

UNIVERSIDADE DA CORUÑA

FACULTADE DE CIENCIAS DA SAÚDE

MÁSTER EN ASISTENCIA E INVESTIGACIÓN SANITARIA
ESPECIALIDAD: INVESTIGACIÓN CLÍNICA

Curso académico 2015-16

TRABAJO DE FIN DE MÁSTER

**Calidad ovocitaria tras diferentes protocolos
de estimulación en donantes de óvulos: un
estudio observacional de seguimiento
prospectivo**

Xiana Pérez Martín

25 de julio de 2016

TUTORA:

Sonia Pértega Díaz

ÍNDICE

1. ÍNDICE DE ACRÓNIMOS.....	1
2. RESUMEN / RESUMO / ABSTRACT	2
3.1. Resumen	2
3.2. Resumen	3
3.3. Abstract.....	4
4. ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL DEL TEMA.....	6
4.1. Infertilidad	6
4.2. Donación de ovocitos.....	7
4.2.1. Receptoras de ovocitos.....	7
4.2.2. Donantes de ovocitos	8
4.2.3. Procedimiento	9
4.3. Calidad ovocitaria	10
4.4. Estimulación ovárica en donantes de ovocitos	11
3. JUSTIFICACIÓN.....	12
5. HIPÓTESIS.....	13
6. OBJETIVOS.....	13
6.1. Objetivo general.....	13
6.2. Objetivos específicos	13
7. METODOLOGÍA	14

7.1.	Estrategia de búsqueda bibliográfica.....	14
7.1.1.	Búsqueda de revisiones sistemáticas:.....	14
7.1.2.	Búsqueda de estudios originales:.....	14
8.2.	Ámbito de estudio.....	15
8.3.	Período de estudio.....	15
8.4.	Tipo de estudio.....	16
8.5.	Criterios de inclusión y exclusión.....	16
8.6.	Selección de la muestra.....	17
8.7.	Justificación del tamaño muestral.....	17
8.8.	Descripción del seguimiento.....	18
8.8.1.	Estimulación ovárica.....	18
8.8.2.	Punción folicular y procesado de los ovocitos.....	20
8.8.3.	Observación de la madurez y la morfología ovocitaria.....	20
8.9.	Mediciones.....	23
8.9.1.	Variables sociodemográficas.....	23
8.9.2.	Variables clínicas previas al tratamiento.....	23
8.9.3.	Variables referentes al tratamiento.....	23
8.9.4.	Variables referentes al número, calidad y morfología de los ovocitos recuperados.....	24
8.10.	Análisis estadístico.....	24
8.11.	Limitaciones del estudio.....	26
8.11.1.	Sesgos de selección.....	26
8.11.2.	Sesgos de información.....	26
8.11.3.	Sesgos de confusión.....	27

9. ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES	27
10. APLICABILIDAD	28
11. PLAN DE TRABAJO	29
12. PLAN DE DIFUSIÓN DE RESULTADOS	31
13. FINANCIACIÓN	32
13.1. Recursos necesarios	32
13.1.1. Infraestructura:.....	32
13.1.2. Recursos humanos:	32
13.1.3. Material fungible e inventariable:	33
13.1.4. Difusión de los resultados:.....	33
13.2. Coste económico.....	33
13.3. Fuentes de financiación.....	34
14. BIBLIOGRAFÍA.....	35
15. ANEXOS.....	40
15.1. ANEXO I. HOJA DE INFORMACIÓN PARA PACIENTES	40
15.2. ANEXO II. CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PACIENTES	43
ANEXO III. FICHA DE RECOGIDA DE DATOS (I).....	44

1. ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

ACE	American College of Embriology
ASEBIR	Asociación de Biólogos de la Reproducción
ASRM	American Society of Reproductive Medicine
CAEIG	Comité Autonómico de Ética de la Investigación de Galicia
CHUS	Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela
ESHRE	European Society of Human Embriology
FIV	Fecundación <i>In Vitro</i>
FSH	Hormona Folículoestimulante
GnRH	Hormona Liberadora de Gonadotropinas
HAM	Hormona Antimulheriana
hCG	Gonadotropina Coriónica Humana
HMG	Hormona Menopáusica Humana
ICSI	Inyección Intracitoplasmática de Espermatozoides
IMC	Índice de Masa Corporal
IVE	Interrupción Voluntaria del Embarazo
LH	Hormona Luteinizante
LOPD	ley Orgánica de Protección de datos de Carácter Personal
MI	Metafase I
MII	Metafase II
OMS	Organización Mundial de la Salud
SEF	Sociedad Española de Reproducción
SHO	Síndrome de Hiperestimulación Ovárica
TRA	Técnica de Reproducción Asistida
VG	Vesícula Germinal

2. RESUMEN / RESUMO / ABSTRACT

3.1. Resumen

Introducción: la calidad ovocitaria es un importante indicador predictivo del desarrollo embrionario y de las tasas de éxito de los tratamientos de reproducción asistida. Se conocen diferentes factores que pueden afectar a esta variable, pero no hay datos sobre cómo influyen los diferentes protocolos de estimulación ovárica en la calidad de los ovocitos.

Objetivo: determinar la calidad de los ovocitos recuperados en ciclos de donación de óvulos, y estudiar su asociación con el protocolo de estimulación ovárica al que se someten las donantes.

Metodología:

Tipo de estudio: observacional de seguimiento prospectivo

Ámbito: unidad de reproducción asistida del Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela (CHUS).

Periodo: septiembre 2016 – febrero 2018

Criterios de inclusión/exclusión: donantes de ovocitos sometidas a un primer ciclo de estimulación ovárica mediante ICSI, sin antecedentes médico-quirúrgicos, índice de masa corporal 18-28 kg/m², ≥ 10 folículos antrales, con consentimiento informado. Se excluyen mujeres con riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica.

Muestra: se estima incluir n= 84 donantes (42 con un protocolo largo de agonistas de la GnRH y 42 con análogos antagonistas de la GnRH) (Diferencia mínima del % medio de ovocitos con alteraciones morfológicas= 6%, desviación típica= ±10%, seguridad= 95%, potencia= 80%).

Mediciones: variables sociodemográficas, variables clínicas previas al tratamiento, protocolo de estimulación ovárica, nº de ovocitos recuperados, estadio madurativo, anomalías morfológicas, tipo de dimorfismos ovocitarios, síndrome de hiperestimulación ovárica.

Análisis: análisis descriptivo, bivariante y multivariante para determinar la asociación de los protocolos de estimulación ovárica con los resultados del ciclo de donación, tras ajustar por potenciales variables de confusión.

Aspectos ético-legales: consentimiento informado, autorización del Comité Autonómico de Ética de la Investigación de Galicia.

3.2. Resumo

Introdución: a calidade ovocitaria é un importante indicador do predictivo do desenvolvemento embrionario e das taxas de éxito dos tratamentos de reprodución asistida. Coñécense diferentes factores que poden afectar a esta variable, pero non hai datos sobre cómo inflúen os diferentes protocolos de estimulación ovárica na calidade dos ovocitos.

Obxectivo: determinar a calidade dos ovocitos recuperados en ciclos de doación de óvulos, e estudar a súa asociación co protocolo de estimulación ovárica ó que se someten as doantes.

Metodoloxía:

Tipo de estudo: observacional de seguemento prospectivo.

Ámbito: unidade de reprodución asistida do Complexo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela (CHUS).

Periodo: setembro 2016 – febreiro 2018.

Criterios de inclusión/exclusión: doantes de ovocitos sometidas a un primeiro ciclo de estimulación ovárica mediante ICSI, sen antecedentes

médico-cirúrxicos, índice de masa corporal 18-28 kg/m², ≥ 10 folículos antrales, con consentemento informado. Excluíranse mulleres con risco de síndrome de hiperestimulación ovárica.

Mostra: estímase incluír n= 84 doantes (42 con protocolo largo de agonistas da GnRH e 42 con análogos antagonistas da GnRH) (Diferencia mínima do % medio de ovocitos con alteracións morfolóxicas= 6%, desviación típica= ±10%, seguridade= 95%, potencia= 80%).

Medicións: variables sociodemográficas, variables clínicas previas ó tratamento, protocolo de estimulación ovárica, nº de ovocitos recuperados, estadio madurativo, anomalías morfolóxicas, tipo de dimorfismos ovocitarios, síndrome de hiperestimulación ovárica.

Análisis: análise descritivo, bivariante e multivariante para determinar a asociación dos protocolos de estimulación ovárica cos resultados do ciclo de doación, tras axustar por potenciais variables de confusión.

Aspectos ético-legais: consentemento informado, autorización do Comité Autonómico de Ética da Investigación de Galicia.

3.3. Abstract

Introduction: Oocyte quality is an important predictive indicator of the embryonic development and success rates of Assisted reproductive treatment. Different factors are known that may affect this variable, but there are no data about how the different ovarian stimulation protocols influence on the oocyte quality.

Objective: To determine the quality of recovered oocytes on oocyte donation cycles and to study its association with the oocyte stimulation protocol of the donors.

Methodology:

Type of study: prospective follow-up observational.

Field of study: assisted reproduction unit of Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela (CHUS).

Period: september 2016 - february 2018

Inclusion/exclusion criteria: Oocyte donors under a first oocyte stimulation cycle by ICSI, without medical-surgical precedents, body mass index 18-28 Kg/m², ≥ 10 antral follicles, with informed consent. Women with oocyte hyperstimulation syndrome risk are excluded.

Sample: it is estimated to include n= 84 donors (42 with a long protocol of agonists of GnRH and 42 with analogous antagonistic of GnRH) (Minimum difference of average percentage of morphologic alteration oocyte= 6%, typical deviation= $\pm 10\%$, certainty= 95%, power= 80%).

Measurements: socialdemographic variables, before-treatment clinic variables, oocyte stimulation protocol, number of recovered oocytes, maturation stage, morphologic anomalies, types of oocyte dimorphisms, ovarian hyperstimulation syndrome.

Analysis: descriptive analysis, bivariant and multivariant to determine the association of the oocyte stimulation protocols with the donation cycle results, after adjust by confusion variable potentials.

Ethical and legal aspects: informed consent, Comité Autonómico de Ética de la Investigación de Galicia authorization.

4. ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL DEL TEMA

4.1. Infertilidad

La infertilidad es, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), una enfermedad del sistema reproductivo definida como la incapacidad de lograr un embarazo clínico después de 12 meses o más de relaciones sexuales no protegidas [1].

Se estima que actualmente la infertilidad afecta a alrededor del 15-20% de la población en edad reproductiva y la tendencia de esa cifra va en aumento [2]. Particularmente en España, eso se traduce en unas 900.000 parejas afectadas y aparecen cada año unos 16.000 casos nuevos [2].

Cabe destacar que estas cifras son orientativas, ya que existen factores que hacen difícil el cálculo de la prevalencia de la esterilidad. Entre ellos se encuentra la limitación a la hora de definir la población objeto de estudio ya que, a pesar de que es conocido que la fertilidad está muy condicionada por la edad, la búsqueda de descendencia no ocurre por igual en todos los grupos de edad. A esto se suma que al considerar el número de parejas estériles como aquellas que se solicitan asistencia médica para conseguir descendencia, se está subestimando la prevalencia al no tener en cuenta aquellas que son estériles y no consultan por dicho motivo [3].

A pesar de todo esto, es evidente que las técnicas de reproducción asistida en España son cada vez más demandadas. Según los últimos datos publicados por la Sociedad Española de Fertilidad (SEF), durante el 2014 se realizaron al menos 116.688 tratamientos de fecundación *in vitro* (FIV) y 40.177 inseminaciones artificiales [4]. Estas cifras se han visto en continuo ascenso desde la aparición de este registro a nivel nacional (Figura I).

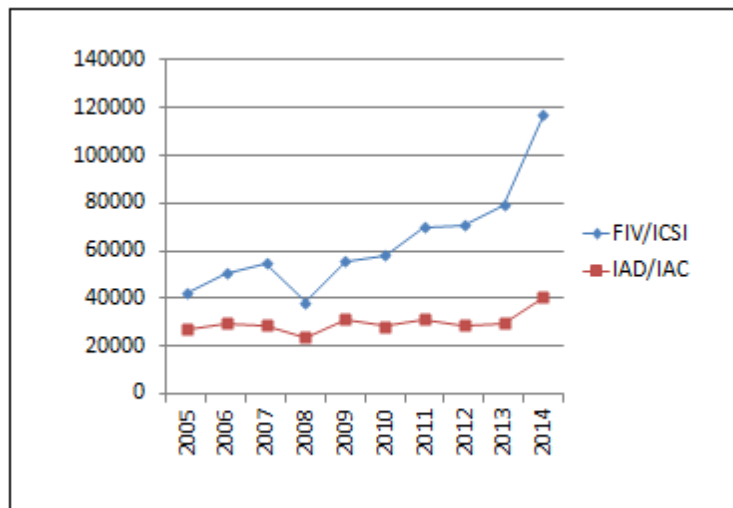


Figura I. Evolución del número de tratamientos de reproducción asistida realizados en España en los últimos 9 años. FIV: Fecundación In Vitro; ICSI: Inyección Intracitoplasmática de Espermatozoides; IAD: Inseminación Artificial de Donante; IAC: Inseminación Artificial Conyugal.

4.2. Donación de ovocitos

La OMS define como técnicas de reproducción asistida (TRAs) a todos aquellos tratamientos o procedimientos que incluyen la manipulación tanto de ovocitos como de espermatozoides o embriones humanos para el establecimiento de un embarazo [1]. La donación de ovocitos es la TRA en la cual el gameto femenino es aportado por una mujer distinta de la que recibirá éste o el embrión resultante [5]. Actualmente es la técnica con la cual se obtienen las tasas más elevadas de embarazo clínico según diferentes publicaciones [6] y así lo refleja el último registro nacional de la SEF [4]. La tasa de gestación por ciclo es del 43,7% y la de gestación por transferencia es del 55,6%, lo que supone una diferencia considerable teniendo en cuenta las tasas del 24,4% y 36,6% respectivamente, correspondientes a los ciclos de FIV con ovocitos propios [4].

4.2.1. Receptoras de ovocitos

Inicialmente las indicaciones de la donación de ovocitos, fueron sólo para el fallo ovárico primario o para las mujeres con enfermedades genéticas o cromosómicas demostradas [3]. En la actualidad los excelentes

Calidad ovocitaria tras diferentes tipos de estimulación ovárica

resultados en la donación de ovocitos han permitido ampliar sus indicaciones, en beneficio de un colectivo de mujeres cada vez mayor. Según la SEF las principales causas por las que se recurre a la donación de ovocitos son [7]:

- Mujeres sin función ovárica:
 - Fallo ovárico primario: disgenesias gonadales puras síndrome de Turner, síndrome de Swyer o síndrome de Savage.
 - Fallo ovárico prematuro: iatrogénico, autoinmune, metabólico o infeccioso.
 - Menopausia: precoz, iatrogénica o fisiológica.
- Mujeres con función ovárica: fallos repetidos de FIV, alteraciones genéticas, mujeres mayores de 40 años con ciclo menstrual, abortos de repetición u ovarios inaccesibles para FIV.

4.2.2. Donantes de ovocitos

Las elevadas tasas de éxito de esta técnica son debidas fundamentalmente a la selección como donantes de óvulos a mujeres jóvenes, que reduce de manera considerable los problemas relacionados con baja respuesta ovárica y con mala calidad embrionaria [8].

Los requisitos generales para acceder como donante al programa de donación son los siguientes:

- Edad comprendida entre 18 y 35 años.
- No presentar historia personal ni familiar de enfermedades de transmisión genética.
- No tener antecedentes médicos ni quirúrgicos de interés.
- Aceptar y firmar el consentimiento para la donación de ovocitos.

En el caso de que cumplan estos requisitos, es recomendable que las posibles donantes sean valoradas desde un punto de vista tanto

psicológico como ginecológico antes de ser incluidas en los programas de donación de ovocitos [3].

En lo referente a las mujeres donantes de óvulos, los aspectos más relevantes dentro de la Ley 14/2006, de 26 de mayo, sobre técnicas de reproducción humana asistida, son los siguientes [9]:

- La donación de óvulos nunca tendrá carácter lucrativo o comercial, ya que se considera un acto voluntario, altruista y desinteresado.
- La donación será anónima y deberá garantizarse la confidencialidad de los datos de identidad de los donantes.
- Los hijos nacidos tienen derecho por sí o por sus representantes legales a obtener información general de los donantes que no incluya su identidad. Igual derecho corresponde a las receptoras de los gametos y de los preembriones.
- Sólo excepcionalmente, en circunstancias extraordinarias que comporten un peligro cierto para la vida o la salud del hijo cuando proceda con arreglo a las leyes procesales penales, podrá revelarse la identidad de los donantes, siempre que dicha revelación sea indispensable para evitar el peligro o para conseguir el fin legal propuesto.
- El número máximo autorizado de hijos nacidos en España que hubieran sido generados con gametos de un mismo donante no deberá ser superior a seis.

4.2.3. Procedimiento

La técnica de donación de ovocitos se puede llevar a cabo de dos formas diferentes:

- Sincronización donante-receptora:

La sincronización entre la donante y la receptora se lleva a cabo mediante la coordinación de sus ciclos menstruales. Por cada

Calidad ovocitaria tras diferentes tipos de estimulación ovárica

receptora se selecciona una donante compatible en grupo sanguíneo, Rh y características físicas. Se hace una programación para que el inicio de los ciclos tanto de la donante como de la receptora se produzcan en paralelo [3].

Esta forma de abordar la donación de ovocitos tiene sus limitaciones. El proceso se verá condicionado a la evolución de la estimulación de la donante, de tal forma que si ésta no es la adecuada, la receptora tiene que esperar al ciclo siguiente. A veces la gran demanda de esta técnica provoca que haya un número mayor de receptoras que de donantes, por lo que es común que la receptora tenga que esperar varios meses [3].

- Banco de ovocitos:

La vitrificación de ovocitos se trata de una técnica que ha sido utilizada en muchas especies animales, incluyendo ratones [10], conejos [11], vacas [12] y humanos [13], alcanzando en esta última, tasas satisfactorias de gestación y de nacidos vivos [14]. La incorporación de esta técnica en mujeres donantes ha permitido la creación de bancos de ovocitos. El banco de ovocitos permite desde el punto de vista logístico una mejor programación, además ha disminuido la espera de la donación de manera significativa, disminuyendo la tasa de cancelación de receptoras [15].

4.3. Calidad ovocitaria

La morfología ovocitaria es uno de los indicadores que ayudan a la hora de predecir la evolución de los embriones y las tasas de éxito de los ciclos de reproducción asistida [16-19]. La causa de la aparición de anomalías morfológicas en los ovocitos puede ser la deficiencia de oxígeno producido por un reducido riego sanguíneo a nivel del folículo ovárico durante la estimulación ovárica de los tratamientos [20]. Este déficit de oxígeno puede provocar defectos cromosómicos y en la organización del citoplasma de los ovocitos [20-22].

Calidad ovocitaria tras diferentes tipos de estimulación ovárica

Los diferentes protocolos de estimulación inducen cambios a nivel endocrino en el ambiente del ovario, lo cual puede influir en la calidad de los ovocitos. Se conocen los efectos deletéreos que estos tratamientos provocan sobre las tasas de fertilización y de obtención de embriones [23-25] así como sobre las tasas de implantación [25]. A pesar de esto no hay una idea clara de los efectos que estos protocolos de estimulación provocan en la calidad de los ovocitos y tampoco se conoce si hay alguna relación directa entre el tipo de protocolo y la aparición de ciertas anomalías morfológicas en los ovocitos.

A la demostrada capacidad predictiva de la morfología ovocitaria sobre el desarrollo embrionario se le suma el hecho de que la calidad ovocitaria está estrechamente relacionada con la supervivencia de los ovocitos al proceso de vitrificación [26]. Esto hace que haya cada vez más interés en conocer los factores intrínsecos y extrínsecos que influyen en la calidad de los ovocitos. Algunos de estos factores son la edad [27,28], el estatus reproductivo [29] y el índice de masa corporal (IMC) de la paciente [30]. Recientemente se ha observado que en pacientes con endometriosis se observa una tasa mayor de dimorfismos ovocitarios, en concreto dimorfismos extracitoplasmáticos [31]. También influyen las condiciones de cultivo o maduración y los tratamientos de estimulación ovárica [32].

4.4. Estimulación ovárica en donantes de ovocitos

A pesar de que es posible realizar la FIV con ciclo natural, las tasas de éxito por ciclo son muy bajas en comparación con ciclos estimulados [33]. La estimulación ovárica tiene como objetivo conseguir el mayor número de ovocitos posibles por cada ciclo y de esta forma compensar las deficiencias de la FIV.

Inicialmente, el protocolo de estimulación más utilizado en donantes de ovocitos ha sido el ciclo largo con agonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), ya que con este protocolo se han obtenido buenos resultados en cuanto a tasas de gestación e implantación [34,35].

Sin embargo, con este protocolo existe mayor riesgo de desarrollar un síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO) [36].

La introducción del uso de los antagonistas de la GnRH ha permitido la búsqueda de alternativas al uso de la hCG para desencadenar la ovulación y por lo tanto evitar la aparición del SHO. Está demostrado que la utilización del protocolo de análogos antagonistas de la GnRH provocando la inducción de la ovulación con un agonista de la GnRH es eficaz y además disminuye el riesgo de desarrollar el SHO [37].

Por esta razón, y debido a que el número de días de medicación es inferior, lo cual resulta más cómodo para las donantes, los análogos antagonistas se utilizan en muchos centros en igual proporción en donantes sin riesgo de SHO que el protocolo anterior.

3. JUSTIFICACIÓN

Por todo lo expuesto, la justificación de este estudio se basa en los siguientes puntos:

- La infertilidad es un problema de salud que afecta al 15-20% de la población mundial. Además, la demanda de tratamientos de reproducción asistida es cada vez más elevada en nuestro país, lo cual obliga a la optimización de los recursos existentes y a la búsqueda constante de mejoras en este ámbito de la biomedicina.
- Existen estudios que muestran las diferencias entre los distintos protocolos de estimulación existentes en cuanto a las tasas de fecundación y otros parámetros, pero no está descrito el efecto que tienen sobre la morfología ovocitaria.
- Los resultados de este estudio podrían ser tenidos en cuenta a la hora de decidir qué protocolos de estimulación llevar a cabo en

Calidad ovocitaria tras diferentes tipos de estimulación ovárica

donantes de ovocitos. Esto mejoraría las tasas de éxito de los tratamientos de donación de ovocitos en los ciclos realizados mediante sincronización donante-receptora, así como mediante la utilización de banco de ovocitos ya que se mejorarían las tasas de supervivencia post-desvitrificación de los ovocitos.

5. HIPÓTESIS

Hipótesis nula (H_0): no existen diferencias entre los diferentes protocolos de estimulación ovárica en cuanto al número y al tipo de dimorfismos ovocitarios resultantes en donantes de ovocitos.

Hipótesis alternativa (H_A): existen diferencias entre los diferentes protocolos de estimulación ovárica en cuanto al número y al tipo de dimorfismos ovocitarios resultantes en donantes de ovocitos.

6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo general

Determinar la calidad de los ovocitos recuperados en ciclos de donación de óvulos, y estudiar su asociación con el protocolo de estimulación ovárica al que se someten las donantes.

6.2. Objetivos específicos

- Conocer si el porcentaje de ovocitos con anomalías morfológicas varía en función del tipo de protocolo de estimulación utilizado y en función de la cantidad de gonadotropinas utilizadas.
- Conocer si los distintos dimorfismos presentes en los ovocitos se producen en igual proporción utilizando los diferentes protocolos de estimulación.

Calidad ovocitaria tras diferentes tipos de estimulación ovárica

- Saber si los distintos protocolos de estimulación se asocian con el número de ovocitos recuperados y con la frecuencia de síndrome de hiperestimulación ovárica.

7. METODOLOGÍA

7.1. Estrategia de búsqueda bibliográfica

Con el objetivo de obtener información sobre el tema planteado se llevó a cabo una búsqueda bibliográfica en las principales bases de datos internacionales especializadas en biomedicina y en bases de datos multidisciplinares. Esta búsqueda se realizó entre octubre y noviembre de 2015 y se dividió en las siguientes partes:

7.1.1. Búsqueda de revisiones sistemáticas:

Base de datos	Biblioteca Cochrane Plus
Términos de búsqueda	“oocyte quality” AND stimulation.
Número de resultados	0

7.1.2. Búsqueda de estudios originales:

Base de datos	Términos de búsqueda	Límites	Resultados
Scopus	TITLE-ABS-KEY (“oocyte quality” AND “stimulation protocol”)	Fecha publicación: 2006-2016. Idioma: inglés.	35
ISI Web of knowledge	TS(“oocyte quality” AND “stimulation protocol”)	Fecha publicación: 2006-2016. Idioma: inglés. Tipo de estudio: review,	3

		clinical trial.	
Medline (Pubmed)	“oocyte quality” AND “stimulation protocol”*	Fecha publicación: 2006-2016. Idioma: inglés. Tipo de estudio: clinical trial, controlled clinical trial, meta-Analysis, systematic reviews	13
Dialnet	Calidad ovocitaria y protocolos de estimulación	Fecha publicación: 2006-2016. Idioma: inglés. Tipo de documento: artículo de revista	1

*No se han podido utilizar descriptores MeSH durante la búsqueda en Medline debido a que ninguno de ellos se ajustaba a la búsqueda de interés.

Los resultados obtenidos han sido introducidos en el gestor de referencias bibliográficas Mendeley para eliminar los duplicados. El total de los resultados obtenidos ha sido de 36.

8.2. **Ámbito de estudio**

Mujeres que se someten a una estimulación ovárica para donación de ovocitos en la unidad de reproducción asistida del Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela (CHUS).

8.3. **Período de estudio**

La duración del estudio será de 18 meses, entre Septiembre de 2016 y Febrero de 2018. La inclusión de pacientes y la recogida de información se desarrollará entre Septiembre de 2016 y Agosto de 2017.

8.4. Tipo de estudio

Se trata de un estudio observacional de seguimiento prospectivo.

8.5. Criterios de inclusión y exclusión

Se incluirán en el estudio las mujeres que cumplan los siguientes criterios de inclusión:

Donantes de ovocitos que acudan al CHUS para ser sometidas por primera vez a un ciclo de estimulación ovárica en el centro durante el periodo de estudio y que cumplan las siguientes características:

- Edad comprendida entre 18 y 35 años.
- Historia personal y familiar ausente de enfermedades de transmisión genética, esquizofrenia, depresión, epilepsia, enfermedad de Alzheimer, alcoholismo o cáncer de mama.
- Sin antecedentes médicos ni quirúrgicos de interés.
- Índice de masa corporal (IMC): entre 18 y 28 kg/m².
- Recuento de folículos antrales ≥10.
- Anatomía de los órganos pélvicos normal.
- Que acepten y firmen el consentimiento informado para la donación de ovocitos y para la participación en el estudio.
- Técnica empleada para la inseminación de los ovocitos: inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI).

A su vez, se excluirán del estudio aquellas mujeres que cumplan alguno de los siguientes criterios de exclusión:

- Que no acepten y/o no firmen el consentimiento informado para la donación de ovocitos y para la participación en el estudio.
- Que presenten riesgo de desarrollar SHO. Los factores a tener en cuenta serán los detallados en la Tabla I.
- Donantes de ovocitos sometidas a ciclos de FIV clásica (no ICSI).

Calidad ovocitaria tras diferentes tipos de estimulación ovárica

- Donantes que declaren que han cometido algún fallo en la administración de la medicación durante el tratamiento.

Tabla I. Factores de riesgo de Síndrome de Hiperestimulación Ovárica (SHO)

Factor de riesgo SHO	Valor
Recuento de folículos antrales	>14
Hormona antimulleriana basal	>3,36 ng/ml

8.6. Selección de la muestra

Durante el periodo de estudio se incluirán todas las donantes que de forma consecutiva se sometan a su primer ciclo de donación de ovocitos en el centro en el que se realizará la investigación, y que cumplan los criterios de inclusión establecidos.

8.7. Justificación del tamaño muestral

Se estima que durante el periodo de estudio acudan unas 120 donantes por primera vez a la unidad de reproducción asistida del CHUS. Se calcula que el 70% cumplirá los criterios de inclusión, contando así con 84 posibles participantes. Aproximadamente el 50% de estas candidatas a participar en el estudio recibirán cada uno de los protocolos de estimulación ovárica a estudiar.

Este tamaño muestral permitirá detectar como estadísticamente significativas diferencias en el porcentaje medio de ovocitos con alteraciones morfológicas de un 6% entre las pacientes sometidas a ambos protocolos, asumiendo una desviación estándar de $\pm 10\%$, una seguridad del 95% y un poder estadístico del 80%.

8.8. Descripción del seguimiento

Tras ser seleccionadas como posibles participantes en el estudio y antes de comenzar el tratamiento, se les proporcionará a las donantes una hoja de información del estudio (Anexo I) y el consentimiento informado (Anexo II). Una vez resueltas todas sus dudas sobre el estudio y de que la donante entregue dicho consentimiento firmado será incluida en el estudio y comenzará su seguimiento.

8.8.1. Estimulación ovárica

La elección del tipo de protocolo se realizará bajo criterio médico sin que haya factores clínicos específicos que influyan en esta decisión. Los facultativos responsables desconocerán por completo si la paciente es participante o no del estudio para evitar que esto influya en dicha elección.

8.8.1.1. Protocolo largo de análogos agonistas de la GnRH:

El inicio del agonista (nafarelina acetato) se realizará el día 21 del ciclo menstrual aplicando 200 µg 3 veces al día por vía intranasal. El primer día del siguiente ciclo se procederá a la administración de gonadotropinas (hormona folículoestimulante (FSH) recombinante o urinaria y/o hormona menopáusica humana (HMG)) en dosis de 75-150 UI diarias, iniciando así la etapa de estimulación ovárica (Figura II).

La monitorización del ciclo se realizará mediante ecografía transvaginal para contar y medir los folículos en desarrollo y la determinación de los niveles séricos de estradiol. El primer control se realizará al quinto día de haber iniciado la estimulación con gonadotropinas y los posteriores son establecidos según la respuesta de la paciente.

La inducción de la ovulación se realizará cuando existan por lo menos 3 folículos con diámetro medio mayor de 17,5 mm. Se realizará mediante la administración de 3600 UI de hCG recombinante.

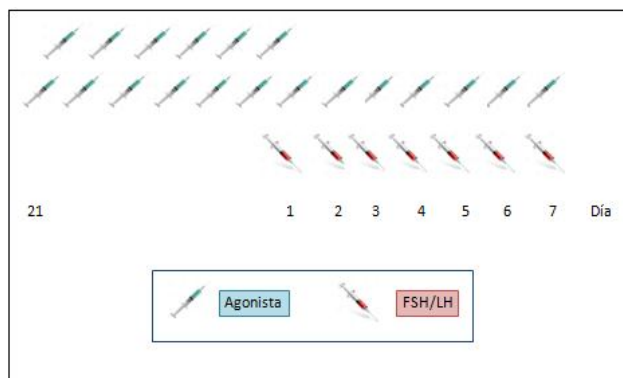


Figura II. Pauta de medicación con análogos agonistas de la GnRH hasta el día de la inducción de la ovulación.

8.8.1.2. Protocolo de análogos antagonistas de la GnRH:

El primer día del ciclo menstrual se inicia la estimulación ovárica mediante la administración de gonadotropinas (FSH recombinante o urinaria y/o HMG) en dosis de 75-150 UI diarias. A partir del sexto día de estimulación se administra diariamente el antagonista (ganirelix) a una dosis mínima de 0,25 mg/día por vía subcutánea (Figura III).

La monitorización del ciclo se realizará mediante controles ecográficos y analíticos periódicos al igual que en el protocolo de análogos agonistas.

La inducción a la ovulación se realizará mediante la administración de 0,4 ml de acetato de leuprorelina (agonista de la GnRH) cuando existan por lo menos 3 folículos con diámetro medio mayor de 17,5 mm.

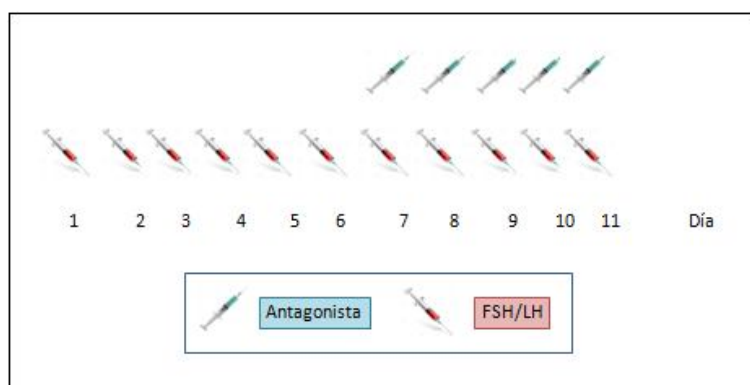


Figura III. Pauta de medicación con análogos antagonistas de la GnRH hasta el día de la inducción de la ovulación.

Calidad ovocitaria tras diferentes tipos de estimulación ovárica

8.8.2. Punción folicular y procesado de los ovocitos

La punción folicular se realizará 36 horas después de la inducción de la ovulación. Se empleará la aspiración de ovocitos guiada por ecografía transvaginal bajo sedación.

Tras la aspiración, en el laboratorio se recuperarán los ovocitos del líquido folicular, se lavarán en un medio tamponado y serán almacenados en el incubador a 37°C y 6% de CO₂ en un medio especial para el cultivo de gametos humanos hasta la denudación, que se realizará entre 1 hora y media y 2 horas post-punción. La denudación es un proceso químico y mecánico a través del cual se retiran las células de la granulosa que rodean al ovocito, permitiendo de esta manera la observación tanto de la madurez del ovocito como de la morfología ovocitaria. Para la denudación se utilizará como agente químico la hialuronidasa, y como agentes mecánicos una pipeta Pasteur de vidrio y un capilar de 140 µm.

8.8.3. Observación de la madurez y la morfología ovocitaria

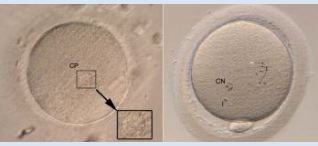
Tras la denudación de los ovocitos estos serán clasificados según su estadio madurativo:

- Ovocito en metafase II (MII): ovocito maduro o preovulatorio haploide. Presenta corpúsculo polar, lo que indica la reanudación de la meiosis. Tiene aspecto redondeado, ooplasma claro y granulación homogénea.
- Ovocito en metafase I (MI): ovocito inmaduro y haploide. No tiene corpúsculo polar, el huso y los cromosomas están alineados en los polos. Su aspecto es redondeado, con citoplasma claro y granulación homogénea.
- Ovocito en profase I (vesícula germinal (VG)): ovocito inmaduro, diploide. No tiene corpúsculo polar. Presenta vesícula germinal con nucleolos refráctiles.

Calidad ovocitaria tras diferentes tipos de estimulación ovárica

La morfología ovocitaria se evaluará en el microscopio invertido. Los ovocitos a evaluar serán los que estén en estadio MII. Los dimorfismos ovocitarios que tendremos en cuenta son los descritos por la Asociación Española de Biólogos de la Reproducción (ASEBIR) [38], y que se detallan en la Tabla II:

Tabla II. Tipos de dimorfismos ovocitarios descritos por la Asociación Española de Biólogos de la Reproducción ASEBIR:

Alteraciones morfológicas citoplasmáticas	Agrupación de orgánulos/granulosidad en el centro del ovocito		
	Agregación del retículo endoplasmático liso		
	Vacuolas		
	Inclusiones citoplasmáticas		
Alteraciones morfológicas extracitoplasmáticas	Restos celulares en el espacio perivitelino.		
	Anomalías en la zona pelúcida.	Zona pelúcida no circular	

Calidad ovocitaria tras diferentes tipos de estimulación ovárica

		Zona pelúcida oscura	
		Zona pelúcida gruesa	
		Zona pelúcida septada	
	Espacio perivitelino aumentado.		
	Alteraciones del primer corpúsculo polar	Fragmentación	
		Tamaño	 
		Corpúsculo polar doble	

Calidad ovocitaria tras diferentes tipos de estimulación ovárica

8.9. Mediciones

De cada una de las participantes en el estudio se recogerán las variables que se detallan a continuación. Para la recogida de datos, se utilizará el cuaderno que se muestra en el Anexo III.

8.9.1. Variables sociodemográficas

- Edad (años) en el momento de la donación.

8.9.2. Variables clínicas previas al tratamiento

- Índice de masa corporal: peso (kg)/estatura² (cm).
- Embarazos y/o partos previos. Se cuantificarán embarazos con interrupción voluntaria del embarazo (IVE) y abortos espontáneos.
- Uso de método anticonceptivo en los meses previos al tratamiento.
- Niveles basales de hormona antimulheriana (HAM), FSH y hormona luteinizante (LH).
- Duración de los ciclos menstruales (días).
- Recuento de folículos antrales. Se cuantificarán mediante una ecografía transvaginal.

8.9.3. Variables referentes al tratamiento

- Número de folículos de tamaño igual o superior a 14 mm el día del desencadenamiento de la ovulación. Se cuantificarán mediante ecografía transvaginal.
- Tipo de protocolo de estimulación ovárica:
 - Protocolo largo de agonistas de la GnRH.
 - Protocolo de antagonistas de la GnRH.
- Tipo de gonadotropinas utilizadas en la estimulación ovárica:
 - FSH.
 - HMG.
- Dosis total de gonadotropinas suministradas.

Calidad ovocitaria tras diferentes tipos de estimulación ovárica

- Días de estimulación: número de días durante los cuales se estimula a la paciente con gonadotropinas exógenas.
- Desarrollo de síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO) durante o tras la estimulación ovárica. Se entiende como síndrome de hiperestimulación ovárica la aparición de las siguientes evidencias durante o tras la estimulación ovárica: náuseas, vómitos, distensión y dolor abdominal, aumento del tamaño ovárico y presencia de ascitis.

8.9.4. Variables referentes al número, calidad y morfología de los ovocitos recuperados

- Número de ovocitos totales obtenidos.
- Número de ovocitos recuperados / número de folículos puncionados.
- Número de ovocitos en metafase II (MII) obtenidos.
- Número de ovocitos en metafase I (MI) obtenidos.
- Número de vesículas germinales (profase I) obtenidas.
- Tasa de ovocitos en metafase II, en metafase I y profase I (n° ovocitos MII/ n° ovocitos totales, n° ovocitos MI/ n° ovocitos totales, n° vesículas germinales/ n° ovocitos totales).
- N° de ovocitos con anomalías morfológicas.
- Tipo de dimorfismo ovocitario (Tabla II).

8.10. Análisis estadístico

Se realizará un estudio descriptivo de las variables que van a ser tenidas en cuenta para el estudio. Las variables cualitativas se expresarán como valor absoluto (n) y como porcentaje, mientras que las cuantitativas lo harán como media \pm desviación típica y percentiles.

Se compararán las características basales de las donantes según el protocolo de estimulación ovárica al que se hayan sometido. Posteriormente se compararán los resultados obtenidos en función del protocolo de estimulación y según las características clínicas de las donantes, considerando como variables de resultado:

Calidad ovocitaria tras diferentes tipos de estimulación ovárica

- Número y tasa de ovocitos recuperados.
- Número y tasa de ovocitos recuperados en metafase II (MII), metafase I (MI) y profase I (VG).
- Frecuencia de anomalías morfológicas y tipo de dimorfismo ovocitario.
- Incidencia de síndrome de hiperestimulación ovárica.

Para determinar la asociación entre variables cualitativas se utilizará el estadístico chi-cuadrado o el test exacto de Fisher. Para la comparación de parámetros numéricos entre grupos se utilizará el test t de Student, análisis de la varianza, test de Mann-Whitney o test de Kruskal-Wallis según proceda. El análisis de normalidad se realizará mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. La correlación entre variables cuantitativas se determinará mediante el coeficiente de correlación lineal de Pearson o el coeficiente de correlación rho de Spearman.

En el análisis bivariado, se evaluará además la relevancia clínica de los resultados, mediante el cómputo de la diferencia media y los correspondientes valores del riesgo relativo junto con su 95% intervalo de confianza.

Finalmente se llevará a cabo un análisis de regresión multivariante, para determinar la asociación de los diferentes protocolos de estimulación ovárica con los resultados del ciclo de donación de óvulos, tras ajustar por potenciales variables de confusión. Según la variable respuesta considerada, se utilizará un modelo de regresión lineal o logística múltiple.

Todos los tests se realizarán con un planteamiento bilateral. Se tomará como significativo valores de $p < 0.05$. El análisis se realizará con el programa SPSS 20.0 para Windows.

8.11. Limitaciones del estudio

8.11.1. Sesgos de selección

Los sesgos de selección vienen derivados de los criterios de inclusión y exclusión establecidos. Para tratar de minimizarlos, se invitará a participar en el estudio a todas las donantes de óvulos que de forma consecutiva se sometan a un primer ciclo de donación de ovocitos en el CHUS durante el periodo de estudio. Los criterios de selección de las donantes son similares a los de otros centros a nivel nacional e internacional. Puesto que la colaboración será voluntaria, la existencia de un posible sesgo de participación se valorará una vez conocido el porcentaje de aceptación a participar en el estudio, que se espera que sea elevado.

Los resultados del estudio serán generalizables únicamente a donantes de óvulos, y no a mujeres que se sometan a otras TRA, ya que éstas pueden presentar características demográficas y clínicas diferentes. La validez externa de los resultados se valorará estudiando la consistencia de nuestros hallazgos con los de otros autores publicados en la literatura de temática similar.

8.11.2. Sesgos de información

Los sesgos de información vienen derivados del método de recogida de datos. Se intentará evitar este tipo de sesgos realizando un estudio prospectivo y una recogida de datos lo más precisa posible. Se llevará a cabo por personal cualificado y se harán chequeos antes del procesado de la información.

Los investigadores encargados de la recogida de datos serán independientes de los médicos que hagan el seguimiento de las pacientes, por lo que que las decisiones clínicas no se verán influenciadas.

8.11.3. Sesgos de confusión

Los sesgos de confusión a la hora de evaluar la asociación entre los diferentes protocolos de estimulación y la calidad ovocitaria pueden venir derivados por el efecto de terceras variables.

El tipo de estudio idóneo para determinar la influencia de diferentes protocolos de estimulación en la calidad ovocitaria sería un ensayo clínico aleatorizado. Por lo tanto, la principal limitación del estudio es su carácter observacional, que permitirá únicamente tener una aproximación a la posible asociación entre los diferentes protocolos y los resultados en los ovocitos recuperados, que deberían ser contrastados en estudios experimentales posteriores.

Para controlar los posibles sesgos de confusión, se incluirán en el estudio variables sociodemográficas y clínicas que pueden influir en la calidad ovocitaria y se tendrán en cuenta en el análisis multivariante para controlar el posible efecto confusor.

9. ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES

Este estudio se desarrollará respetando en todo momento los requisitos éticos y legales exigidos por la Ley 14/2007 de Investigación biomédica y respetando la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial 1964, en su última versión.

Se solicitará la autorización para realizar el estudio al Comité Autonómico de Ética de la Investigación de Galicia (CAEIG). También a la dirección del Hospital Clínico de Santiago de Compostela (CHUS) y a la Unidad de Reproducción Asistida de dicho hospital, dado que es el lugar donde se llevará a cabo el trabajo.

Los investigadores participantes en este estudio se comprometen a que todo dato clínico recogido de los sujetos a estudio sea separado de los

datos de identificación personal garantizando la confidencialidad de la información según dispone la ley Orgánica de Protección de datos de Carácter Personal (LOPD) 15/1999.

El acceso a la historia clínica se realizará de acuerdo con la legislación vigente:

- Ley 41/2002 básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica.
- Ley 3/2005, de modificación de la Ley 3/2001, reguladora del consentimiento informado y de la historia clínica de los pacientes.
- Decreto 29/2009, de 5 de febrero, por el que se regula el uso y acceso a la historia clínica electrónica.

Se solicitará consentimiento informado a las pacientes incluidas en el estudio para proceder a la revisión de su historia clínica. Este consentimiento seguirá las pautas recogidas por la ley 41/2002 (Anexo II).

10. APLICABILIDAD

De este estudio se pueden obtener resultados que nos orienten a la hora de elegir un protocolo de estimulación u otro en donantes de ovocitos, intentando de esta forma aumentar el porcentaje de ovocitos de buena calidad en los tratamientos, y por lo tanto aumentando las tasas de obtención de embriones de buena calidad y las tasas de gestación y de recién nacido vivo en los ciclos de donación en fresco.

En cuanto a los bancos de ovocitos, también se podrían aplicar los resultados de este estudio para mejorar la tasa de supervivencia de los ovocitos tras la vitrificación, lo cual se vería traducido en una mayor tasa de obtención de embriones y de gestación.

Por otro lado, si se observase una relación entre el tipo de protocolo de estimulación y la aparición de anomalías morfológicas en los ovocitos, se abrirían nuevas hipótesis acerca del origen de estos dimorfismos.

11. PLAN DE TRABAJO

El trabajo se organizará según el cronograma representado en la Tabla III.

Tabla III. Cronograma del plan de trabajo.

Actividades	Meses																							
	2016												2017										2018	
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	
Búsqueda bibliográfica																								
Lectura de datos bibliográficos																								
Diseño de estudio y conformación del equipo de trabajo																								
Autorización y solicitud financiación																								
Selección de muestra y seguimiento																								
Recogida de información																								
Análisis estadístico e interpretación de datos																								
Resultados y redacción del informe																								
Difusión de los resultados																								

Calidad ovocitaria tras diferentes protocolos de estimulación ovárica

12. PLAN DE DIFUSIÓN DE RESULTADOS

Se pretende divulgar los resultados obtenidos de este proyecto en revistas científicas de ámbito internacional y cuyo índice de impacto es elevado. También se presentará en formato póster o como comunicación oral a congresos científicos nacionales.

Las revistas internacionales elegidas para la difusión del estudio son:

- Human Reproduction: revista de alcance internacional que cuenta con un factor de impacto (JCR) de 4,569. Es una de las publicaciones con mayor relevancia en el campo de la reproducción, estando avalada por la ESHRE (European Society of Human Embriology). Además está recogida en un elevado número de bases de datos internacionales.
- Fertility and Sterility: posee un factor de impacto (JCR) de 4,590. Es otra de las revistas de mayor importancia a nivel mundial en esta área de la medicina. Está avalada por la ASRM (American Society of Reproductive Medicine) y está presente en las principales bases de datos internacionales.
- Reproductive Biomedicine Online: esta es una revista más especializada en la biología de la reproducción que cuenta con un factor de impacto (JCR) del 3,015. Está incluida en bases de datos internacionales del ámbito de la biomedicina y cuenta con el aval de instituciones como la American College of Embriology (ACE).

Por otro lado, se presentará el artículo a las siguientes revistas españolas:

- Revista Madre (Medicina Reproductiva y Embriología Clínica): es la revista oficial conjunta de la Sociedad Española de Fertilidad (SEF) y de la Asociación Española de Biología Reproductiva (ASEBIR).

Calidad ovocitaria tras diferentes protocolos de estimulación ovárica

- Revista ASEBIR: se trata de la revista oficial de la Asociación Española de Biología Reproductiva (ASEBIR).

Estas revistas se presentan tanto en formato on-line como en papel. Además permiten el acceso libre a algunos de sus artículos en cada número publicado, aumentando así su capacidad de difusión.

Los congresos a los que se presentará el trabajo son:

- Congreso nacional de la Sociedad Española de Fertilidad (SEF) (Madrid 2018).
- Congreso nacional de la Asociación Española de Biólogos de la Reproducción (ASEBIR) (2019).

13. FINANCIACIÓN

13.1. Recursos necesarios

Los recursos y materiales necesarios para desarrollar el proyecto serían los siguientes:

13.1.1. Infraestructura:

El estudio se desarrollará en las instalaciones de la Unidad de Reproducción Asistida del Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela. Previamente se solicitará autorización a la jefatura de servicio correspondiente para su utilización.

13.1.2. Recursos humanos:

La recogida de datos se llevará a cabo entre el personal de enfermería y el personal del laboratorio de la unidad, que no percibirán remuneración alguna por su participación en el estudio. Por otro lado, será un/a analista de datos el que realice el análisis e interpretación de los datos obtenidos.

Calidad ovocitaria tras diferentes protocolos de estimulación ovárica

13.1.3. Material fungible e inventariable:

Se necesitará material fungible de oficina (papel, bolígrafos, tóner, etc.) y como material inventariable un ordenador y una impresora.

13.1.4. Difusión de los resultados:

Será necesaria la traducción del artículo al inglés para hacer posible su publicación en revistas internacionales. Además habría que tener en cuenta el coste de la asistencia a los congresos en los que se va a presentar el estudio.

13.2. Coste económico

El coste de todos los recursos y materiales necesarios para el desarrollo del proyecto se detalla en la Tabla IV.

Tabla IV. Presupuesto

		COSTE	
		Parcial	Total
Recursos humanos			
	Enfermero/a	0 €/mes	0 €/mes
	Bióloga	0 €/mes	0 €/mes
	Analista de datos	600 €/mes	600 €
Recursos materiales			
Material fungible	Hojas de papel (paquete de 500)	3€ (1 unidad)	3€
	Bolígrafos	0,30€ (10 unidades)	3€
	Grapas (caja de 1000)	0,40€ (1 unidad)	0,40€

Calidad ovocitaria tras diferentes protocolos de estimulación ovárica

	Tóner para impresora	25€ (1 unidad)	25€
Material inventariable	Ordenador		800€
	Impresora		200€
Difusión de los resultados			
	Traducción del artículo		450€
	Asistencia a congresos	1000€/congreso	2000€
TOTAL			4081,40€

13.3. Fuentes de financiación

Se solicitará financiación a los organismos aquí detallados:

- Ayudas Merck Serono de Investigación 2016: destinadas a financiar proyectos de investigación presentados por investigadores que puedan llevar a cabo el estudio propuesto en España, con un plazo mínimo de 1 año y máximo de 3 años, en diferentes áreas del ámbito sanitario, incluida la investigación clínica en fertilidad.
- Beca Aula Joven de ASEBIR: pretende premiar a los investigadores menores de 30 años que publiquen un artículo en la revista ASEBIR con la matrícula gratuita en el congreso bianual de esta asociación.

Calidad ovocitaria tras diferentes protocolos de estimulación ovárica

14. BIBLIOGRAFÍA

1. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, de Mouzon J, Ishihara O, Mansour R, Nygren K, Sullivan E, Vanderpoel S. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology. *Fertil Steril*. 2009; 92(5):1520-4.
2. Matorras Weinig R. editor. Libro blanco sociosanitario. “La infertilidad en España: situación actual y perspectivas”. 1ª ed. Madrid: Imago Concept & Image Development; 2011.
3. Remohí Giménez JL, Bellver Pradas J, Matorras Weing R, Ballesteros Boluda A, Pellicer Martínez A. Manual práctico de esterilidad y reproducción humana: aspectos clínicos. 4ªed. Madrid: Editorial médica panamericana; 2012.
4. Registro Nacional de Actividad 2014-Registro SEF. Informe estadístico de Técnicas de Reproducción Asistida 2014. Madrid: SEF; 2016.
5. Kamel RM. Management of the infertile couple: an evidence-based protocol. *Reprod Biol Endocrinol*. 2010; 6; 8:21.
6. Budak E, Garrido N, Soares SR, Melo MA, Meseguer M, Pellicer A, Remohí J. Improvements achieved in an oocyte donation program over a 10-year period: sequential increase in implantation and pregnancy rates and decrease in high-order multiple pregnancies. *Fertil Steril*. 2007; 88(2): 342-9.
7. Matorras R, Hernández J. editores. 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 Española de Contracepción. Adalia, Madrid 2007.
8. Sauer MV, Kavic SM. Oocyte and embryo donation 2006: reviewing two decades of innovation and controversy. *Reprod Biomed Online*. 2006; 12(2):153-62.

Calidad ovocitaria tras diferentes protocolos de estimulación ovárica

9. Ley 14/2006, de 26 de mayo, sobre técnicas de reproducción humana asistida. Boletín Oficial del Estado, nº 126, (27-05-2006).
10. Choi JK, Huang H, He X. Improved low-CPA vitrification of mouse oocytes using quartz microcapillary. *Cryobiology*. 2015; 70: 269–272.
11. Jimenez-Trigos E, Vicente JS, Marco-Jimenez F. First pregnancy and live birth from vitrified rabbit oocytes after intraoviductal transfer and in vivo fertilization. *Theriogenology*. 2014; 82: 599–604.
12. Ezoë K, Yabuuchi A, Tani T, Mori C, Miki T, Takayama Y et al. Developmental Competence of Vitrified-Warmed Bovine Oocytes at the Germinal-Vesicle Stage is Improved by Cyclic Adenosine Monophosphate Modulators during In Vitro Maturation. *PLoS One*. 2015; 12; 10(5).
13. Shanshan G, Mei L, Keliang W, Yan S, Rong T, Zi-Jiang C. Effect of different rehydration temperatures on the survival of human vitrified-warmed oocytes. *J Assist Reprod Genet*. 2015; 32(8): 1197-203.
14. Chen C. Pregnancy after human oocyte cryopreservation. *Lancet*. 1986; 1(8486): 884-6.
15. Cobo A, Remohí J, Chang CC, Nagy ZP. Oocyte cryopreservation for donor egg banking. *Reprod Biomed Online*. 2011; 23 (3): 341-6.
16. Loutradis D, Drakakis P, Kallianidis K, Milingos S, Dendrinis S, Michalas S. Oocyte morphology correlates with embryo quality and pregnancy rate after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril*. 1999; 72: 240–244.
17. Marteil G, Richard-Parpaillon L, Kubiak JZ. Role of oocyte quality in meiotic maturation and embryonic development. *Reproductive biology*. 2009; 9: 203–224.
18. Van Blerkom J, Henry G. Oocyte dysmorphism and aneuploidy in meiotically-mature human oocytes after ovarian stimulation. *Hum. Reprod*. 1992; 7: 379-390.

Calidad ovocitaria tras diferentes protocolos de estimulación ovárica

19. Van Blerkom, J Davis, PW, Lee J. ATP content of human oocytes and developmental potential and outcome after in-vitro fertilization and embryo transfer. *Hum. Reprod.* 1995; 10: 415-424.
20. Van Blerkom J, Antczak M, Schrader R. The developmental potential of the human oocyte is related to the dissolved oxygen content of follicular fluid: association with vascular endothelial growth factor levels and perifollicular blood flow characteristics. *Hum. Reprod.* 1997, 12: 1047-1055.
21. de Cassia SFR, de Almeida Ferreira Braga DP, Semiao-Francisco L, Madaschi C, Iaconelli A Jr, Borges E Jr. Metaphase II human oocyte morphology: contributing factors and effects on fertilization potential and embryo developmental ability in ICSI cycles. *Fertil Steril.* 2010; 94: 1115–1117.
22. Setti AS, Figueira RC, Braga DP, Colturato SS, Iaconelli A Jr, Borges E Jr. Relationship between oocyte abnormal morphology and intracytoplasmic sperm injection outcomes: a meta-analysis. *Eur J Obstet Gyn R B.* 2011; 159: 364–370.
23. Safiriyu Idowu O, Qing-Yuan S. Factors influencing the Biochemical Markers for Predicting Mammalian Oocyte Quality. *J Reprod Dev.* 2012; 58 (4): 385-392.
24. Beaumont HM, Smith AF. Embryonic mortality during pre- and post-implantation periods of pregnancy in mature mice after superovulation. *J Reprod Fertil.* 1975; 45: 437-448.
25. Blondin P, Coenen k, Guilbault LA, Sirard MA. Super ovulation can reduce the developmental competence of obine embryos. *Theriogenology.* 1996; 46:1191-1203.
26. Argyle CE, Harper JC, Davies MC. Oocyte cryopreservation: where are we now? *Hum Reprod Update.* 2016; 22(4):440-9.
27. Volarcik K, Sheean L, Goldfarb J, Woods L, Abdul-Karim FW, Hunt P. The meiotic competence of in-vitro matured human oocytes is

Calidad ovocitaria tras diferentes protocolos de estimulación ovárica

- influenced by donor age: evidence that folliculogenesis is compromised in the reproductively aged ovary. *Hum Reprod.* 1998; 13 (1):154-60.
28. Levi M, Ghetler Y, Shulman A, Shalgi R. Morphological and molecular markers are correlated with maturation-competence of human oocytes. *Hum Reprod.* 2013; 28 (9): 2482-9.
 29. Sfontouris IA, Nastri CO, Lima ML, Tahmasbpourmarzouni E, Raine-Fenning N, Martins WP. Artificial oocyte activation to improve reproductive outcomes in women with previous fertilization failure: a systematic review and meta-analysis of RCTs. *Hum Reprod.* 2015; 30(8):1831-41.
 30. Jungheim ES, Schon SB, Schulte MB, DeUgarte DA, Fowler SA, Tuuli MG. IVF outcomes in obese donor oocyte recipients: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod.* 2013; 28(10):2720-7.
 31. Barbosa MA, Teixeira DM, Navarro PA, Ferriani RA, Nastri CO, Martins WP. Impact of endometriosis and its staging on assisted reproduction outcome: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2014; 44(3):261-78.
 32. Swain JE. Optimizing the culture environment in the IVF laboratory: impact of pH and buffer capacity on gamete and embryo quality. *Reprod Biomed Online.* 2010; 21(1):6-16.
 33. Pelinck MJ, Hoek A, Simons AH, Heineman MJ. Efficacy of natural cycle IVF: a review if the literature. *Hum Reprod Update.* 2002; 8:129-39.
 34. Melo M, Bellver J, Garrido N, Meseguer M, Pellicer A, Remohi J. A prospective, randomized, controlled trial comparing three different gonadotropin regimens in oocyte donors: ovarian response, in vitro fertilization outcome, and analysis of cost minimization. *Fertility and Sterility.* 2010;94:958–964.
 35. Remohi J, Gallardo E, Guanes PP, Simon C, Pellicer A. Donor-recipient synchronization and the use of gonadotrophin-releasing

Calidad ovocitaria tras diferentes protocolos de estimulación ovárica

hormone agonists to avoid the premature luteinizing hormone surge in oocyte donation. *Hum Reprod.* 1995; 10(Suppl 2): 84–90.

36. Delvigne A, Rozenberg S. Epidemiology and prevention of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS): A review. *Hum Reprod Update.* 2002; 8: 559–77.
37. Griesinger G, Diedrich K, Devroey P, Kolibianakis EM. GnRH agonist for triggering final oocyte maturation in the GnRH antagonist ovarian hyperstimulation protocol: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2006; 12: 159–168.
38. Hurtado de Mendoza y Acosta MV, Cuadros Fernández J. coordinadores. Cuadernos de Embriología Clínica: Criterios ASEBIR de valoración morfológica de oocitos, embriones tempranos y blastocistos humanos. 2ª ed. Madrid. Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción (ASEBIR). 2015.

15. ANEXOS

15.1. ANEXO I. HOJA DE INFORMACIÓN PARA PACIENTES

TÍTULO DEL ESTUDIO: Calidad ovocitaria tras diferentes protocolos de estimulación en donantes de óvulos: un estudio observacional de seguimiento prospectivo.

INVESTIGADORA: Xiana Pérez Martín.

Este documento tiene por objeto informarle sobre el estudio de investigación en el que se le invita a participar. Este estudio se está realizando en la Unidad de Reproducción Asistida del Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela, habiendo sido aprobado por el Comité Autonómico de Ética de la Investigación de Galicia.

Si decide participar debe recibir información personalizada del investigador, leer antes este documento y hacer las preguntas que precise para comprender los detalles del mismo.

La participación en el estudio es voluntaria. Puede decidir no participar o, si acepta hacerlo, cambiar de opinión y retirar el consentimiento en cualquier momento sin obligación de dar explicaciones. Esta decisión no afectará a la relación con los profesionales ni a la asistencia sanitaria a la que usted tiene derecho.

¿Cuál es el propósito del estudio?

El objetivo principal es determinar si hay diferencias en las diferentes pautas de medicación que se usan para estimular los ovarios en ciclos de ovodonación, en cuanto al número de ovocitos recuperados y las anomalías que pueden presentar.

Calidad ovocitaria tras diferentes protocolos de estimulación ovárica

¿Por qué me ofrecen participar?

Se le invita a participar porque acude a este hospital para realizar un ciclo de donación de ovocitos y cumple con los criterios establecidos en el diseño del estudio.

¿En qué consiste mi participación?

Su participación consiste en permitir su evaluación previa al tratamiento que se le va a realizar para la posterior donación de sus ovocitos. Dicha evaluación consistirá en una entrevista personal y en la revisión de su historia clínica. Su participación terminará en el momento en el que se realice la punción ovárica en la que se obtendrán los ovocitos que van a ser donados.

¿Qué riesgos e inconvenientes tiene?

No hay riesgos potenciales del seguimiento. Su tratamiento será el mismo tanto si participa en este estudio como si no lo hace.

¿Obtendré algún beneficio por participar?

No habrá compensaciones económicas por participar. El beneficio potencial será saber si las pautas de medicación que se están utilizando actualmente en donantes de ovocitos presentan diferencias en el número y el tipo de anomalías morfológicas de los ovocitos.

¿Recibiré información que se obtenga en el estudio?

Si usted lo desea se le facilitará un resumen con los resultados cuando éste finalice.

¿Se publicarán los resultados del estudio?

Calidad ovocitaria tras diferentes protocolos de estimulación ovárica

Los resultados del estudio podrían ser difundidos mediante su publicación en revistas científicas y congresos, pero no se transmitirán datos que identificativos de las participantes

¿Cómo se protegerá la confidencialidad de mis datos?

El tratamiento, comunicación y cesión de datos, se hará conforme a lo dispuesto por la ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de datos de carácter personal. En todo momento usted podrá acceder a sus datos para corregirlos o cancelarlos.

Sólo el equipo investigador y las autoridades sanitarias, que tienen el deber de guardar confidencialidad, tendrán acceso a los datos recogidos por el estudio, que serán codificados. Se podrá transmitir a terceros información que no puede ser identificada. En el caso de que alguna información sea transmitida a otros países, se realizará con un nivel de protección de datos equivalentes, como mínimo, a lo exigido en nuestro país.

¿Existen intereses económicos en mi estudio?

Ni equipo investigador ni participantes recibirán retribuciones por ello.

Para más información al respecto puede contactar con:

Xiana Pérez Martín

Teléfono:

E-mail:

Gracias por su atención

Calidad ovocitaria tras diferentes protocolos de estimulación ovárica

15.2. ANEXO II. CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PACIENTES

TÍTULO DEL ESTUDIO: Calidad ovocitaria tras diferentes protocolos de estimulación en donantes de óvulos: un estudio observacional de seguimiento prospectivo.

INVESTIGADORA: Xiana Pérez Martín

D/Dña....., con DNI.....

He leído la hoja de información al participante en el estudio de investigación arriba mencionado, aclarando las dudas con el investigador en lo relativo a mi participación y objetivo de dicho estudio.

Participo voluntariamente y puedo anular mi participación en el estudio en cualquier momento sin tener que justificar esta decisión y sin que ello repercuta en mis cuidados médicos.

Permito la utilización de mis datos en las condiciones estipuladas en la hoja informativa.

Presto libremente mi conformidad para participar en el presente estudio.

En Santiago de Compostela, a.....de.....de 20..

Participante

Investigador

Fdo.

Fdo.

Calidad ovocitaria tras diferentes protocolos de estimulación ovárica

ANEXO III. FICHA DE RECOGIDA DE DATOS (I)

Código de donante:		Fecha de inclusión en el estudio:	
		Fecha de inicio del tratamiento:	
Variables sociodemográficas		Edad:	
Variables clínicas previas al tratamiento	IMC: Kg/cm ²		<u>Exploración ginecológica:</u> RFA: folículos
	<u>Historia gineco- obstétrica:</u> Duración regla: Método anticonceptivo: Nº de embarazos: Nº de partos: Nº de abortos espontáneos: Nº de IVEs:		<u>Valores basales de:</u> FSH: mUI/ml LH: UI/L HAM: ng/ml
Variables referentes al tratamiento	Protocolo de estimulación	<input type="checkbox"/> Protocolo largo de análogos agonistas	
		<input type="checkbox"/> Protocolo de análogos antagonistas	
	Nº folículos > 14 mm (inducción ovulación):		
Gonadotropinas	<input type="checkbox"/> FSH <input type="checkbox"/> HMG Dosis total: UI	Días de estimulación: Desarrollo SHO: <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No	

Calidad ovocitaria tras diferentes protocolos de estimulación ovárica

Código de donante:					Fecha de inclusión en el estudio:									
					Fecha de inicio del tratamiento:									
Nº Ovocitos					Totales:		MII:		MI:		VG:			
Ovocitos	Dimorfismos													Morf. normal
	Citoplasmáticos				Extracitoplasmáticos									
	Gra	REL	Vac	Inc	Zona pelúcida				E. perivit.		Corp. polar			
					NC	Osc	Gru	Sep	Aum	RC	Fra	Tam	Dob	
1														
2														
3														
4														
5														
6														
7														
8														
9														
10														
11														
12														
13														
14														
15														
16														
17														
18														
19														
20														
21														
22														
23														
24														

Calidad ovocitaria tras diferentes protocolos de estimulación ovárica