagolida 200 µg/día (Tabla 6). Cuando se combinaron los tres niveles de dosis, la quinagolida se asoció con una disminución significativa [$P = 0.019$; OR = 0.28 (0.09-0.81)] en la frecuencia de SHO_p moderado y/o severo.

Evaluando los niveles individuales de quinagolida, con 200 µg/día hubo una disminución significativa [$P = 0.046$; OR = 0.11 (0.01-0.96)] de pacientes con SHO_p moderado y/o severo en comparación con el placebo. El 12 y 13% de los casos de SHO_p moderado y/o severo observados con las dosis de 50 y 100 µg/día no fueron significativamente diferentes del 23% de los observados con el placebo [$P = 0.142$; OR = 0,43 (0.14-1.32) y $P = 0.161$; OR = 0.45 (0.15 a 1.37), respectivamente). La combinación de los grupos quinagolida 100 y 200 µg/día resultó en una frecuencia

de SHO_p moderado y/o severo del 10% (8 / 78) [P = 0.026, OR = 0.22 (0.06-0.83)]; la tasa correspondiente a la combinación de grupos quinagolida 50 y 100 µg/día fue del 13%(13/103) [P = 0.086; OR = 0.44 (0.17-1.12)]. Por tanto, sólo el grupo de alta dosis (200 µg/día) y la combinación de los dos grupos de dosis más elevadas (100 µg/día y 200 µg/día) resultaron en reducciones significativas de la incidencia de SHO temprano moderado y/o severo en relación al placebo.

Tabla 6 Visión general de los resultados

	Placebo	50 µg/día	100 µg/día	200 µg/día	
Randomizadas / ITT	53	51	52	26	
SHO					
SHO moderado/severo precoz	12 (23%)	6 (12%)	7 (13%)	1 (4%)	P = 0.019
SHO severo precoz, Grado 4/5	3 (6%)	1 (2%)	0	0	P = 0.075
Evidência ecográfica de ascitis	15 (28%)	11 (22%)	10 (19%)	1 (4%)	P = 0.028
Resultados de la FIV					
Transferência embrionária	47	45	40	19	
βhCG positivo	33 (70%)	25 (56%)	30 (75%)	12 (63%)	P = 0.0578
Embarazo clínico	27 (57%)	22 (49%)	26 (55%)	11 (58%)	P = 0.470
Tasa de implantación	44%	32%	49%	39%	P = 0.538
Abortos	6 (18%)	3 (12%)	4 (13%)	1 (8%)	P = 0.470
Seguimiento post estudio					
Transferência fuera del estudio**	1	1	4	3	
Total de transferências	48	46	44	22	
Embarazo em curso	27 (56%)	23 (50%)	30 (68%)	14 (64%)	P = 0.862
Nacimientos	27 (56%)	23 (50%)	29 (64%)	14 (64%)	P = 0.863

* Valores de P analizando los 3 grupos de quinagolida combinados versus placebo

** Transferências de pacientes que discontinuaron el estudio

Se observó SHO grado 4 o 5 en el 6% (3 / 53) de los sujetos en el grupo placebo y en el 2% (1 / 51) en el grupo quinagolida 50 µg/día. Ninguno de los sujetos en los grupos quinagolida 100 y 200 µg/día presentó SHO severo (Tabla 6). La quinagolida

redujo significativamente ($P = 0.028$) la incidencia ecográfica de ascitis dentro de los primeros 9 días de tratamiento. La incidencia de pacientes con evidencia ecográfica de ascitis dentro de los primeros 9 días de tratamiento se redujo significativamente [$P = 0.027$; $OR = 0.09$ (0.01-0.77)] de un 28% (15/53) en el grupo placebo a un 4% (1 / 26) en el grupo quinagolida 200 $\mu\text{g}/\text{día}$.

5.6 RESULTADOS CLÍNICOS Y RELACIÓN CON EL SHO

El número medio de embriones transferidos fue de 1,9-2,0 en los cuatro grupos de tratamiento (Tabla 7). La transferencia de 3 embriones ocurrió únicamente en una paciente en cada grupo de tratamiento. Las tasas de embarazo clínico fueron comparables entre los grupos de tratamiento. La tasa de embarazo clínico fue del 57% en el grupo placebo y de 49-65% en los grupos de quinagolida, no observándose ninguna relación con la dosis de quinagolida. (Tabla 6). Las tasas de implantación no fueron estadísticamente diferentes entre los grupos sin embargo las tasas de aborto significativamente más altas en el grupo placebo (Tabla 6). La frecuencia de SHO_T moderado y/o severo (con inicio > 9 días después de la administración de HCG) fue del 4% (2 / 53) el grupo placebo y del 4% (2 / 51), 6% (3 / 52) y 4% (1 / 26) en los grupos quinagolida 50, 100 y 200 $\mu\text{g}/\text{día}$, respectivamente.

Tabla 7 Transferencia embrionaria

	Placebo	50 $\mu\text{g}/\text{día}$	100 $\mu\text{g}/\text{día}$	200 $\mu\text{g}/\text{día}$
Randomizadas / ITT	53	51	52	26
Pacientes com transferencia embrionária	47	45	40	19
Número de embriones transferidos	1.9 \pm 0.3	2.0 \pm 0.3	1.9 \pm 0.4	1.9 \pm 0.5

Todos los sujetos con SHO_T moderado y/o severo pertenecían al grupo de pacientes con embarazo clínico, de los cuales 50% fueron embarazos múltiples.

Como el embarazo puede ser un factor importante en la fisiopatología del SHO_T, un análisis de regresión logística fue llevado a cabo con el intuito de verificar la relación entre embarazo clínico y SHO.

El análisis de regresión logística del SHO_p moderado y/o severo demostró que el embarazo clínico fue un factor estadísticamente significativo ($P = 0.044$) para la ocurrencia de SHO, por lo que también se presentan los datos por separado para las pacientes que lograron un embarazo clínico en el ciclo de estudio y las que no lo hicieron. El efecto de la quinagolida en la incidencia de SHO_p moderado y/o severo entre las pacientes que no obtuvieron un embarazo tiene significancia estadística: de un 23% (6 / 26) en el grupo placebo y de un 4% (3 / 70) en los grupos de quinagolida combinados [$P = 0.011$; OR = 0.15 (0.03 a 0.65)]. Lo mismo se verificó en los grupos de quinagolida por separado en comparación con el placebo (Figura 8a y 8b). En las pacientes que tuvieron embarazo clínico documentado la incidencia del SHO_p moderado y/o severo no fue significativamente diferente entre cualquiera de los grupos de estudio (individualmente o combinados) (Figura 8a y 8b).

Figura 8: Frecuencia de SHO moderado/severo precoz en pacientes sin (a) y con embarazo clínico (b).

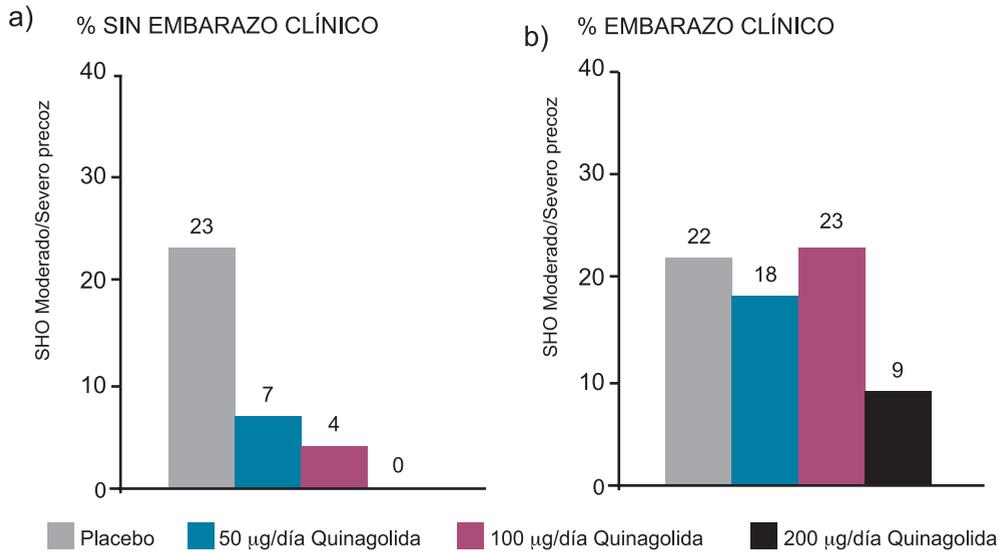
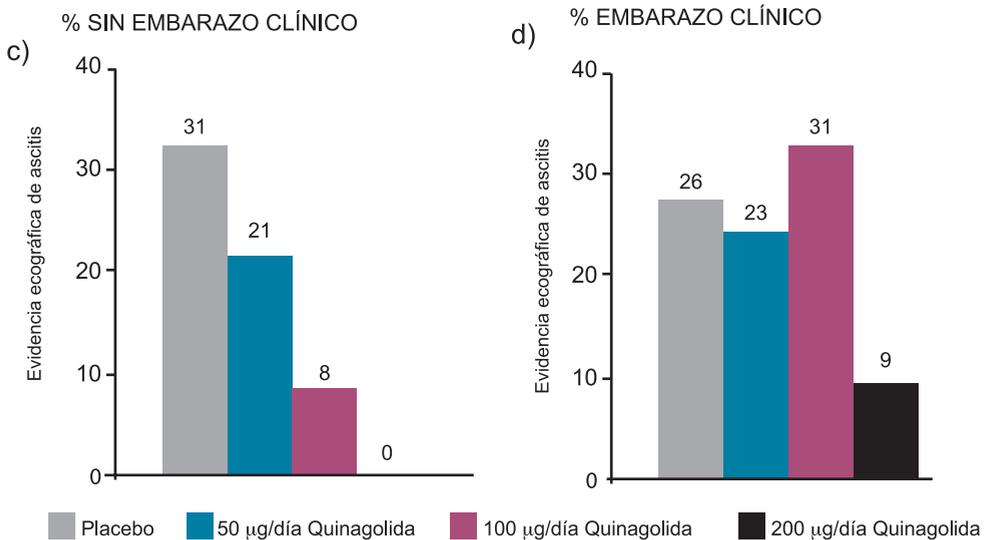
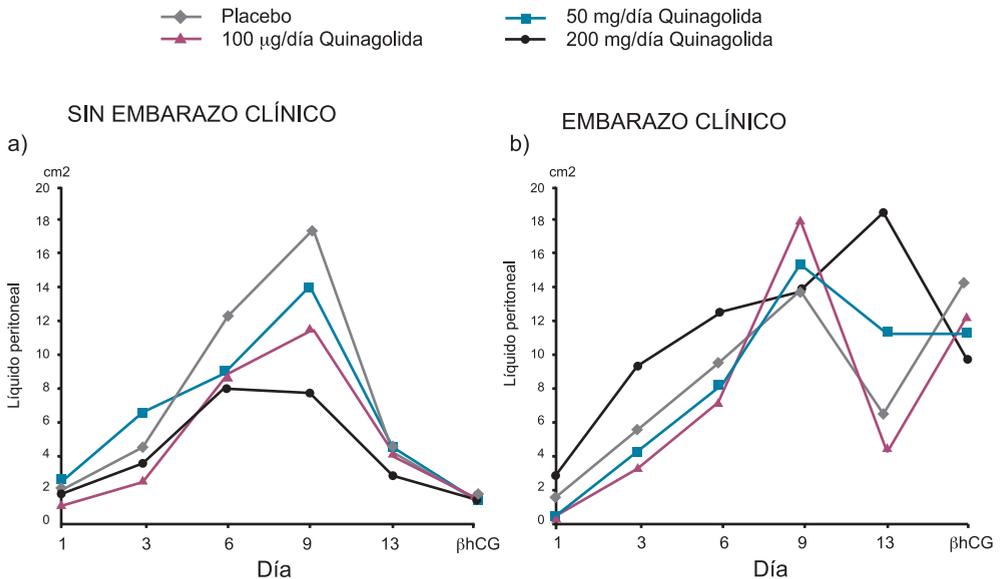


Figura 8: Frecuencia de evidencia ecográfica de ascitis en pacientes sin (c) y con embarazo clínico (d).



Con respecto a la evidencia ecográfica de ascitis en los primeros 9 días de tratamiento, la quinagolida fue capaz de reducir su incidencia en las pacientes que no obtuvieron embarazo clínico de un 31% (8 / 26) en el grupo placebo a un 11% (8 / 70) en los grupos de quinagolida combinados [$P = 0,033$; $OR = 0,29 (0,10-0,88)$] (Figura 8c y 8d). Entre las pacientes embarazadas, no se observaron diferencias significativas entre quinagolida y placebo con respecto a la presencia de evidencia ecográfica de ascitis (Figura 8c y 8d). Además, se evidenció una reducción en el líquido peritoneal conforme el paso del tiempo en las pacientes sin embarazo clínico, que se relacionó con la dosis utilizada (cuanto más alta las dosis, mayor la reducción). No hubo relación entre la acumulación de líquido peritoneal y el uso de quinagolida en pacientes con embarazo clínico (Figura 9).

Figura 9: Acumulación de líquido peritoneal en pacientes con y sin embarazo clínico.



La tabla 8 muestra la frecuencia de alteraciones de concentración plasmática, alteraciones electrolíticas, transaminasas, oliguria, anuria, derrame pleural, derrame pericárdico, síndrome del distrés respiratorio, eventos tromboembólicos y torsión ovárica. No se reportó ningún caso de oliguria, anuria, derrame pleural, derrame pericárdico, síndrome del distrés respiratorio, eventos tromboembólicos o torsión ovárica.

Tabla 8 Señales de SHO

	Placebo	50 µg/día	100 µg/día	200 µg/día
Randomizadas / ITT	53	51	52	26
Presencia de líquido em espacio hepato-renal	2 (4%)	1 (2%)	1 (2%)	1 (4%)
Presencia de líquido em espacio espleno-renal	2 (4%)	0	1 (2%)	1 (4%)
Hemoconcentración	1 (2%)	1 (2%)	1 (2%)	0
Alteraciones eletrolíticas	1 (2%)	2 (4%)	1 (2%)	0
Transaminasas alteradas	4 (8%)	3 (6%)	0	2 (8%)

5.7 ACONTECIMIENTOS ADVERSOS

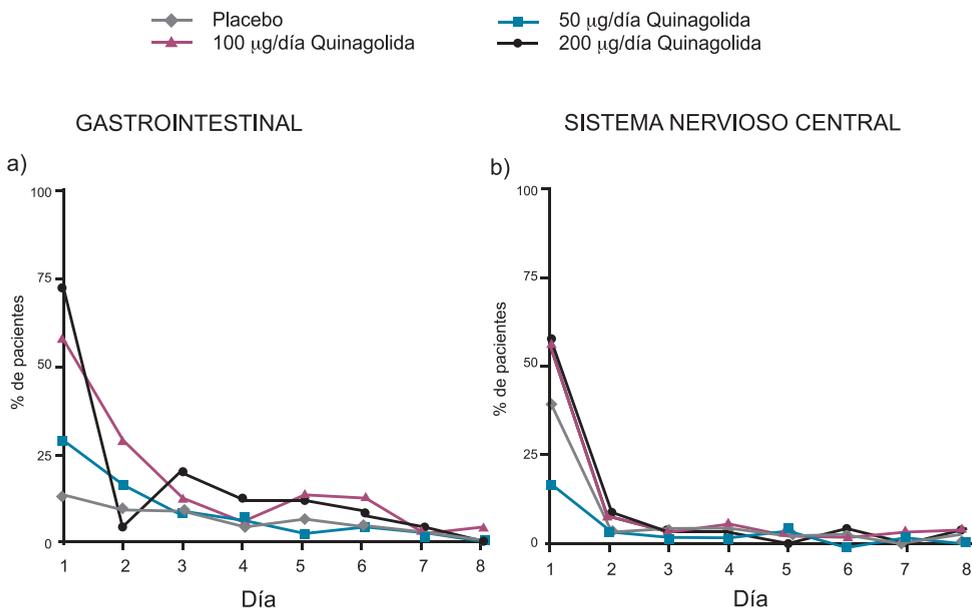
Ninguno de los sujetos en el grupo placebo suspendió el tratamiento debido a efectos adversos. Sin embargo, en los grupos quinagolida 50, 100 y 200 µg/día, el 6% (3 / 51), el 13% (7 / 52) y el 27% (7 / 26), respectivamente, abandonaron el estudio debido principalmente a eventos adversos relacionados con el sistema nervioso central y sistema digestivo. Los eventos adversos más comunes en el estudio fueron vómitos, náuseas, mareos y somnolencia, todos con una frecuencia más alta cuando se administró quinagolida que cuando se utilizó placebo. La frecuencia de náuseas, vómitos y somnolencia aumentó con la dosis de quinagolida, aunque los mareos ocurrieron con una frecuencia similar en los tres grupos de quinagolida (Tabla 9).

Tabla 9 Frecuencia de acontecimientos adversos

	Placebo	50 µg/día	100 µg/día	200 µg/día
Randomizadas / ITT	53	51	52	26
Náuseas	13 (25%)	18 (35%)	26 (50%)	18 (69%)
Mareos	8 (15%)	21 (41%)	27 (52%)	11 (42%)
Somnolencia	7 (13%)	6 (12%)	7 (13%)	11 (42%)
Diarrea	7 (13%)	2 (4%)	1 (2%)	3 (12%)
Vómitos	4 (8%)	12 (24%)	37 (71%)	18 (69%)
Dolor abdominal (inferior)	4 (8%)	4 (8%)	4 (8%)	1 (4%)
Cefalea	3 (6%)	5 (10%)	5 (10%)	3 (12%)
Distensión abdominal	3 (6%)	0	1 (2%)	0
Flatulencia	2 (4%)	4 (8%)	1 (2%)	1 (4%)
Dolor abdominal (superior)	2 (4%)	3 (6%)	0	0
Síncope	0	1 (2%)	4 (8%)	3 (12%)

La mayoría de los efectos adversos gastrointestinales ocurrieron después de la primera y segunda administración del fármaco en investigación, y de modo dosis-dependiente en los grupos de quinagolida. Hacia el final de la primera semana de tratamiento, la aparición de nuevos eventos adversos gastrointestinales fue similar en todos los grupos de tratamiento, incluyendo el placebo. (Figura 10a). Del mismo modo, la mayor parte de los eventos adversos relacionados al sistema nervioso central (somnolencia y mareos) fueron observados en el día de la primera administración, y también de forma dosis-dependiente. La frecuencia de acontecimientos adversos relacionados con el sistema nervioso central fue similar para el grupo placebo y para los grupos de quinagolida después de los primeros 3 días de tratamiento (Figura 10b).

Figura 10: Acontecimientos adversos.



5.8 SEGUIMIENTO DE LAS PACIENTES

En el seguimiento posterior al estudio de las pacientes embarazadas se obtuvo información de 86 de ellas y de 119 fetos. Las tasas embarazo en curso y de nacidos vivos fueron similares entre los grupos de tratamiento (Tabla 10). De los 38 nacidos vivos en el grupo placebo, 14 (37%) nacieron entre 24 y 36 semanas y 24 (63%) con más de 37 semanas. En el grupo de 50 µg (con 30 nacidos vivos) 5 (17%) nacieron entre 24 y 36 semanas y 24 (80%) con más de 37 semanas (1 caso perdió el seguimiento). En el grupo de 100 µg (con 38 nacidos vivos) 13 (34%) nacieron entre 24 y 36 semanas y 19 (50%) con más de 37 semanas (6 casos perdieron el seguimiento). En el grupo de 200 µg (con 17 nacidos vivos) 3 (18%) nacieron entre 24 y 36 semanas y 10 (59%) con más de 37 semanas (4 casos perdieron el seguimiento). El peso al nacer fue comparable entre los grupos de tratamiento

(Tabla 10). No fueron registradas malformaciones congénitas en ninguno de los 38 recién nacidos del grupo placebo, mientras que se registraron 3 casos entre los 30 recién nacidos del grupo de quinagolida 50 mg/día (sindactilia, hidrocefalia, y enfermedad congénita quística del riñón), 3 casos entre los 38 recién nacidos del grupo de quinagolida 100 µg/día (2 casos de uréter doble, y una trisomía 21) y ninguno en los 17 recién nacidos del grupo de quinagolida 200 µg/día.

Tabla 10 Edad gestacional, sexo, peso y tamaño

	Placebo	50 µg/día	100 µg/día	200 µg/día
Randomizadas / ITT	53	51	52	26
Nacidos vivos	38	30	38	17
Edad gestacional				
< 24 semanas	0	0	0	0
24 - 36 semanas	14 (37%)	5 (17%)	13 (34%)	3 (18%)
≥ 37 semanas	24 (63%)	24 (80%)	19 (50%)	10 (59%)
Sin seguimiento	0	1 (3%)	6 (16%)	4 (24%)
Sexo				
Feminino	13 (34%)	12 (40%)	22 (58%)	12 (71%)
Masculino	25 (66%)	18 (60%)	16 (42%)	5 (29%)
Peso (g)	2700 ± 620	2841 ± 766	2569 ± 739	2671 ± 929
Tamaño (cm)	47 ± 3	49 ± 3	46 ± 4	48 ± 4

[6] DISCUSIÓN

La administración oral de un agonista de la dopamina a donantes de ovocitos y pacientes de FIV / ICSI se presenta como una nueva alternativa en el arsenal terapéutico utilizado en reproducción asistida para la prevención del SHO_p, es una vez que el SHO en una de las complicaciones más frecuentes y temidas. Este es el primer estudio aleatorizado, doble ciego, placebo-controlado, de búsqueda de dosis de un agonista de la dopamina en pacientes sometidas a TRA con riesgo de SHO_p. El estudio demuestra que la quinagolida a una dosis de 200 mg/día puede prevenir el SHO_p en pacientes de FIV y sugiere también, que dosis más bajas de quinagolida podrían ser eficaces.

La incidencia global del SHO_p moderado/grave observado en este ensayo fue menor de lo esperado, con una incidencia de 23% en el grupo placebo frente a un 52% registrado en el ensayo que se utilizó para los cálculos de tamaño muestral (Álvarez *et al.*, 2007b). Las posibles explicaciones para ello son las diferencias en las poblaciones de estudio y en la metodología. Aunque los parámetros de respuesta folicular necesarios para la participación fueron los mismos en los dos ensayos, una restricción más se presentó en el estudio de Álvarez, que sólo se analizaron datos de pacientes que tuvieron al menos 20 ovocitos recuperados y no los de todos los sujetos tratados (Álvarez *et al.*, 2007b). Aunque las tasas de SHO en el grupo placebo no son comparables entre los dos estudios, es importante tener en cuenta que la reducción relativa de la tasa de SHO con agonista de la dopamina frente al grupo placebo fue similar en los dos estudios (en torno al 50%). En este estudio se verificó una disminución significativa en la frecuencia de SHO cuando se compararon los 3 grupos de quinagolida con el placebo, sin embargo si comparados de forma individual, solamente en el grupo 200 µg/día hubo una reducción significativa, muy posiblemente debido al tamaño muestral, como se ha comentado anteriormente.

Aunque otros estudios han indicado una reducción de la incidencia de SHO o de la evidencia ecográfica de ascitis con los agonistas dopaminérgicos (Álvarez *et al.*, 2007b; Carizza *et al.*, 2008), este estudio demuestra por primera vez un efecto de dosis-respuesta. Identifica, también por primera vez, el embarazo clínico como un factor de confusión importante en la interpretación de los datos de eficacia pues solo en pacientes que no obtuvieron embarazo, la quinagolida disminuyó la incidencia de SHO_p moderado/grave de manera dosis-dependiente. Este hallazgo conduce a la hipótesis de que en mujeres que quedan embarazadas, o bien son necesarias dosis más altas del agonista de la dopamina para prevenir el SHO, o pueden estar presentes otros mediadores de PV y angiogenesis menos influenciados por los agonistas de la dopamina. En las pacientes que no lograron embarazo, la quinagolida tuvo un efecto significativo en la reducción de la incidencia de evidencia ecográfica de ascitis. La evaluación temporal de la acumulación de líquido abdominal muestra dos comportamientos completamente diferentes en pacientes embarazadas y no embarazadas. Entre los sujetos que obtuvieron embarazo clínico, el pico de volumen de líquido peritoneal observado en los primeros 9 días de tratamiento, fue reducido en un 50% en el grupo quinagolida 200 mg/día en comparación con el placebo.

La población incluida en este estudio está compuesta por mujeres con desarrollo de por lo menos 20 folículos, pero no más de 30, y el E₂ sérico < 6.000 pg/ml al final de la estimulación. Por lo tanto, estos sujetos estaban en riesgo de SHO moderado, pero en esta situación, el riesgo para SHO grave es limitado. Sin embargo, los datos obtenidos sobre el SHO_p grave también soportan los hallazgos del estudio ya que ninguno de los sujetos en los grupos quinagolida 100 y 200 mg/día presentaron SHO_p grave, aunque este fue el caso de tres sujetos en el grupo placebo y uno en el grupo quinagolida 50 mg/día.

El SHO_t se asocia con las formas más severas del síndrome, que puede dar lugar a

complicaciones graves y hospitalización (Mathur *et al.*, 2000.; Papanikolaou y cols., 2005). El presente estudio incluye el seguimiento de los casos de SHO_T, aunque no fue diseñado para evaluar la forma tardía de la patología, pues los participantes fueron seleccionados en base a estar en riesgo de SHO_p. En consonancia con los datos de Carizza y colaboradores (Carizza *et al.*, 2008), la quinagolida no tuvo efecto sobre la frecuencia de SHO_T moderada/grave. Esto coincide con la teoría de que el SHO_p y el SHO_T tienen mecanismos fisiopatológicos distintos, y está apoyado por la observación de que todos los casos de SHO_T ocurrieron en pacientes con embarazo clínico. Parece que, los altos niveles de HCG producidos por el trofoblasto y/u otros mecanismos fisiopatológicos podrían estar activados en las pacientes que logran un embarazo, lo que resulta en una cascada de eventos que conducen a un aumento de la PV que no es evitada con las dosis orales para de agonistas de la dopamina probadas hasta ahora. Existen, sin embargo, evidencias en la literatura de que el uso de dopamina por vía intravenosa en mujeres con SHO grave, promueve aumento de la diuresis y mejora de los síntomas de SHO (Ferraretti *et al.*, 1992). Aunque el mecanismo de acción de la dopamina no esté establecido en este estudio pionero, se sabe por los estudios en roedores y en seres humanos, que los agonistas de la dopamina son inhibidores potentes del aumento de la PV mediado por el VEGF, a través de la inhibición de la fosforilación del VEGF-R2 (al Gómez *et al.*, 2006; Álvarez *et al.*, 2007b). Estudios futuros deben establecer si la dopamina por vía intravenosa es el tratamiento de elección para el SHO_T en pacientes embarazadas.

La mayor preocupación con el uso de agonistas de la dopamina en TRA, es que las terapias que pueden reducir la PV también podrían disminuir la capacidad de implantación del embrión ya que la angiogénesis podría verse inhibida. En consonancia con estudios en los que la CB₂ no parece afectar los resultados de los tratamientos (Álvarez *et al.*, 2007b; Carizza *et al.*, 2008.), las tasas de

embarazo clínico fueron comparables en los grupos de quinagolida y placebo, lo que indica que la administración de quinagolida durante 3 semanas después de la administración de la HCG, no tiene impacto negativo sobre el éxito del tratamiento. No hubo efecto dosis dependiente sobre las tasas de embarazo o de nacidos vivos y ni siquiera la mayor dosis de quinagolida influyó negativamente en la probabilidad de las pacientes concebir. Lo que se observó en este estudio fue una tasa de aborto significativamente más alta en las pacientes del grupo placebo. Este hecho se puede atribuir al tamaño de la muestra.

Los datos sobre la salud neonatal de los recién nacidos no generan preocupaciones sobre la seguridad de la utilización de quinagolida durante las 3 semanas posteriores a la recuperación de ovocitos. No se observó un patrón de dosis dependiente en las anomalías congénitas reportadas en el seguimiento posestudio. La corta vida media de la quinagolida (17 horas) en comparación con otros agonistas dopaminérgicos reduce al máximo la exposición al compuesto durante la organogénesis. Los dos casos de duplicación de uréter documentados en este estudio ocurrieron en embarazos dobles donde el otro gemelo no tenía afectación. Este tipo de malformación es relativamente común, con una incidencia de 4-5% de los individuos radiológicamente investigados y no ha sido asociada a exposición a medicamentos. El tiempo de exposición a la quinagolida no coincide con el periodo de formación de los uréteres (5 semanas tras la concepción), lo que lleva a concluir que los acontecimientos fueron aleatorios.

Las náuseas, vómitos, mareos y somnolencia fueron más frecuentes en las pacientes tratadas con quinagolida y aparecieron en una forma dosis dependiente. Sin embargo, la mayoría de efectos de la quinagolida se mostraron en los 3 primeros días de administración, y sobre todo después de la primera dosis. La dosis de 200 mg de quinagolida fue la más efectiva en la prevención del SHO moderada/grave, pero esta dosis se asoció a una peor tolerancia.

[7] CONCLUSIONES

El SHO_p es desencadenado por la administración de HCG en pacientes con riesgo para desarrollar el síndrome.

La quinagolida es capaz de disminuir la incidencia del SHO de manera dosis-dependiente.

El efecto de la quinagolida es más marcado en pacientes que no logran embarazo durante el ciclo de TRA, sugiriendo que pueden existir otros mediadores para el SHO en estas pacientes.

La quinagolida no compromete los resultados de las TRA.

La tolerabilidad de la quinagolida en altas dosis es reducida, aunque los efectos adversos tienden a disminuir a partir del tercer día de administración y ninguno es grave ni compromete la salud de la paciente o de su embarazo.

[8] BIBLIOGRAFÍA

Aboulghar M, Evers JH, Al-Inany H. Intravenous albumin for preventing severe ovarian hyperstimulation syndrome: a Cochrane review. *Hum Reprod* 2002; 17(12): 3027-32.

Aboulghar MA, Mansour RT, Amin YM, Al-Inany HG, Aboulghar MM, Serour GI. A prospective randomized study comparing coasting with GnRH antagonist administration in patients at risk for severe OHSS. *Reprod Biomed Online* 2007; 15(3): 271-9.

Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI, Elhelw BA, Shaarawy M. Elevated concentrations of angiogenin in serum and ascitic fluid from patients with severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod* 1998; 13(8): 2068-71.

Abramov Y, Elchalal U, Schenker JG. Severe OHSS: An 'epidemic' of severe OHSS: a price we have to pay? *Hum Reprod* 1999; 14(9): 2181-3.

Abramov Y, Barak V, Nisman B, Schenker JG. Vascular endothelial growth factor plasma levels correlate to the clinical picture in severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 1997; 67(2): 261-5.

Acevedo B, Gomez-Palomares JL, Ricciarelli E, Hernández ER. Triggering ovulation with gonadotropin-releasing hormone agonists does not compromise embryo implantation rates. *Fertil Steril* 2006; 86(6): 1682-7.

Agrawal R, Tan SL, Wild S, Sladkevicius P, Engmann L, Payne N, Bekir J, Campbell S, Conway G, Jacobs H. Serum vascular endothelial growth factor concentrations in in vitro fertilization cycles predict the risk of ovarian hyperstimulation

syndrome. *Fertil Steril* 1999; 71(2): 287-93.

Albano C, Felberbaum RE, Smitz J, Riethmüller-Winzen H, Engel J, Diedrich K, Devroey P. Ovarian stimulation with HMG: results of a prospective randomized phase III European study comparing the luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH)-antagonist cetrorelix and the LHRH-agonist buserelin. *European Cetrorelix Study Group. Hum Reprod* 2000; 15(3): 526-31.

Al-Hasani S, Ozmen B, Koutlaki N, Schoepper B, Diedrich K, Schultze-Mosgau A. Three years of routine vitrification of human zygotes: is it still fair to advocate slow-rate freezing? *Reprod Biomed Online* 2007; 14: 288–93.

Al-Inany HG, Abou-Setta AM, Aboulghar M. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted conception: a Cochrane review. *Reprod Biomed Online* 2007; 14(5): 640-9.

Al-Inany HG, Abou-Setta AM, Aboulghar M. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted conception: a Cochrane review. *Reprod Biomed Online* 2007; 14(5): 640-9.

Albert C, Garrido N, Mercader A, Rao CV, Remohí J, Simón C, Pellicer A. The role of endothelial cells in the pathogenesis of ovarian hyperstimulation syndrome. *Mol Hum Reprod* 2002; 8(5): 409-18.

Alvarez C, Alonso-Muriel I, García G, Crespo J, Bellver J, Simón C, Pellicer A. Implantation is apparently unaffected by the dopamine agonist Cabergoline when administered to prevent ovarian hyperstimulation syndrome in women undergoing assisted reproduction treatment: a pilot study. *Hum Reprod* 2007; 22(12): 3210-4.

Alvarez C, Martí-Bonmatí L, Novella-Maestre E, Sanz R, Gómez R,

Fernández-Sánchez M, Simón C, Pellicer A. Dopamine agonist cabergoline reduces hemoconcentration and ascites in hyperstimulated women undergoing assisted reproduction. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(8): 2931-7.

Amso NN, Ahuja KK, Morris N, Shaw RW. The management of predicted ovarian hyperstimulation involving gonadotropin-releasing hormone analog with elective cryopreservation of all pre-embryos. *Fertil Steril* 1990; 53(6): 1087-90.

Antczak M, Van Blerkom J. The vascular character of ovarian follicular granulosa cells: phenotypic and functional evidence for an endothelial-like cell population. *Hum Reprod* 2000; 15(11): 2306-18.

Antinori M, Licata E, Dani G, Cerusico F, Versaci C, Antinori S. Cryotop vitrification of human oocytes results in high survival rate and healthy deliveries. *Reprod Biomed Online* 2007; 14: 72-9.

Antonini A, Poewe W. Fibrotic heart-valve reactions to dopamine-agonist treatment in Parkinson's disease. *Lancet Neurol* 2007; 6(9): 826-9.

Asch RH, Balmaceda JP, Weckstein LN, Stone SC. Severe ovarian hyperstimulation syndrome in assisted reproductive technology: definition of high risk groups. *Hum Reprod* 1991; 6: 1395-9.

Asch RH, Ivery G, Goldsman M, Frederick JL, Stone SC, Balmaceda JP. The use of intravenous albumin in patients at high risk for severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod* 1993; 8(7): 1015-20.

Babayof R, Margalioth EJ, Huleihel M, Amash A, Zylber-Haran E, Gal M, Brooks B, Mimoni T, Eldar-Geva T. Serum inhibin A, VEGF and TNFalpha levels after triggering oocyte maturation with GnRH agonist compared with HCG in women

with polycystic ovaries undergoing IVF treatment: a prospective randomized trial. *Hum Reprod* 2006; 21(5): 1260-5.

Basu S, Nagy JA, Pal S, Vasile E, Eckelhoefer IA, Bliss VS, Manseau EJ, Dasgupta PS, Dvorak HF, Mukhopadhyay D. The neurotransmitter dopamine inhibits angiogenesis induced by vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor. *Nat Med* 2001; 7(5): 569-74.

Bayram N, van Wely M, Vandekerckhove P, Lilford R, van Der Veen F. Pulsatile luteinising hormone releasing hormone for ovulation induction in subfertility associated with polycystic ovary syndrome. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; (2):CD000412.

Bellver J, Muñoz EA, Ballesteros A, Soares SR, Bosch E, Simón C, Pellicer A, Remohí J. Intravenous albumin does not prevent moderate-severe ovarian hyperstimulation syndrome in high-risk IVF patients: a randomized controlled study. *Hum Reprod* 2003 Nov; 18(11): 2283-8.

Bentick B, Shaw RW, Iffland CA, Burford G, Bernard A. IVF pregnancy after induction of an ovulatory endogenous gonadotrophin surge using an LHRH agonist nasal spray. *Hum Reprod* 1990; 5(5): 570-2.

Bergh PA, Navot D. Ovarian hyperstimulation syndrome: a review of pathophysiology. *J Assist Reprod Genet* 1992; 9(5): 429-38.

Blankstein J, Shalev J, Saadon T, Kukia EE, Rabinovici J, Pariente C, Lunenfeld B, Serr DM, Mashiach S. Ovarian hyperstimulation syndrome: prediction by number and size of preovulatory ovarian follicles. *Fertil Steril* 1987; 47(4): 597-602.

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.

Brekken RA, Overholser JP, Stastny VA, Waltenberger J, Minna JD, Thorpe PE. Selective inhibition of vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor 2 (KDR/Flk-1) activity by a monoclonal anti-VEGF antibody blocks tumor growth in mice. *Cancer Res* 2000; 60(18): 5117-24.

Buckett WM, Bentick B, Shaw RW. Induction of the endogenous gonadotrophin surge for oocyte maturation with intra-nasal gonadotrophin-releasing hormone analogue (buserelin): effective minimal dose. *Hum Reprod* 1998; 13(4): 811-4.

Burchardt M, Burchardt T, Chen MW, Shabsigh A, de la Taille A, Buttyan R, Shabsigh R. Expression of messenger ribonucleic acid splice variants for vascular endothelial growth factor in the penis of adult rats and humans. *Biol Reprod* 1999; 60(2): 398-404.

Buvat J, Buvat-Herbaut M, Marcolin G, Dehaene JL, Verbecq P, Renouard O. Purified follicle-stimulating hormone in polycystic ovary syndrome: slow administration is safer and more effective. *Fertil Steril* 1989; 52(4): 553-9.

Buvat J, Buvat-Herbaut M. Induction of ovulation. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 1985; 14(7): 899-913.

Buyalos RP, Lee CT. Polycystic ovary syndrome: pathophysiology and outcome with in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1996; 65(1): 1-10.

Carizza C, Abdelmassih V, Abdelmassih S, Ravizzini P, Salgueiro L, Salgueiro PT, Jine LT, Nagy P, Abdelmassih R. Cabergoline reduces the early onset of ovarian

hyperstimulation syndrome: a prospective randomized study. *Reprod Biomed Online* 2008; 17(6): 751-5.

Chang RJ, Nakamura RM, Judd HL, Kaplan SA. Insulin resistance in nonobese patients with polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1983; 57(2): 356-9.

Check JH, Wu CH, Gocial B, Adelson HG. Severe ovarian hyperstimulation syndrome from treatment with urinary follicle-stimulating hormone: two cases. *Fertil Steril* 1985; 43(2): 317-9.

Chen CD, Wu MY, Chen HF, Chen SU, Ho HN, Yang YS. Prognostic importance of serial cytokine changes in ascites and pleural effusion in women with severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 1999; 72(2): 286-92.

Cobo A, Kuwayama M, Pérez S, Ruiz A, Pellicer A, Remohí J. Comparison of concomitant outcome achieved with fresh and cryopreserved donor oocytes vitrified by the Cryotop method. *Fertil Steril* 2008; 89(6): 1657-64.

D'Angelo A, Davies R, Salah E, Nix BA, Amso NN. Value of the serum estradiol level for preventing ovarian hyperstimulation syndrome: a retrospective case control study. *Fertil Steril* 2004; 81(2): 332-6.

Daya S, Gunby J. Recombinant versus urinary follicle stimulating hormone for ovarian stimulation in assisted reproduction cycles. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; (3): CD002810.

Daya S. Updated meta-analysis of recombinant follicle-stimulating hormone (FSH) versus urinary FSH for ovarian stimulation in assisted reproduction. *Fertil Steril* 2002; 77(4): 711-4.

De Jong D, Van Hooren EG, Macklon NS, Mannaerts BM, Fauser BC. Pregnancy and birth after GnRH agonist treatment for induction of final oocyte maturation in a woman undergoing ovarian stimulation for ICSI, using a GnRH antagonist (Orgalutran/Antagon) to prevent a premature LH surge: a case report. *J Assist Reprod Genet* 2001; 18(1): 30-3.

Delvigne A, Dubois M, Battheu B, Bassil S, Meuleman C, De Sutter P, Rodesch C, Janssens P, Remacle P, Gordts S, *et al.* The ovarian hyperstimulation syndrome in in-vitro fertilization: a Belgian multicentric study. II. Multiple discriminant analysis for risk prediction. *Hum Reprod* 1993; 8(9): 1361-6.

Delvigne A, Rozenberg S. A qualitative systematic review of coasting, a procedure to avoid ovarian hyperstimulation syndrome in IVF patients. *Hum Reprod Update* 2002; 8(3): 291-6.

Delvigne A, Rozenberg S. A qualitative systematic review of coasting, a procedure to avoid ovarian hyperstimulation syndrome in IVF patients. *Hum Reprod Update* 2002; 8(3): 291-6.

Delvigne A, Rozenberg S. Preventive attitude of physicians to avoid OHSS in IVF patients. *Hum Reprod* 2001; 16(12): 2491-5.

Dor J, Shulman A, Levran D, Ben-Rafael Z, Rudak E, Mashiach S. The treatment of patients with polycystic ovarian syndrome by in-vitro fertilization and embryo transfer: a comparison of results with those of patients with tubal infertility. *Hum Reprod* 1990; 5(7): 816-8.

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(5): 639-44.

Enskog A, Henriksson M, Unander M, Nilsson L, Brännström M. Prospective study of the clinical and laboratory parameters of patients in whom ovarian hyperstimulation syndrome developed during controlled ovarian hyperstimulation for in-vitro fertilization. *Fertil Steril* 1999; 71: 808–814.

Fausser BC, Bouchard P, Coelingh Bennink HJ, Collins JA, Devroey P, Evers JL, van Steirteghem A. Alternative approaches in IVF. *Hum Reprod Update*. 2002;8 (1): 1-9.

Ferraretti AP, Gianaroli L, Magli C, Fortini D, Selman HA, Feliciani E. Elective cryopreservation of all pronucleate embryos in women at risk of ovarian hyperstimulation syndrome: efficiency and safety. *Hum Reprod* 1999; 14(6): 1457-60.

Figuerola Casas P. Extraordinary ovarian reaction to gonadotropins: fatal case. *An Cir (Rosario)* 1958; 23(3): 116-23.

Forman RG, Frydman R, Egan D, Ross C, Barlow DH. Severe ovarian hyperstimulation syndrome using agonists of gonadotropin-releasing hormone for in vitro fertilization: a European series and a proposal for prevention. *Fertil Steril* 1990 Mar; 53(3): 502-9.

Fulghesu AM, Villa P, Pavone V, Guido M, Apa R, Caruso A, Lanzone A, Rossodivita A, Mancuso S. The impact of insulin secretion on the ovarian response to exogenous gonadotropins in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82(2): 644-8.

Garcea N, Campo S, Panetta V, Venneri M, Siccardi P, Dargenio R, De Tomasi F. Induction of ovulation with purified urinary follicle-stimulating hormone in patients with polycystic ovarian syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 151(5): 635-40.

García-Velasco JA, Zúñiga A, Pacheco A, Gómez R, Simón C, Remohí J, Pellicer A. Coasting acts through downregulation of VEGF gene expression and protein secretion. *Hum Reprod* 2004; 19(7): 1530-8.

Gemzell CA, Diczfaluzi E, Tillinger G. Clinical effect of human pituitary follicle-stimulating hormone (FSH). *J Clin Endocrinol Metab* 1958; 18(12): 1333-48.

Gemzell CA. The use of human gonadotrophins in gynecological disorders. In (Keller, Ed) *Modern Trends in Gynecology*. London: BUTTERWORTH. 1963: 133.

Glade-Bender J, Kandel JJ, Yamashiro DJ. VEGF blocking therapy in the treatment of cancer. *Expert Opin Biol Ther* 2003; 3: 263-276.

Golan A, Ron-el R, Herman A, Soffer Y, Weinraub Z, Caspi E. Ovarian hyperstimulation syndrome: an update review. *Obstet Gynecol Surv* 1989; 44(6): 430-40.

Gómez R, Simón C, Remohí J, Pellicer A. Administration of moderate and high doses of gonadotropins to female rats increases ovarian vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptor-2 expression that is associated to vascular hyperpermeability. *Biol Reprod* 2003; 68(6): 2164-71.

Gómez R, Simón C, Remohi J, Pellicer A. Vascular endothelial growth factor receptor-2 activation induces vascular permeability in hyperstimulated rats, and this effect is prevented by receptor blockade. *Endocrinology* 2002; 143: 4339-4348.

Gómez R, González-Izquierdo M, Zimmermann RC, Novella-Maestre E, Alonso-Muriel I, Sanchez-Criado J, Remohi J, Simón C, Pellicer A. Low-dose dopamine agonist administration blocks vascular endothelial growth factor (VEGF)-mediated vascular hyperpermeability without altering VEGF receptor 2-dependent

luteal angiogenesis in a rat ovarian hyperstimulation model. *Endocrinology* 2006; 147(11): 5400-11.

Gordon JD, Mesiano S, Zaloudek CJ, Jaffe RB. Vascular endothelial growth factor localization in human ovary and fallopian tubes: possible role in reproductive function and ovarian cyst formation. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81(1): 353-9.

Griesinger G, Diedrich K, Devroey P, Kolibianakis EM. GnRH agonist for triggering final oocyte maturation in the GnRH antagonist ovarian hyperstimulation protocol: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2006; 12(2): 159-68.

Griesinger G, von Otte S, Schroer A, Ludwig AK, Diedrich K, Al-Hasani S, Schultze-Mosgau A. Elective cryopreservation of all pronuclear oocytes after GnRH agonist triggering of final oocyte maturation in patients at risk of developing OHSS: a prospective, observational proof-of-concept study. *Hum Reprod* 2007; 22(5): 1348-52.

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): 1-16.

Haning RV Jr, Austin CW, Carlson IH, Kuzma DL, Shapiro SS, Zweibel WJ. Plasma estradiol is superior to ultrasound and urinary estriol glucuronide as a predictor of ovarian hyperstimulation during induction of ovulation with menotropins. *Fertil Steril* 1983; 40(1): 31-6.

Heryanto B, Lipson KE, Rogers PA. Effect of angiogenesis inhibitors on oestrogen-mediated endometrial endothelial cell proliferation in the ovariectomized mouse. *Reproduction* 2003; 125: 337-346.

Homburg R, Insler V. Ovulation induction in perspective. *Hum Reprod Update* 2002; 8(5): 449-62.

Hornig C, Behn T, Bartsch W, Yayon A, Weich HA. Detection and quantification of complexed and free soluble human vascular endothelial growth factor receptor-1 (sVEGFR-1) by ELISA. *J Immunol Methods* 1999; 226(1-2): 169-77.

Hughes EG, Robertson DM, Handelsman DJ, Hayward S, Healy DL, de Kretser DM. Inhibin and estradiol responses to ovarian hyperstimulation: effects of age and predictive value for in vitro fertilization outcome. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 70(2): 358-64.

Humaidan P, Bredkjaer HE, Bungum L, Bungum M, Grøndahl ML, Westergaard L, Andersen CY. GnRH agonist (buserelin) or HCG for ovulation induction in GnRH antagonist IVF/ICSI cycles: a prospective randomized study. *Hum Reprod* 2005; 20(5): 1213-20.

Humaidan P, Papanikolaou EG, Kyrou D, Alsbjerg B, Polyzos NP, Devroey P, Fatemi HM. The luteal phase after GnRH-agonist triggering of ovulation: present and future perspectives. *Reprod Biomed Online* 2012; 24(2): 134-41.

Isaza V, Garcia-Velasco JA, Scheffer B, Remohi J, Simón C, Pellicer A. El coasting es eficaz en la prevención del síndrome de hiperestimulación ovárica y no afecta los resultados de la fecundación in Vitro. *Progr Obstet Ginecol* 2001; 44: 482-9.

Kahnberg A, Enskog A, Brännström M, Lundin K, Bergh C. Prediction of ovarian hyperstimulation syndrome in women undergoing in vitro fertilization. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2009; 88(12): 1373-81.

Kamat BR, Brown LF, Manseau EJ, Senger DR, Dvorak HF. Expression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor by human granulosa and theca lutein cells. Role in corpus luteum development. *Am J Pathol* 1995; 146(1): 157-65.

Kang SK, Choi KC, Yang HS, Leung PC. Potential role of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH)-I and GnRH-II in the ovary and ovarian cancer. *Endocr Relat Cancer* 2003; 10(2): 169-77.

Kars M, Delgado V, Holman ER, Feelders RA, Smit JW, Romijn JA, Bax JJ, Pereira AM. Aortic valve calcification and mild tricuspid regurgitation but no clinical heart disease after 8 years of dopamine agonist therapy for prolactinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(9): 3348-56.

Katayama KP, Stehlik J, Kuwayama M, Kato O, Stehlik E. High survival rate of vitrified human oocytes results in clinical pregnancy. *Fertil Steril* 2003; 80(1): 223-4.

Keleştimur F, Sahin Y. Relationship of ovarian stromal volume and serum 17-hydroxyprogesterone concentrations in patients with PCOS. *Hum Reprod* 1999; 14(8): 2177.

Kendall RL, Wang G, Thomas KA. Identification of a natural soluble form of the vascular endothelial growth factor receptor, FLT-1, and its heterodimerization with KDR. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 226(2): 324-8.

Kendall RL, Thomas KA. Inhibition of vascular endothelial cell growth factor activity by an endogenously encoded soluble receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90(22): 10705-9.

Knox GE. Antihistamine blockade of the ovarian hyperstimulation syndrome.

Am J Obstet Gynecol 1974; 118(7): 992-4.

Kobayashi H, Okada Y, Asahina T, Gotoh J, Terao T. The kallikrein-kinin system, but not vascular endothelial growth factor, plays a role in the increased vascular permeability associated with ovarian hyperstimulation syndrome. *J Mol Endocrinol* 1998; 20(3): 363-74.

Kolibianakis EM, Schultze-Mosgau A, Schroer A, van Steirteghem A, Devroey P, Diedrich K, Griesinger G. A lower ongoing pregnancy rate can be expected when GnRH agonist is used for triggering final oocyte maturation instead of HCG in patients undergoing IVF with GnRH antagonists. *Hum Reprod* 2005; 20(10): 2887-92.

Khosravi S, Leung PC. Differential regulation of gonadotropin-releasing hormone (GnRH)I and GnRHII messenger ribonucleic acid by gonadal steroids in human granulosa luteal cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(2): 663-72.

Kuonen BC, Taberner J, Baselga J, Cavalli F, Pfanner E, Conte PF, Seeber S, Madhusudan S, Deplanque G, Huisman H, Scigalla P, Hoekman K, Harris AL. Efficacy and toxicity of the angiogenesis inhibitor SU5416 as a single agent in patients with advanced renal cell carcinoma, melanoma, and soft tissue sarcoma. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 1648-1655.

Kuwayama M. Highly efficient vitrification for cryopreservation of human oocytes and embryos: the Cryotop method. *Theriogenology* 2007; 67(1): 73-80.

Levinsohn-Tavor O, Friedler S, Schachter M, Raziel A, Strassburger D, Ron-El R. Coasting-what is the best formula? *Hum Reprod* 2003; 18(5): 937-40.

Lewis CG, Warnes GM, Wang XJ, Matthews CD. Failure of body mass index

or body weight to influence markedly the response to ovarian hyperstimulation in normal cycling women. *Fertil Steril* 1990; 53(6): 1097-9.

Lim K-S, Son W-Y, Yoon S-H, Lim J-H. MIV/F-ET in stimulated cycles for the prevention of OHSS. *Fertil Steril* 2002; 78(Supplement 1): S10-S10.

Lim KS, Yoon SH, LimJH. MIV as an alternative for overresponders. In: Tan SI, Chian RC, Buckett WM (Ed.) *In vitro maturation of human oocytes Basic science to clinical application*. 2007 London: Informa Healthcare; 345-52.

Loret de Mola JR, Baumgardner GP, Goldfarb JM, Friedlander MA. Ovarian hyperstimulation syndrome: pre-ovulatory serum concentrations of interleukin-6, interleukin-1 receptor antagonist and tumour necrosis factor-alpha cannot predict its occurrence. *Hum Reprod* 1996; 11(7): 1377-80.

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; 265(4): 175-82.

Lunenfeld B, Isersky C, Shelesnyak MC. Immunologic studies on gonadotropins: I. Immunogenic properties and immunologic characterization of human chorionic gonadotropin preparations (HCG) and their homologous antisera. *J Clin Endocrinol Metab* 1962; 22: 555-63.

Lunenfeld B, Rabau E, Sulomovici S, Eshko L. Treatment of amenorrhea by gonadotropic substances from women's urine. *Harefuah* 1963; 64: 289-92.

Lyons CA, Wheeler CA, Frishman GN, Hackett RJ, Seifer DB, Haning RV Jr. Early and late presentation of the ovarian hyperstimulation syndrome: two distinct entities with different risk factors. *Hum Reprod* 1994; 9(5): 792-9.

Magini A, Granchi S, Orlando C, Vannelli GB, Pellegrini S, Milani S, Grappone C, De Franco R, Susini T, Forti G, Maggi M. Expression of endothelin-1 gene and protein in human granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81(4): 1428-33.

Mansour R, Aboulghar M, Serour G, Amin Y, Abou-Setta AM. Criteria of a successful coasting protocol for the prevention of severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod* 2005; 20(11): 3167-72.

Martin NM, Tan T, Meeran K. Dopamine agonists and hyperprolactinaemia. *BMJ* 2009; 338: b381.

Mathur R; Jenkins J. Is ovarian hyperstimulation syndrome associated with a poor obstetric outcome? *Br J Obst Gynecol* 2000; 83: 943-946.

Melo M, Busso CE, Bellver J, Alama P, Garrido N, Meseguer M, Pellicer A, Remohí J. GnRH agonist versus recombinant HCG in an oocyte donation programme: a randomized, prospective, controlled, assessor-blind study. *Reprod Biomed Online* 2009; 19(4): 486-92.

Moreno L, Diaz I, Pacheco A, Zúñiga A, Requena A, Garcia-Velasco JA. Extended coasting duration exerts a negative impact on IVF cycle outcome due to premature luteinization. *Reprod Biomed Online* 2004; 9(5): 500-4.

Nargund G, Hutchison L, Scaramuzzi R, Campbell S. Low-dose HCG is useful in preventing OHSS in high-risk women without adversely affecting the outcome of IVF cycles. *Reprod Biomed Online* 2007; 14(6): 682-5.

Navot D, Bergh PA, Laufer N. Ovarian hyperstimulation syndrome in novel reproductive technologies: prevention and treatment. *Fertil Steril* 1992; 58: 249-261.

Navot D, Margalioth EJ, Laufer N, Birkenfeld A, Relou A, Rosler A, Schenker JG. Direct correlation between plasma renin activity and severity of the ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 1987; 48(1): 57-61.

Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J* 1999; 13(1): 9-22.

Neulen J, Yan Z, Raczek S, Weindel K, Keck C, Weich HA, Marmé D, Breckwoldt M. Human chorionic gonadotropin-dependent expression of vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor in human granulosa cells: importance in ovarian hyperstimulation syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80(6): 1967-71.

Olivennes F, Fanchin R, Bouchard P, Taieb J, Frydman R. Triggering of ovulation by a gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist in patients pretreated with a GnRH antagonist. *Fertil Steril* 1996; 66(1): 151-3.

Olivennes F, Belaisch-Allart J, Emperaire JC, Dechaud H, Alvarez S, Moreau L, Nicolle B, Zorn JR, Bouchard P, Frydman R. Prospective, randomized, controlled study of in vitro fertilization-embryo transfer with a single dose of a luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) antagonist (cetorelix) or a depot formula of an LH-RH agonist (triptorelin). *Fertil Steril* 2000; 73(2): 314-20.

Olson TA, Mohanraj D, Carson LF, Ramakrishnan S. Vascular permeability factor gene expression in normal and neoplastic human ovaries. *Cancer Res* 1994; 54(1): 276-80.

Orvieto R, Rabinson J, Meltzer S, Zohav E, Anteby E, Homburg R. Substituting HCG with GnRH agonist to trigger final follicular maturation--a retrospective comparison of three different ovarian stimulation protocols. *Reprod Biomed Online*

2006; 13(2): 198-201.

Otani N, Minami S, Yamoto M, Shikone T, Otani H, Nishiyama R, Otani T, Nakano R. The vascular endothelial growth factor/fms-like tyrosine kinase system in human ovary during the menstrual cycle and early pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84(10): 3845-51.

Papanikolaou EG, Tournaye H, Verpoest W, Camus M, Vernaev V, Van Steirteghem A, Devroey P. Early and late ovarian hyperstimulation syndrome: early pregnancy outcome and profile. *Hum Reprod* 2005; 20(3): 636-41.

Pattinson HA, Hignett M, Dunphy BC, Fleetham JA. Outcome of thaw embryo transfer after cryopreservation of all embryos in patients at risk of ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 1994; 62(6): 1192-6.

Pau E, Alonso-Muriel I, Gómez R, Novella E, Ruiz A, García-Velasco JA, Simón C, Pellicer A. Plasma levels of soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 may determine the onset of early and late ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod* 2006; 21(6): 1453-60.

Pauli SA, Tang H, Wang J, Bohlen P, Posser R, Hartman T, Sauer MV, Kitajewski J, Zimmermann RC. The vascular endothelial growth factor (VEGF)/VEGF receptor 2 pathway is critical for blood vessel survival in corpora lutea of pregnancy in the rodent. *Endocrinology* 2005; 146: 1301-1311.

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-1beta, interleukin-6, and vascular endothelial growth factor. *Fertil Steril* 1999; 71(3): 482-9.

Phillips HS, Hains J, Leung DW, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is expressed in rat corpus luteum. *Endocrinology* 1990; 127(2): 965-7.

Queenan JT Jr, Veeck LL, Toner JP, Oehninger S, Muasher SJ. Cryopreservation of all prezygotes in patients at risk of severe hyperstimulation does not eliminate the syndrome, but the chances of pregnancy are excellent with subsequent frozen-thaw transfers. *Hum Reprod* 1997; 12(7): 1573-6.

Quinn TP, Peters KG, De Vries C, Ferrara N, Williams LT. Fetal liver kinase 1 is a receptor for vascular endothelial growth factor and is selectively expressed in vascular endothelium. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90(16): 7533-7.

Rabau E, David A, Serr DM, Mashiach S, Lunenfeld, B. Human menopausal ovarian gonadotrophin for anovulation and sterility. *Am J Obstet Gynecol* 1967; 98: 92-8.

Ragni G, Vegetti W, Riccaboni A, Engl B, Brigante C, Crosignani PG. Comparison of GnRH agonists and antagonists in assisted reproduction cycles of patients at high risk of ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod* 2005; 20(9): 2421-5.

Raj SG, Berger MJ, Grimes EM, Taymor ML. The use of gonadotropins for the induction of ovulation in women with polycystic ovarian disease. *Fertil Steril* 1977; 28(12): 1280-4.

Rizk B, Aboulghar M, Smitz J, Ron-El R. The role of vascular endothelial growth factor and interleukins in the pathogenesis of severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod Update* 1997; 3(3): 255-66.

Rizk B, Aboulghar M. Classification, pathophysiology and management

of ovarian hyperstimulation syndrome. In (Brisden P, Ed.) A textbook of In-Vitro Fertilization and Assisted Reproduction. UK: PARTHENON 1999; 131-55.

Rizk B, Aboulghar M. Modern management of ovarian hyperstimulation syndrome. Hum Reprod 1991; 6(8): 1082-7.

Rizk B, Smits J. Ovarian hyperstimulation syndrome after superovulation using GnRH agonists for IVF and related procedures. Hum Reprod 1992; 7(3): 320-7.

Rizk B. Prevention of ovarian hyperstimulation syndrome. In: Rizk B. Ovarian hyperstimulation syndrome. New York: Cambridge University Press 2006; 130- 99.

Roberts WG, Palade GE. Neovasculature induced by vascular endothelial growth factor is fenestrated. Cancer Res 1997; 57(4): 765-72.

Rockwell LC, Pillai S, Olson CE, Koos RD. Inhibition of vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor action blocks estrogen-induced uterine edema and implantation in rodents. Biol Reprod 2002; 67: 1804–1810.

van Santbrink EJ, Donderwinkel PF, van Dessel TJ, Fauser BC. Gonadotrophin induction of ovulation using a step-down dose regimen: single-centre clinical experience in 82 patients. Hum Reprod 1995; 10(5): 1048-53.

Sarkar C, Chakroborty D, Mitra RB, Banerjee S, Dasgupta PS, Basu S. Dopamine in vivo inhibits VEGF-induced phosphorylation of VEGFR-2, MAPK, and focal adhesion kinase in endothelial cells. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2004; 287(4): 1554-60.

Schenker JG, Weinstein D. Ovarian hyperstimulation syndrome: a current

survey. *Fertility and Sterility* 1978; 30: 255–268.

Selman H, Angelini A, Barnocchi N, Brusco GF, Pacchiarotti A, Aragona C. Ongoing pregnancies after vitrification of human oocytes using a combined solution of ethylene glycol and dimethyl sulfoxide. *Fertil Steril* 2006; 86: 997–1000.

Senger DR, Perruzzi CA, Feder J, Dvorak HF. A highly conserved vascular permeability factor secreted by a variety of human and rodent tumor cell lines. *Cancer Res* 1986; 46(11): 5629-32.

Senger DR, Van de Water L, Brown LF, Nagy JA, Yeo KT, Yeo TK, Berse B, Jackman RW, Dvorak AM, Dvorak HF. Vascular permeability factor (VPF, VEGF) in tumor biology. *Cancer Metastasis Rev* 1993; 12(3-4): 303-24.

Senger DR, Connolly DT, Van de Water L, Feder J, Dvorak HF. Purification and NH₂-terminal amino acid sequence of guinea pig tumor-secreted vascular permeability factor. *Cancer Res* 1990; 50(6): 1774-8.

Shalaby F, Rossant J, Yamaguchi TP, Gertsenstein M, Wu XF, Breitman ML, Schuh AC. Failure of blood-island formation and vasculogenesis in Flk-1-deficient mice. *Nature* 1995; 376(6535): 62-6.

Sher G, Zouves C, Feinman M, Maassarani G. 'Prolonged coasting': an effective method for preventing severe ovarian hyperstimulation syndrome in patients undergoing in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1995; 10(12): 3107-9.

Shima DT, Kuroki M, Deutsch U, Ng YS, Adamis AP, D'Amore PA. The mouse gene for vascular endothelial growth factor. Genomic structure, definition of the transcriptional unit, and characterization of transcriptional and post-transcriptional regulatory sequences. *J Biol Chem* 1996; 271(7): 3877-83.

Schmidt DW, Maier DB, Nulsen JC, Benadiva CA. Reducing the dose of human chorionic gonadotropin in high responders does not affect the outcomes of in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2004; 82(4): 841-6.

Shoham Z, Weissman A, Barash A, Borenstein R, Schachter M, Insler V. Intravenous albumin for the prevention of severe ovarian hyperstimulation syndrome in an in vitro fertilization program: a prospective, randomized, placebo-controlled study. *Fertil Steril* 1994; 62(1): 137-42.

Smits J, Camus M, Devroey P, Erard P, Wisanto A, Van Steirteghem AC. Incidence of severe ovarian hyperstimulation syndrome after GnRH agonist/HMG superovulation for in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1990; 5(8): 933-7.

The ganirelix dose-finding study group. A double-blind, randomized, dose-finding study to assess the efficacy of the gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix (Org 37462) to prevent premature luteinizing hormone surges in women undergoing ovarian stimulation with recombinant follicle stimulating hormone (Puregon). *Hum Reprod* 1998; 13(11): 3023-31.

Tiitinen A, Husa LM, Tulppala M, Simberg N, Seppälä M. The effect of cryopreservation in prevention of ovarian hyperstimulation syndrome. *Br J Obstet Gynaecol* 1995; 102(4): 326-9.

Tinkanen H, Bläuer M, Laippala P, Tuohimaa P, Kujansuu E. Prognostic factors in controlled ovarian hyperstimulation. *Fertil Steril* 1999; 72(5): 932-6.

Todorow S, Schrickler ST, Siebzehnuebl ER, Neidhardt B, Wildt L, Lang N. von Willebrand factor: an endothelial marker to monitor in-vitro fertilization patients with ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod* 1993; 8(12): 2039-46.

Tsoumpou I, Muglu J, Gelbaya TA, Nardo LG. Symposium: Update on prediction and management of OHSS. Optimal dose of HCG for final oocyte maturation in IVF cycles: absence of evidence? *Reprod Biomed Online* 2009; 19(1): 52-8.

Tummon I, Gavrilova-Jordan L, Allemand MC, Session D. Polycystic ovaries and ovarian hyperstimulation syndrome: a systematic review. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2005; 84(7): 611-6.

Ujioka T, Matsura K, Tanaka N, Okamura H. Involvement of ovarian kinin-kallicrein system in the pathophysiology of ovarian hyperstimulation syndrome: studies in a rat model. *Hum Reprod* 1998; 13: 3009-15.

Vajkoczy P, Menger MD, Vollmar B, Schilling L, Schmiedek P, Hirth KP, Ullrich A, Fong TA. Inhibition of tumor growth, angiogenesis, and microcirculation by the novel Flk-1 inhibitor SU5416 as assessed by intravital multi-fluorescence videomicroscopy. *Neoplasia* 1999; 1(1): 31-41.

Valbuena D, Martin J, de Pablo JL, Remohí J, Pellicer A, Simón C. Increasing levels of estradiol are deleterious to embryonic implantation because they directly affect the embryo. *Fertil Steril* 2001; 76(5): 962-8.

Van Dop PA. Epidemiology and primary risk factors for ovarian hyperstimulation syndrome. In: (Gerris J, Delvigne A, Olivennes F. Ed) *Ovarian Hyperstimulation Syndrome* 2006; UK: INFORMA HEALTHCARE. 7-12.

Verheul HM, Hoekman K, Jorna AS, Smit EF, Pinedo HM. Targeting vascular endothelial growth factor blockade: ascites and pleural effusion formation. *Oncologist* 2000; 5 Suppl 1: 45-50.

de Vries C, Escobedo JA, Ueno H, Houck K, Ferrara N, Williams LT. The fms-like tyrosine kinase, a receptor for vascular endothelial growth factor. *Science* 1992; 255(5047): 989-91.

Varma TR, Patel RH. Ovarian hyperstimulation syndrome. A case history and review. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1988; 67(7): 579-84.

Waltenberger J, Claesson-Welsh L, Siegbahn A, Shibuya M, Heldin CH. Different signal transduction properties of KDR and Flt1, two receptors for vascular endothelial growth factor. *J Biol Chem* 1994 Oct; 269(43): 26988-95.

Wang TH, Horng SG, Chang CL, Wu HM, Tsai YJ, Wang HS, Soong YK. Human chorionic gonadotropin-induced ovarian hyperstimulation syndrome is associated with up-regulation of vascular endothelial growth factor. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(7): 3300-8.

Watkins RH, D'Angio CT, Ryan RM, Patel A, Maniscalco WM. Differential expression of VEGF mRNA splice variants in newborn and adult hyperoxic lung injury. *Am J Physiol* 1999; 276(5 Pt 1): 858-67.

Westergaard LW, Bossuyt PM, Van der Veen F, van Wely M. Human menopausal gonadotropin versus recombinant follicle stimulation hormone for ovarian stimulation in assisted reproductive cycles. *Cochrane Database Syst Rev* 2011; (2): CD003973.

Wei MH, Popescu NC, Lerman MI, Merrill MJ, Zimonjic DB. Localization of the human vascular endothelial growth factor gene, VEGF, at chromosome 6p12. *Hum Genet* 1996; 97(6): 794-7.

Wedge SR, Ogilvie DJ, Dukes M, Kendrew J, Curwen JO, Hennequin LF,

Thomas AP, Stokes ES, Curry B, Richmond GH, Wadsworth PF. ZD4190: an orally active inhibitor of vascular endothelial growth factor signaling with broad-spectrum antitumor efficacy. *Cancer Res* 2000; 60(4): 970-5.

Whelan JG 3rd, Vlahos NF. The ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 2000; 73: 883-896.

Wulff C, Wilson H, Rudge JS, Wiegand SJ, Lunn SF, Fraser HM. Luteal angiogenesis: prevention and intervention by treatment with vascular endothelial growth factor trap(A40). *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 3377-3386.

Xu L, Yoneda J, Herrera C, Wood J, Killion JJ, Fidler IJ. Inhibition of malignant ascites and growth of human ovarian carcinoma by oral administration of a potent inhibitor of the vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinases. *Int J Oncol* 2000; 16(3): 445-54.

Yamamoto S, Konishi I, Tsuruta Y, Nanbu K, Mandai M, Kuroda H, Matsushita K, Hamid AA, Yura Y, Mori T. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) during folliculogenesis and corpus luteum formation in the human ovary. *Gynecol Endocrinol* 1997; 11(6): 371-81.

Yan Z, Weich HA, Bernart W, Breckwoldt M, Neulen J. Vascular endothelial growth factor (VEGF) messenger ribonucleic acid (mRNA) expression in luteinized human granulosa cells in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77(6): 1723-5.

Yukita A, Asano M, Okamoto T, Mizutani S, Suzuki H. Suppression of ascites formation and re-accumulation associated with human ovarian cancer by an anti-VEGF monoclonal antibody in vivo. *Anticancer Res* 2000; 20(1A): 155-60.

Zimmermann RC, Hartman T, Bohlen P, Sauer MV, Kitajewski J. Preovulatory

treatment of mice with anti-VEGF receptor 2 antibody inhibits angiogenesis in corpora lutea. *Microvasc Res* 2001; 62: 15–25.

Zimmermann RC, Hartman T, Kavic S, Pauli SA, Bohlen P, Sauer MV, Kitajewski J. Vascular endothelial growth factor receptor 2-mediated angiogenesis is essential for gonadotropin-dependent follicle development. *J Clin Invest* 2003; 112: 659–669.

Zimmermann RC, Xiao E, Husami N, Sauer MV, Lobo R, Kitajewski J, Ferin M. Short-term administration of antivasculal endothelial growth factor antibody in the late follicular phase delays follicular development in the rhesus monkey. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 768–772