

Protocolo con antagonistas de la GnRH y maduración final con bolo de agonista en un programa de donación de ovocitos

GnRH antagonists protocol and ovulation triggering with a bolus of GnRH agonists in oocyte donation programs

Dolz M., Díaz- García Donato J., Martín V., Moreno X., Benavent M, Gijón L, Pons J

Unidad Reproducción Asistida.Hospital Quirón- Valencia

Resumen

Objetivo: Valorar la utilidad de la administración de un bolo de GnRH para la maduración final ovocitaria en los tratamientos de hiperestimulación ovárica controlada mediante protocolo con antagonistas de la GnRH en un programa de donación de ovocitos.

Método: Estudio prospectivo observacional durante el año 2005 de 47 donantes de ovocitos sometidas a estimulación ovárica con FSHr y antagonistas de la GnRH según protocolo dosis múltiple y flexible y maduración final con bolo de GnRH (Procrin 0,3 ml) y 74 receptoras de ovocitos preparadas según protocolo estándar bajo supresión hipofisaria con agonista Depot (Ginecrin) y preparación endometrial con Progynova a dosis creciente.

Resultados: El protocolo de estimulación ovárica supuso un promedio de 14,4 ovocitos por donante (91% de los folículos puncionados). El 82,9% de los ovocitos fueron maduros y de los cuales fecundaron normalmente el 82%. De las 74 receptoras, 55,4% tuvieron una gestación clínica con una tasa de implantación del 28,5%. El 43% de las donantes mostraron niveles séricos de estradiol inferior a 100 pg/ml a los 4 días y tuvieron la menstruación a los 5,8 días tras la punción folicular. No se presentó ningún SHO y la tolerancia fue muy buena en el 90% de las donantes

Conclusiones: El protocolo con antagonistas de la GnRH seguido de la administración de un bolo de GnRH ofrece buenos resultados Tanto para la donante como para la receptora. Y por su sencillez, comodidad y seguridad debe considerarse como un protocolo muy útil en un programa de donación de ovocitos.

Palabras clave: Donación ovocitos. Antagonista. Bolo de GnRH. Gestación. Implantación

Correspondencia: Miguel Dolz Arroyo
C/ Severo Ochoa 14 Bajo
46010- Valencia- Spain
info@reproduccionquiron.net
mdolz@reproduccionquiron.net
migueldolz@ono.com

Summary

Objective: *To evaluate the efficacy of a single dose of GnRH agonists for triggering ovulation during ovarian stimulation protocols with antagonists in oocyte donation programs.*

Method: *Observational prospective study during 2005 of 47 oocyte donors under ovarian stimulation with FSHr and GnRH antagonists in multiple and flexible protocol and ovulation triggered with a bolus of GnRH agonist (Procrin 0,3 ml) and 74 oocyte receptors prepared according to standard protocols under pituitary suppression with GnRH agonist depot (Ginecrin) and endometrial preparation with increasing doses of Progynova.*

Results: *The ovarian stimulation protocol retrieved 14,4 oocytes per donor (91% of follicles punctured). 82.9% of oocytes were mature and 82% completed a normal fertilization. Of the 72 receptors: 55.4% resulted in clinical pregnancies with an implantation rate of 28;5%. 43% of donors showed oestradiol levels below 100 pg/ml in 4 days and menstruation returned after 5,8 days after oocyte retrieval. SHO was not present and tolerance was reported as very good in 90% of donors.*

Conclusions: *The GnRH antagonists protocol followed by the administration of a bolus of GnRH agonist offers good results for patients and receptors. And because its simplicity, comfort and security this protocol must be considered as very useful in oocyte donation programs.*

Key words: Oocyte donation. Antagonist. GnRH bolus. Pregnancy, implantation.

INTRODUCCIÓN

Desde la descripción del primer embarazo conseguido con la donación de ovocitos (DO) (1) y debido a los buenos resultados obtenidos con esta técnica, la DO es una técnica de reproducción asistida (TRA) que está en auge y con un mayor número de indicaciones.

En un programa de DO, estos provienen de donantes anónimas o bien ovocitos sobrantes de las propias pacientes que se someten a un procedimiento de FIV.

La donación de ovocitos debe ser anónima y altruista (Según la Ley mayo/2006), si bien, la donante recibe a cambio una compensación económica por los perjuicios ocasionados y no como precio de los ovocitos donados. La donante debe someterse a 3 procedimientos consecutivos que no están exentos de riesgos, por un lado, la estimulación ovárica con las molestias que conlleva la administración de las gonadotropinas, visitas repetidas, extracciones de sangre e interferencias con la vida cotidiana además de los posibles efectos secundarios como el síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO). En segundo lugar, la paciente se somete a una anestesia general y en tercer lugar a un procedimiento quirúrgico menor (punción folicular) que tampoco está libre de complicaciones. Por contrapartida, la donación de semen es más sencilla e inocua, interfiere mínimamente con la vida cotidiana y además se puede criopreservar.

En una revisión (2) sobre las complicaciones que aparecían en las donantes de ovocitos, sobre 1000 casos describen un 0,7% de complicaciones graves: 3 SHO, 2 reacciones adversas a la anestesia, 2 hemope-

ritoneos y una retención vesical. Sin embargo el mismo autor (3), recoge en otro artículo de 400 ciclos de estimulación ovárica en donantes de ovocitos mediante protocolo largo con agonistas de la GnRH y encuentra un 65% de SHO leve, un 33,5% de SHO moderado y un 1,5% de SHO severo. Esto supone que al menos en un 35% de los ciclos de donación de ovocitos las propias donantes presentarían síntomas de SHO más o menos graves que se traduciría en cierto mal estado general, dolor pélvico e interferencia con su vida personal y social. Los casos más graves posiblemente cursarían con absentismo laboral, atención médica e incluso hospitalización.

De lo anterior se deduce que es obligación del médico encontrar el protocolo mejor, más seguro y eficaz tanto para la donante como para la receptora.

El protocolo clásico de estimulación ovárica en pacientes y donantes es el llamado protocolo largo con agonistas de la GnRH. Dicho protocolo es utilizado por muchos grupos por los buenos resultados que ofrece.

Con la aparición de los antagonistas de la GnRH (4, 5) se abren nuevas posibilidades en los protocolos de estimulación ovárica en donantes. Al contrario que con los agonistas, estos se asocian a una menor duración de la estimulación, menor consumo de gonadotropinas y una menor incidencia de SHO (6).

El uso de antagonistas de la GnRH en donación de ovocitos ya ha sido publicado por varios autores con buenos resultados tanto por su comodidad como por los resultados en cuanto a tasas de implantación y embarazo (7, 8, 9).

La utilidad de un bolo de GnRH en la inducción

de la ovulación ya fue descrita hace casi dos décadas (10) en los tratamientos de inducción de la ovulación. Con la introducción de los antagonistas de la GnRH aparecen los primeros trabajos en los que se usa un bolo de agonista de la GnRH para obtener la maduración final ovocitaria y desencadenar la ovulación (11, 12). Los resultados a priori son contradictorios, ya que, se han descrito buenas recuperaciones ovocitarias y tasas de fecundación, con la obtención de embriones de buena calidad pero asociado a malas tasas de embarazo e implantación (13, 16).

Al parecer estos resultados podrían deberse a una pésima fase lútea que pone de manifiesto una exagerada luteolisis tras la administración del bolo de GnRH y la aspiración folicular (14).

El propósito de este estudio es valorar la utilidad de la administración de un bolo de GnRH para la maduración final ovocitaria en los tratamientos de hiperestimulación ovárica controlada mediante protocolo con antagonistas de la GnRH en un programa de donación de ovocitos. Teniendo en cuenta los resultados en cuanto número de ovocitos recuperados y fecundados, número y calidad embrionaria, tasa de embarazo, así como el grado de satisfacción y complicaciones (SHO) que aparecen con este protocolo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio prospectivo observacional realizado durante el año 2005 en la URA Hospital Quirón Valencia. Se realizaron 47 donaciones de ovocitos a 74 receptoras de ovocitos. Las donantes de ovocitos fueron seleccionadas en base a la Ley vigente en ese momento. La donación debía ser voluntaria, anónima y altruista. Debían tener entre 18 y menos de 35 años. Se excluyeron enfermedades personales y transmisibles mediante las exploraciones correspondientes y analítica sanguínea. Se descartaron antecedentes familiares de enfermedades hereditarias, malformaciones y neoplasias. Firmado el correspondiente consentimiento informado para la realización de punción folicular y donación de los ovocitos recuperados. La donante comenzó con la toma de anticonceptivos orales. Con la aparición de la menstruación se inició ciclo de estimulación ovárica mediante protocolo con antagonistas de la GnRH dosis múltiple y flexible, iniciando el tercer día del ciclo con la administración de FSH recombinante (Gonal F®); laboratorios Serono .A. Madrid, Spain) a dosis entre 150-300 UI/día los primeros seis días para luego ajustar la dosis en función de la respuesta mediante controles ecográficos y determinación de 17 beta estradiol. La in-

roducción del antagonista se realizó cuando el tamaño folicular era mayor de 14 mm con dosis diarias de 0,25 mg (Cetrotide®; Serono internacional S.A. Geneva, Switzerland). La maduración final ovocitaria se realizó con la administración de 0,3 ml (1,5 mg) de acetato de leuprolide (Procrin®; Abbot S.A. Madrid, Spain) dosis única cuando hallamos 2 ó más folículos con un diámetro entre 18-20mm.

La punción folicular y aspiración ovocitaria se realizó a las 35-36 horas tras la administración del "Bolo de procrin" con anestesia general usando una sonda transvaginal de 5 MHz (ecógrafo Aloka 1400) y agujas Cook de 18G con una presión de aspiración entre 160-180 mmHg. Los ovocitos recolectados fueron clasificados y donados. Tras 2-3 horas de ingreso las donantes fueron dadas de alta con recomendaciones médicas y fueron citadas 4-6 después en consultas donde se les realizó una revisión y se les paso una encuesta acerca del grado de satisfacción. Además la donante debía avisar al centro en el momento tuviera la menstruación.

Se le realizaron extracción de sangre el día de la maduración final, el día de la punción folicular y 4-6 días después cuando eran revisadas en consultas. Se cuantificaron los niveles de 17 β estradiol mediante KIT de enzimmunoanálisis (Minividas, enzyme immunoassay kit (Vidas; Biomerieux, France). Además se les dio un cuestionario acerca del grado de satisfacción sobre el proceso.

Las receptoras fueron preparadas siguiendo el protocolo estándar con la administración de un agonista depot de la GnRH (Ginecrin (®) Depot 3,75 mg; Abbot Científica S.A. Madrid, Spain) el día 21 de ciclo. Con la aparición de la menstruación y comprobada la supresión hipofisaria se comenzó la administración oral de valerato de estradiol 2 mg al día por 7 días, luego 4 mg día durante 3 días y a partir de ese momento 6 mg/ día hasta la prueba de embarazo. El día de la donación ovocitaria la receptora inició la administración vaginal de Progeffik® (Laboratorios EFFIK, S.A. Madrid, España) a dosis de 600 mg/día repartidos en dos veces. Tras 48-72h se seleccionaron los 2 ó 3 mejores embriones (según la clasificación de Lucinda L. Veek) y fueron transferidos al útero con un catéter de transferencia blando (Labotect GMBH Labor-Technik-Göttingen) guiando la punta del catéter del embriólogo con ultrasonidos para depositarlos a 1-1,5 cm del fondo uterino (ecógrafo Aloka 1400 y sonda abdominal de 3,5 MHz).

La tasa de embarazo la definimos como prueba positiva en orina a los 14 días tras la transferencia embrionaria y tasa de embarazo clínico cuando la

gestación es visible mediante ecografía transvaginal 3 semanas después de la transferencia.

Análisis estadístico:

Los datos se expresan como media \pm desviación estándar, máximo y mínimo. Se procesaron con un programa SPSS 11.0.

RESULTADOS

Las características más importantes de las donantes fueron que la edad era de 24,5 años, la duración de la estimulación ovárica fue de 8,7 días y se utilizaron 2117 UI de FSH recombinante. La aspiración folicular supuso 14,4 ovocitos de media que representa el 91% de los folículos puncionados. El nivel de estradiol sérico fue de 1496, 809 y 151 pg/ml el día de la HCG, punción y 4-6 días postpunción respectivamente. Las donantes presentaron la menstruación 5,8 días después de la punción (4-9 días) y el grado de satisfacción fue muy bueno con un promedio de 8,7 (6-10puntos) (Tabla 1)

Tabla 1

Datos descriptivos de las donantes de ovocitos expresados como media \pm desviación estándar, máximo y mínimo

N = 47 donaciones		
Edad	24,5 \pm 3,2	20-33
Nº días estimulación	8,7 \pm 1,6	6-12
Dosis diaria(UI/día)	242,9 \pm 58,6	100-300
Dosis total (FSH)	2117 \pm 588	900-3900
Ovocitos recuperados	14,4 \pm 6,6	3-32
Nº folículos >14 mm	16,0 \pm 6,1	5-32
E2 día HCG(pg/ml)	1496 \pm 946	607-5273
E2 día punción(pg/ml)	809,8 \pm 576	155-2560
E2 4-6 días postpunción	151,1 \pm 107	24-416
Nº días hasta la regla	5,8 \pm 1,6	4-9
Grado satisfacción (1-10)	8,7 \pm 1,2	6-10
SHO	0(0/47)	0

Es importante que el 43% de las donantes tenían un estradiol sérico inferior a 100pg/ml tras 4-6 días después de la punción y que el 80% de las mismas tenían la menstruación en menos de 6 días. La tolerancia al proceso fue muy buena en más del 90% de las pacientes. Y ninguna de ellas presentó síntomas de SHO.

Las indicaciones más importantes para entrar en un programa de recepción de ovocitos fueron el fallo

de FIV previo (40,3%) y la añosidad (37,3%), siguiendo en frecuencia el fallo ovárico oculto (FOO), la endometriosis, enfermedades hereditarias y el fallo ovárico precoz (FOP)(Tabla 2).

La edad de las pacientes receptoras de ovocitos era de 39,3 años, recibieron 6,9 ovocitos por paciente, de los cuales el 82,9% eran ovocitos maduros (metafase II). Tras la ICSI se obtuvo fecundación en el 82% de los ovocitos microinyectados.

Se obtuvieron 3,8 (1-11) embriones por paciente, de los cuales 2,3 (1-9) fueron embriones de muy buena calidad (G1) y 2,2 embriones fueron transferidos al útero de la receptora (1-3). La tasa de embarazo clínico fue de 55,4%, con una tasa de implantación de 28,5%. La tasa de embarazo múltiple fue del 25% y la tasa de aborto 18,8% (tabla 3).

Tabla 2

Indicaciones de las pacientes receptoras de ovocitos. Se expresa como porcentajes (%)

INDICACIÓN DE LA OVORECEPCIÓN	
Endometriosis	6%
Añosidad	37,3%
FOO	11,9
Fallo de FIV	40,3
Enfermedad hereditaria	3%
FOP	1,5%

Tabla 3

Datos clínicos de las pacientes receptoras de ovocitos

N = 74 receptoras		
Edad	39,3 \pm 4,7	27-50
Ovocitos recibidos	6,9 \pm 2,3	4-15
Metafases II %	82,9%	40-100
Fecundación ICSI %	82%	16-100
Embriones totales	3,8 \pm 1,7	1-11
Embriones G1	2,3 \pm 1,3	1-9
Embriones transferidos	2,2 \pm 0,6	1-3
Embarazo clínico	55,4%	
Tasa implantación	28,5%	
Embarazo Múltiple	9(25%)	
Abortos	6 (18,8%)	

DISCUSIÓN

La donación de ovocitos es un proceso voluntario, anónimo y altruista que requiere por parte del médico ofrecer a la donante el tratamiento más seguro, desde el punto de vista de la salud de la donante, y a la vez el más eficaz respecto a los resultados en las receptoras.

Aunque las complicaciones derivadas de estos tratamientos no son frecuentes, se han descrito efectos adversos como SHO, infecciones, hemoperitoneo en las donantes de óvulos (15-18).

Algunos autores (9, 22) apuntan buenos resultados con antagonistas de la GnRH (cetorelix) y Gonal F (150UI/ día) y concluye que se obtienen una alta tasa de embarazo, menor duración del tratamiento y simplicidad del mismo con este protocolo. Otros (19) encuentran peores resultados (menor tasa de implantación) con los ovocitos provenientes de protocolos con antagonistas de la GnRH comparado con el protocolo largo, debido probablemente a la disminución de la LH y el estradiol observados en dichos protocolos. De igual forma, se describen malos resultados en los ovocitos provenientes de protocolos con antagonistas en los que se evidenciaba un descenso de estradiol cuando se introducía el antagonista comparados cuando no disminuía (15).

Se han publicado varios trabajos que comparan protocolos de hiperestimulación ovárica controlada (HOC) con agonistas mediante protocolo largo versus antagonistas de la GnRH en programas de donación de ovocitos (7-8, 20) obteniendo buenos resultados con ambos y no encontrando diferencias entre uno u otro protocolo.

Los tratamientos con antagonistas de la GnRH y maduración final con "bolo de agonista" ofrecen resultados contradictorios. Se han descrito buenas recuperaciones ovocitarias y tasas de fecundación pero asociadas a malas tasas de embarazo e implantación (13, 16). Al parecer los malos resultados obtenidos con estos tratamientos se deben a una "Luteolisis" exagerada tras la administración del bolo y posiblemente por la destrucción folicular durante la aspiración ovocitaria sumado al efecto directo del agonista de la GnRH sobre el cuerpo lúteo. No podemos olvidar que la aspiración folicular se acompaña siempre de una hemorragia intrafolicular y de la pérdida de una gran cantidad de las células de la granulosa que van a tener una repercusión negativa en la función del cuerpo lúteo (21). Este efecto negativo, ha sido evitado en los tratamientos de FIV en la era de los agonistas de la GnRH ya que era indispensable la adminis-

tración de HCG para la maduración final ovocitaria y que por su vida media larga (7-8 días) servía para inducir la ovulación y al mismo tiempo tratar dicha "luteolisis" en la punción folicular. Por el contrario, la administración final de un bolo de GnRH con una vida media más corta (24-36 h) es insuficiente para tratar de forma adecuada este fenómeno a demás de su efecto nocivo sobre la función del cuerpo lúteo.

Nuestros resultados muestran un descenso importante y progresivo del nivel de estradiol desde el día de la HCG, y que continúa el día de la punción y 5 días después, de tal forma que casi la mitad de las donantes presentaban niveles de estradiol inferiores a 100 pg/ml a los 5 días tras la punción. Entre el día de la administración del bolo de GnRH y 4-5 días después de la punción se produce una caída de 10 veces en los niveles de 17 beta estradiol. Clínicamente, esta luteolisis se manifiesta con un acortamiento de la fase lútea de forma que las donantes presentaban la menstruación a los 5,8 días de promedio tras la punción.

Este hecho que al parecer es perjudicial en las pacientes estériles sometidas a este protocolo, presumiblemente podría ser beneficioso en las donantes de ovocitos, ya que, lo más importante en una donación de ovocitos es conseguir un número adecuado de ovocitos maduros para poder llevar a cabo el proceso de donación. Y que a la vista de la literatura estos objetivos se cumplen en su totalidad. De la misma forma, tras la donación, nos interesa que la fase lútea sea lo más "deficiente" posible para evitar la aparición del SHO y sus complicaciones, así como, conseguir lo antes posible una rápida recuperación a la normalidad.

Recientemente (20) se ha publicado un programa de donación de ovocitos en el que compara protocolo con antagonistas de la GnRH y maduración final ovocitaria con HCG versus bolo de GnRH no encontrando diferencias significativas en el número de ovocitos, tasa de fecundación, número de embriones obtenidos y tasa de embarazo e implantación. Al igual que nuestros resultados la duración de la fase lútea fue corta (4, 16 días) comparada con la que presentaba el grupo de en el que se administró HCG (13,6 días) y ninguna donante presentó SHO por 16% del grupo de la HCG.

Como conclusión, el protocolo con antagonistas de la GnRH seguido de la administración de un bolo de GnRH ofrece buenos resultados en los programas de donación de ovocitos y por su sencillez y comodidad y seguridad para la donante de ovocitos debe considerarse como el protocolo estrella en este tipo de tratamientos.

BIBLIOGRAFÍA

1. **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)*. 1983 Mar 12; 286 (6368):835-8.
2. **Sauer MV.:** Defining the incidence of serious complications experienced by oocyte donors: a review of 1000 cases. *Am J Obstet Gynecol*. 2001 Feb;184 (3): 277-8. Review.
3. **Sauer MV, Paulson RJ, Lobo RA.:** Rare occurrence of ovarian hyperstimulation syndrome in oocyte donors. *Int J Gynaecol Obstet*. 1996 Mar; 52 (3): 259-62.
4. **Diedrich K, Diedrich C, Santos E, Zoll C, al-Hasani S, Reissmann T, Krebs D, Klingmuller D.:** Suppression of the endogenous luteinizing hormone surge by the gonadotrophin-releasing hormone antagonist Cetrorelix during ovarian stimulation. *Hum Reprod*. 1994 May;9 (5): 788-91
5. **Olivennes F, Fanchin R, Bouchard P, de Ziegler D, Taieb J, Selva J, Frydman R.:** The single or dual administration of the gonadotropin-releasing hormone antagonist Cetrorelix in an in vitro fertilization-embryo transfer program. *Fertil Steril*. 1994 Sep; 62 (3):468-76.
6. **Ragni G, Vegetti W, Riccaboni A, Engl B, Brigante C, Crosignani PG.:** Comparison of GnRH agonists and antagonists in assisted reproduction cycles of patients at high risk of ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod*. 2005 Sep;20 (9): 2421-5. *Epub* 2005 May 12.
7. **Saucedo de la Llata, et al.:** Comparación de agonistas y antagonistas de GnRH en un programa de donación ovular. *Ginecol Obstet Mex* 2004; 72: 53-56.
8. **Prapas N, Prapas Y et al.:** GnRH agonist versus GnRH antagonist in oocyte donation cycles: a prospective randomized study. *Hum. Reprod*. 20 (6): 1516-1520.
9. **Thong KJ, Yong PY and Menezes Q.:** The administration of the GnRH antagonist, cetrorelix, to oocyte donors simplifies oocyte donation. *Hum Reprod* 2003, 18,1256-1258.
10. **Emperaire, J.C., A. Ruffie.:** Triggering ovulation with endogenous luteinizing hormone may prevent the ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod*, 1991. 6 (4): p. 506-10.
11. **Itskovitz-Eldor, J., S. Kol, B. Mannaerts.:** Use of a single bolus of GnRH agonist triptorelin to trigger ovulation after GnRH antagonist ganirelix treatment in women undergoing ovarian stimulation for assisted reproduction, with special reference to the prevention of ovarian hyperstimulation syndrome: preliminary report: short communication. *Hum Reprod*, 2000. 15 (9): p. 1965-8.
12. **Fausser BC, de Jong D, Olivennes F, et al.:** Endocrine profiles after triggering of final oocyte maturation with GnRH agonist after cotreatment with the GnRH antagonist Ganirelix during ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 709-15.
13. **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. 2006. *Hum Reprod Update* 12: 159-168.
14. **Nevo O, Eldar-Geva T, Kol S, Itskovitz-Eldor J.:** Lower levels of inhibin A and pro-aC during the luteal phase after triggering oocyte maturation with a gonadotrophin-releasing hormone agonist versus human chorionic gonadotrophin. *Fertil Steril* 2003; 79: 1123-8.
15. **Lindheim SR, Morales AJ.:** GnRH antagonists followed by a decline in serum estradiol results in adverse outcomes in donor oocyte cycles. *Hum Reprod*. 2003 Oct;18 (10): 2048-51.
16. **Kolibianakis E.M, et al.:** A lower ongoing pregnancy rate can be expected when GnRH agonist is used for triggering final oocyte maturation instead of HCG in patients undergoing IVF with GnRH antagonists. *Hum Reprod*, 2005. 20 (10): p. 2887-92.
17. **Sauer MV.:** Defining the incidence of serious complications experienced by oocyte donors: a review of 1000 cases. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2001, 184, 277-278.
18. **Halme J, Toma SK, Talbert LM.:** A case of severe ovarian hyperstimulation in a healthy oocyte donor. *Fertil Steril*. 1995 Oct;64 (4): 857-9.
19. **Ricciarelli E, Sánchez M, Martínez M, et al.:** Impact of the GnRH antagonist in oocyte donation cycles. *Fertil Steril* 2003; 79: 1461-3.
20. **Acevedo B, Gomez-Palomares JL, et al.:** Triggering ovulation with gonadotropin-releasing hormone agonists does not compromise embryo implantation rates. *Fertil Steril*. 2006 Dec; 86 (6):1682-7.
21. **Gonen Y., Powell W.A. and Casper, R.F.:** Effect of follicular aspiration on hormonal parameters in patients undergoing ovarian stimulation. *Hum. Reprod* 1991, 6, 356±358.
22. **Vlahos NF, Bankowski BJ, Zacur HA, Garcia JE, Wallach EE, Zhao Y.:** An oocyte donation protocol using the GnRH antagonist ganirelix acetate, does not compromise embryo quality and is associated with high pregnancy rates. *Arch Gynecol Obstet*. 2005 Jun; 272 (1):1-6.