

INFLUENCIA DEL TIEMPO ENTRE LOS CICLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA
DE LAS DONANTES DE OVOCITOS EN LA RESPUESTA OVÁRICA

ANA PATRICIA PÉREZ-MONEO PÉREZ

2021



VNIVERSITAT
E VALÈNCIA

FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA

PROGRAMA DE DOCTORADO 3139. GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

**Influencia del tiempo entre los ciclos
de estimulación ovárica de las donantes
de ovocitos en la respuesta ovárica**

TESIS DOCTORAL

presenta por:

ANA PATRICIA PÉREZ-MONEO PÉREZ

Licenciada en Medicina

DIRECTORES DE TESIS:

Prof. José A. Remohí Giménez
Dra. M^a Pilar Alamá Faubel
Dra. M^a Reyes Balanzá Chancosa

MAYO 2021



VNIVERSITAT
DE VALÈNCIA

FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA
PROGRAMA DE DOCTORADO 3139. GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

**Influencia del tiempo entre
los ciclos de estimulación ovárica
de las donantes de ovocitos
en la respuesta ovárica**

TESIS DOCTORAL

presenta por:

ANA PATRICIA PÉREZ-MONEO PÉREZ

Licenciada en Medicina

DIRECTORES DE TESIS:

Prof. José A. Remohí Giménez

Dra. M^a Pilar Alamá Faubel

Dra. M^a Reyes Balanzá Chancosa

A mi padre

“Dar la vida es la cumbre del amor y dejarse amar es el culmen de la sabiduría”

OBISPO J. I. MUNILLA

AGRADECIMIENTOS

A mis directores de tesis, por brindarme la oportunidad de llegar a hacer un proyecto como éste y guiarme desde que di los primeros pasos en esta especialidad tan bonita, en especial a Pilar, por su ayuda incondicional, pieza fundamental en mi formación tanto a nivel clínico como investigador desde que caí en sus manos durante la residencia.

A mis padres, a los que debo todo lo que soy y seré. Desde que a los 15 años decidí iniciar uno de los grandes proyectos en mi vida siempre habéis apoyado cada decisión que he tomado. Gracias por guiarme hacia la medicina, nunca pensé que sería la decisión más acertada en mi vida. Y gracias por tanta ayuda para poder con todo, gracias por ser increíbles padres y abuelos, gracias por adaptar vuestra vida para que yo pueda seguir con la mía. Os quiero.

A mi hijo, has llegado en tiempos muy difíciles para hacerlos más bonitos y esperanzadores. Brillas con luz propia y haces que todo sea felicidad a tu alrededor.

A mi querida Liu, por muy lejos que te vayas o por mucho tiempo que pasemos sin vernos siempre serás parte de mí. Eres única y siempre tienes un halago, una palabra bonita, un ánimo para mí. Eres mi niña.

A mis chicas del voley, mis guerreras, amigas y familia, con las que he luchado muchas batallas tanto en la pista como fuera. Espero que estas últimas sigan durando muchos años.

A mis niñas de siempre, aunque las circunstancias no separan siempre estáis ahí, sobre todo en mi corazoncito. Con vosotras recordar es volver a vivir, y videollamadas con copa y pintalabios son un plus de energía que dura meses.

A mis compañeros, tanto los que estuvieron en el Peset y de los que me llevé tanto, como los que tengo actualmente en mi querida Cuenca, porque desde que llegué me sentí muy cómoda y aquí estoy feliz. Os agradezco cada granito de arena que habéis aportado en que crezca como profesional y como persona.

A Andrés, porque has sido una pieza fundamental para que esté donde estoy, gracias por confiar en mí.

A mi querida Carrasco, solo tú sabes todo lo que te debo y nunca podré agradecerte y compensarte lo que has hecho por mí desde aquel año de R1 en que tuve la gran fortuna de que fueras mi residente mayor. Gracias por llegar a ser una amiga tan especial y mi primita cubana.

A mi familia cubana, Pilar, Pepa, Ester, porque creo que no hay nadie en este mundo que confíe más en mí.

Y para el final, a mi marido, porque dicen que lo mejor se deja para el final. GRACIAS, porque muchas de las horas que he tenido que dedicar a este trabajo las he podido dedicar gracias a ti, por cuidar tanto de nuestro hijo, por cuidarme tanto a mí.

AGRADECIMIENTOS	9
ÍNDICE DE FIGURAS	15
ÍNDICE DE TABLAS.....	19
ÍNDICE DE ABREVIATURAS, SIGLAS y ACRÓNIMOS.....	23
INTRODUCCIÓN.....	27
I. CICLO OVÁRICO	29
A. OVARIO	29
i. FOLICULOGÉNESIS	29
ii. MADURACIÓN DEL OVOCITO.....	34
iii. OVULACIÓN.....	34
iv. LUTEINIZACIÓN.....	35
B. ENDOCRINOLOGÍA.....	35
i. NEUROENDOCRINOLOGÍA.....	35
a. HIPOTÁLAMO.....	35
b. HIPÓFISIS	37
ii. ENDOCRINOLOGÍA OVÁRICA	39
a. FASE FOLICULAR	39
b. FASE OVULATORIA	40
c. FASE LÚTEA	42
II. TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA.....	43
A. HISTORIA	43
B. ESTIMULACIÓN OVÁRICA CONTROLADA	44
i. INTRODUCCIÓN	44
ii. RESPUESTA OVÁRICA.....	45
a. FACTORES QUE CONDICIONAN LA RESPUESTA OVÁRICA	45
● RESERVA OVÁRICA.....	45
● EDAD.....	49
● IMC	50
● GENÉTICA	50
● OTROS: TABACO, ALCOHOL, CAFEÍNA.....	51
iii. BASES DE LOS PROTOCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA	52
a. PRE-TRATAMIENTO EN FASE LÚTEA DEL CICLO PREVIO	52
b. DESENSIBILIZACIÓN DE LA HIPÓFISIS.....	52
c. INDUCCIÓN DEL DESARROLLO FOLICULAR MÚLTIPLE.....	54
d. MADURACIÓN OVOCITARIA FINAL E INDUCCIÓN DE LA OVULACIÓN.....	55
C. DONACIÓN DE OVOCITOS	56
i. DEFINICIÓN Y GENERALIDADES.....	56
ii. INDICACIONES.....	56

iii. PROCESO DE DONACIÓN DE OVOCITOS	57
a. DONANTES	58
b. RECEPTORAS	59
iv. ASPECTOS LEGALES	60
D. ESTIMULACIONES OVÁRICAS REPETIDAS	60
HIPÓTESIS	63
OBJETIVOS	67
MATERIAL Y MÉTODOS.....	71
I. DISEÑO DEL ESTUDIO	73
II. CRITERIOS DE SELECCIÓN	73
A. DONANTES.....	73
B. RECEPTORAS.....	74
III. GRUPOS DE ESTUDIO	74
IV. PROTOCOLO ESTIMULACIÓN DONANTES DE OVOCITOS.....	75
V. PROTOCOLO TRATAMIENTO RECEPTORAS DE OVOCITOS.....	76
A. MUJERES SIN FUNCIÓN OVÁRICA.....	76
B. MUJERES CON FUNCIÓN OVÁRICA CONSERVADA	77
VI. DEFINICIÓN DE VARIABLES	78
A. VARIABLES PRINCIPALES DEL ESTUDIO:.....	78
B. VARIABLES SECUNDARIAS DEL ESTUDIO:.....	78
C. VARIABLES DESCRIPTIVAS:.....	78
i. DONANTES DE OVOCITOS.....	78
ii. RECEPTORAS.....	79
iii. CARACTERÍSTICAS DEL CICLO DE DONACIÓN DE OVOCITOS	79
VII. METODOLOGÍA ESTADÍSTICA.....	79
RESULTADOS.....	81
I. ANÁLISIS DESCRIPTIVO.....	83
A. DONANTES.....	83
B. RECEPTORAS.....	87
II. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	89
A. ANÁLISIS DE LOS CICLOS DE LAS DONANTES.....	89
i. OBJETIVO PRINCIPAL.....	89
ii. OBJETIVOS SECUNDARIOS.....	90
B. ANÁLISIS DE LOS CICLOS EN LAS RECEPTORAS.....	91
DISCUSIÓN	95
CONCLUSIONES	103
BIBLIOGRAFIA	107

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Foliculogénesis. Diferenciación de las etapas según su dependencia a las gonadotropinas.
- Figura 2.** Duración del reclutamiento inicial y reclutamiento cíclico en humanos.
- Figura 3.** Representación día a día del crecimiento folicular durante un ciclo interovulatorio. Gráfico A, pacientes con dos oleadas de crecimiento folicular; Gráfico B, pacientes con tres oleadas.
- Figura 4.** Regulación hormonal, eje hipotálamo-hipófisis-ovario.
- Figura 5.** Eje hipotálamo-hipófisis-ovario. Adenohipófisis, lóbulo anterior.
- Figura 6.** Fases del ciclo menstrual. Niveles hormonales a lo largo del ciclo.
- Figura 7.** Ciclo ovárico. Niveles de estrógenos y progesterona durante el ciclo menstrual. Crecimiento folicular y ovulación.
- Figura 8.** Ciclo ovárico y menstrual. Niveles de estrógenos y progesterona durante el ciclo menstrual.
- Figura 9.** Descenso de la reserva ovárica según avanza la edad.
- Figura 10.** Efecto y tiempo de acción de la GnRH natural y los agonistas y antagonistas de la GnRH.
- Figura 11.** Proceso de donación de ovocitos.
- Figura 12.** Preparación endometrial de la receptora en el proceso de donación de ovocitos.
- Figura 13.** Histograma distribución edad e IMC de las donantes.
- Figura 14.** Histograma diferencia de días entre ciclos.
- Figura 15.** Diagrama de cajas de la distribución de ovocitos maduros en cada grupo de estudio según se pasa de un ciclo de estimulación al siguiente.
- Figura 16.** Gráficas representando la distribución de ovocitos maduros extraídos según la diferencia de días entre ciclos de estimulación de las donantes, tanto con la variable principal: 1) categorizada y 2) continua.
- Figura 17.** Gráficas representando la distribución de ovocitos totales aspirados en función de los días que transcurren entre los ciclos de estimulación de las donantes, tanto con la variable, 1) categorizada, como, 2) continua.

ÍNDICE DE TABLAS

- Tabla 1.** Ventajas y desventajas de los marcadores de reserva ovárica: RFA y AMH.
- Tabla 2.** Diferencias entre agonistas y antagonistas de la GnRH.
- Tabla 3.** Resumen datos donantes y donaciones.
- Tabla 4.** Número de donantes según el número de ciclo de inicio de estimulación.
- Tabla 5.** Número de ciclos de estimulación en donantes divididos según los grupos de estudio.
- Tabla 6.** Datos de cancelaciones
- Tabla 7.** Resumen datos receptoras.
- Tabla 8.** Resumen de los resultados de las donaciones en las pacientes receptoras.
- Tabla 9.** Resumen de los resultados de la variable principal “días entre el inicio de las consecutivas estimulaciones de las donantes” categorizada en los tres grupos del estudio (cogiendo como referencia el grupo de menos de 90 días), en las tasas de gestación bioquímica, gestación clínica, gestación evolutiva y RNV de las receptoras.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS, SIGLAS Y ACRÓNIMOS

- ACOs:** anticonceptivos combinados orales
- AMH:** hormona antimulleriana
- ARNm:** Ácido ribonucleico mensajero
- cAMP:** Adenosinmonofosfato cíclico
- COX-2:** enzima ciclooxigenasa 2
- DET:** Double embryo transfer (Transferencia de dos embriones)
- dHCG:** Día de administración de la hCG
- E2:** estradiol
- EOC:** Estimulación ovárica controlada
- FIV:** Fecundación in Vitro
- FSH:** Hormona foliculoestimulante
- FSHr:** Hormona foliculoestimulante recombinante
- GnRH:** Hormona liberadora de gonadotropinas
- hCG:** Human chorionic gonadotropin (Gonadotropina coriónica humana)
- hMG:** Human menopausal gonadotropin (Gonadotropina menopáusica humana)
- HDL:** Lipoproteína de alta densidad
- IA:** Inseminación artificial
- ICSI:** Intracytoplasmatic sperm injection (Inyección intracitoplasmática espermática)
- IMC:** Índice de masa corporal
- LDL:** Lipoproteína de baja densidad
- LH:** Hormona luteinizante
- P4:** progesterona
- RFA:** Recuento folículos antrales
- RNV:** Recién nacido vivo
- SEF:** Sociedad Española de Fertilidad
- SET:** Single embryo transfer (Transferencia un embrión)
- SHO:** Síndrome de hiperestimulación ovárica
- SIRHA:** Sistema de Información de Reproducción Humana Asistida
- SIVIS:** Plataforma digital de gestión de la información del centro IVI
- Test T:** Test T de Student
- TRA:** Técnica de reproducción asistida
- β-hCG:** Fracción libre β de la gonadotropina coriónica humana

INTRODUCCIÓN

I. CICLO OVÁRICO

Se denomina ciclo ovárico, a los cambios hormonales, ováricos y endometriales que se producen cíclicamente en las mujeres a partir de la pubertad, en respuesta a señales producidas por el hipotálamo, hipófisis y ovario. Este ciclo será el resultado de un buen funcionamiento sincrónico entre estas tres estructuras. Cada uno de estos órganos realizará su función de manera coordinada y regulada, a su vez, por los otros dos.

El objetivo de este ciclo es la maduración y extrusión periódica de un óvulo fecundable; así como, la preparación del endometrio para la implantación del embrión y el mantenimiento del embarazo. Estos eventos se acompañan de profundos cambios orgánicos y funcionales que se repiten de forma periódica cada mes si no se produce el embarazo.

A. OVARIO

Dentro del ciclo, una de las funciones del ovario es llevar a cabo la foliculogénesis o formación de folículos, cuyo resultado final será, bien la ovulación de un folículo maduro, bien la atresia del folículo¹.

i. FOLICULOGÉNESIS

La foliculogénesis comienza con la etapa del reclutamiento de los folículos primordiales. La población de folículos ováricos primordiales en reposo o latentes se establece durante el 5º mes de desarrollo fetal lo que condicionará la posterior reserva ovárica. En este momento el número de folículos primordiales es de unos 10 millones, disminuyendo a 1,5 millones en el momento del nacimiento y llegando a la menarquía con unos 500.000 folículos en reposo en cada ovario². A partir de los 37,5 años, aproximadamente (cuando quedan entorno a 25.000 folículos), se produce un descenso exponencial de la reserva ovárica, existiendo cierta variabilidad individual en la velocidad con que esto ocurre, hasta que la cifra de folículos desciende a unos 1.000 folículos que será cuando cesan las ovulaciones y se produce la menopausia²⁻⁴.

Estos folículos primordiales se encuentran repartidos a lo largo de la corteza ovárica y van a sufrir una serie de fenómenos de diferenciación y proliferación que los transformarán en folículos preantrales¹.

El folículo primordial contiene un ovocito primario, en estado de arresto meiótico, junto con una capa única de células de la granulosa aplanadas. Estas células presentan una lámina basal rodeándolas, la cual impide que tengan contacto directo con el resto del

tejido ovárico, y por tanto, con la circulación vascular y con el sistema endocrino. El reclutamiento de los folículos primordiales comienza desde la etapa intrauterina y no cesa hasta el agotamiento de la reserva ovárica. Los factores implicados en el reclutamiento folicular inicial son todavía poco conocidos. Al no estar en contacto con la circulación sanguínea estos folículos serán reclutados y presentarán un crecimiento inicial independiente de las gonadotropinas (etapa FSH-independiente) (figura 1) ^{1,5}.

Durante la siguiente fase de folículo primario, las células de la granulosa adoptan una forma cuboidea y adquieren potencial mitótico, por lo que empiezan a dividirse y multiplicarse. Además comienzan a expresar receptores para la FSH, lo que se atribuye a la acción paracrina y autocrina de la activina de las propias células de la granulosa. Por otra parte, el ovocito presenta un gran crecimiento y aparecen uniones gap entre éste y las células de la granulosa, lo que permitirá llevar nutrientes y sustancias reguladoras al ovocito.

Durante la fase de folículo secundario, se producirá la estratificación de las células de la granulosa y la diferenciación de las células del estroma ovárico que rodean al folículo, formando las capas interna y externa de la teca. La teca se vascularizará permitiendo el contacto entre el ovocito y el sistema vascular, lo que permitirá el acceso de las gonadotropinas al ovocito. Por tanto, será a partir de este estadio cuando se inicie la etapa de crecimiento dependiente de las gonadotropinas, fundamentalmente, de la FSH (etapa FSH-dependiente) (figura 1) ¹.

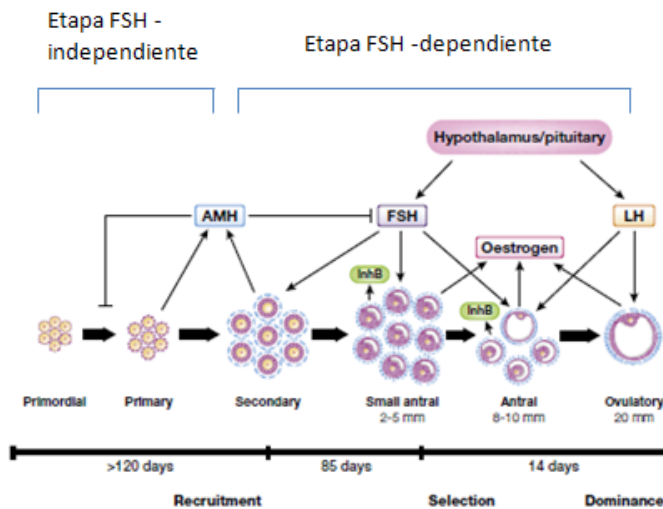


Figura 1. Foliculogénesis. Diferenciación de las etapas según su dependencia a las gonadotropinas. (Tomado y modificado del *Assessing ovarian response: antral follicle count versus anti-Müllerian hormone*. Fleming y col. 2015)⁶

Posteriormente, el estadio de folículo antral o De Graaf se caracteriza por la aparición de una cavidad, que estará ocupada por un exudado plasmático modificado por productos del ovocito y de las células de la granulosa, los cuales se albergan en dicha cavidad. A través de este medio circularán sustancias reguladoras¹.

Las células que integran este folículo se organizan de una forma característica. Por un lado están las células de la teca, que forman la capa externa, y se organizan en dos capas con distinta función: la teca externa, compuesta por células musculares y cuya función es poco conocida, y la teca interna, compuesta por células epiteloideas de estructura esteroideogénica. Estas células están dotadas de receptores para la LH e insulina, produciendo, tras su estimulación, la secreción de andrógenos, principalmente androsterona. Por otro lado están las células de la granulosa, que se organizan en cuatro subtipos: las células granulosa de la membrana, las periantrales, las del *cumulus oophorus* (cúmulo ooforo) y las de la corona *radiata*. Todas ellas presentan receptores para la FSH, presentando además, las células de la granulosa de la membrana, receptores para la LH y la enzima P450 aromataasa, la cual aromatiza los andrógenos convirtiéndolos en estrógenos¹.

Dentro del estadio de folículo antral, se puede subdividir en cuatro estadios según la maduración y tamaño del folículo: pequeño (1-6 mm), mediano (7-11 mm), grande (12-17 mm), preovulatorio (18-23 mm). Este aumento de tamaño se debe a la expansión del líquido folicular y la proliferación de las células de la teca y la granulosa.

El folículo secundario, momento en que se inicia la etapa FSH-dependiente, tarda en torno a 71 días en alcanzar el estadio de folículo antral (figura 2)^{5,7}.

Del *pool* de folículos antrales, en cada ciclo menstrual, uno será “seleccionado” completando su desarrollo y maduración hasta producirse la ovulación, mientras que los demás sufrirán fenómenos de atresia. Éste es un mecanismo que sucede de manera continua, por lo que existen oleadas de crecimiento folicular constantes durante el ciclo menstrual⁵.

Por tanto, existen dos tipos de crecimiento o reclutamiento, como McGee y col.⁷ describen detalladamente en su estudio. Por un lado, un crecimiento o reclutamiento inicial y por otro, un reclutamiento cíclico (figura 2).

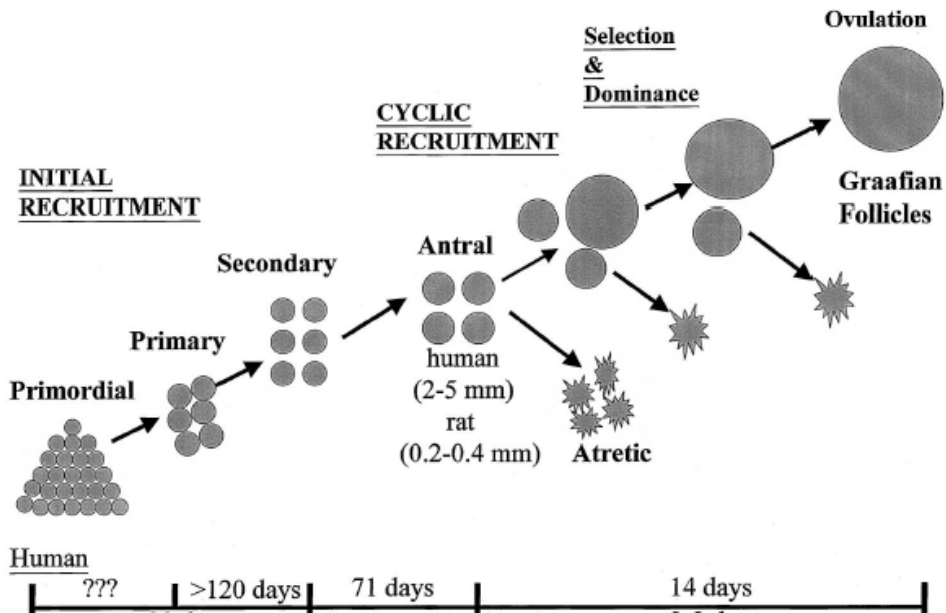


Figura 2. Duración del reclutamiento inicial y reclutamiento cíclico en humanos.
 (Tomado de *Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles*, McGee et al, 2000)⁷

El reclutamiento inicial se refiere al crecimiento de los folículos primordiales, los cuales permanecen latentes, hasta que ciertos mecanismos, no bien conocidos, desencadenan su crecimiento. Su crecimiento se inicia en forma de oleadas y es un proceso continuo. En cada oleada se estimula el crecimiento de un pool de ellos, mientras que el resto permanecen latentes⁷.

El número de folículos reclutados en cada oleada va aumentando desde el momento del nacimiento hasta los 14 años aproximadamente. A partir de dicha edad, el número de folículos reclutados irá disminuyendo hasta alcanzar la menopausia. Por tanto, a la edad de 30 años, quedará el 12% de la reserva inicial y con 40 años, sólo el 3%².

En cuanto al reclutamiento cíclico comienza una vez alcanzada la pubertad y depende del aumento de los niveles de FSH circulantes durante el ciclo menstrual que rescata un pool de folículos antrales de la latencia. El número de folículos reclutados en cada *pool* suele ser constante en mujeres adultas jóvenes y suele ser el mismo número en cada uno de los ovarios⁷.

En este proceso, uno de los folículos antrales del pool es “seleccionado” y pasa a ser el folículo dominante. En este folículo la capacidad proliferativa de las células de la gra-

nulosa y de la teca se mantiene elevada, por lo que crece con rapidez, produciendo gran cantidad de estrógenos, mientras que el resto de folículos de la cohorte disminuyen en tamaño (figura 2)¹.

La conversión en un folículo dominante estrogénico marca la llamada "selección" del folículo dominante destinado a ovular, proceso que, normalmente, sólo consigue un único folículo. Este proceso de selección es, en un grado significativo, el resultado de dos acciones estrogénicas: 1) por un lado, una interacción local entre los estrógenos y la FSH en el seno del folículo, 2) y por otro, el efecto de los estrógenos sobre la secreción hipofisaria de FSH⁸.

Según los conocimientos de la foliculogénesis, el reclutamiento folicular cíclico, en cada ciclo menstrual, comienza durante la fase lútea tardía del ciclo anterior o fase premenstrual, es decir, en torno a 15-20 días antes de la ovulación. En este momento, las células de la granulosa de los folículos antrales mayores de 2 mm, son significativamente más sensibles a la FSH⁷.

Sin embargo, a raíz de varios estudios más recientes sobre la foliculogénesis, se ha visto que los folículos presentan varias oleadas de crecimiento a lo largo de un mismo ciclo menstrual (figura 3.)^{9,10}. Aproximadamente dos tercios de las mujeres desarrollan dos oleadas de crecimiento folicular a lo largo de un intervalo interovulatorio y el resto presenta tres oleadas. Dentro de estas oleadas se han observado oleadas mayores y menores. Las oleadas mayores o principales son aquellas en las que se desarrolla un folículo dominante, el cual puede retroceder u ovular y en las oleadas menores, la selección del folículo dominante no se manifiesta (figura 3.)^{10,11}.

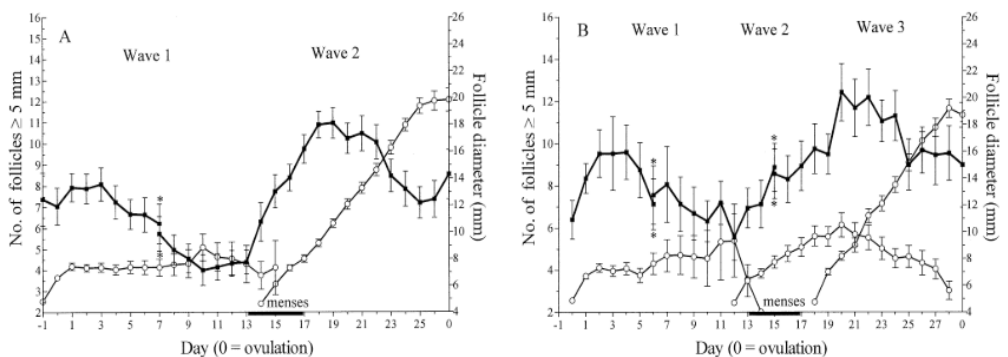


Figura 3. Representación día a día del crecimiento folicular durante un ciclo interovulatorio. Gráfico A, pacientes con dos oleadas de crecimiento folicular; Gráfico B, pacientes con tres oleadas. (Tomado de Baerwald et al. *A new model for ovarian follicular development during the menstrual ovarian cycle*, 2003.)

ii. MADURACIÓN DEL OVOCITO

La maduración del ovocito es un complejo proceso interrumpido en el tiempo, ya que se detiene en el momento del nacimiento y se reanuda durante la ovulación. El ovocito inicia la meiosis durante la vida fetal y continúa hasta detenerse en la primera profase meiótica, justo antes o en el momento del nacimiento. Este estadio se caracteriza porque las tétradas muestran quiasmas entre las cromátidas de cromosomas homólogos apareados y se produce un entrecruzamiento genético. En la pubertad, justo antes de la ovulación, el ovocito reanuda su división, concluyendo con la extrusión del primer cuerpo polar. En esta etapa, se produce la condensación de la cromatina, se disuelve la vesícula germinal, se forman los husos meióticos y se separan los cromosomas.

Con ello se formará el ovocito secundario, que queda rodeado por las células de la granulosa del cúmulo ooforo. En este estadio los ovocitos inician la segunda división meiótica que se detiene en la etapa de metafase. En esta etapa, los cromosomas se disponen en el plano ecuatorial del huso y forman la placa ecuatorial, con los centrómeros unidos a las fibras del huso en espera de la separación¹².

iii. OVULACIÓN

En el folículo seleccionado, a medida que se acerca la ovulación, se producen cambios mecánicos y vasculares que dan lugar a extravasación de células sanguíneas y edema del tejido folicular¹². Una vez finalizada su maduración, induce su propia ruptura mediante un rápido incremento en la producción de estrógenos (niveles preovulatorios), que por retroalimentación positiva hacen que se produzca el pico ovulatorio de las gonadotropinas. El pico de LH induce la reanudación de la meiosis del ovocito, la luteinización de las células de la granulosa y la ruptura del folículo a nivel del estigma. La maduración meiótica se presenta detenida en el ovocito debido a las elevadas cantidades de AMP cíclico (cAMP) presentes en él. Como consecuencia de la elevación de la LH y FSH se produce una caída de este cAMP y la meiosis es reanudada. Por otra parte, la elevación de las gonadotropinas produce el incremento de la secreción de progesterona y activación de su receptor a nivel de la granulosa, lo que conlleva la producción de prostaglandinas por la activación de la COX-2, que desencadenarían la liberación de enzimas proteolíticos los cuales degradarían la pared folicular permitiendo la ovulación. La FSH, por su parte, produce la mucificación y expansión del cúmulo ooforo. La maduración o expansión del cúmulo ooforo y la ruptura de la pared folicular son esenciales para que el ovocito sea liberado del interior del folículo¹.

Por tanto, el proceso de la ovulación es un proceso extraordinariamente complejo y en él intervienen, aparte de cambios hormonales, una serie de cambios mecánicos, vasculares, autocrinos y paracrinos.

iv. LUTEINIZACIÓN

Después de producirse la ovulación, las células del folículo presentan una transformación dando lugar al cuerpo lúteo. Éste es una glándula que producirá grandes cantidades de estrógenos y progesterona, sobre todo en la primera fase luteínica del ciclo. Las células de la granulosa luteinizadas, producirán estrógenos, a partir de los andrógenos producidos por las células de la teca luteinizadas.

Si no se produce la fecundación e implantación del embrión, las células epiteliales del cuerpo lúteo comenzarán a degenerar a partir del día 8, proceso denominado como luteólisis, siendo sustituidas finalmente por tejido conectivo fibroso avascular y acelular, dando lugar al llamado cuerpo albicans, una estructura que se acumula en la porción medular del ovario^{1,12}.

B. ENDOCRINOLOGÍA

i. NEUROENDOCRINOLOGÍA

Existen dos lugares o estructuras en el encéfalo que resultan importantes en la regulación del ciclo ovárico y por tanto, en la función reproductora: el hipotálamo y la hipófisis.

a. HIPOTÁLAMO

El hipotálamo es una parte del diencefalo que se encuentra por encima de la unión de los nervios ópticos en la base del encéfalo. Esta estructura, a través de una red densa de capilares, llamada circulación portal hipofisaria, conecta con la adenohipofisis donde llegarán las neurohormonas secretadas por el hipotálamo.

Las neurohormonas son péptidos que estimulan la liberación de sustancias hipofisarias. La encargada de producir la liberación de las gonadotropinas será la hormona liberadora de gonadotropinas o gonadoliberina (GnRH), la cual es sintetizada por las células del núcleo arqueado del hipotálamo y estimula la secreción, tanto de la hormona luteinizante o lutropina (LH), como de la hormona foliculoestimulante o folitropina (FSH).

La GnRH presenta una semivida de 2 a 4 minutos, por lo que la regulación del ciclo ovárico se produce gracias a una secreción continua de esta neurohormona. Además, según varios estudios, se ha demostrado que para conseguir una secreción normal de gonadotropinas, se necesita una liberación pulsátil de GnRH a la circulación portal, dentro de un intervalo crítico de frecuencia y amplitud⁸.

Al igual que la GnRH, las gonadotropinas también se secretan de una forma pulsátil reflejando el patrón pulsátil de la GnRH y por ende, la liberación ovárica de esteroides es también pulsátil, coordinada con los pulsos de LH, el principal elemento estimulador de la esteroidogénesis ovárica (figura 4)⁸.

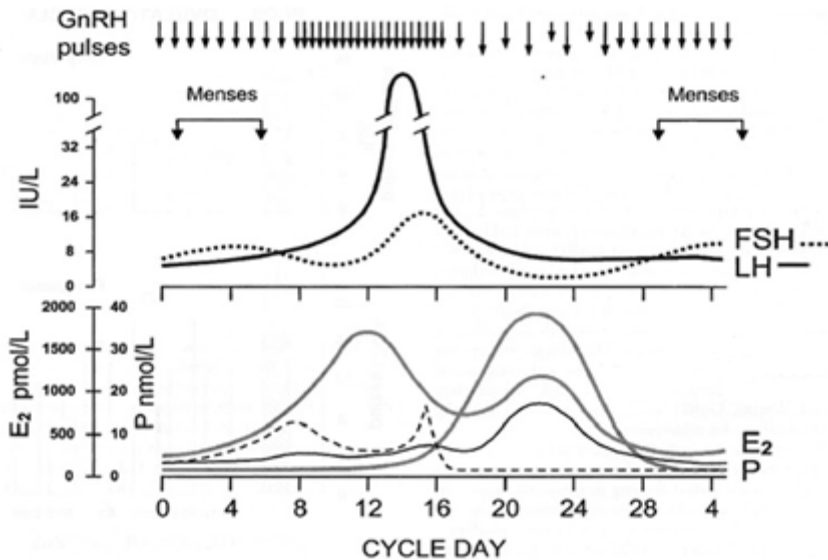


Figura 4. Regulación hormonal, eje hipotálamo-hipófisis-ovario.

(Tomado y modificado del libro *Pituitary Disease and Neuroendocrinology*, Marques P et al, 2000¹³)

La corta semivida de la GnRH se debe a la escisión de los enlaces entre los aminoácidos 5-6, 6-7 y 9-10. Al alterar estos enlaces se han podido sintetizar análogos de esta hormona con unas propiedades diferentes, creándose agonistas y antagonistas de la GnRH, los cuales serán utilizados en las técnicas de reproducción⁸.

La acción inmediata de la GnRH es la liberación de las gonadotropinas, mientras que las respuestas tardías preparan para la siguiente liberación de estas hormonas. Una de las acciones tardías es la autosensibilización, la cual genera respuestas in-

cluso mayores con los pulsos posteriores de GnRH. Este fenómeno de autosensibilización es importante para alcanzar el gran pico de secreción hormonal a mitad de ciclo⁸.

b. HIPÓFISIS

La hipófisis es una glándula endocrina que se sitúa en la base del cráneo en una estructura denominada la silla turca. Esta glándula está dividida en dos lóbulos, siendo el más anterior, la adenohipófisis, donde se sitúan las células gonadotropas, sensibles a la secreción pulsátil de la GnRH y encargadas de secretar las gonadotropinas (figura 5). Estas células presentan receptores de la GnRH, los cuales son, además, regulados por otras sustancias, como la activina, la inhibina o los esteroides sexuales.

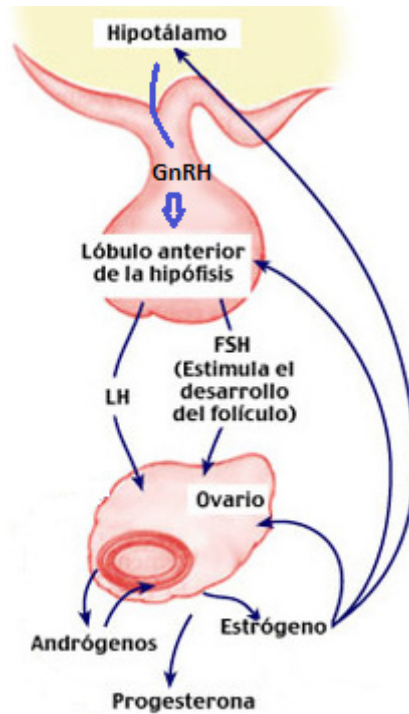


Figura 5. Eje hipotálamo-hipófisis-ovario. Adenohipófisis, lóbulo anterior.

Si se administra GnRH exógena de manera pulsátil, se consigue mantener niveles de LH y FSH similares a los fisiológicos en la mujer, sin embargo, si se administra de manera continua o se incrementa la frecuencia de los pulsos, al cabo de varios días los niveles de estas hormonas disminuirían, debido a una desensibilización y desacoplamiento de los receptores de la GnRH hipofisarios^{8,14}.

La FSH desarrolla un papel fundamental en el crecimiento y desarrollo del folículo dominante al controlar la expresión genética en las células de la granulosa, induciendo la estimulación mitótica de las mismas, la expresión de receptores para la LH y la expresión de la P450 aromatasas, enzima que aromatiza los andrógenos, transformándolos en estradiol, lo cual es crucial para que el folículo adquiriera su potencial estrogénico¹.

La LH por su parte, no es crucial en el proceso de selección, sin embargo, es importante para la regulación del folículo dominante al estimular la producción de androstenediona, principal andrógeno ovárico. Cuando se inicia la formación del antro folicular, las células de la teca sufren un proceso de diferenciación, expresando genes del receptor de la LH, el receptor de la insulina, receptores HDL y LDL y diferentes genes implicados en la síntesis de andrógenos a partir del colesterol. En virtud a estos cambios, las células de la teca de los folículos antrales son capaces de producir andrógenos como la androstenediona¹.

Los andrógenos, en bajas concentraciones, promueven su propia aromatización y contribuyen a la formación de estrógenos. Se unen a sus receptores y actúan ampliando las señales postreceptor mediadas por el cAMP; de esta forma, potencian la acción de la FSH en las células de la granulosa.

En 1995¹⁵, se logró, en primates, una maduración completa del folículo administrando FSH pura, por lo que parecía que no era necesaria la acción de la LH en esta etapa. Incluso se barajó que podía tener un efecto negativo sobre el ovocito, que afectase a etapas posteriores del proceso reproductivo, ya que la LH no se encuentra normalmente en el líquido folicular hasta después del pico ovulatorio de gonadotropinas. Por tanto, si se elevara prematuramente en el plasma y en el líquido antral, podría disminuir la actividad mitótica en la granulosa. Posteriormente autores como Lunenfeld¹⁶ o Balasch¹⁷ comprobaron que la LH en pequeñas concentraciones, tiene una acción sinérgica con la FSH y contribuye a la maduración final del folículo^{16,17}. Sin embargo, niveles de LH mayores a 6-8 U/L, en la mitad o al final de la fase folicular, son perjudiciales para el desarrollo del ovocito y del folículo y aumentan el porcentaje de abortos¹⁶.

ii. ENDOCRINOLOGÍA OVÁRICA

El ciclo ovárico o menstrual comienza el primer día de la menstruación y termina el día anterior del inicio del siguiente sangrado menstrual¹². Es un ciclo dinámico que puede dividirse en diferentes fases según la estructura folicular y la secreción hormonal del ovario (figura 6).

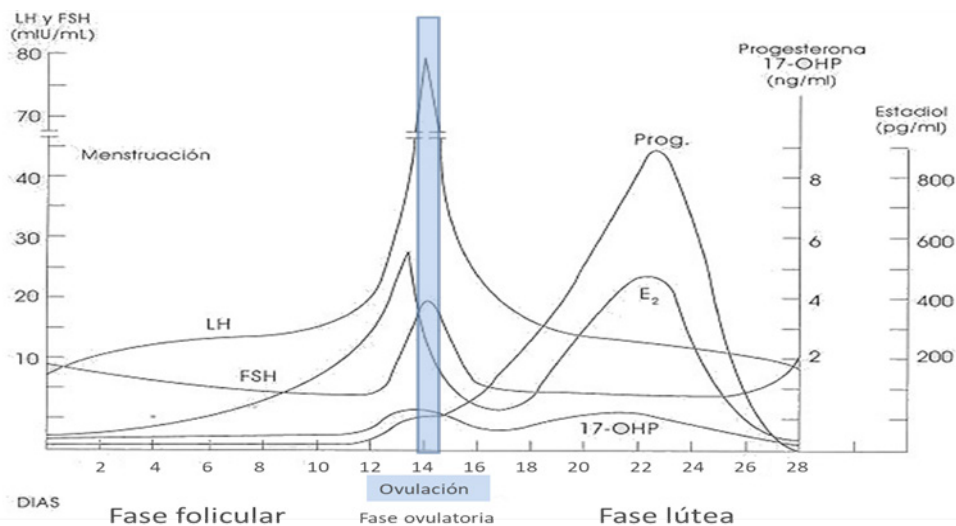


Figura 6. Fases del ciclo menstrual. Niveles hormonales a lo largo del ciclo menstrual.

a. FASE FOLICULAR

Comienza con el inicio de la menstruación y termina 1 a 2 días antes del pico ovulatorio de LH. Es la fase más variable del ciclo ovárico y la variación de la duración del ciclo generalmente depende de cambios en la duración de esta fase. El evento hormonal determinante en esta etapa es la elevación progresiva de los niveles de FSH en la fase folicular temprana, que comienza desde los días finales del ciclo precedente, es decir, desde la fase lútea tardía (figura 6). El declive de la esteroidogénesis en la fase lútea y la secreción de inhibina A permiten esa elevación de la FSH. Este estímulo inicial es esencial para que se produzca un ciclo ovárico normal y niveles inadecuados de FSH en este momento pueden ser responsables de un desarrollo folicular deficiente, lo que ocasionará trastornos de la ovulación y de la fase lútea¹².

En la fase folicular temprana, la activina producida por la granulosa en los folículos inmaduros potencia la acción de la FSH sobre la aromatasas y la formación de receptores de FSH y LH, mientras que se suprime simultáneamente la síntesis tecal

de andrógenos. El nivel de estrógenos tendrá un incremento gradual, presentando sus niveles máximos de forma preovulatoria (figura 6). En la fase folicular tardía la FSH disminuye gradualmente hasta alcanzar su nadir antes del pico ovulatorio de LH, por efecto del feedback negativo de los estrógenos¹². En la granulosa madura del folículo preovulatorio dominante, la activina sirve para evitar la luteinización prematura y la producción de progesterona⁸.

La retroalimentación negativa de los estrógenos en la liberación de FSH parece hacer insuficiente la cantidad disponible de esta hormona para los folículos menos desarrollados, lo que disminuye la actividad de la aromatasa y la consecuente disminución en la producción de estrógenos por parte de los folículos del pool "no seleccionados". Se produce un aumento en la relación andrógenos/estrógenos, se interrumpe la proliferación de la granulosa y se inducen cambios atrésicos en los folículos con menos desarrollo. Aunque esta retroalimentación negativa de los estrógenos sobre la FSH inhiba el desarrollo de los folículos menos desarrollados, el folículo dominante seleccionado retiene su capacidad de respuesta y completa su desarrollo preovulatorio, a pesar del descenso de los niveles de FSH¹².

Los folículos progresarán en su desarrollo sólo si emergen cuando la FSH está elevada y la LH baja. Estos folículos que surgen al final de la fase lútea del ciclo ulterior o al principio del ciclo estarán favorecidos por un medio en el que prevalece la aromatización en las células de la granulosa. En concentraciones bajas, los andrógenos potencian su propia aromatización y contribuyen a la producción de estrógenos. En concentraciones mayores, se supera la limitada capacidad de aromatización, y el folículo se convierte en androgénico y finalmente atrésico. El éxito de un folículo depende de su capacidad para convertir un micromedio dominado por los andrógenos en un micromedio dominado por los estrógenos⁸. La maduración final del folículo dominante y la salud del ovocito se optimizan en presencia de la LH, lo cual es importante tener en cuenta en las técnicas de reproducción asistida⁸.

b. FASE OVULATORIA

El evento central en esta fase es el pico ovulatorio de LH y la consecuente ovulación. Esta fase se extiende desde 1 a 2 días antes, hasta 1 a 2 días después del pico ovulatorio de LH. En esta fase se produce la rotura folicular y la extrusión del óvulo (figura 7)¹².

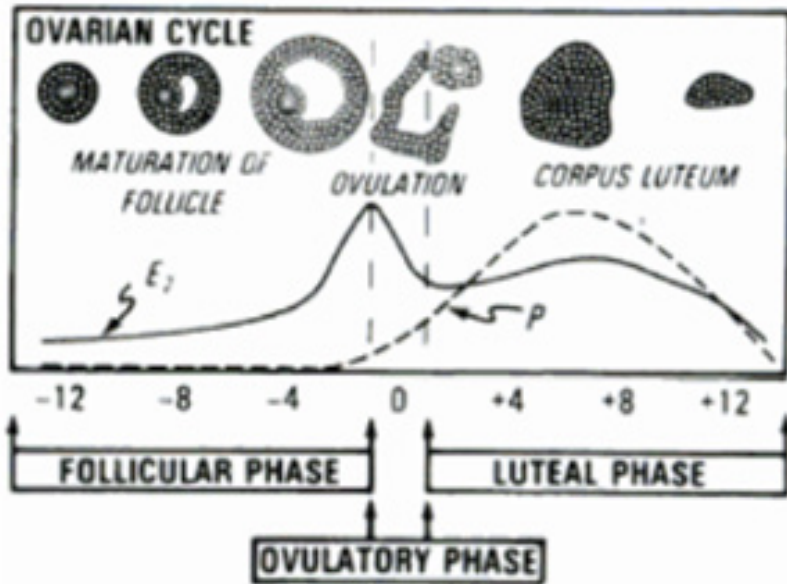


Figura 7. Ciclo ovárico. Niveles de estrógenos y progesterona durante el ciclo menstrual. Crecimiento folicular y ovulación. (Modificado del libro *Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism*, 3rd edition, Ed: Lippincott Williams & Wilkins. 2001¹⁸)

Los niveles de estradiol tienen un incremento geométrico rápido durante el período preovulatorio y alcanzan sus valores máximos 24 a 36 h antes de la ovulación. Cuando la concentración de estradiol alcanza un nivel crítico y sostenido, produce una acción estimuladora sobre la hipófisis, siendo la responsable del pico ovulatorio de LH¹⁹. Posteriormente, justo antes de la ovulación, hay una caída brusca de los niveles de estrógenos (figura 7).

Existe una considerable variación de esta secuencia de un ciclo a otro, incluso en una misma mujer. El inicio del pico de LH es el indicador más fiable de la ovulación inminente, que se produce 28-32 h antes de la rotura del folículo. El pico de LH induce la reanudación de la meiosis del ovocito, la luteinización de las células de la granulosa y la ruptura del folículo¹²

El folículo dominante, con gran número de receptores para la LH, evoluciona hacia la luteinización y comienza la producción de progesterona desde 24 a 48 horas antes de la ovulación (figura 7). El pequeño aumento preovulatorio de progesterona potencia el feedback positivo de los estrógenos en la inducción del pico ovulatorio de LH¹².

c. FASE LÚTEA

Comienza tras la extrusión del óvulo y dura normalmente un promedio de 14 días (rango de 11 a 16 días). Se caracteriza por la presencia del cuerpo lúteo y funcionalmente por la producción de progesterona por parte del cuerpo lúteo.

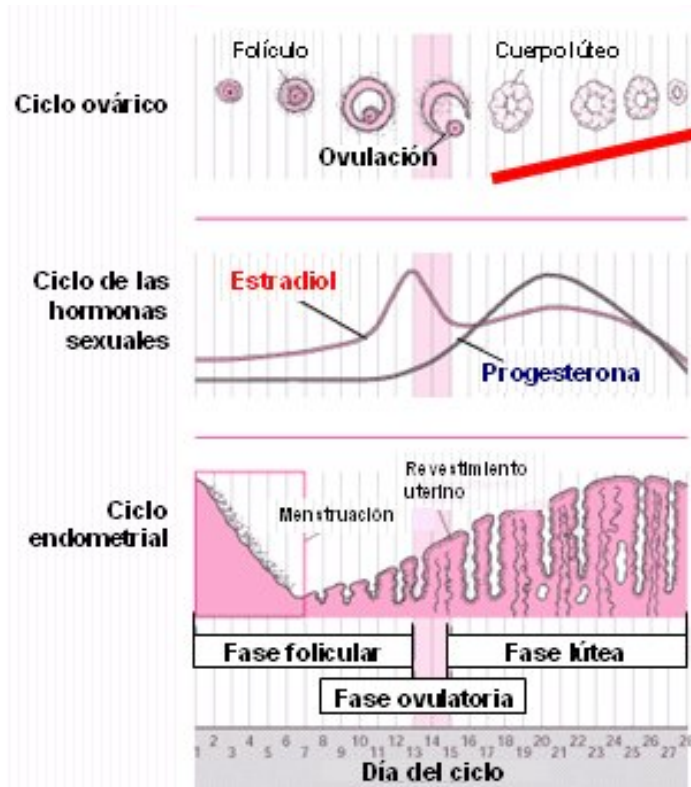


Figura 8. Ciclo ovárico y menstrual. Niveles de estrógenos y progesterona durante el ciclo menstrual. (Tomado de *Premenstrual dysphoria*. Villaseca P. 2006²⁰)

Durante esta fase, se produce la luteinización de las células del folículo y un marcado incremento de la producción de estradiol y progesterona, que inducen cambios característicos del endometrio y lo preparan para la implantación del embrión (figura 8).

Si se produce el embarazo, el estímulo de la hCG mantiene el cuerpo lúteo y la secreción de P4 con niveles similares a los de la fase lútea media¹². Si no se produce el embarazo el cuerpo lúteo se convierte en una estructura acelular de tejido conectivo fibroso conocida como cuerpo albicans.

Según los nuevos conocimientos sobre el ciclo menstrual, durante esta fase también se producen oleadas de desarrollo folicular hasta la etapa antral o antral tardía, pero, por un lado la FSH se mantiene en niveles por debajo del umbral de la “selección” folicular, y por otro lado, no se produce el pico de LH debido a la inhibición producida por la P4, por tanto, no se producirá la ovulación del ovocito^{9,21}. No obstante, estos folículos son posibles candidatos para ser estimulados y llegar a ovular^{22,23}.

II. TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA

Este conocimiento del ciclo ovárico se ha utilizado para llevar a cabo técnicas de reproducción asistida con una estimulación ovárica controlada (EOC), intentando optimizar los resultados de estas técnicas y sacándole el máximo partido al funcionamiento del ovario.

La EOC persigue la obtención de aquel número de folículos dominantes que maximice los resultados de la técnica que se vaya a utilizar posteriormente²⁴.

A. HISTORIA

El origen de la FIV se remonta a 1973, cuando el equipo del profesor Carl Wood en Melbourne reportó los primeros dos embarazos en humanos mediante fecundación *in vitro*, las cuales fueron gestaciones bioquímicas que no llegaron a implantar. Posteriormente en 1976, los doctores Patrick Steptoe y Robert Edwards reportaron un embarazo ectópico tras la transferencia de un embrión en estadio de mórula. No será hasta Julio de 1978, cuando estos dos mismos doctores conseguirían en Inglaterra, el primer recién nacido vivo mediante técnicas de reproducción, el denominado primer bebé probeta. Este primer embarazo a término fue conseguido mediante fecundación *in vitro* de un ovocito conseguido en un ciclo natural. A partir de este hito de la reproducción, las técnicas sufrirán grandes avances consiguiéndose millones de nacimientos hasta la actualidad^{25,26}.

En 1976 y 1978, J.Mackenzie Talbot²⁷ y Alex Lopata²⁸, del equipo del profesor Wood, describieron las primeras estimulaciones ováricas con gonadotropina pituitaria humana y con citrato de clomifeno y HCG en humanos. En 1979 Cohen y col. implantaron el control ecográfico del crecimiento folicular y establecieron el diámetro folicular, medido por ecografía, como predictor de madurez folicular²⁹. En 1981, Trounson³⁰ publicó los primeros embarazos tras EOC con CC y HCG. Un año después, en 1982, se consiguió la primera gestación tras transferencia de un embrión congelado en Australia²⁶ y en ese mismo año, surgieron los análogos de la GnRH, cuando el equipo de Richard Fleming realizó un estudio con

cinco pacientes que presentaban alteraciones hormonales en la fase lútea, demostrando su utilidad, junto con las gonadotropinas exógenas, en pacientes con deficiencia lútea³¹.

En 1983 Trounson y col. reportaron el primer embarazo tras donación de un embrión fertilizado *in vitro* con donación de ambos gametos³². Inicialmente los ovocitos donados se obtenían de los ovocitos sobrantes tras un ciclo de fecundación *in vitro* de pacientes con problemas de esterilidad, pero al no existir ninguna ley reguladora, cada grupo realizaba su protocolo particular, lo que causó grandes problemas éticos²⁹.

Durante estos años se incrementaron cuantiosamente las estimulaciones ováricas, surgiendo problemas como la luteinización precoz. Por lo que en 1985, se empezaron a utilizar los análogos de la GnRH con el fin de evitar esa luteinización prematura, suponiendo un enorme avance en las técnicas de reproducción. Unos años después, en 1991, surgieron los antagonistas de la GnRH, reduciéndose la incidencia de hiperestimulaciones ováricas y acortando el tiempo de estimulación²⁶. Pero no será hasta 1998, cuando se reporte el primer nacimiento tras una estimulación ovárica con FSH recombinante y antagonistas de la GnRH³³. Estos fármacos aportaron ciertas ventajas, tales como: a) disminución de la dosis de FSH necesaria para la estimulación ovárica, debido a la FSH endógena secretada en la fase folicular inicial; b) disminución de los efectos secundarios asociados al hipoestrogenismo; c) disminución de los días de estimulación; d) reducción del riesgo de Síndrome de hiperestimulación ovárica³⁴.

Desde entonces hasta la actualidad, las técnicas de reproducción asistida han ido evolucionando, mejorando los protocolos de estimulación e individualizándolos a las características de las pacientes, se han perfeccionado las técnicas de conservación de ovocitos, como la vitrificación, o el desarrollo embrionario *in vitro* con la aparición de la técnica Time-Lapse, entre otras. Además, se prevé que este campo siga evolucionando rápidamente con los avances en medicina genética, molecular e inmunológica.

B. ESTIMULACIÓN OVÁRICA CONTROLADA

i. INTRODUCCIÓN

La administración de gonadotropinas exógenas supone la base de la estimulación folicular de las técnicas de reproducción asistida. Los folículos presentan un “umbral” de FSH, el cual debe ser sobrepasado para que se produzca el crecimiento y desarrollo del folículo. En la EOC el objetivo es sobrepasar ese nivel umbral de un número óptimo de folículos. Este número óptimo dependerá de la técnica que se vaya a emplear y de cada paciente. Además se debe tener en cuenta el llamado “período ventana de la FSH”.

Éste es el período en el que los niveles de FSH van a determinar el número de folículos que van a ser reclutados y durante el que puede actuar la FSH exógena²⁴. Por tanto, la cohorte de folículos que va a crecer en cada ciclo ovárico, se vuelve dependiente de la FSH exógena administrada.

ii. RESPUESTA OVÁRICA

La respuesta ovárica es el grado de desarrollo multifolicular que se alcanza durante la estimulación hormonal, el cual dependerá de cada mujer y de múltiples factores, entre otras, de la reserva ovárica existente²⁴.

a. FACTORES QUE CONDICIONAN LA RESPUESTA OVÁRICA

● *RESERVA OVÁRICA*

El término “reserva ovárica”, en este campo, se usa para definir la cantidad de folículos en reposo presentes en los ovarios en un momento dado y que pueden ser estimulados con gonadotropinas exógenas^{35,36}.

Su evaluación es de gran valor para determinar el pronóstico de los tratamientos de fertilidad y la elección del protocolo a utilizar en las técnicas de reproducción asistida.

Para evaluar esa reserva ovárica se han estudiado diversos biomarcadores⁶.

- Marcadores hormonales: como la FSH basal, LH, estradiol, inhibina B, AMH.
- Test dinámicos: como el test con citrato de clomifeno.
- Marcadores ecográficos: como la medición del volumen ovárico o el recuento de folículos antrales.

Muchos de ellos tienen un valor predictivo limitado. Según algunos estudios, niveles elevados de FSH se han relacionado de forma consistente con una disminución de la reserva ovárica, peores resultados en técnicas de FIV y un aumento en la tasa de aneuploidias^{35,37}. Un estudio analizó los resultados de los ciclos de FIV según el nivel basal de FSH por rangos de edad, observando que las mujeres que presentaban menores niveles de FSH en cada rango de edad presentaban mejores resultados³⁸.

Sin embargo, en los últimos años los datos sugieren que los mejores marcadores de la reserva ovárica son el RFA y la determinación de la AMH^{6,39}.

– RFA

En 1979 se implantó el uso de los ultrasonidos para evaluar el crecimiento folicular en el ovario, estableciéndose el RFA (pool de folículos preparados para poder ser seleccionados cada mes) como un marcador de reserva ovárica y factor predictivo de los resultados en las TRA durante la década de los 90⁴⁰. Pero no será hasta 2010 cuando un grupo de expertos establecerían las normas para estandarizar este marcador, estableciéndose su medición entre los días 2 al 4 del ciclo, con el fin de evitar la variación durante el ciclo e incluyendo todos los folículos entre 2 y 10 mm⁴¹.

Según un metaanálisis de 2008⁴², el RFA es más preciso que la FSH, el volumen del ovario o la combinación de varios marcadores bioquímicos para predecir la baja respuesta a la estimulación ovárica. Además múltiples estudios han demostrado que el RFA es un buen marcador predictivo de la respuesta ovárica a las gonadotropinas, entendiendo ésta como el número de ovocitos extraídos en los ciclos de FIV^{40,43-47}.

En la actualidad, el RFA se ha establecido como una herramienta no invasiva y fácil de realizar, que proporciona de inmediato información predictiva esencial sobre la capacidad de respuesta ovárica^{6,43}.

Algunas de las limitaciones que presenta son: a) se debe realizar en un determinado momento del ciclo (fase folicular temprana), debido a la variación intraciclo que presenta; b) no se pueden distinguir los folículos antrales de los atrésicos, lo que puede llevar a una sobreestimación (tabla 1).

– AMH

La AMH es una hormona que se produce en las células de la granulosa de los folículos pequeños en crecimiento, siendo la mayoría de ellos, folículos preantrales y antrales precoces. El nivel de AMH en suero va disminuyendo a lo largo de la edad fértil de la mujer y se hace indetectable en la menopausia. La medición de esta hormona en sangre se correlaciona con la edad y el RFA⁴⁸⁻⁵⁰. En comparación con otros marcadores de reserva ovárica, se ha objetivado que se trata de un marcador cuyos cambios se producen con anterioridad a otros tales como, la elevación de la FSH o el descenso del RFA⁴⁹.

La AMH es el marcador bioquímico mejor relacionado con el número de folículos antrales existentes, por lo que se sugiere que es el mejor biomarcador de la reserva ovárica^{51,52}. Además, es un buen predictor de la respuesta ovárica en las técnicas de reproducción asistida⁵³⁻⁵⁶.

Según tres metaanálisis realizados en 2009, 2011 y 2013, tanto el RFA como la AMH son igual de precisos para predecir tanto la baja como la alta respuesta en los ciclos de FIV^{44,46,57}, añadiendo valor predictivo a la edad de la mujer⁴⁴.

Una revisión realizada por La Marca y col. en 2014³⁹, sobre el uso de los marcadores de reserva ovárica para la individualización de los protocolos de estimulación ovárica en los ciclos de FIV, demuestra que estos dos últimos marcadores de reserva ovárica (AMH y RFA) son los más útiles para predecir la respuesta ovárica en los ciclos de estimulación ovárica. Además en dos estudios realizados por Chalumeau y col. en 2017 y Siddiqui y col. en 2019, que analizaban tanto factores clínicos como biológicos o bioquímicos, los niveles de AMH y el RFA fueron los que presentaron mayor correlación con la respuesta ovárica^{36,58}.

En la tabla 1 comparamos ambos métodos, presentado sus ventajas y desventajas. Ambos factores dependen de factores externos, técnicos y fisiológicos.

RFA	AMH
Ventajas	Ventajas
<ul style="list-style-type: none"> - Inmediatez. - Accesibilidad. - Fácil de realizar. - Método no invasivo. 	<ul style="list-style-type: none"> - Bien caracterizado en edades reproductivas. - Baja variabilidad intraciclo: se puede realizar en cualquier momento durante el ciclo*. - Baja variabilidad entre operadores y entre centros. Determinación estandarizada y automatizada⁵⁹.
Desventajas	Desventajas
<ul style="list-style-type: none"> - Variabilidad intraciclo: debe realizarse en un momento del ciclo determinado. - Variabilidad intraoperador: determinación subjetiva y diferencias en tecnología, capacitación y metodología. - Posible sobreestimación: no diferencia entre folículos antrales y atrésicos. - Influenciado por las características de la paciente (obesidad, mala transmisión sónica, interposición estructuras). 	<ul style="list-style-type: none"> - Requiere una cuidadosa preparación y almacenamiento de la muestra. - Requiere el acceso a la técnica (laboratorio). - Mayor coste. - Existe controversia sobre la variabilidad intraciclo y su repercusión clínica*

Tabla 1. Ventajas y desventajas de los marcadores de reserva ovárica: RFA y AMH.

* La AMH parece ser el marcador de reserva ovárico más estable a lo largo del ciclo o entre los diferentes ciclos ováricos⁶⁰, no obstante, en este punto hay cierto debate. Desde que en 2006 La Marca y col.⁶¹ hicieran un estudio en el que no se observaban fluctuaciones significativas de la AMH a lo largo del ciclo, han sido varios autores los que han reforzado dicha idea^{52,62-65}. Sin embargo, otros autores sí han encontrado fluctuaciones intraciclo, observando que el nivel de AMH es mayor en la fase folicular que en la fase lútea, lo que justifican con su estrato fisiológico y su origen en los folículos preantrales y antrales precoces⁶⁶⁻⁶⁹. No obstante, a nivel clínico, la mayoría de estudios no observan diferencias significativas, lo que no ha supuesto, por el momento, que se establezca de manera universal el momento del ciclo más idóneo para la medida de dicho marcador^{63,66,67,69}.

- **EDAD**

La reserva ovárica está estrechamente relacionada con la edad, que es el factor aislado mejor relacionado con el resultado reproductivo³⁵.

Se sabe que la reserva ovárica disminuye a medida que aumenta la edad, aumentando el número de mujeres con problemas de fertilidad. La fertilidad de la mujer empieza a disminuir de manera significativa a partir de los 30 años, cayendo de manera más acusada desde los 35 años^{35,70,71}, esa disminución está relacionada tanto con la cantidad como con la calidad de los ovocitos⁶.

Según el estudio de Wallace de 2010, que establece un modelo con el que determina la reserva ovárica de las mujeres desde la concepción hasta la menopausia, refleja que a los 30 años el porcentaje de reserva ovárica remanente es del 12% de la reserva inicial y a los 40 años solo del 3%. Además establece que la pérdida del 95% de la reserva ovárica inicial hasta los 25 años depende solo de la edad (figura 9)².

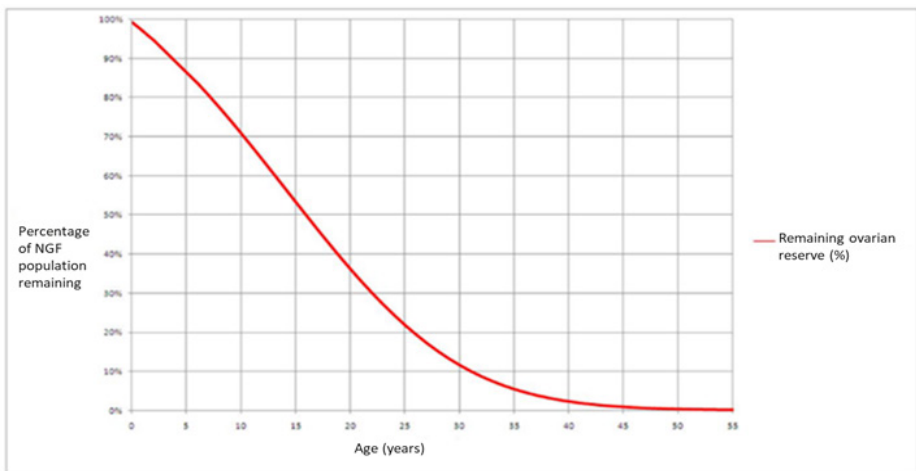


Figura 9. Descenso de la reserva ovárica según avanza la edad. NGF: non-growing follicles (Tomado de *Human ovarian reserve from conception to the menopause*, Wallace y col., 2010²)

La edad no solo es un marcador de reserva ovárica^{2,72}, sino que también es un marcador de respuesta ovárica en los tratamientos de reproducción asistida con estimulación ovárica controlada^{36,58,72}. En dichos tratamientos la edad influye negativamente en la respuesta ovárica a las gonadotropinas y conforme aumenta ésta, disminuye la probabilidad de gestación^{73,74}.

Otros autores como Smith y col.⁷⁵ han analizado la relación de la edad con los resultados de las TRA, observando que la tasa de RNV disminuye con el aumento de la edad de la mujer, lo cual se evita utilizando ovocitos de donantes. En ese mismo estudio, evaluaron la tasa de RNV por ciclo iniciado y la tasa de RNV acumulada tras varios ciclos de estimulación consecutivos en las mujeres que se sometían a tratamientos de FIV ajustándolo por edad, observando que la tasa de RNV por ciclo se mantenía más o menos estable hasta el cuarto ciclo de estimulación y que la tasa acumulada de RNV aumentaba hasta el noveno ciclo de estimulación en mujeres de hasta 42 años. Por encima de esta edad la tasa de éxito era muy baja y la tasa acumulada de RNV no aumentaba a partir del cuarto ciclo de estimulación.

- *IMC*

La obesidad o el sobrepeso afectan de forma negativa a la función reproductiva, produciendo alteraciones menstruales, anovulación, infertilidad o abortos⁷⁶.

El mecanismo por el que se relaciona la infertilidad con la obesidad es complejo, se cree que el desbalance entre andrógenos y estrógenos es el mecanismo causante de la subfertilidad. La obesidad además se relaciona con disminución de la proteína transportadora de hormonas sexuales tales como los andrógenos y los estrógenos. Por lo que el aumento de producción de andrógenos junto con la disminución de dicha proteína transportadora, van a crear un ambiente hiperandrogénico el cual llevará a la anovulación por inhibición de la maduración folicular⁷⁶. La hiperinsulinemia e hiperleptinemia también se relacionan con la obesidad e infertilidad⁴³.

En reproducción, según múltiples estudios, la obesidad se ve relacionada con una mayor necesidad de gonadotropinas en la estimulación ovárica, debido a una respuesta a éstas más deficiente⁷⁶⁻⁸⁰. Sin embargo, hay controversia en cómo afecta la obesidad al resto de resultados de los tratamientos de reproducción^{43,76}. Observándose en algunos estudios que el IMC no afecta per se a los resultados de la respuesta ovárica^{77-79,81,82}, y por contra, observándose en otros menores tasas de ovocitos extraídos⁸³ y mayores tasas de cancelación^{80,83}.

- *GENÉTICA*

En 1991, se secuenció el gen del receptor de la FSH⁸⁴, objetivándose desde entonces numerosos polimorfismos de un solo nucleótido y mutaciones del gen⁸⁵. A partir de entonces, se han llevado a cabo múltiples estudios para conocer cómo influyen los cambios genéticos en la respuesta ovárica de las TRA.

Se han ido estudiando múltiples genes involucrados en la respuesta ovárica a la FSH exógena, entre ellos, los polimorfismos del gen del receptor de la FSH son los más estudiados, con resultados dispares en cuanto a su valor predictivo de la respuesta ovárica como demuestra una revisión realizada por Desai y col. en 2013⁸⁶.

Otros, son los genes del receptor de estrógenos, los cuales se han relacionado de manera más uniforme con la calidad de los folículos, el número de ovocitos maduros extraídos, la tasa de fertilización y la calidad embrionaria en los ciclos de estimulación ovárica de los tratamientos de FIV^{85,87,88}.

Estudios posteriores van acotando más los polimorfismos de un solo nucleótido estudiados, siendo rs10407022 en el gen de la AMH, rs3741664 en el gen del receptor de la AMH, rs1394205 y rs6166 en el gen del receptor de la FSH y rs2234693 en el gen del receptor de estrógenos 1 los más estudiados y en los que se van encontrando hallazgos más significativos, en cuanto a su valor predictivo de la respuesta ovárica^{85,89}.

Un estudio realizado por Ganesh en 2018, refleja que es necesario combinar varios genes para evaluar cuál puede desempeñar un papel en la fertilidad⁸⁹.

Por tanto, aunque cada día se conocen más genes y su papel en la respuesta ovárica y la fertilidad, este es un campo en el que todavía queda mucho por avanzar.

- *OTROS: TABACO, ALCOHOL, CAFEÍNA.*

Se conoce que el tabaco está relacionado con la infertilidad desde hace tiempo. Sin embargo, el mecanismo por el que afecta a la fertilidad o el efecto deletéreo en el resultado de las técnicas de reproducción sigue siendo controvertido⁹⁰.

Varios estudios han demostrado que el tabaco activo en las mujeres tiene un efecto perjudicial en la reserva ovárica⁹⁰⁻⁹³, presentando estas mujeres niveles más bajos de AMH^{90,93} o niveles más altos de FSH⁹¹ que las no fumadoras. Además se han objetivado peores resultados en las TRA^{90,93}.

El alcohol y la cafeína se han postulado como factores negativos para la reserva ovárica, pero no se ha podido demostrar firmemente⁹¹.

iii. BASES DE LOS PROTOCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA.

Para llevar a cabo la estimulación ovárica en las técnicas de reproducción asistida se utilizan diferentes protocolos farmacológicos y diferentes hormonas sintéticas.

Dentro de un protocolo de estimulación ovárica se pueden diferenciar distintas fases del tratamiento⁹⁴:

a. PRE-TRATAMIENTO EN FASE LÚTEA DEL CICLO PREVIO

Existen distintas estrategias para poder planificar el inicio del ciclo de estimulación ovárica. Las más utilizadas son los estrógenos en fase lútea y los anticonceptivos orales. Ambas se basan en suprimir el ascenso de la FSH que tiene lugar durante la transición de la fase lútea y la fase folicular inicial, para conseguir una sincronización de la cohorte folicular y con ello obtener una respuesta más sincronizada.

Existen distintos estudios publicados sobre el uso de tratamientos antes de un ciclo de estimulación ovárica, pudiéndose concluir que tanto los ACOs como los estrógenos, no afectan al número de ovocitos extraídos o a las tasas de gestación en pacientes sometidas a ciclos de FIV tanto con agonistas como con antagonistas⁹⁵⁻⁹⁸, incluso en un estudio se observan mejores resultados en cuanto al número de ovocitos extraídos⁹⁹. Además, todos los estudios coinciden en que el uso de estos tratamientos, permite una mejor planificación del ciclo de estimulación ovárica.

En cuanto al uso de ACOs, otro factor a tener en cuenta, son los días que transcurren entre la última pastilla de ACOs y el inicio de estimulación, ya que puede tener impacto en el resultado de la estimulación ovárica. Actualmente se aboga por iniciar la estimulación al 5º día de suspender la última pastilla de ACO, ya que según un estudio realizado en el 2007¹⁰⁰, se objetivó que ese era el periodo necesario para que se normalizasen los valores de gonadotropinas, previamente frenados por el uso de ACOs, a la vez que la cohorte de folículos se mantenía homogénea.

b. DESENSIBILIZACIÓN DE LA HIPÓFISIS

La introducción de los análogos de la GnRH en los protocolos de estimulación ovárica, con el fin de desensibilizar la hipófisis y disminuir las hormonas endógenas, supuso un aumento de las tasas de éxito de los tratamientos de FIV.

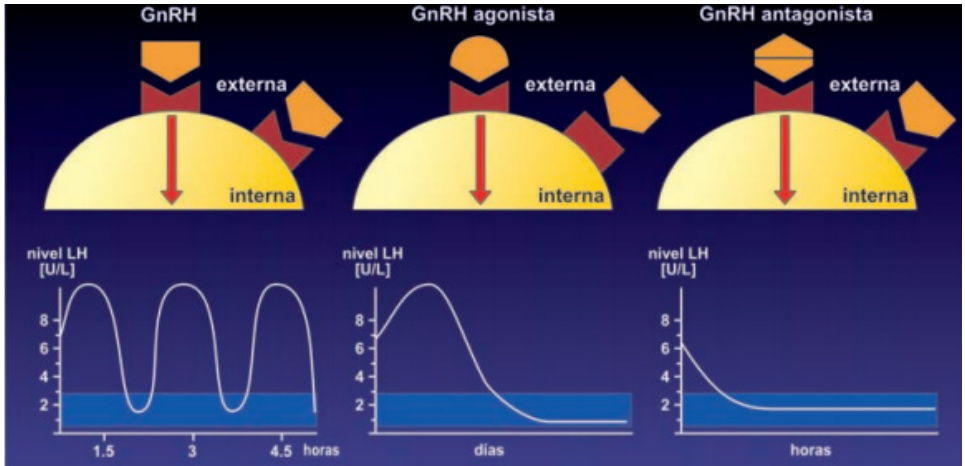


Figura 10. Efecto y tiempo de acción de la GnRH natural y los agonistas y antagonistas de la GnRH. (Tomado de Tresguerres J. Antagonistas de la GnRH. Mecanismo de acción. Máster en Reproducción Humana¹⁰¹).

Los agonistas de la GnRH, tras su uso prolongado, producen la desensibilización y regulación a la baja de la hipófisis, originando un estado de hipogonadismo hipogonadotrópico (figura 10 y tabla 2)¹⁹.

Los antagonistas de la GnRH, producen una inhibición competitiva del receptor de la GnRH endógena, causando la disminución inmediata de las concentraciones de gonadotropinas (figura 10 y tabla 2)¹⁹.

ANTAGONISTAS	AGONISTAS
Unión competitiva a receptores	“Down regulation” de los receptores y desensibilización de las células gonadotrópicas
No “Flare Up”	Si “Flare Up”
Muy dosis dependiente	No dosis dependiente
Supresión inmediata FSH y LH	Necesitan 1-3 semanas
Recuperación inmediata de la función hormonal al suspender tratamiento	Al menos necesitan 6 semanas
No interfieren con los sucesos intracelulares después de la unión al receptor	Sí interfieren

Tabla 2. Diferencias entre agonistas y antagonistas de la GnRH.

Una revisión de la Cochrane de 2016¹⁰², no encuentra diferencias significativas en las tasas de recién nacido vivo entre ambos protocolos, aunque sí encuentra una disminución significativa de la incidencia de SHO y de los días de administración del fármaco en los ciclos con antagonistas.

En los últimos años, se está estudiando la utilidad de las progesteronas sintéticas para evitar el pico de LH, sobre todo el acetato de medroxiprogesterona. Se ha comparado ésta con agonistas y con antagonistas de la GnRH en los ciclos de estimulación ovárica, observándose un resultado similar en cuanto a cantidad ovocitaria y calidad embrionaria¹⁰³⁻¹⁰⁷. Por contra, afecta negativamente a la receptividad endometrial, por lo que el uso de la progesterona exógena para evitar la luteinización prematura en los ciclos de estimulación ovárica tiene utilidad en las mujeres donantes de ovocitos, en la preservación de fertilidad o en los ciclos de FIV en los que se vayan a transferir los embriones en un segundo tiempo¹⁰⁸.

c. INDUCCIÓN DEL DESARROLLO FOLICULAR MÚLTIPLE

Para la inducción del desarrollo folicular múltiple son utilizadas gonadotropinas exógenas, existiendo gonadotropinas urinarias o recombinantes. Una revisión de la Cochrane de 2011¹⁰⁹, compara ambos tipos de gonadotropinas en pacientes normorrespondedoras menores de 35 años, con resultados claramente similares en cuanto a eficacia y seguridad entre ambas.

Un estudio posterior realizado en donantes de óvulos donde se comparó el uso de corifolitropina alfa (una dosis semanal) con FSHr de administración diaria, no encontró diferencias en el número de ovocitos obtenidos y en los resultados del ciclo¹¹⁰.

Por otro lado, otra revisión de 2017¹¹¹, establece que la evidencia es insuficiente para promover o desalentar los regímenes de estimulación que incluyen LH recombinante combinada con FSH recombinante en los ciclos de FIV/ICSI.

La dosis diaria de FSH con la que se debe empezar la estimulación ovárica puede ser calculada en base a la edad de la paciente, el recuento de folículos antrales y biomarcadores como la AMH^{39,112}. Posteriormente se irá ajustando la dosis al resultado de los sucesivos controles ecográficos y hormonales y en ciclos ulteriores, se ajustará a la respuesta previa.

De manera convencional se suele iniciar la estimulación ovárica en primera fase de ciclo o fase folicular temprana. No obstante, el conocimiento de la existencia de

diferentes oleadas de desarrollo folicular dentro de un mismo ciclo ovárico, ha llevado a la adopción global de nuevas estrategias de estimulación ovárica en las que la estimulación puede iniciarse en diferentes momentos a lo largo del ciclo^{10,11,113}.

Los protocolos de estimulación ovárica de inicio aleatorio (*random start*) y de inicio en fase lútea han tenido aplicaciones clínicas importantes para las mujeres que necesitan criopreservación urgente de ovocitos o embriones para preservar la fertilidad antes de la quimioterapia. Una revisión realizada en 2017¹¹⁴, concluye que con la estimulación de inicio aleatorio se obtiene un número similar de ovocitos y embriones en comparación con la estimulación convencional, acortando el tiempo entre la estimulación y la criopreservación de los ovocitos a expensas de una mayor dosis de gonadotropinas.

La doble estimulación ovárica en el mismo ciclo, tanto en fase folicular como en fase lútea, denominada *duostim*, puede usarse para optimizar los resultados clínicos en mujeres con una respuesta ovárica deficiente a la estimulación y también en aquellas que requieran preservación de la fertilidad antes de la quimioterapia. Este protocolo de estimulación se utilizará siempre y cuando no se precise realizar la transferencia en ese ciclo^{11,115}. La doble estimulación ha demostrado aportar beneficios, sobre todo a pacientes con baja reserva ovárica, tales como aumento de la tasa de ovocitos extraídos, acortamiento del tiempo de tratamiento, disminución de la tasa de cancelación del ciclo o aumento de la tasa acumulada de RNV¹¹⁶⁻¹²¹. En la mayoría de estudios en la fase folicular se extrae mayor número de ovocitos que en la fase lútea, pero las tasas de fertilización, número de embriones en estadio de blastocisto o los resultados clínicos posteriores a la transferencia de un embrión son similares^{116,117,122,123}. Con este protocolo de estimulación se aumenta la tasa de embriones euploides conseguidos en un ciclo^{116,119}. No obstante, falta por analizar los posibles efectos a largo plazo de este tipo de estimulaciones.

d. MADURACIÓN OVOCITARIA FINAL E INDUCCIÓN DE LA OVULACIÓN

Anteriormente a la aparición de los antagonistas, solamente se utilizaba la hCG para el desencadenamiento de la ovulación en los ciclos de FIV. Tras su aparición, se abrió la posibilidad de utilizar un bolo único de agonistas de la GnRH para dicho fin. El efecto flare up que supone la administración de una dosis del agonista conlleva un pico de LH que produce la maduración final de los ovocitos y el desencadenamiento de la ovulación.

Según una revisión, llevada a cabo en 2006¹²⁴, se objetivó que no había diferencias en cuanto al número de ovocitos extraídos ni en su calidad, entre el uso de hCG o agonistas de la GnRH para la maduración final y el desencadenamiento de la ovulación.

C. DONACIÓN DE OVOCITOS

i. DEFINICIÓN Y GENERALIDADES

La donación de ovocitos se trata de una técnica de reproducción asistida en la que el gameto femenino es aportado por una mujer diferente a la que posteriormente recibirá el embrión fecundado^{125,126}.

Según el Registro de la Sociedad Española de Fertilidad (SEF)¹²⁷, a nivel nacional, el porcentaje de niños nacidos con óvulos donados ha pasado de suponer el 19.6% de los niños nacidos mediante FIV/ICSI en el año 2002 al 40.08% en el año 2017. En 2017, según el Sistema de Información de Reproducción Humana Asistida (SIRHA)¹²⁸, en España el 29.9% de los ciclos de FIV han sido procedentes de donación de ovocitos, mientras que en nuestro centro, el programa de donación de ovocitos supone un 40% de los ciclos de FIV.

ii. INDICACIONES

La donación de ovocitos se ha convertido en un tratamiento cada vez más habitual para el tratamiento de diversas causas de infertilidad, tales como^{126,129-131}:

- Fallo ovárico primario, donde la menstruación no se llega a producir en la pubertad, por ejemplo, en la disgenesia gonadal o síndrome de Turner puro.
- Fallo ovárico precoz, donde la menstruación desaparece una vez alcanzada la pubertad y habiendo desarrollado los caracteres sexuales pero antes de los 40 años, pudiendo ser debido a varias causas tales como radiación pélvica, castración quirúrgica, alteraciones genéticas, infecciones, factores autoinmunes, factores ambientales como anorexia o tabaquismo, etc.
- Menopausia, una vez finalizada la etapa fértil de la mujer.
- Fallos repetidos de FIV, pudiendo deberse a baja respuesta en la estimulación ovárica, mala calidad ovocitaria o embrionaria, fallos repetidos de implantación, fallos repetidos de fecundación o abortos de repetición.

- Alteraciones genéticas, como por ejemplo el síndrome de X-frágil que produce fallo ovárico prematuro.
- Ovarios innacesibles para FIV, como pueden ser la pacientes con pelvis congeladas o múltiples adherencias debido a procesos quirúrgicos o infecciones previas.

iii. PROCESO DE DONACIÓN DE OVOCITOS

El programa de donación de óvulos comprende el conjunto de técnicas de reproducción asistida mediante las cuales una mujer voluntariamente dona sus ovocitos, mediante un proceso de estimulación ovárica y obtención de los mismos mediante una punción ovocitaria, para que sean fecundados en el laboratorio de reproducción, ya sea con el semen de la pareja de la mujer receptora o un semen de donante en su defecto, y una vez conseguida la fecundación y el desarrollo embrionario, los embriones sean transferidos al útero de la mujer receptora, que previamente debe de haberse preparado para recibir ese embrión, con el fin de que la mujer receptora tenga un hijo sano (figura 11).

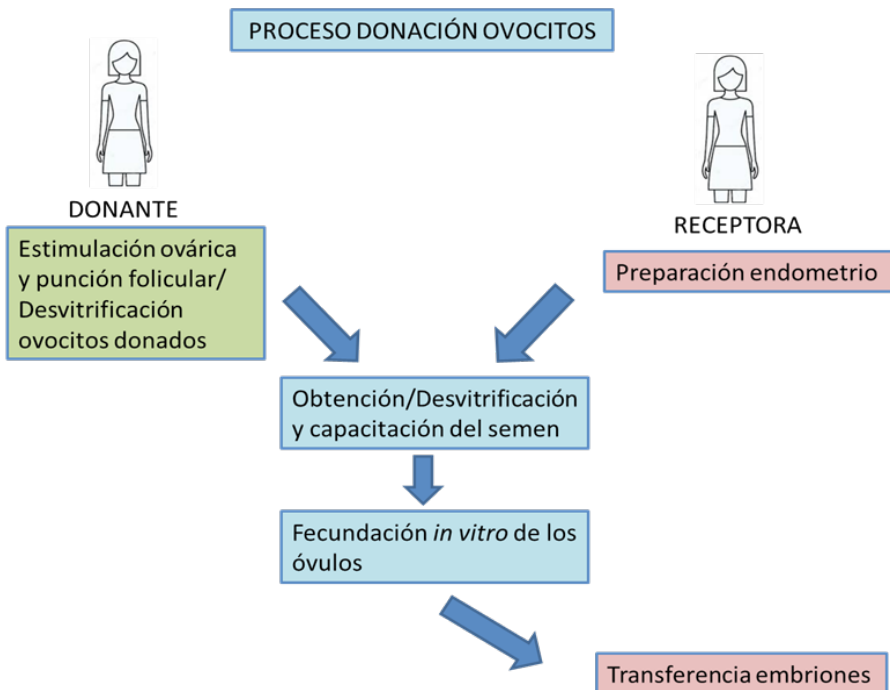


Figura 11. Proceso de donación de ovocitos.

a. DONANTES

De manera general, la elección del protocolo de estimulación ovárica para estas mujeres, se basa fundamentalmente en la reserva ovárica de la paciente, índice de masa corporal y respuesta a ciclos previos, teniendo en cuenta que las donantes de óvulos son mujeres jóvenes, en la mayoría de casos con fertilidad comprobada. Es por ese motivo, que además de velar por la eficacia del protocolo (asegurar buena respuesta y ovocitos de buena calidad) hay que buscar protocolos seguros e idealmente cortos, con el fin de conseguir una mayor adhesión de las mujeres a los tratamientos de estimulación⁹⁴.

En las mujeres donantes de óvulos, la estrategia utilizada para facilitar la planificación del ciclo es el uso de anticonceptivos hormonales, ya que se trata de mujeres jóvenes, en edad fértil, en las que un porcentaje importante de casos ya usan anticonceptivos orales como método anticonceptivo.

La elección de la gonadotropina para la inducción del desarrollo folicular debe depender de la disponibilidad, la conveniencia, la experiencia previa y los costes del tratamiento¹⁰⁹.

Para desensibilizar la hipófisis y evitar el pico de LH, el protocolo clásico estos años (y durante nuestro estudio) ha sido utilizando los antagonistas de la GnRH ya que presentan ventajas frente a los agonistas de la GnRH tales como una disminución significativa de la incidencia de SHO, un menor número de días de administración del fármaco y permiten poder utilizar los agonistas de la GnRH para desencadenar la ovulación, lo que ha supuesto una gran reducción del SHO, sin repercutir en la calidad ovocitaria ni en las tasas de embarazo de las pacientes receptoras, como se evidencia en las últimas revisiones de la Cochrane de 2014 y 2016^{102,132}. No obstante, en la actualidad la tendencia es a utilizar los progestágenos para evitar esa elevación prematura de la LH debido a su bajo coste, su fácil administración vía oral y su similar eficacia respecto a los antagonistas de la GnRH, ya que hay estudios que demuestran que el uso de los progestágenos en donantes no empeora la calidad de los ovocitos ni disminuye la tasa de gestación posterior en comparación con éstos^{104,106,108}.

El defecto en la fase lútea que se asocia a esta opción de maduración ovocitaria, no constituye un inconveniente, sino otra ventaja en las donantes de ovocitos, ya que el sangrado deprivativo tiene lugar 3-5 días después de la punción folicular.

b. RECEPTORAS

En la receptora se debe preparar el endometrio para que sea capaz de recibir al embrión, permitir su implantación y mantener los estadios iniciales de la gestación, hasta que la placenta asuma su propia autonomía¹³¹. Para que el endometrio alcance ese estado de receptividad es necesario imitar las condiciones de un ciclo ovárico ovulatorio normal, por lo que se deben administrar estrógenos, los cuales llevarán a cabo la proliferación endometrial y posteriormente se añadirán progestágenos, que transformarán el endometrio en un endometrio secretor (figura 12). Los estrógenos y la progesterona son las únicas hormonas necesarias para generar ese ambiente de receptividad endometrial¹³³.

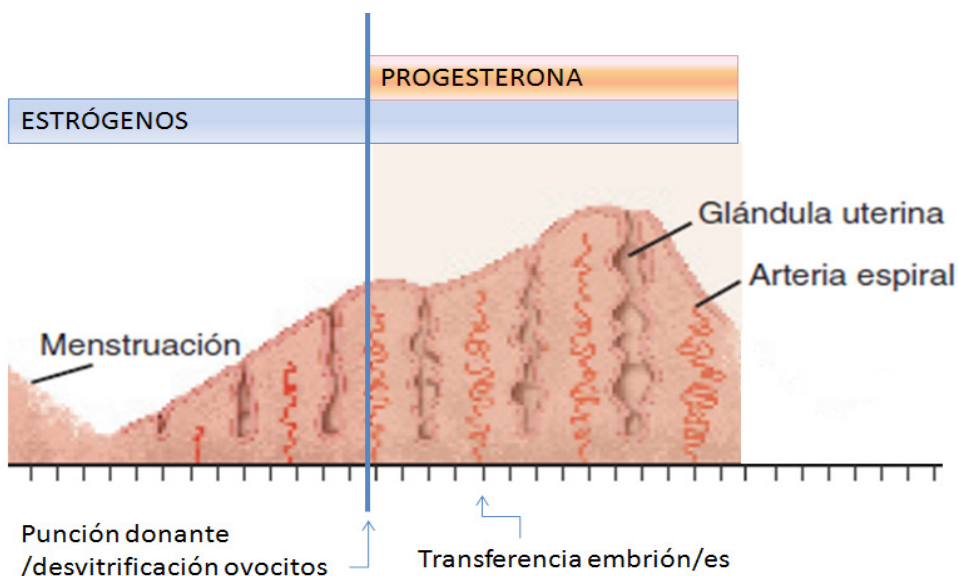


Figura 12. Preparación endometrial de la receptora en el proceso de donación de ovocitos (Adaptado del libro *Williams Ginecología*. Ed. McGrawHill, 2da edición, 2014¹³⁴).

Para conseguir esa receptividad endometrial existen diferentes protocolos que varían entre sí en la dosis y vía de administración de las hormonas utilizadas, en los días de administración de estrógenos antes de añadir la progesterona y en los días de administración de progesterona antes de la transferencia embrionaria¹³³. Según una revisión de la Cochrane de 2010¹³⁵, no hay evidencia suficiente para recomendar un protocolo de preparación endometrial en particular con el fin de conseguir mayores tasas de gestación tras transferencia embrionaria.

iv. ASPECTOS LEGALES

Dentro del marco legal actual por el que se rigen actualmente en España las técnicas de reproducción asistida en general, y la donación de ovocitos en particular, debemos mencionar el Real Decreto 1301/2006¹³⁶, así como la Ley 14/2006¹³⁷ sobre Técnicas de Reproducción Humana Asistida. Así, el Real Decreto 1301/2006, de 10 de noviembre¹³⁶, establece las normas de calidad y seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos y se aprueban las normas de coordinación y funcionamiento para su uso en humanos.

De acuerdo a la Ley Española 14/2006, de 26 de mayo¹³⁸, que regula esta práctica, el número máximo autorizado de hijos nacidos en España generados con gametos de un mismo donante no deberá ser superior a seis, por lo que se permite realizar repetidas estimulaciones ováricas a una misma donante hasta llegar a dicho número de hijos vivos.

Para controlar la donación de estos gametos a nivel nacional, como establece dicha Ley, se ha creado un Registro Nacional de Donantes a través de la plataforma del Sistema de Información de Reproducción Humana Asistida (SIRHA), con el fin de recoger y gestionar la información de los donantes de gametos y preembriones con fines reproductivos.

D. ESTIMULACIONES OVÁRICAS REPETIDAS

Debido a la necesidad de realizar varias estimulaciones ováricas en algunas pacientes que se someten a ciclos de FIV o la repetición de estimulación de algunas donantes de ovocitos, se han llevado a cabo múltiples estudios que evalúan el efecto de estas estimulaciones ováricas repetidas.

Ron-El y col. en 1990¹³⁹, observaron que la estimulación ovárica repetida en una misma paciente con un mismo protocolo producía una respuesta ovárica similar en cada ciclo de estimulación.

Posteriormente Caligara y col.¹⁴⁰ en 2001, observaron que las mujeres jóvenes donantes de ovocitos tras estimulaciones repetidas mantenían el número de ovocitos extraídos en cada punción. Otro estudio posterior en 2005¹⁴¹, realizado también en mujeres donantes de ovocitos, no obtuvo diferencias en cuanto al número de ovocitos extraídos, ni a los niveles de estradiol el día de la inducción de la ovulación. Tampoco hallaron diferencias en la dosis de gonadotropinas administradas en cada ciclo ni en las tasa de gestación tras varias estimulaciones ováricas repetidas.

En el año 2010, Luk y Arici¹⁴² realizaron una revisión de 10 estudios sobre el efecto de las estimulaciones ováricas repetidas en técnicas de reproducción, tanto en pacientes sometidas a ciclos de FIV (7 estudios), como en donantes de ovocitos (3 estudios), concluyendo que los datos existentes eran limitados para extraer conclusiones definitivas. No obstante, observaron que los estudios realizados en pacientes sometidas a técnicas de FIV parecían coincidir en que el número y la calidad de ovocitos extraídos no empeoraba tras 3 ciclos de estimulación ovárica y la dosis de gonadotropinas requerida para cada estimulación, una vez se realizaba el análisis ajustado a la edad, tampoco difería entre los diferentes ciclos de estimulación. En cambio, los datos eran más controvertidos a partir del tercer ciclo de estimulación. En cuanto a las pacientes donantes de ovocitos, concluyeron que las estimulaciones ováricas repetidas no parecían afectar a la reserva ovárica, manteniéndose el número de ovocitos extraídos, la calidad embrionaria y la dosis de gonadotropinas utilizadas.

Otro estudio realizado en 2011 por Lee y col.¹⁴³, no encontró diferencias significativas en la tasa de ovocitos maduros e inmaduros que se extraían tras estimulaciones ováricas consecutivas, en las que se utilizaba el mismo protocolo de estimulación, en mujeres que se sometían a ciclos de FIV. Y más recientemente, en 2019 Paul y col.¹⁴⁴, han analizado el efecto de las estimulaciones repetidas en 65 donantes de ovocitos, observando que las donantes que habían realizado más de 3 ciclos de estimulación, obtuvieron más ovocitos maduros, más tasa de fertilización y mejor calidad embrionaria que las donantes que había realizado menos de 3 ciclos de estimulación ovárica.

El efecto que supone el tiempo entre las consecutivas estimulaciones ováricas solo ha sido analizado previamente por Caligara¹⁴⁰. Comparó, en una serie pequeña de donantes de ovocitos, los resultados de los ciclos de estimulación ovárica que se realizaron con un intervalo de menos de 90 días entre ellos, respecto a los que se realizaron con un intervalo de más de 90 días, sin observar diferencias entre ambos grupos en cuanto a la cantidad y calidad ovocitaria.

En cuanto a los riesgos a corto plazo en mujeres donantes de ovocitos, éstos son escasos, dado que el SHO, que suponía el riesgo más grave y frecuente, se ha reducido al mínimo desde el uso de los antagonistas de la GnRH para frenar la hipófisis durante la estimulación ovárica y los agonistas de la GnRH para el desencadenamiento final de la ovulación, sin empeorar los resultados reproductivos en las receptoras respecto a otros protocolos de estimulación ovárica^{132,145,146}. Otras complicaciones potencialmente graves, como la hemorragia intraabdominal, la torsión ovárica o la infección tras la punción^{147,148}, se producen raramente, no obstante, los efectos secundarios leves que requieren consulta médica en algunas series alcanzan hasta el 8.5% de incidencia¹⁴⁷. Los efectos negativos a largo plazo, sin embargo, han sido menos estudiados. Scheneider y col. en 2017¹⁴⁹ describieron 5 casos de

cáncer de mama en mujeres jóvenes donantes de ovocitos, resaltando una posible elevación del riesgo de cáncer de mama en estas mujeres. A parte, otros autores sugieren una relación positiva entre la estimulación con gonadotropinas y los cánceres de ovario, endometrio o colon¹⁵⁰. Sin embargo, los estudios retrospectivos realizados a largo plazo existentes hasta el momento, no demuestran un aumento en la incidencia de estos tipos de cánceres, sobre todo de cáncer de mama, con los tratamientos de FIV^{148,151-153}.

HIPÓTESIS

En las técnicas de reproducción asistida y, en concreto, en la estimulación ovárica de las mujeres donantes de ovocitos, se utiliza FSH exógena para estimular el desarrollo multifolículo y conseguir un mayor número de folículos maduros por ciclo de estimulación, con el fin de obtener un mayor éxito en la técnica.

Clásicamente, se ha descrito que la etapa FSH-dependiente de la foliculogénesis comienza desde el estadio de folículo secundario, el cual tarda en torno a 90 días en alcanzar el estadio de folículo preovulatorio^{5,7}. Dicho periodo de tiempo es el recomendado por el SIRHA entre las consecutivas estimulaciones en las mujeres donantes de ovocitos¹⁵⁴.

Basándonos en lo anteriormente citado, se ha planteado este estudio con el fin de analizar si el tiempo entre las estimulaciones ováricas consecutivas de las donantes de ovocitos afecta a la respuesta ovárica y con ello poder optimizar los programas de donación de ovocitos.

OBJETIVOS

OBJETIVO PRINCIPAL

- Analizar si la diferencia del tiempo transcurrido entre los ciclos de estimulación ovárica de las donantes de ovocitos afecta en los resultados de éstos, analizando el número de ovocitos en metafase II (maduros) extraídos.

OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Analizar si la diferencia del tiempo transcurrido entre los ciclos de estimulación ovárica de las donantes de ovocitos afecta al número total de ovocitos extraídos.
- Analizar si la diferencia del tiempo entre los ciclos de estimulación ovárica afecta a las tasas de cancelación.
- Evaluar si los días de estimulación necesarios para la estimulación ovárica varían según el tiempo entre estimulaciones ováricas repetidas.
- Analizar si la diferencia del tiempo entre los ciclos de estimulación ovárica afecta a los niveles de estradiol previos al desencadenamiento de la ovulación.
- Analizar si el tiempo entre las estimulaciones ováricas repetidas afecta a los resultados de los ciclos donados en cuanto a tasa de gestación bioquímica, tasa de gestación clínica, tasa de gestación evolutiva, tasa de recién nacido vivo y tasa de aborto.
- Analizar si factores como la edad o el IMC tanto de donantes como de receptoras, la concentración seminal, el día de transferencia o el número de embriones transferidos afectan a los resultados de los ciclos de estimulación.

MATERIAL Y MÉTODOS

I. DISEÑO DEL ESTUDIO

Se trata de un estudio retrospectivo, unicéntrico, realizado en la Sección de Donantes del Instituto Valenciano de Infertilidad (IVI) de Valencia. El estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de dicho centro.

Se realizó un análisis retrospectivo de la base de datos del centro IVI Valencia, SIVIS, recopilando datos de todas las pacientes donantes de ovocitos que hubieran realizado al menos un ciclo de estimulación ovárica acabado en punción y que además hubieran iniciado otros ciclos de estimulación hasta un máximo de 6. Por otro lado, de la misma base de datos, se obtuvieron datos de las receptoras de esos ovocitos donados.

Para la realización del estudio no se recabó consentimiento informado de las pacientes, ya que se iban a tratar datos anonimizados, por lo que, se planteó así debido a la complejidad que supondría localizar a las pacientes a posteriori.

II. CRITERIOS DE SELECCIÓN

A. DONANTES

Fueron incluidas en el estudio todas las donantes de ovocitos que cumplieran los criterios para participar en el programa de donación de ovocitos establecidos por la Ley 14/2006, y que habían realizado al menos un ciclo de estimulación ovárica acabado en punción y además habían iniciado otros ciclos de estimulación hasta un máximo de 6, en el período comprendido entre 2010 y 2017.

Según lo establecido por la Ley 14/2006, de 26 de mayo¹³⁷, para que una mujer sea aceptada como donante en el programa de donación de ovocitos, debe cumplir los siguientes criterios:

- Ser mujer entre 18 y 35 años de edad.
- No presentar antecedentes personales ni familiares de interés médicos y/o psicológicos, ni enfermedades de transmisión genética, hereditaria o infecciosa.
- Tener plena capacidad de obrar.
- Firmar el Consentimiento Informado por escrito para la donación, habiendo sido informada previamente de los fines y consecuencias del acto.

Desde el punto de vista médico:

- Índice de masa corporal entre 18-28 kg/m².
- Útero y ovarios normales, sin patología orgánica. No ovarios de aspecto poliquístico.
- Recuento de folículos antrales superior a 12 en la suma de los dos ovarios.
- Cariotipo normal.
- *Screening* de enfermedades infecciosas negativo (Virus Hepatitis B, Virus Hepatitis C, Virus de Inmunodeficiencia Humana y Sífilis).
- Análítica general con hemograma, hemostasia y bioquímica con parámetros dentro de la normalidad.

B. RECEPTORAS

Las receptoras fueron todas aquellas pacientes que se habían sometido a un ciclo de donación de ovocitos por cualquier motivo, en el centro IVI Valencia, durante el período de estudio, independientemente del ciclo de tratamiento que fuera.

III. GRUPOS DE ESTUDIO

Una vez analizados los datos de todas las donantes de ovocitos que hubieran iniciado al menos dos estimulaciones ováricas en la clínica IVI Valencia desde Enero de 2010 hasta Diciembre de 2017, se realizó un análisis por grupos, diferenciando las donantes en las que el tiempo entre los consecutivos ciclos de estimulación ovárica hubiera sido:

- a. inferior a 90 días,
- b. entre 90 y 120 días,
- c. mayor a 120 días,

con el fin de llevar a cabo un análisis de los resultados en función del tiempo entre las estimulaciones. Se analizaron los datos entre fechas de punciones, y en el caso de cancelación del ciclo, se escogió la fecha de cancelación.

Para la elección de estos puntos de corte se tuvo en cuenta, por un lado, el modelo clásico de foliculogénesis, establecido a partir de los estudios realizados por Gougeon y col., según el cual la etapa FSH-dependiente tarda entre 85 y 100 días en finalizar su ciclo desde el estadio de folículo secundario hasta folículo preovulatorio, estableciéndose de manera clásica los 90 días como punto de corte^{5,7}. En el estudio precedente realizado por Caligara¹⁴⁰ en 2001, ya se utilizó este punto de corte haciendo referencia a esos conocimientos clásicos. Por otro lado, cogemos como guía el intervalo que estipula el SIRHA de 3 meses de descanso entre estimulaciones en los programas de donación de óvulos¹⁵⁴.

No obstante, al no existir un tiempo exacto descrito y haberse elegido ese punto de corte de manera arbitraria, se ha decidido dividir en estos tres grupos para facilitar la interpretación de cara a la práctica clínica habitual.

IV. PROTOCOLO ESTIMULACIÓN DONANTES DE OVOCITOS

Una vez se aceptó a la paciente para ser incluida en el programa de donación de ovocitos, observando que la donante cumplía los criterios de inclusión en el programa anteriormente mencionados, la primera ecografía para la planificación del ciclo se realizó, o bien con la regla, en aquellos casos en los que las donantes no tomaban ningún tipo de anticonceptivo hormonal, o bien, el día 15 -18 del anticonceptivo. Si esta ecografía era normal se programaba el inicio de la estimulación.

El protocolo utilizado para la desensibilización de la hipófisis en todas las donantes incluidas en el estudio, fue un protocolo con antagonistas de la GnRH. La dosis de inicio de la estimulación dependió del número de folículos antrales, de la experiencia adquirida tras las estimulaciones previas, así como, del índice de masa corporal. De manera general, basándonos en el RFA, si el número de antrales era superior a 20, la dosis de inicio era de 150 UI de FSH, y si el número de antrales era inferior, la dosis de inicio de estimulación era de 225 UI de FSH.

Los controles de la estimulación se realizaron de manera periódica, realizándose controles ecográficos y analíticos. En el control ecográfico se determinó el número de folículos, así como el tamaño folicular. Para calcular el tamaño, se realizó el promedio de las dos mediciones de mayor tamaño de cada uno de los folículos.

Durante la estimulación cuando el tamaño del mayor folículo alcanzó un diámetro medio alrededor de 14 mm, se añadieron los antagonistas de la GnRH (aunque actualmente están cambiando los protocolos y se utilizan los progestágenos para evitar la luteinización precoz, en el momento del estudio se utilizaban los antagonistas de la GnRH con todas las donantes).

Se programó la punción folicular cuando se observaron > 3 folículos de > de 17 mm o cuando al menos un folículo alcanzó los 20 mm, siempre y cuando el total de folículos > 14 mm fueran \geq 8 folículos.

Para desencadenar la ovulación se administró 0.2 mg de acetato de triptorelina (agonista de la GnRH).

La punción folicular se realizó a las 36 horas exactas de la administración del inductor de la ovulación. Se realizó en el quirófano de FIV bajo sedación general. La vía de abordaje fue la vía vaginal bajo control ecográfico, y para la punción vaginal, se utilizó una aguja de aspiración de 19 Greys.

Los criterios de cancelación de la punción folicular fueron:

- Respuesta insuficiente o baja respuesta, < 8 folículos de tamaño > 14 mm.
- Mala administración de la medicación.

Los ovocitos extraídos, o fueron donados y utilizados en ciclos en fresco, o fueron vitrificados si no se disponía de receptora adecuada en dicho momento, o ambas si se dieron las dos situaciones simultáneamente en el caso de extraer un número elevado de ovocitos.

Las donantes anónimas fueron pareadas con sus receptoras de acuerdo a su fenotipo, grupos sanguíneos y características genéticas, según el programa de *matching* de la clínica.

Una vez donados los ovocitos fueron fecundados en el laboratorio mediante la técnica de ICSI.

V. PROTOCOLO TRATAMIENTO RECEPTORAS DE OVOCITOS

Cuando una paciente era candidata a ser receptora de una donación de ovocitos, se sincronizaba su preparación endometrial con la donante, en caso de donación de ovocitos en fresco.

Para llevar a cabo la preparación endometrial, se utilizaron distintos protocolos en función de si la mujer presentaba función ovárica o no.

A. MUJERES SIN FUNCIÓN OVÁRICA

Se realizó una ecografía basal con la regla. Si la ecografía era normal, se comenzaba la preparación endometrial.

Tras comprobar el reposo ovárico (no haber folículos de más de 10 mm), se inició la suplementación con estrógenos. De manera general, se precisó 6 mg/día de valerato de estradiol vía oral o 2 parches transdérmicos de 75 mg/48 horas.

Se realizó control ecográfico del aspecto y grosor endometrial en torno a los 10-14 días de estimulación. Se consideró un grosor adecuado igual o mayor a 7mm.

Alcanzado un grosor adecuado y tras la donación se inició el soporte de fase lútea con 400 mg/12 horas de progesterona natural micronizada vía vaginal. El número de dosis de progesterona previo a la transferencia embrionaria dependió de los días de desarrollo embrionario que tenían los embriones a transferir.

B. MUJERES CON FUNCIÓN OVÁRICA CONSERVADA

En mujeres cuya función ovárica estaba conservada, se debían administrar fármacos que evitaran el reclutamiento folicular temprano y el pico ovulatorio espontáneo de LH que desencadenase la ovulación en la receptora y no permitiese la sincronización del ciclo con la donante.

Para ello se utilizaron tanto los agonistas como los antagonistas de la GnRH:

- *Agonistas*

Se administraron 3.75 mg de acetato de triptorelina en la fase lútea del ciclo previo, en torno al día 21 del ciclo, o si estaba en tratamiento con ACOs, en torno a la pastilla 14-16. Posteriormente se realizó una ecografía con la menstruación, si los ovarios se encontraban en reposo, se comenzaba la suplementación estrogénica.

- *Antagonistas*

Se realizó una ecografía los días previos a la menstruación prevista o en las últimas 10 pastillas en el caso en que estuvieran en tratamiento con ACOs. Si los ovarios estaban en reposo, se inició la administración de una ampolla del antagonista desde el primer día del ciclo durante los primeros 7 días.

En ambos casos, una vez comprobada la quiescencia ovárica (folículos <10 mm en los ovarios), se comenzó la suplementación estrogénica desde el primer día de ciclo tal y como se ha explicado previamente.

En el caso en que se observó algún folículo de mayor tamaño, se esperó a la siguiente regla o se administró ACOs al menos 15 días hasta corroborar la desaparición del folículo.

En cada donación, se donaron entre 9 y 12 ovocitos tanto si provenían de ovocitos frescos como congelados.

VI. DEFINICIÓN DE VARIABLES

A. VARIABLES PRINCIPALES DEL ESTUDIO:

- Número de ciclos de estimulación ovárica iniciados a cada donante, teniendo en cuenta tanto los que acaban en punción como los que se cancelan.
- Tiempo transcurrido entre las punciones o cancelaciones de las estimulaciones ováricas consecutivas (Como se ha explicado en el apartado III. Grupos de estudio, se han dividido en 3 grupos: 1) <90 días, 2) 90-120 días, 3) >120 días).
- Número de ovocitos extraídos en cada estimulación ovárica.
- Número de ovocitos maduros extraídos en cada estimulación ovárica.
- Número de cancelaciones.
- Días de duración de cada ciclo de estimulación.
- Nivel de estradiol el día del triggering.

B. VARIABLES SECUNDARIAS DEL ESTUDIO:

- Número de donaciones realizadas.
- Número de transferencias por ciclo de donación realizadas.
- Número de receptoras.
- Recién nacidos vivos, confirmados tras el parto, con más de 24 semanas y más de 24 horas de vida.
- Gestación bioquímica: Entre 14 y 16 días después de la fecundación se valoran los niveles séricos de la fracción Beta de la hormona gonadotrópica coriónica humana (β -hCG), y si el resultado es mayor de 10UI/L la gestación bioquímica se considera positiva.
- Gestación clínica: observación de al menos un saco gestacional intraútero en una ecografía realizada a las 6 semanas de gestación.
- Gestación evolutiva: gestación con embrión con latido cardíaco positivo, confirmada por ecografía en el primer trimestre de embarazo (en torno a la semana 12).
- Aborto clínico: gestación clínica, objetivada por ecografía, perdida.

C. VARIABLES DESCRIPTIVAS:

i. DONANTES DE OVOCITOS

- Edad al inicio de la estimulación ovárica.
- IMC al inicio de la estimulación ovárica.

ii. RECEPTORAS

- Edad en el momento del tratamiento.
- IMC al inicio del tratamiento.

iii. CARACTERÍSTICAS DEL CICLO DE DONACIÓN DE OVOCITOS

- Concentración del semen de la pareja/donante el día de la donación.
- Día de la transferencia.
- Número de embriones transferidos (SET o DET).

VII. METODOLOGÍA ESTADÍSTICA

El análisis estadístico se realizó en primera estancia, utilizando la variable principal, tiempo entre ciclos de estimulación, categorizada según los tres grupos del estudio.

Posteriormente, dado que la variable se trata de una variable escala discreta, se repitió el análisis utilizándola como tal, con el objetivo de evitar sesgos y pérdida de información.

En ambos casos, para el estudio de las variables respuesta dicotómicas (tales como los datos de gestación) se llevaron a cabo modelos de regresión logística. Mientras que, para el estudio de variables respuesta numéricas discretas, procedentes de un proceso de conteo (como por ejemplo el número de ovocitos extraídos), se llevaron a cabo regresiones de Poisson, corrigiendo mediante los offsets adecuados en cada caso. Las variables relevantes así como las relaciones entre ellas fueron descritas mediante el uso de tablas y gráficos. Todo el análisis estadístico se llevó a cabo en el lenguaje de programación estadística R¹⁵⁵.

RESULTADOS

I. ANÁLISIS DESCRIPTIVO

A. DONANTES

En este estudio retrospectivo, se han analizado los datos de las donantes de ovocitos que han iniciado más de un ciclo de estimulación ovárica, entre el 1 de Enero de 2010 y el 31 de Diciembre de 2017 en la clínica IVI Valencia. Sólo se han considerado donantes con más de un ciclo de estimulación, es decir, que tengan registradas al menos dos fechas de inicio de estimulación, tanto si han finalizado en punción como si se han cancelado.

Se han recogido datos de 2461 donantes, a las que se les han realizado 7141 ciclos de estimulación, llevándose a cabo 10601 donaciones. Por tanto, se han llevado a cabo una media de 2.90 ciclos de estimulación y 4.31 donaciones por donante (tabla 3).

Datos demográficos donantes
2461 donantes
7141 ciclos de estimulación
10601 donaciones
4.31 donaciones de media por donante
2.90 ciclos de estimulación de media por donante
26.01 años edad media
22.43 IMC medio

Tabla 3. Resumen datos donantes y donaciones.

La edad de las donantes se reparte de manera uniforme, sobre todo entre los 23 y 32 años, siendo la edad media 26.01 años. En cuanto al IMC, los valores se distribuyen como una normal con cierta desviación a la izquierda, siendo el IMC medio de 22,43 con un rango entre 15.38 y 34.21 (figura 13).

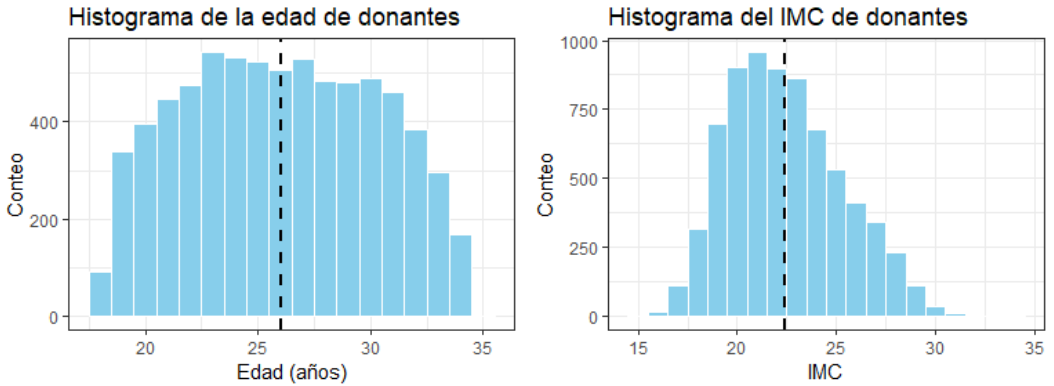


Figura 13. Histogramas de la edad e IMC de las donantes. (La línea discontinua marca la media).

Los datos recogidos demuestran que 2461 donantes realizaron al menos dos ciclos, 1834 realizaron al menos 3 ciclos, 1246 realizaron al menos 4 ciclos, 806 realizaron al menos 5 ciclos y 513 realizaron al menos 6 ciclos (tabla 4).

Número de ciclos realizados	Número de donantes
2	2461
3	1834
4	1246
5	806
6	513

Tabla 4. Número de donantes según el número de ciclo de inicio de estimulación.

En la figura 14 podemos observar cómo se distribuye el tiempo que transcurre entre un ciclo de estimulación y el siguiente, el cual en la mayoría de los casos, está entre 50 y 250 días, siendo la media global de 187 días.

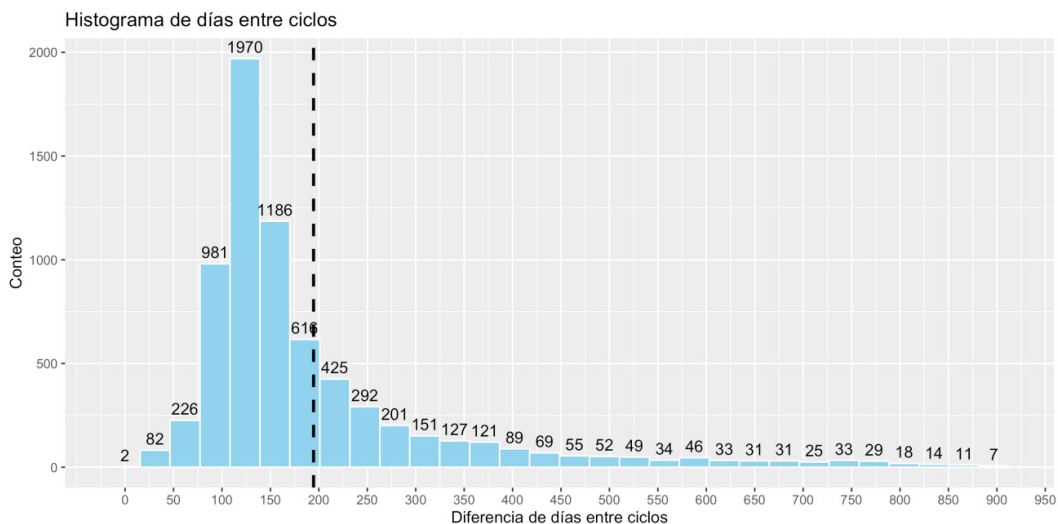


Figura 14. Histograma de la diferencia de días entre ciclos. (La línea discontinua marca la media).

Al dividir los datos recogidos de las donantes en los grupos de estudio: 549 ciclos de estimulación se han llevado a cabo en menos de 90 días respecto al anterior, 1491 ciclos entre 90 y 120 días y 5101 se han llevado a cabo transcurriendo más de 120 días respecto al ciclo previo (tabla 5).

Grupos estudio	Número de ciclos de estimulación en donantes
Menos 90 días	549
90 - 120 días	1491
Más 120 días	5101

Tabla 5. Número de ciclos de estimulación en donantes divididos según los grupos de estudio.

Se extrajeron una media de 16.64 ovocitos por punción, con un rango de 0 a 45. En cuanto a ovocitos en metafase II (MII) la media fue de 13.14, con un rango de 0 a 41.

En la siguiente gráfica (figura 15), se representa en un diagrama de cajas el número de ovocitos maduros extraídos (eje Y) en los ciclos 2 a 6 de las donantes incluidas en el estu-

dio, dividiéndolas, según el tiempo transcurrido desde el ciclo anterior (eje X), en los tres grupos del estudio (<90 días, 90-120, >120 días). En general las cajas y las líneas externas, y por ende los ovocitos extraídos MII, se mantienen más o menos estables en todos los ciclos analizados.

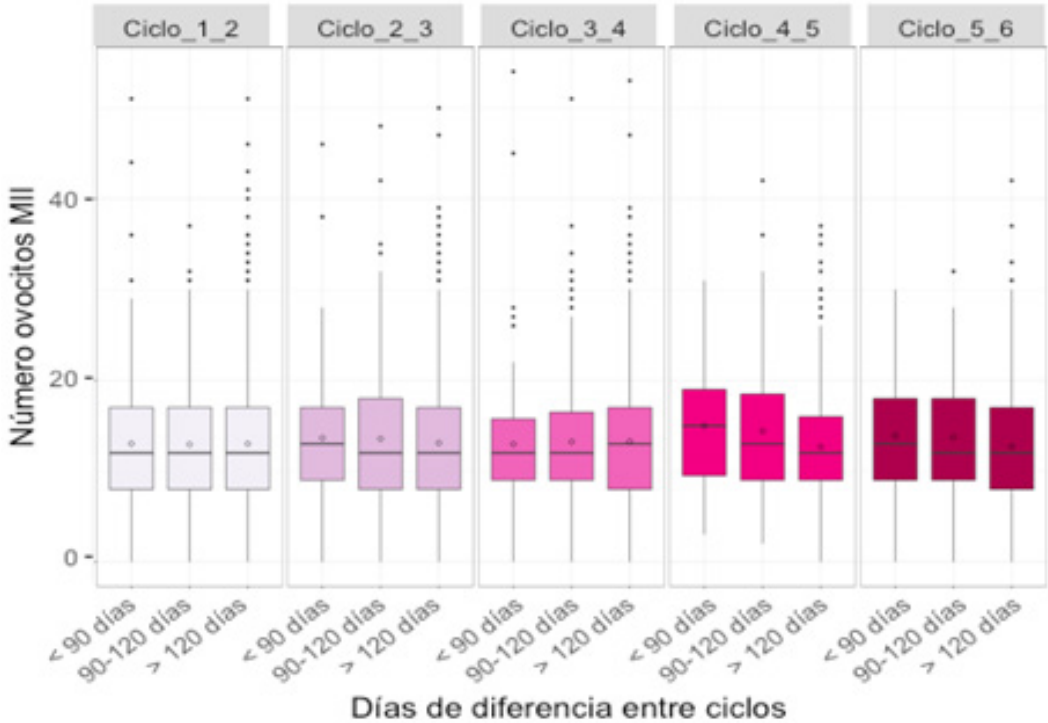


Figura 15. Diagrama de cajas de la distribución de ovocitos maduros en cada grupo de estudio según se pasa de un ciclo de estimulación al siguiente. La caja representa el 50% de las mujeres de cada grupo que se encuentran entre el primer y tercer cuartil (rango intercuartílico), mientras que la línea negra dentro de la caja corresponde con la mediana (el número que corresponde al 50% de los datos), y las líneas por encima y por debajo de la caja representan el 25% de las donantes que se encuentran por debajo del primer cuartil y el 25% que se encuentran por encima del tercero (entre el número mínimo y el máximo), siendo los puntos externos los casos aislados extremos.

Explicando detalladamente cada ciclo de estimulación (figura 15), observamos que al pasar del ciclo 1 al 2 el número de ovocitos MII extraídos es similar en los tres grupos de estudio, ya que tanto las cajas como las líneas externas son prácticamente del mismo tamaño y se encuentran a la misma altura, siendo la mediana prácticamente la misma, es decir, la distribución del número de ovocitos entre las donantes ha sido muy similar; al pasar del ciclo 2 al 3 ocurre prácticamente lo mismo; al pasar del ciclo 3 al 4, en las donantes del grupo de menos de 90 días el número de ovocitos que se extrae es menos disperso que en

el de más de 120 días ya que tanto la caja como las líneas externas son más compactas, es decir, el número de ovocitos MII extraídos entre las donantes de ese grupo se mueven en un rango más pequeño, que el grupo de más de 120 días en el que el número de ovocitos difiere más entre el primer y tercer cuartil de las donantes, así como entre el mínimo y el máximo. Al pasar al ciclo 5 en el grupo en el que transcurren más de 120 días el número de ovocitos maduros se encuentra más agrupado (la caja es de menor tamaño), respecto al grupo de menos de 90 días (la caja es de mayor tamaño), y además el 50% de las donantes se agrupan en un rango menor de ovocitos maduros extraídos (la caja se encuentra más abajo que el resto); y al pasar al 6° ciclo de estimulación vuelven a extraerse un número de ovocitos maduros similar independientemente del tiempo transcurrido entre los ciclos. Por tanto, observamos que salvo los casos más extremos (puntos fuera de las líneas), al realizar sucesivos ciclos de estimulación el número de ovocitos extraídos se mantiene estable, independientemente de los días que pasen entre un ciclo y otro.

Los niveles de estradiol el día de la inducción de la ovulación oscilaron entre 0 y 14917 pg/ml, con una media de 2347.14 pg/ml.

Los datos de cancelaciones de ciclos de estimulación en las donantes divididas en los tres grupos de estudio fueron las siguientes:

Grupos	Cancelaciones de ciclo
< 90 días	79 (14%)
90 - 120 días	116 (8%)
> 120 días	409 (8%)

Tabla 6. Datos de cancelaciones (número total de cancelaciones por grupo y entre paréntesis, porcentaje de cancelaciones respecto al total de ciclos de cada grupo).

B. RECEPTORAS

En el estudio han sido incluidas 8802 receptoras, recibiendo 10601 donaciones por lo que se han llevado a cabo una media de 1.2 ciclos de estimulación por paciente receptora. La edad de las receptoras osciló entre 21 y 50 años con una media de 41.11 años. Y el IMC osciló entre 16.09 y 47.52, con un IMC medio de 27.55 y una mediana de 22.51 (tabla 7).

Datos demográficos receptoras
8802 receptoras
10601 ciclos donación
1.2 ciclos de estimulación de media por receptora
41.11 años edad media
27.55 IMC medio

Tabla 7. Resumen datos receptoras.

El resto de variables que se tuvieron en cuenta para llevar a cabo el análisis de las donaciones fueron: la concentración seminal o recuperación de espermatozoides móviles, cuyos valores oscilaron entre 0.01 y 340 millones, con una media de 5.09; el día de transferencia, que osciló entre el día 2 y día 6 postfecundación, con una mediana o mayor número de transferencias en día 5; o el número de embriones transferidos, que osciló entre 1 y 3 con una mediana de 2.

Se analizaron los resultados de las donaciones en las pacientes receptoras diferenciando si los ovocitos eran recibidos de las donantes que se habían estimulado en menos de 90 días, entre 90 y 120 días o en más de 120 días respecto al ciclo anterior. Así, los datos obtenidos fueron los que se presentan en la siguiente tabla (tabla 8):

Grupos	Gestaciones bioquímicas	Gestaciones clínicas	Gestaciones evolutivas	Recién Nacidos Vivos
< 90 días	1509 (66%)	1334 (58%)	1098 (48%)	559 (22%)
90 - 120 días	716 (69%)	625 (60%)	509 (49%)	297 (23%)
> 120 días	2360 (68%)	2097 (61%)	1753 (51%)	890 (21%)

Tabla 8. Resumen de los resultados de las donaciones en las pacientes receptoras (los datos representados en cada variable son la n o números totales y entre paréntesis el porcentaje respecto al total de datos obtenidos en cada grupo).

Como podemos observar en la tabla 8, el 66% de las pacientes que recibieron ovocitos del grupo de menos de 90 días consiguieron una gestación bioquímica, el 58% una gestación clínica, el 48% una gestación evolutiva y el 22% un RNV.

Las pacientes que recibieron ovocitos del grupo de entre 90 y 120 días, el 69% consiguieron una gestación bioquímica, el 60% una gestación clínica, el 49% una gestación evolutiva y el 23% un RNV.

Y las receptoras que recibieron los ovocitos del grupo de más de 120 días consiguieron el 68% una gestación bioquímica, el 61% una gestación clínica, el 51% una gestación evolutiva y el 21% un RNV.

Las tasas de cancelación en los tres grupos de estudio fueron similares, cancelándose el 8.8% de los ciclos en el grupo de menos de 90 días, el 7.8% de los ciclos en el de 90-120 días y el 7.9% de los ciclos en el de más de 120 días entre ciclos de estimulación.

II. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

A. ANÁLISIS DE LOS CICLOS DE LAS DONANTES

i. OBJETIVO PRINCIPAL

Para llevar a cabo el análisis estadístico de nuestro objetivo principal, se aplicó un modelo de regresión de Poisson con el objetivo de corregir el número de ovocitos MII respecto al número de ovocitos aspirados y categorizándolo en nuestros tres grupos del estudio, en función del tiempo entre estimulaciones, obteniéndose un OR de pasar del grupo de <90 días al grupo de 90-120 días de 1.0217 (IC 95% 0.9924-1.0512) y un OR de pasar del grupo de <90 días al de >120 días de 1.0202 (IC 95% 0.9939-1.0472).

Posteriormente se realizó un segundo análisis, analizando la variable principal "días entre ciclos de estimulación" como variable discreta, en lugar de categorizarla en los grupos, con el objetivo de evitar pérdida de información y errores en la interpretación de los resultados. En este segundo análisis los resultados fueron similares y no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el número de ovocitos maduros extraídos según el tiempo transcurrido entre los ciclos de estimulación (figura 16).

En ambos análisis se tuvieron en cuenta como posibles factores de confusión la edad y el IMC de las donantes.

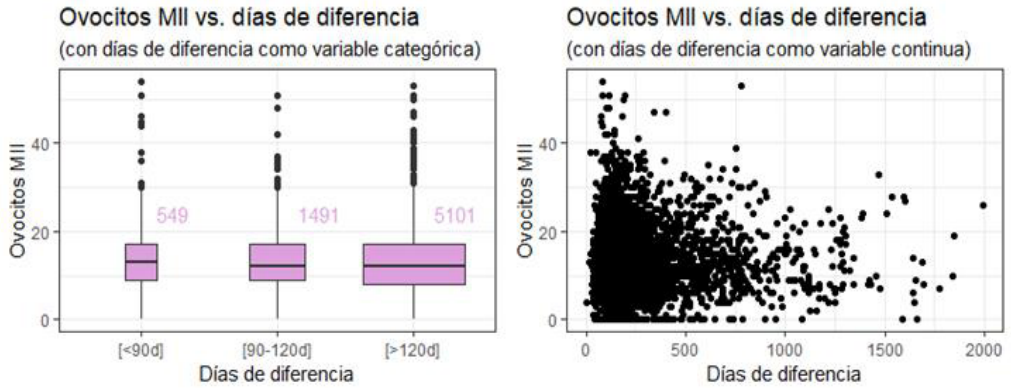


Figura 16. Gráficas representando la distribución de ovocitos maduros extraídos según la diferencia de días entre ciclos de estimulación de las donantes, tanto con la variable principal 1) categorizada, como 2) continua. En el gráfico 1) las cajas engloban los ciclos de estimulación incluidos entre los percentiles 25 y 75 y la línea continua interna marca la mediana. La anchura de la caja depende del número de ciclos incluidos, por lo que la primera caja es más estrecha (549 ciclos de donación) que la segunda (1491 ciclos de donación) y la tercera (5101 ciclos de donación). Las líneas dibujadas por fuera de las cajas representan el 50% de ciclos restantes que se encuentran por debajo del percentil 25 y por encima del 75, abarcando los ciclos en los que se ha extraído el número mínimo de ovocitos maduros hasta los ciclos en que se han extraído el número máximo de ovocitos (incluyendo los puntos que representan los ciclos de estimulación en los que se han extraído un número de ovocitos extremo, las cuales son una minoría y por ello se representan como puntos aislados).

Por tanto, en ninguno de los modelos de análisis estadístico se observaron diferencias estadísticamente significativas en el número de ovocitos maduros extraídos, en función de los días transcurridos entre las consecutivas estimulaciones ováricas de las donantes.

ii. OBJETIVOS SECUNDARIOS

Al analizar el número total de ovocitos extraídos, controlándolo con la edad e IMC de las donantes, tampoco se observaron diferencias entre el grupo de menos de 90 días y el de 90-120 días, sin embargo, en el grupo de >120 días se produjo una reducción estadísticamente significativa en el número de ovocitos extraídos del 5.44% respecto al de <90 días (OR = 0.9495, IC 95% 0.9281-0.9716) (figura 17). No obstante, esa diferencia no se encontró al analizar la variable “días de diferencia entre ciclos” de manera discreta.

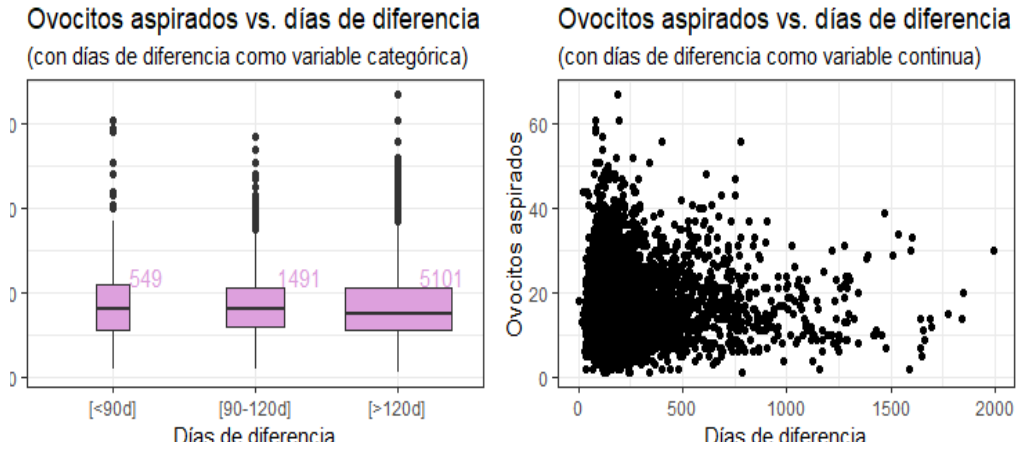


Figura 17. Gráficas representando la distribución de ovocitos totales aspirados en función de los días que transcurren entre los ciclos de estimulación de las donantes, tanto con la variable, 1) categorizada, como, 2) continua. (Al igual que en la figura anterior, en el gráfico 1) las cajas engloban las pacientes entre los percentiles 25 y 75 y la línea continua interna marca la mediana).

En cuanto a la tasa de cancelación, utilizando el mismo modelo y categorizando los grupos de estudio, se obtuvo que al pasar del grupo de <90 días a los otros dos grupos, la probabilidad de cancelación del ciclo disminuyó un 66% (OR = 0.5172, IC 95% 0.4013-0.6740). En cambio, al considerar la variable “días entre ciclos de estimulación” como variable discreta, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas.

Los días totales de estimulación por cada ciclo se mantuvieron estables al analizar varios ciclos de estimulación repetidos, independientemente de los días transcurridos entre de cada ciclo.

Los niveles de estradiol el día de la inducción de la ovulación también se mantuvieron estables al evaluar ciclos de estimulación ovárica repetidos.

B. ANÁLISIS DE LOS CICLOS EN LAS RECEPTORAS

Posteriormente se llevó a cabo el análisis de los resultados de esas donaciones en las pacientes receptoras.

Para calcular las diferencias en la tasa de gestación bioquímica, clínica y evolutiva, así como en la tasa de RNV por ciclo, se tuvo en cuenta el número de ciclos y el número de donaciones de cada donante, para evitar pérdida de información, controlándolo con la edad e IMC de la donante, la edad e IMC de la receptora, la concentración seminal, el día de transfe-

rencia y el número de embriones transferidos, añadiendo además como offset del modelo, el número de transferencias por ciclo. Al realizar el análisis categorizado en los grupos del estudio se tomó como referencia el grupo de menos de 90 días.

En cuanto a la tasa de gestación bioquímica, definiendo como tal un nivel de BHCG elevado a los 15 días (+/-1) de la transferencia, los días de diferencia entre cada ciclo de estimulación consecutivo no presentaron un efecto estadísticamente significativo, puesto que el p-valor para los dos grupos (90-120 días y >120 días) con respecto al grupo control (<90 días) fue superior al nivel de significatividad de 0.05 (tabla 9). En este modelo estadístico, el día de transferencia del embrión y el número de embriones transferidos sí presentaron resultados estadísticamente significativos. Por cada día extra en la transferencia respecto al día 3, aumentó un 32% las odds de tener una gestación bioquímica (OR = 1.32, IC 95% 1.24-1.39). Y por cada embrión extra transferido, aumentó un 74% las odds de tener una gestación bioquímica (OR = 1.74, IC 95% 1.51-1.96). El resto de variables no presentaron un resultado estadísticamente significativo.

Para el análisis de la tasa de gestación clínica, se analizó como variable respuesta la presencia de al menos un saco gestacional intrauterino en la ecografía realizada a las 6 semanas de gestación o la ausencia de estructuras intrauterinas, y para la gestación evolutiva, si hubo gestación con embrión con latido cardíaco positivo de más de 12 semanas o no, categorizándolas como variables dicotómicas. Por tanto, se utilizó un modelo de análisis de logística binomial para el cálculo de dichas tasas. En ambos modelos de análisis, los días de diferencia entre los consecutivos ciclos de estimulación presentaron un p-valor superior a 0.05 en los grupos de 90-120 días y >120 días respecto al de menos de 90 días, por lo que no se observó un efecto estadísticamente significativo sobre la tasa de gestación clínica y evolutiva (tabla 9).

En el análisis estadístico de la tasa de gestación clínica, únicamente se observó que por cada día extra en la transferencia respecto al día 3 aumentaron un 24% las odds de tener una gestación clínica (OR = 1.24, IC 95% 1.11-1.35); y por cada embrión extra transferido, aumentaron un 74% las odds de tener una gestación clínica (OR = 1.74, IC 95% 1.36-1.89). El resto de variables analizadas no presentaron un resultado estadísticamente significativo.

En cambio en el análisis de la tasa de gestación evolutiva, se observó que por cada año que aumentó la edad de la receptora disminuyeron un 2% las odds de conseguir una gestación evolutiva (OR = 0.98, IC 95% 0.97-0.99); por cada unidad que aumentó el IMC de la receptora igualmente disminuyeron un 2% las odds de conseguir una gestación evolutiva (OR = 0.98, IC 95% 0.97-0.99); por cada día extra en la transferencia respecto al día 3, aumentaron en un 19% las odds de tener una gestación evolutiva (OR = 1.19 IC, 95% 1.13 - 1.24);

y por cada embrión extra transferido, aumentaron un 62% las odds de tener una gestación evolutiva (OR = 1.62, IC 95% 1.44–1.82). Ni la edad ni el IMC de las donantes afectaron de manera significativa a dicha tasa.

Posteriormente se realizó un segundo análisis utilizando la variable principal de forma discreta (sin categorizar en los grupos del estudio), observándose que los días de diferencia entre cada ciclo de estimulación tampoco tuvieron un efecto estadísticamente significativo ni en la tasa de gestación clínica ni evolutiva.

En cuanto a la tasa de RNV, considerándose como RNV a todo neonato nacido por encima de las 24 semanas con más de 24 horas de vida, se observó una disminución en el número medio esperado de RNV de aproximadamente un 4.3% en las donantes del grupo de más de 120 días respecto al de menos de 90 días de diferencia entre estimulaciones ováricas (tabla 9).

Además se observó que por cada año de aumento de la edad de la receptora disminuyeron aproximadamente un 2.4% la media de RNV esperados. Sin embargo, ni la edad ni el IMC de las donantes, ni el IMC de las receptoras afectaron de manera estadísticamente significativa al número esperado de RNV.

En cuanto al resto de variables, la concentración de semen capacitado tuvo un efecto estadísticamente significativo sobre el número medio de RNV, pero fue tan pequeño que resultó clínicamente irrelevante (por cada unidad que aumentó la concentración seminal aumentó un 0.03% el número esperado de RNV). Y por cada día que aumentó el día de transferencia respecto al día 3, se produjo una disminución de aproximadamente un 8% en el número medio de RNV.

Posteriormente, se realizó el segundo análisis estadístico utilizando la variable principal como variable discreta, para evitar los sesgos de la categorización, sin observarse un efecto estadísticamente significativo en la tasa de RNV, es decir, al realizar el análisis sin categorizar la variable en los grupos de estudio, el tiempo entre las consecutivas estimulaciones ováricas de las donantes de ovocitos no influyó en el número de RNV procedentes de dichas donaciones.

Gestación bioquímica		
	P valor	Intervalo confianza
90-120 días entre ciclos	0.1861	-0.0535 - 0.2744
>120 días entre ciclos	0.1252	-0.0263 - 0.2085
Gestación clínica		
	P valor	Intervalo confianza
90-120 días entre ciclos	0.5864	-0.1120 - 0.1989
>120 días entre ciclos	0.1451	-0.0288 - 0.1953
Gestación evolutiva		
	P valor	Intervalo confianza
90-120 días entre ciclos	0.7424	-0.1267 - 0.1776
>120 días entre ciclos	0.0736	-0.0095 - 0.2098
RNV		
	P valor	Intervalo confianza
90-120 días entre ciclos	0.1757	0.9213 - 1.0149
>120 días entre ciclos	0.0195	0.9239 - 0.9931

Tabla 9. Resumen de los resultados de la variable principal “días entre las consecutivas estimulaciones de las donantes” categorizada en los tres grupos del estudio (cogiendo como referencia el grupo de menos de 90 días), en las tasas de gestación bioquímica, gestación clínica, gestación evolutiva y RNV de las receptoras.

De la misma manera que con las variables anteriores, para determinar si existen diferencias en el número de abortos clínicos, se han llevado a cabo dos modelos de regresión logística, expresando la variable principal, por un lado de manera discreta, y por otro de manera categorizada en los grupos del estudio, ambos controlados por el resto de variables previamente mencionadas, sin encontrarse, en ninguno de los modelos realizados, diferencias estadísticamente significativas en la tasa de abortos en función del número de días transcurridos entre las consecutivas estimulaciones de las donantes.

DISCUSIÓN

Este estudio se ha planteado con el objetivo de optimizar los programas de donación de óvulos. Para ello se ha llevado a cabo un estudio retrospectivo, unicéntrico, en el que se ha analizado cómo afecta el tiempo que transcurre entre las consecutivas estimulaciones ováricas de las mujeres donantes de ovocitos, en los resultados de éstas, así como en las consecuentes donaciones.

Como objetivo principal se ha analizado el número de ovocitos maduros extraídos en cada ciclo de estimulación ovárica, observándose que el tiempo que transcurre entre una estimulación ovárica y la siguiente no afecta al número de ovocitos en metafase II que se consiguen extraer tras la EOC.

Al inicio del estudio se dividieron las pacientes en 3 grupos, siguiendo, por un lado, los hallazgos encontrados por Gougeon y col.^{5,21,156} en sus estudios sobre la foliculogénesis. Según estos datos, la etapa de la foliculogénesis dependiente de las hormonas foliculoestimulantes dura en torno a 3 meses, por lo que se dividieron los grupos utilizando ese punto de división, añadiendo un grupo de más de 4 meses para facilitar el análisis y la extrapolación a la práctica clínica diaria. Y por otro lado, siguiendo las recomendaciones del SIRHA en cuanto al intervalo de descanso entre estimulaciones en los programas de donación de ovocitos, el cual está estipulado en esos 3 meses. Además clásicamente, en los programas de donación se dejaba transcurrir ese tiempo entre estimulaciones para objetivar los resultados de la donación previa que, normalmente, se realizaba en fresco.

Sin embargo, en nuestro estudio no se observaron diferencias estadísticamente significativas comparando los distintos días transcurridos entre ciclos consecutivos en cuanto al número de ovocitos maduros extraídos. Además, no hubo mayor número de complicaciones en unas donantes respecto a otras, tales como hemoperitoneo o infección tras las punciones o complicaciones durante la estimulación.

Tampoco hubo diferencias significativas en los días de estimulación necesarios ni en los niveles de estrógenos el día del *triggering* al analizar consecutivas estimulaciones ováricas, independientemente del tiempo transcurrido entre estimulaciones.

Con estos resultados, se puede cuestionar desde el punto de visto médico y embriológico, el tiempo de descanso entre punciones en los programas de donación recomendado por el SIRHA, posibilitando que las mujeres donantes con buenos resultados en sus ciclos se puedan estimular con mayor brevedad si así lo desean, siempre y cuando sean conscientes de los riesgos que conlleva cada estimulación ovárica con el fin de evitar un aumento de posibles complicaciones implícitas en el proceso.

Además, aunque el estudio esté realizado en pacientes donantes debido a que es una población más homogénea en cuanto a que presenta ciclos más regulares y conllevan menos dificultad en el análisis de sus resultados, podría extrapolarse a las mujeres que realizan tratamientos de reproducción, a efectos de seguridad y resultados en los ciclos de estimulación, dado que en muchos casos las mujeres que se someten a tratamientos de reproducción asistida, son mujeres con cierta edad en las que el tiempo corre en su contra, por lo que muchas veces tienen que estimularse repetidamente y en corto periodo de tiempo, por tanto, con este estudio observamos que el hecho de estimularse en corto periodo de tiempo no va en detrimento de los resultados que se puedan obtener de ello. De hecho, tras los nuevos hallazgos sobre la foliculogénesis y las nuevas estrategias de estimulación en la que las mujeres se estimulan dos veces en el mismo ciclo, se han observado que, por un lado, no hay más riesgo en estimular sin dejar ese descanso y por otro, los resultados del ciclo no empeoran^{108,119,123}. Por lo que en mujeres en las que es necesario realizar varias estimulaciones ováricas no habría necesidad de esperar un tiempo entre una y otra, ya que hemos visto que el número de ovocitos extraídos y las posibilidades de embarazo no varían en función del tiempo que transcurra entre estimulaciones.

Posteriormente, teniendo en cuenta el sesgo que implicaba esa división en grupos, tanto por categorizar una variable continua (la variable tiempo) como por la diferencia de muestra en uno de los grupos, se llevó a cabo un nuevo análisis sin categorizar a las mujeres donantes. En este nuevo análisis tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas según el tiempo entre las consecutivas estimulaciones ováricas, dando mayor valor a lo anteriormente comentado.

En ambos análisis se han utilizado variables de control tales como la edad y el IMC de las donantes, dado que según estudios previos, se conoce que la edad es un factor independiente que se asocia de manera negativa con los resultados de las estimulaciones ováricas^{36,58,72,73}, y el IMC, aunque hay controversia, según algunos estudios también podría afectar negativamente a los resultados de las estimulaciones ováricas de las técnicas de reproducción asistida^{83,157}.

Nuestros hallazgos solo se pueden comparar con un estudio previo realizado por Caligara y col.¹⁴⁰ en 2001, en el que también se estudió el efecto del tiempo entre estimulaciones ováricas en 284 donantes dividiéndolas en dos grupos, según hubieran transcurrido más o menos de 90 días entre las consecutivas estimulaciones ováricas. En dicho estudio tampoco se observaron diferencias en la calidad y cantidad de ovocitos extraídos en función del tiempo transcurrido entre estimulaciones, no obstante, la muestra del estudio es muy inferior a la nuestra.

Además, en nuestro estudio se observó cómo las donantes de ovocitos al realizar varias estimulaciones ováricas repetidas no presentaban cambios significativos en la cantidad de ovocitos maduros extraídos en cada estimulación ovárica (figura 15). Estos resultados son comparables con los estudios existentes en la literatura previa según una revisión realizada por Luk y Arici¹⁴² en 2010. En esta revisión concluyeron que tras realizar repetidas estimulaciones ováricas en las mujeres donantes de ovocitos, los resultados de éstas no variaban. Alguno de esos estudios, son el realizado por Jain y col.¹⁴¹ con 47 donantes, donde observaron que tras tres ciclos de estimulación ovárica el número y calidad de ovocitos extraídos permanecía sin cambios significativos; o el, ya mencionado, estudio de Caligara y col.¹⁴⁰ en el que observaron que tras realizar entre 2 y 9 ciclos de estimulación ovárica, la calidad ovocitaria así como la tasa de implantación y gestación en las receptoras de esos ovocitos, no disminuían. Más recientemente, Paul y col.¹⁴⁴ en 2019 han realizado un estudio con 65 donantes en el que tampoco han observado diferencias en la calidad ovocitaria ni en el posterior crecimiento embrionario tras su fecundación al realizar más de tres estimulaciones ováricas.

Por contra, en 2015, Rombauts y col.¹⁵⁸ observaron que existía una pequeña variabilidad interciclo al realizar varias estimulaciones ováricas repetidas utilizando el mismo protocolo de estimulación. Además, esta variabilidad no se podía predecir con la FSH ni con el RFA. Sin embargo, no tuvieron en cuenta la edad de las mujeres, por lo que no se pueden extraer buenas conclusiones de dicho estudio.

El único hallazgo significativo encontrado en nuestro estudio respecto al número de ovocitos totales extraídos ha sido la disminución del 5.44% en el grupo de donantes en las que habían transcurrido más de 120 días respecto a las donantes en las que el tiempo transcurrido entre estimulaciones había sido menor de 90 días. Esto podría indicar que al dejar transcurrir más tiempo los resultados de las donaciones empeorarían, sin embargo, creemos que al categorizar una variable continua, como lo es la variable “días entre estimulaciones”, estamos incluyendo un sesgo al análisis que podría afectar a los resultados. De hecho, al llevar a cabo el segundo análisis con la variable sin categorizar en los grupos de estudio, no se encuentra diferencia en el número de ovocitos totales extraídos entre unas donantes y otras.

En cuanto a la tasa de cancelación, hemos observado diferencias importantes entre el grupo de menos de 90 días respecto a los otros dos grupos, ya que se ha encontrado un aumento de la tasa de cancelación de hasta un 66% en este grupo, sin poder encontrar explicación a dicho hallazgo, salvo el mismo que el explicado con el número total de ovocitos extraídos anteriormente, y es que al categorizar la variable tiempo estamos incluyendo un sesgo al análisis, ya que al analizar la variable principal como variable discreta, no se encontraron dichas diferencias.

Posteriormente, se analizaron los resultados en las receptoras de esas donaciones, teniendo en cuenta variables control que, según la literatura previa, pudieran afectar a los resultados finales, tales como, la edad e IMC de las donantes y las receptoras, la concentración seminal, el día de transferencia o el número de embriones transferidos.

En cuanto a la tasa de RNV, se observó un mínimo descenso del número esperado de RNV en el grupo en el que habían transcurrido más de 120 días entre estimulaciones respecto al de menos de 90 días. Nuevamente en el grupo en el que transcurren más días se observa un empeoramiento en los resultados respecto al de menos de 90 días, sin embargo, al analizar la variable tiempo de forma discreta no se observaron diferencias estadísticamente significativas. Por tanto, aunque parezca que volver a estimular en un corto periodo de tiempo puede mejorar los resultados de los ciclos de estimulación, por un lado, esa mejoría es mínima lo cual en la práctica clínica podría no notarse la diferencia, y por otro lado, pensamos nuevamente, que al categorizar la variable tiempo se puede añadir algún sesgo al análisis.

Estos resultados son similares a los hallados por Smith y col.⁷⁵ en 2015, quienes analizaron la tasa de RNV en las mujeres que habían realizado repetidos ciclos de FIV con ovocitos donados, observando que la tasa de RNV no disminuía al realizar hasta nueve ciclos de estimulación.

En cuanto a la tasa de gestación evolutiva tampoco observamos diferencias según el tiempo transcurrido entre las consecutivas estimulaciones ováricas, ni al utilizar la variable categorizada en nuestros grupos de estudio, ni al utilizarla de manera discreta. Este resultado es similar al observado por Opsal y col.¹⁵⁹ en 2001, quienes analizaron la tasa de gestación en ciclos de FIV con ovocitos donados de mujeres que realizaron hasta seis ciclos consecutivos. Según sus datos las tasas de gestación fueron similares desde el ciclo 1 al ciclo 6 de estimulación, sin cambios según diferentes intervalos de tiempo entre ciclos.

En referencia al resto de variables analizadas, se observó que el aumento de edad de las receptoras suponía un descenso tanto en la tasa de RNV como de gestación evolutiva, si bien este descenso fue pequeño (por cada año disminuyó un 4.7% la probabilidad de RNV y un 2% la de gestación evolutiva), el resultado fue estadísticamente significativo. Los estudios previos en general reflejan que la edad de la receptora no afecta a estos resultados. En un estudio realizado por Abdalla en 1997¹⁶⁰ en el que comparó los resultados de la donación de ovocitos de una misma donante a varias receptoras, que se diferenciaban entre sí únicamente en la edad (diferenciando entre menores y mayores de 40 años), no encontró ninguna diferencia en las tasas de gestación y aborto. Sin embargo, Toner¹⁶¹ en 2002, demostró que los ciclos con donación de ovocitos presentaban peores resultados cuando las receptoras tenían más de 45 años. Posteriormente, diferentes autores han corroborado esa edad de 45

años como el límite a partir del cual la edad de la receptora afecta de manera negativa a la tasa de gestación¹⁶¹⁻¹⁶⁴. No obstante, los estudios con mujeres mayores de 50 años son muy limitados, por lo que no está claro si realmente la tasa de gestación baja por la edad o por la falta de muestra en los estudios¹⁶³.

Por otro lado, según nuestro estudio el IMC de las receptoras afecta negativamente a la tasa de gestación, no resultando significativo su efecto en la tasa de RNV. En cuanto al efecto del IMC de las receptoras sobre los resultados de las TRA, en una revisión realizada en 2013 por Jungheim y col.¹⁶⁵ en la que incluyeron un total de 4758 donantes de ovocitos, se observó que el IMC de la receptora no suponía un efecto negativo en la tasa de RNV, de gestación o de aborto. Sin embargo, en 2013 Bellver y col.¹⁶⁶ analizaron 9587 ciclos de donación de ovocitos y en 2016 Provost y col.¹⁶⁷ analizaron 22317 ciclos llevados a cabo con ovocitos donados, observando en ambos estudios que las tasas de RNV y de gestación disminuían según se incrementaba el IMC de las receptoras.

En cambio, la edad e IMC de las donantes en nuestro estudio, no afectan ni a la tasa de RNV y ni a la tasa de gestación, lo cual era de prever dado que para ser incluida en el programa de donación de la clínica y por ende en el estudio, las donantes deben estar en rangos de edad e IMC óptimos para sacar el mayor beneficio de esas donaciones. Respecto al IMC de las donantes, Martínez y col.¹⁶⁸ analizaron 2722 ciclos de FIV con ovocitos donados diferenciando por grupos según el IMC de las donantes, sin observar diferencias en la tasa de gestación ni de RNV en los diferentes grupos. Otro estudio realizado por Cardozo y col.¹⁶⁹ en el que analizaron los resultados de 235 ciclos de donación de ovocitos ajustándolo con el IMC de las receptoras, observaron que la tasa de gestación y de RNV disminuía conforme aumentaba el IMC de las donantes.

En cuanto a la tasa de abortos, no hemos observado diferencias según el tiempo transcurrido entre las estimulaciones ováricas de las donantes. No existen estudios similares en la literatura previa, sin embargo, sí hay datos, en cuanto a cómo afectan ciertas variables como el IMC de las receptoras a la tasa de aborto de gestaciones conseguidas con ovocitos donados, encontrándose resultados dispares. Bellver¹⁷⁰ en un estudio realizado en 2003, observó que la tasa de abortos era mayor en las receptoras obesas o con sobrepeso respecto a las receptoras con normopeso, sin embargo, en 2013 dos revisiones llevadas a cabo por Bellver¹⁶⁶ y Jungheim¹⁶⁵ determinaron que el IMC de las receptoras no afectaba de manera negativa a la tasa de abortos. En cuanto a la edad de la receptora tampoco hay datos claros. Abdalla¹⁶⁰ en su estudio objetivó que la edad no afectaba a la tasa de abortos en ciclos de FIV con ovocitos donados, sin embargo, Huang¹⁷¹ sí encontró menores tasas de aborto cuando las receptoras tenían menos de 40 años.

CONCLUSIONES

- El tiempo que transcurre entre las estimulaciones ováricas controladas en mujeres donantes de ovocitos, no influye en el número de ovocitos maduros que se extraen en cada punción.
- Los resultados de las estimulaciones ováricas repetidas en mujeres jóvenes, en cuanto a número de ovocitos extraídos, número de cancelaciones, niveles de estradiol el día del desencadenamiento de la ovulación o días de estimulación, no varían según el tiempo que transcurra entre ellas.
- La tasa de RNV, tasas de gestación bioquímica, clínica y evolutiva y tasa de aborto en la mujeres que realizan ciclos de FIV con ovocitos donados, no se ven influenciadas por el tiempo que transcurre entre las consecutivas estimulaciones ováricas de las donantes.
- Por tanto, consideramos que el tiempo entre estimulaciones no es un factor a tener en cuenta para optimizar los programas de donación de ovocitos.
- Y por otro lado, no hay necesidad de dejar transcurrir un tiempo entre estimulaciones ováricas si se necesitan realizar varias estimulaciones repetidas, ya que el número de ovocitos extraídos y las posibilidades de embarazo o RNV no varían en función de ese tiempo.

BIBLIOGRAFIA

1. Arce, Victor M; Catalina, Pablo F; Mallo, F. *Endocrinología*. (2006).
2. Wallace, W. H. B. & Kelsey, T. W. Human ovarian reserve from conception to the menopause. *PLoS One* 5, 1–9 (2010).
3. Faddy, M. J. & Gosden, R. G. A model conforming the decline in follicle numbers to the age of menopause in women. *Hum. Reprod.* 11, 1484–1486 (1996).
4. Hansen, K. R. *et al.* A new model of reproductive aging: The decline in ovarian non-growing follicle number from birth to menopause. *Hum. Reprod.* 23, 699–708 (2008).
5. Gougeon, a. Dynamics of follicular growth in the human: a model from preliminary results. *Hum. Reprod.* 1, 81–87 (1986).
6. Fleming, R., Seifer, D. B., Frattarelli, J. L. & Ruman, J. Assessing ovarian response: antral follicle count versus anti-Müllerian hormone. *Reprod. Biomed. Online* 31, 486–496 (2015).
7. McGee, E. A. & Hsueh, A. J. W. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocrine Reviews* 21, 200–214 (2000).
8. Speroff, L. & Fritz, M. A. *Endocrinología ginecológica clínica y esterilidad*. (Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2011).
9. Baerwald, A. R., Adams, G. P. & Pierson, R. A. A new model for ovarian follicular development during the human menstrual cycle. *Fertil. Steril.* 80, 116–122 (2003).
10. Baerwald, A. R., Adams, G. P. & Pierson, R. A. Characterization of Ovarian Follicular Wave Dynamics in Women1. *Biol. Reprod.* 69, 1023–1031 (2003).
11. Baerwald, A. & Pierson, R. Ovarian follicular waves during the menstrual cycle: physiologic insights into novel approaches for ovarian stimulation. *Fertility and Sterility* 114, 443–457 (2020).
12. Llamas, S. H. *Endocrinología en ginecología. Tomo II*. (2006).
13. Marques, P., Skorupskaitė, K., George, J. T. & Anderson, R. A. Physiology of GNRH and Gonadotropin Secretion. in *Endotext* (MDText.com, Inc., 2000).
14. Fernández-Tresguerres, J. A. & Ariznavarreta, C.; Cachoferiro, V.; Cardinali, D.; Escrich, E.; Gil Loyzaga, P.; Lahera Juliá, V.; Mora Teruel, F.; Romano Pardo, M & Tamargo Menéndez, J. *Fisiología humana*. (2005).
15. Zelinski-Wooten, M B; Hutchison, J S; Hess, D L; Wolf, D P; Stouffer, R. L. Follicle stimulating hormone alone supports follicle growth and oocyte development in gonadotrophin-releasing hormone antagonist-treated monkeys. *Hum. Reprod.* (1995).
16. Lunenfeld, B. Ovarian stimulation: a new approach based on recent physiological and clinical data. Future perspectives. *Contracept Fertil Sex* (1993).
17. Balasch, J; Miró, F; Burzaco, I; Casamitjana, R; Civico, S; Balleascá, JL; Puerto, B; Vanrell, J. The role of luteinizing hormone in human follicle development and oocyte fertility: evidence from in-vitro fertilization in a woman with long-standing

- hypogonadotrophic hypogonadism and using recombinant human follicle stimulating hormone. *Hum. Reprod.* (1995).
18. Becker, K. L. & Bilezikian, J. P. *Principles and practice of endocrinology and metabolism.* (Lippincott Williams & Wilkins, 2001).
 19. Speroff, L. & Fritz, M. A. *Endocrinología Ginecológica Clínica y Esterilidad.* (2006).
 20. Villaseca, P. Disforia premenstrual. *Medwave* 2006, (2006).
 21. Zeleznik, A. J. *et al.* The physiology of follicle selection. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2, 31 (2004).
 22. Kuang, Y. *et al.* Luteal-phase ovarian stimulation is feasible for producing competent oocytes in women undergoing in vitro fertilization / intracytoplasmic sperm injection treatment , with optimal pregnancy outcomes in frozen-thawed embryo transfer cycles. 101, 105–111 (2014).
 23. Wei, L., Ma, W., Tang, N. & Wei, J. Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology Luteal-phase ovarian stimulation is a feasible method for poor ovarian responders undergoing in vitro fertilization / intracytoplasmic sperm injection-embryo transfer treatment compared to a GnRH antagonist pro. *Taiwan. J. Obstet. Gynecol.* 55, 50–54 (2016).
 24. Bajo Arenas, José Manuel; Coroleu Lletget, B. *Fundamentos de reproducción.* (2009).
 25. Mata-Miranda, M. M., Vázquez-Zapién, G. J., Mata-Miranda, M. M. & Vázquez-Zapién, G. J. *Revista de Sanidad Militar. Revista de sanidad militar* 72, (Multiple Vendors, 2018).
 26. MA Kamel, R. Assisted Reproductive Technology after the birth of Louise Brown. *Gynecol. Obstet.* 03, 1–9 (2013).
 27. Talbot, J. M. *et al.* Gonadotrophin stimulation for oocyte recovery and in vitro fertilization in infertile women. *Aust. N. Z. J. Obstet. Gynaecol.* 16, 111–8 (1976).
 28. Lopata, A., Johnston, I. W. H., Hoult, I. J. & Speirs, A. I. Pregnancy Following Intrauterine Implantation of an Embryo Obtained by In Vitro Fertilization of A Preovulatory Egg. *Fertil. Steril.* 33, 117–120 (1980).
 29. Cohen, J. *et al.* The early days of IVF outside the UK. *Hum. Reprod. Update* 11, 439–460 (2005).
 30. Trounson, A., Leeton, J., Wood, C., Webb, J. & Wood, J. Pregnancies in humans by fertilization in vitro and embryo transfer in the controlled ovulatory cycle. *Science* (80-.). 212, 681–682 (1981).
 31. Fleming, R. *et al.* A new systematic treatment for infertile women with abnormal hormone profiles. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 89, 80–3 (1982).
 32. Trounson, A., Leeton, J., Besanko, M., Wood, C. & Conti, A. Pregnancy established in an infertile patient after transfer of a donated embryo fertilised in vitro. *Br. Med. J. (Clin. Res. Ed).* 286, 835–8 (1983).

33. Itskovitz-Eldor, J., Kol, S., Mannaerts, B. & Coelingh Bennink, H. First established pregnancy after controlled ovarian hyperstimulation with recombinant follicle stimulating hormone and the gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix (Org 37462). *Hum. Reprod.* 13, 294–5 (1998).
34. Borm, G. & Mannaerts, B. Treatment with the gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix in women undergoing ovarian stimulation with recombinant follicle stimulating hormone is effective, safe and convenient: results of a controlled, randomized, multicentre trial. The European Orgalutran Study Group. *Hum. Reprod.* 15, 1490–8 (2000).
35. Sills, E. S., Alper, M. M. & Walsh, A. P. H. Ovarian reserve screening in infertility: Practical applications and theoretical directions for research. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 146, 30–36 (2009).
36. Chalumeau, C. *et al.* Establishment and validation of a score to predict ovarian response to stimulation in IVF. *Reprod. Biomed. Online* 36, 26–31 (2018).
37. De Koning, C. H. *et al.* The endocrine and follicular growth dynamics throughout the menstrual cycle in women with consistently or variably elevated early follicular phase FSH compared with controls. *Hum. Reprod.* 23, 1416–1423 (2008).
38. El-Shawarby, S. A. & Khalaf, Y. Age-specific serum FSH concentrations and their correlation with the outcome of ovarian stimulation for IVF. *Reprod. Biomed. Online* 18, 750–755 (2009).
39. La Marca, A. & Sunkara, S. K. Individualization of controlled ovarian stimulation in IVF using ovarian reserve markers: From theory to practice. *Hum. Reprod. Update* 20, 124–140 (2014).
40. Chang, M.-Y., Chiang, C.-H., Hsieh, T.-T., Soong, Y.-K. & Hsu, K.-H. Use of the Antral Follicle Count to Predict the Outcome of Assisted Reproductive Technologies. *Fertil. Steril.* 69, 505–510 (1998).
41. Broekmans, F. J. M. *et al.* The antral follicle count: practical recommendations for better standardization. *Fertil. Steril.* 94, 1044–1051 (2010).
42. Verhagen, T. E. M., Hendriks, D. J., Bancsi, L. F. J. M. M., Mol, B. W. J. & Broekmans, F. J. M. The accuracy of multivariate models predicting ovarian reserve and pregnancy after in vitro fertilization: a meta-analysis. *Hum. Reprod. Update* 14, 95–100 (2008).
43. Niederberger, C. *et al.* Forty years of IVF. *Fertility and Sterility* 110, 185–324.e5 (2018).
44. Broer, S. L. *et al.* Added value of ovarian reserve testing on patient characteristics in the prediction of ovarian response and ongoing pregnancy: An individual patient data approach. *Hum. Reprod. Update* 19, 26–36 (2013).
45. Jayaprakasan, K. *et al.* Prediction of in vitro fertilization outcome at different antral follicle count thresholds in a prospective cohort of 1,012 women. *Fertil. Steril.* 98, 657–663 (2012).

46. Broer, S. L. *et al.* AMH and AFC as predictors of excessive response in controlled ovarian hyperstimulation: A meta-analysis. *Hum. Reprod. Update* 17, 46–54 (2011).
47. Tsakos, E., Tolikas, A., Daniilidis, A. & Asimakopoulos, B. Predictive value of anti-müllerian hormone, follicle-stimulating hormone and antral follicle count on the outcome of ovarian stimulation in women following GnRH-antagonist protocol for IVF/ET. *Arch. Gynecol. Obstet.* 290, 1249–1253 (2014).
48. La Marca, A., Broekmans, F. J., Volpe, A., Fauser, B. C. & Macklon, N. S. Anti-Müllerian hormone (AMH): what do we still need to know? *Hum. Reprod.* 24, 2264–2275 (2009).
49. de Vet, A., Laven, J. S. E., de Jong, F. H., Themmen, A. P. N. & Fauser, B. C. J. M. Antimüllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. *Fertil. Steril.* 77, 357–62 (2002).
50. van Rooij, I. A. J. *et al.* Anti-müllerian hormone is a promising predictor for the occurrence of the menopausal transition. *Menopause* 11, 601–6
51. Fanchin, R. *et al.* Serum anti-Müllerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. *Hum. Reprod.* 18, 323–327 (2003).
52. Fanchin, R. *et al.* High reproducibility of serum anti-Müllerian hormone measurements suggests a multi-staged follicular secretion and strengthens its role in the assessment of ovarian follicular status. *Hum. Reprod.* 20, 923–7 (2005).
53. Nardo, L. G. *et al.* Circulating basal anti-Müllerian hormone levels as predictor of ovarian response in women undergoing ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Fertility and Sterility* 92, 1586–1593 (2009).
54. Patrelli, T. S. *et al.* Anti-Müllerian Hormone Serum Values and Ovarian Reserve: Can It Predict a Decrease in Fertility after Ovarian Stimulation by ART Cycles? *PLoS One* 7, (2012).
55. La Marca, A. *et al.* Anti-Müllerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART). *Human Reproduction Update* 16, 113–130 (2009).
56. Fleming, R. *et al.* Can anti-Müllerian hormone concentrations be used to determine gonadotrophin dose and treatment protocol for ovarian stimulation? *Reprod. Biomed. Online* 26, 431–439 (2013).
57. Broer, S. L., Mol, B. W. J., Hendriks, D. & Broekmans, F. J. M. The role of antimüllerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count. *Fertil. Steril.* 91, 705–714 (2009).
58. Siddiqui, Q. U. A., Anjum, S., Zahra, F. & Yousuf, S. M. Ovarian reserve parameters and response to controlled ovarian stimulation in infertile patients. *Pakistan J. Med. Sci.* 35, 958–962 (2019).

59. Pearson, K., Long, M., Prasad, J., Wu, Y. Y. & Bonifacio, M. Assessment of the Access AMH assay as an automated, high-performance replacement for the AMH Generation II manual ELISA. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 14, 8 (2016).
60. Iliodromiti, S., Anderson, R. A. & Nelson, S. M. Technical and performance characteristics of anti-Müllerian hormone and antral follicle count as biomarkers of ovarian response. *Hum. Reprod. Update* 21, 698–710 (2015).
61. La Marca, A., Stabile, G., Arsenio, A. C. & Volpe, A. Serum anti-Müllerian hormone throughout the human menstrual cycle. *Hum. Reprod.* 21, 3103–3107 (2006).
62. Tsepelidis, S. *et al.* Stable serum levels of anti-Müllerian hormone during the menstrual cycle: a prospective study in normo-ovulatory women. *Hum. Reprod.* 22, 1837–40 (2007).
63. La Marca, A. *et al.* Anti-Müllerian hormone measurement on any day of the menstrual cycle strongly predicts ovarian response in assisted reproductive technology. *Hum. Reprod.* 22, 766–71 (2007).
64. Hehenkamp, W. J. K. *et al.* Anti-Müllerian hormone levels in the spontaneous menstrual cycle do not show substantial fluctuation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 91, 4057–63 (2006).
65. Streuli, I. *et al.* Serum antimüllerian hormone levels remain stable throughout the menstrual cycle and after oral or vaginal administration of synthetic sex steroids. *Fertil. Steril.* 90, 395–400 (2008).
66. Elgindy, E. A., El-Haieg, D. O. & El-Sebaey, A. Anti-Müllerian hormone: correlation of early follicular, ovulatory and midluteal levels with ovarian response and cycle outcome in intracytoplasmic sperm injection patients. *Fertil. Steril.* 89, 1670–1676 (2008).
67. Kissell, K. A. *et al.* Biological variability in serum anti-Müllerian hormone throughout the menstrual cycle in ovulatory and sporadic anovulatory cycles in eumenorrheic women. *Hum. Reprod.* 29, 1764–72 (2014).
68. Depmann, M. *et al.* Fluctuations in anti-Müllerian hormone levels throughout the menstrual cycle parallel fluctuations in the antral follicle count: a cohort study. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 95, 820–8 (2016).
69. Gorkem, U. & Togrul, C. Is There a Need to Alter the Timing of Anti-Müllerian Hormone Measurement During the Menstrual Cycle? *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 79, 731–737 (2019).
70. Broekmans, F. J., Kwee, J., Hendriks, D. J., Mol, B. W. & Lambalk, C. B. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Human Reproduction Update* 12, 685–718 (2006).
71. te Velde, E. R. & Pearson, P. L. The variability of female reproductive ageing. *Hum. Reprod. Update* 8, 141–54

72. Scheffer, J. A. B. *et al.* Are age and anti-müllerian hormone good predictors of ovarian reserve and response in women undergoing IVF? *J. Bras. Reprod. Assist.* 22, 215–220 (2018).
73. Qublan, H. S. *et al.* In-vitro fertilisation treatment: Factors affecting its results and outcome. *J. Obstet. Gynaecol. (Lahore)*. 25, 689–693 (2005).
74. Osaikhuwuomwan, J., Osemwenkha, A., Iribhogbe, O., Aziken, M. & Orhue, A. The effect of female age on the outcome of intrauterine insemination treatment in a public hospital-assisted reproduction technology unit. *Niger. J. Clin. Pract.* 21, 988–992 (2018).
75. Smith, A. D. A. C., Tilling, K., Nelson, S. M. & Lawlor, D. A. Live-birth rate associated with repeat in vitro fertilization treatment cycles. *JAMA - J. Am. Med. Assoc.* 314, 2654–2662 (2015).
76. Zain, M. M. & Norman, R. J. Impact of obesity on female fertility and fertility treatment. *Women's Health* 4, 183–194 (2008).
77. Balen, A. H. *et al.* The influence of body weight on response to ovulation induction with gonadotrophins in 335 women with World Health Organization group II anovulatory infertility. *BJOG An Int. J. Obstet. Gynaecol.* 113, 1195–1202 (2006).
78. Dodson, W. C., Kunselman, A. R. & Legro, R. S. Association of obesity with treatment outcomes in ovulatory infertile women undergoing superovulation and intrauterine insemination. *Fertil. Steril.* 86, 642–646 (2006).
79. Loh, S. The influence of body mass index, basal FSH and age on the response to gonadotrophin stimulation in non-polycystic ovarian syndrome patients. *Hum. Reprod.* 17, 1207–1211 (2002).
80. Caillon, H. *et al.* Effects of female increased body mass index on in vitro fertilization cycles outcome. *Obes. Res. Clin. Pract.* 9, 382–388 (2015).
81. Jin, H. *et al.* Impact of high body mass index with or without polycystic ovarian syndrome on the outcome of in vitro fertilization. *J. Pak. Med. Assoc.* 69, 852–856 (2019).
82. Maged, A. M. *et al.* Effect of body mass index on the outcome of IVF cycles among patients with poor ovarian response. *Int. J. Gynaecol. Obstet.* 144, 161–166 (2019).
83. Kudesia, R. *et al.* The effect of female body mass index on in vitro fertilization cycle outcomes: a multi-center analysis. *J. Assist. Reprod. Genet.* 35, 2013–2023 (2018).
84. Minegishi, T. *et al.* Cloning and sequencing of human FSH receptor cDNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 175, 1125–30 (1991).
85. Čuš, M., Vlasisavljević, V., Repnik, K., Potočnik, U. & Kovačič, B. Could polymorphisms of some hormonal receptor genes, involved in folliculogenesis help in predicting patient response to controlled ovarian stimulation? *J. Assist. Reprod. Genet.* 36, 47–55 (2019).

86. Desai, S. S., Roy, B. S. & Mahale, S. D. Mutations and polymorphisms in FSH receptor: functional implications in human reproduction. *Reproduction* 146, R235-48 (2013).
87. Georgiou, I., Konstantelli, M., Syrou, M., Messinis, I. E. & Lolis, D. E. Oestrogen receptor gene polymorphisms and ovarian stimulation for in-vitro fertilization. *Hum. Reprod.* 12, 1430-3 (1997).
88. Sundarajan, C., Liao, W. X., Roy, A. C. & Ng, S. C. Association of oestrogen receptor gene polymorphisms with outcome of ovarian stimulation in patients undergoing IVF. *Mol. Hum. Reprod.* 5, 797-802 (1999).
89. Ganesh, V. *et al.* Association of estrogen, progesterone and follicle stimulating hormone receptor polymorphisms with in vitro fertilization outcomes. *Syst. Biol. Reprod. Med.* 64, 260-265 (2018).
90. Freour, T. *et al.* Active smoking compromises IVF outcome and affects ovarian reserve. *Reprod. Biomed. Online* 16, 96-102 (2008).
91. Kinney, A., Kline, J., Kelly, A., Reuss, M. L. & Levin, B. Smoking, alcohol and caffeine in relation to ovarian age during the reproductive years. *Hum. Reprod.* 22, 1175-1185 (2007).
92. Mikkelsen, T. F., Graff-Iversen, S., Sundby, J. & Bjertness, E. Early menopause, association with tobacco smoking, coffee consumption and other lifestyle factors: a cross-sectional study. *BMC Public Health* 7, 149 (2007).
93. Freour, T. *et al.* Ovarian reserve and in vitro fertilization cycles outcome according to women smoking status and stimulation regimen. *Arch. Gynecol. Obstet.* 285, 1177-1182 (2012).
94. Alamá, Pilar; Collado, D. El protocolo ideal para la donante de ovocitos. in *Cuadernos de Medicina Reproductiva. Protocolos de estimulación 2015. Volumen 21. Número 2.* (ed. FERRING) (2015).
95. Griesinger, G. *et al.* Oral contraceptive pill pretreatment in ovarian stimulation with GnRH antagonists for IVF: a systematic review and meta-analysis. *Fertil. Steril.* 90, 1055-1063 (2008).
96. Hauzman, E. E. *et al.* Cycle scheduling for in vitro fertilization with oral contraceptive pills versus oral estradiol valerate: A randomized, controlled trial. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 11, 1 (2013).
97. Barmat, L. I., Chantilis, S. J., Hurst, B. S. & Dickey, R. P. A randomized prospective trial comparing gonadotropin-releasing hormone (GnRH) antagonist/ recombinant follicle-stimulating hormone (rFSH) versus GnRH-agonist/rFSH in women pretreated with oral contraceptives before in vitro fertilization. doi:10.1016/j.fertnstert.2004.06.076
98. Shahrokh Tehrani Nejad, E. *et al.* Comparison of pre-treatment with OCPs or estradiol valerate vs. no pre-treatment prior to GnRH antagonist used for IVF cycles: An RCT. *Int. J. Reprod. Biomed. (Yazd, Iran)* 16, 535-540 (2018).

99. Huirne, J. A. F. *et al.* Effect of an oral contraceptive pill on follicular development in IVF/ICSI patients receiving a GnRH antagonist: a randomized study. *Reprod. Biomed. Online* 13, 235–45 (2006).
100. Cédrin-Durnerin, I. *et al.* Effects of oral contraceptive, synthetic progestogen or natural estrogen pre-treatments on the hormonal profile and the antral follicle cohort before GnRH antagonist protocol. *Hum. Reprod.* 22, 109–116 (2007).
101. Tresguerres, J. F. Antagonistas de la GnRH. Mecanismo de acción. Máster en Reproducción Humana. *Universidad Complutense de Madrid* (2011). Available at: <https://www.ucm.es/estudios/masterpropio-reproduccionhumana-detalles-programa>. (Accessed: 10th June 2020)
102. Al-Inany, H. G. *et al.* Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst. Rev.* (2016). doi:10.1002/14651858.CD001750.pub4
103. Kuang, Y. *et al.* Medroxyprogesterone acetate is an effective oral alternative for preventing premature luteinizing hormone surges in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. *Fertil. Steril.* 104, 62-70. e3 (2015).
104. Yildiz, S. *et al.* Comparison of a novel flexible progestin primed ovarian stimulation protocol and the flexible gonadotropin-releasing hormone antagonist protocol for assisted reproductive technology. *Fertil. Steril.* 112, 677–683 (2019).
105. Beguería, R., García, D., Vassena, R. & Rodríguez, A. Medroxyprogesterone acetate versus ganirelix in oocyte donation: a randomized controlled trial. *Hum. Reprod.* (2019). doi:10.1093/humrep/dez034
106. Crha, I. *et al.* [Medroxyprogesteron acetate use to block LH surge in oocyte donor stimulation]. *Ces. Gynekol.* 83, 11–16 (2018).
107. Chen, Q. *et al.* Controlled ovulation of the dominant follicle using progestin in minimal stimulation in poor responders. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 15, 71 (2017).
108. Massin, N. New stimulation regimens: Endogenous and exogenous progesterone use to block the LH surge during ovarian stimulation for IVF. *Hum. Reprod. Update* 23, 211–220 (2017).
109. Wely, van M., der Veen, V. F. & van Wely M, A.-I. H. Recombinant versus urinary gonadotrophin for ovarian stimulation in assisted reproductive technology cycles (Review). *Cochrane Database Syst. Rev.* (2011). doi:10.1002/14651858.CD005354.pub2
110. Requena, A. *et al.* Evaluation of the degree of satisfaction in oocyte donors using sustained-release FSH corifollitropin \pm . *Reprod. Biomed. Online* 26, 253–259 (2013).
111. Mochtar, M. H., Danhof, N. A., Ayeleke, R. O., Van der Veen, F. & van Wely, M. Recombinant luteinizing hormone (rLH) and recombinant follicle stimulating hormone (rFSH) for ovarian stimulation in IVF/ICSI cycles. in *Cochrane Database*

- of Systematic Reviews* (ed. Mochtar, M. H.) (John Wiley & Sons, Ltd, 2017). doi:10.1002/14651858.CD005070.pub3
112. La Marca, A. *et al.* Individualization of the FSH starting dose in IVF/ICSI cycles using the antral follicle count. *J. Ovarian Res.* 6, 11 (2013).
 113. Gougeon, a. Dynamics of follicular growth in the human: a model from preliminary results. *Hum. Reprod.* 1, 81–87 (1986).
 114. Danis, R. B., Pereira, N. & Elias, R. T. Random Start Ovarian Stimulation for Oocyte or Embryo Cryopreservation in Women Desiring Fertility Preservation Prior to Gonadotoxic Cancer Therapy. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 18, (2017).
 115. Labarta, E. DuoStim: a new strategy proposed for women with poor ovarian response. *Fertility and Sterility* 113, 76–77 (2020).
 116. Vaiarelli, A. *et al.* Double stimulation in the same ovarian cycle (DuoStim) to maximize the number of oocytes retrieved from poor prognosis patients: A multicenter experience and SWOT analysis. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 9, (2018).
 117. Ubaldi, F. M. *et al.* Follicular versus luteal phase ovarian stimulation during the same menstrual cycle (DuoStim) in a reduced ovarian reserve population results in a similar euploid blastocyst formation rate: new insight in ovarian reserve exploitation. *Fertil. Steril.* 105, 1488–1495.e1 (2016).
 118. Cimadomo, D. *et al.* Luteal phase anovulatory follicles result in the production of competent oocytes: intra-patient paired case-control study comparing follicular versus luteal phase stimulations in the same ovarian cycle. *Hum. Reprod.* 33, 1442–1448 (2018).
 119. Vaiarelli, A. *et al.* Luteal phase after conventional stimulation in the same ovarian cycle might improve the management of poor responder patients fulfilling the Bologna criteria: a case series. *Fertil. Steril.* 113, 121–130 (2020).
 120. Alsbjerg, B. *et al.* Dual stimulation using corifollitropin alfa in 54 Bologna criteria poor ovarian responders – a case series. *Reprod. Biomed. Online* 38, 677–682 (2019).
 121. Sfakianoudis, K. *et al.* What is the true place of a double stimulation and double oocyte retrieval in the same cycle for patients diagnosed with poor ovarian reserve? A systematic review including a meta-analytical approach. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 37, 181–204 (2020).
 122. Vaiarelli, A. *et al.* Double stimulation in the same ovarian cycle (DuoStim) is an intriguing strategy to improve oocyte yield and the number of competent embryos in a short timeframe. *Minerva Ginecologica* 71, 372–376 (2019).
 123. Cimadomo, D. *et al.* Luteal phase anovulatory follicles result in the production of competent oocytes: Intra-patient paired casecontrol study comparing follicular versus luteal phase stimulations in the same ovarian cycle. *Hum. Reprod.* 33, 1442–1448 (2018).

124. Griesinger, G., Diedrich, K., Devroey, P. & Kolibianakis, E. M. GnRH agonist for triggering final oocyte maturation in the GnRH antagonist ovarian hyperstimulation protocol: A systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update* 12, 159–168 (2006).
125. Lutjen, P. *et al.* The establishment and maintenance of pregnancy using in vitro fertilization and embryo donation in a patient with primary ovarian failure. *Nature* 307, 174–175 (1984).
126. Remohí, J. *et al.* Pregnancy and birth rates after oocyte donation. *Fertil. Steril.* 67, 717–723 (1997).
127. Registro SEF. Available at: <https://www.registrosef.com/index.aspx?ReturnUrl=%2F#Anteriores>. (Accessed: 3rd June 2020)
128. Registro Nacional de Actividad 2017 - Registro SEF. Available at: https://cnrha.sanidad.gob.es/registros/pdf/Informe_estadisticoSEF_2017.pdf. (Accessed: 3rd June 2020)
129. Remohi, J., Vidal, A. & Pellicer, A. Oocyte donation in low responders to conventional ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Fertil. Steril.* 59, 1208–1215 (1993).
130. Remohi, J. *et al.* Oocyte donation in women with recurrent pregnancy loss. *Hum Reprod* 11, 2048–2051 (1996).
131. *Estudio y tratamiento de la pareja estéril: Recomendaciones de la Sociedad Española de Fertilidad, con la colaboración de la Asociación Española para el Estudio de la Biología de la Reproducción, de la Asociación Española de Andrología y de la Sociedad Es. Adalia.* Madrid (2007).
132. Youssef, M. A. F. M. *et al.* Gonadotropin-releasing hormone agonist versus HCG for oocyte triggering in antagonist-assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2014, (2014).
133. Paulson, R. J. Hormonal induction of endometrial receptivity. *Fertil. Steril.* 96, 530–535 (2011).
134. Hoffman, B. L. *Williams. ginecología.* (McGrawHill Education, 2014).
135. Glujovsky, D. *et al.* Endometrial preparation for women undergoing embryo transfer with frozen embryos or embryos derived from donor oocytes. in *Cochrane Database of Systematic Reviews* (ed. Glujovsky, D.) (John Wiley & Sons, Ltd, 2010). doi:10.1002/14651858.CD006359.pub2
136. Consumo, M. de sanidad y & R, J. C. BOE-A-2006-19625. BOE 39475–39502 (2006).
137. Juan Carlos I. LEY 14/2006, de 26 de mayo, sobre técnicas de reproducción humana asistida. BOE num. 126 19947–19956 (2006).
138. BOE 14/2006. (2006). Available at: <https://www.boe.es/boe/dias/2006/05/27/pdfs/A19947-19956.pdf>.

139. Ron-El, R. *et al.* Ovarian response in repetitive cycles induced by menotrophin alone or combined with gonadotrophin releasing hormone analogue. *Hum. Reprod.* 5, 427–30 (1990).
140. Caligara, C. *et al.* The effect of repeated controlled ovarian stimulation in donors. *Hum Reprod* 16, 2320–2323 (2001).
141. Jain, A., Robins, J. C., Williams, D. B. & Thomas, M. A. The effect of multiple cycles in oocyte donors. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 192, 1382–1384 (2005).
142. Luk, J. & Arici, A. Does the ovarian reserve decrease from repeated ovulation stimulations? *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 22, 177–182 (2010).
143. Lee, J. E., Kim, S. D., Jee, B. C., Suh, C. S. & Kim, S. H. Oocyte maturity in repeated ovarian stimulation. *Clin. Exp. Reprod. Med.* 38, 234–237 (2011).
144. Paul, L. T., Atilan, O. & Tulay, P. The effect of repeated controlled ovarian stimulation cycles on the gamete and embryo development. *Zygote* 27, 347–349 (2019).
145. A, S. *et al.* Ovulation Triggering With GnRH Agonist vs. hCG in the Same Egg Donor Population Undergoing Donor Oocyte Cycles With GnRH Antagonist: A Prospective Randomized Cross-Over Trial. *J. Assist. Reprod. Genet.* 26, (2009).
146. Bodri, D. *et al.* Triggering with human chorionic gonadotropin or a gonadotropin-releasing hormone agonist in gonadotropin-releasing hormone antagonist-treated oocyte donor cycles: findings of a large retrospective cohort study. *Fertil. Steril.* 91, 365–71 (2009).
147. Maxwell, K. N., Cholst, I. N. & Rosenwaks, Z. The incidence of both serious and minor complications in young women undergoing oocyte donation. *Fertil. Steril.* 90, 2165–71 (2008).
148. Söderström-Anttila, V. *et al.* Short- and long-term health consequences and current satisfaction levels for altruistic anonymous, identity-release and known oocyte donors. *Hum. Reprod.* 31, 597–606 (2016).
149. Schneider, J., Lahl, J. & Kramer, W. Long-term breast cancer risk following ovarian stimulation in young egg donors: a call for follow-up, research and informed consent. *Reprod. Biomed. Online* 34, 480–485 (2017).
150. Schneider, J. Fatal colon cancer in a young egg donor: a physician mother’s call for follow-up and research on the long-term risks of ovarian stimulation. *Fertil. Steril.* 90, 2016.e1–2016.e5 (2008).
151. van den Belt-Dusebout, A. W. *et al.* Ovarian Stimulation for In Vitro Fertilization and Long-term Risk of Breast Cancer. *JAMA* 316, 300–12 (2016).
152. Sergentanis, T. N. *et al.* IVF and breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Hum. Reprod. Update* 20, 106–23 (2014).
153. Fauser, B. C. & Garcia Velasco, J. Breast cancer risk after oocyte donation: should we really be concerned? *Reprod. Biomed. Online* 34, 439–440 (2017).

154. Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida - Aspectos legales y éticos de la donación. Available at: <https://cnrha.sanidad.gob.es/registros/donantes/aspectosLegales/home.htm>. (Accessed: 5th November 2020)
155. Team, R. C. R: *A language and environment for statistical computing*. (2019).
156. GOUGEON, A. Dynamics of Human Follicular Growth: Morphologic, Dynamic, and Functional Aspects. *The Ovary* 25–43 (2004). doi:10.1016/B978-012444562-8/50003-3
157. Rittenberg, V. *et al.* Effect of body mass index on IVF treatment outcome: an updated systematic review and meta-analysis. *Reprod. Biomed. Online* 23, 421–439 (2011).
158. Rombauts, L. *et al.* Intercycle variability of the ovarian response in patients undergoing repeated stimulation with corifollitropin alfa in a gonadotropin-releasing hormone antagonist protocol. *Fertil. Steril.* 104, 884–890.e2 (2015).
159. Opsahl, M. S. *et al.* Pregnancy rates in sequential in vitro fertilization cycles by oocyte donors. *Obstet. Gynecol.* 97, 201–204 (2001).
160. Abdalla, H. I., Wren, M. E., Thomas, A. & Korea, L. Age of the uterus does not affect pregnancy or implantation rates; a study of egg donation in women of different ages sharing oocytes from the same donor. *Hum. Reprod.* 12, 827–9 (1997).
161. Toner, J. P., Grainger, D. A. & Frazier, L. M. Clinical outcomes among recipients of donated eggs: An analysis of the U.S. national experience, 1996–1998. *Fertil. Steril.* 78, 1038–1045 (2002).
162. Yeh, J. S. *et al.* Pregnancy outcomes decline in recipients over age 44: An analysis of 27,959 fresh donor oocyte in vitro fertilization cycles from the Society for Assisted Reproductive Technology. *Fertil. Steril.* 101, 1331–1336.e1 (2014).
163. Paulson, R. J. Does the age of the recipient influence the probability of pregnancy among recipients of oocyte donation? *Fertility and Sterility* 101, 1248–1249 (2014).
164. Soares, S. R. *et al.* Age and uterine receptiveness: Predicting the outcome of oocyte donation cycles. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 90, 4399–4404 (2005).
165. Jungheim, E. S. *et al.* IVF outcomes in obese donor oocyte recipients: A systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction* 28, 2720–2727 (2013).
166. Bellver, J. *et al.* Obesity reduces uterine receptivity: Clinical experience from 9,587 first cycles of ovum donation with normal weight donors. *Fertil. Steril.* 100, (2013).
167. Provost, M. P. *et al.* Pregnancy outcomes decline with increasing recipient body mass index: an analysis of 22,317 fresh donor/recipient cycles from the 2008–2010 Society for Assisted Reproductive Technology Clinic Outcome Reporting System registry. *Fertil. Steril.* 105, 364–8 (2016).
168. Martínez, F. *et al.* Reproductive outcomes in recipients are not associated with oocyte donor body mass index up to 28 kg/m²: a cohort study of 2722 cycles. *Reprod. Biomed. Online* 35, 739–746 (2017).

169. Cardozo, E. R., Karmon, A. E., Gold, J., Petrozza, J. C. & Styer, A. K. Reproductive outcomes in oocyte donation cycles are associated with donor BMI. *Hum. Reprod.* 31, 385–392 (2016).
170. Bellver, J. *et al.* Obesity and the risk of spontaneous abortion after oocyte donation. *Fertil. Steril.* 79, 1136–1140 (2003).
171. Huang, L. S. *et al.* Recipient age and pulsatility index affect uterine receptivity in oocyte donation programmes. *Reprod. Biomed. Online* 17, 94–100 (2008).

