

Epidemiología de la esterilidad en España

Roberto Matorras

Hospital de Cruces. Universidad del País Vasco

En general se refiere que la esterilidad afecta al 10-15% de la población occidental. Sin embargo se trata de estimaciones imprecisas y difícilmente contrastables. Los estudios demográficos únicamente describen la frecuencia de parejas sin hijos, lo que conlleva un sesgo de infraconstatación (no se contabilizan las esterilidades secundarias, ni las parejas que han adoptado, ni las esterilidades tratadas con éxito) y uno de supraconstatación (se contabilizan las esterilidades voluntarias). La determinación de la frecuencia de esterilidad mediante encuestas comporta la dificultad de que se trata de una faceta que afecta a aspectos muy íntimos de la vida de la pareja, que no son fácilmente comunicables al encuestador. Por otra parte, los estudios de frecuentación médica también tienen su subestimación (accesibilidad de los recursos, dificultad de registrar todos los centros donde se efectúan las consultas, pacientes que se desplazan a otras regiones, y sobre todo por el hecho de que sólo se contabilizan los pacientes que consultan) y su supraestimación (pacientes que consultan en varios centros diferentes, pacientes que proceden de otras regiones) (1).

Por otra parte, y ello con frecuencia se olvida, no existe una clara correlación entre la frecuencia de esterilidad y el número medio de hijos por mujer. Así según datos de Frank (2) y Frank et al (3) mientras que en África el número medio de hijos por mujer era de 6,0, en Europa era de 1,7. Sin embargo el porcentaje de mujeres de 40-44 años sin hijos en Europa era del 5,4%, mientras que en África era del 10,1%.

Existe la impresión de que nos hallamos ante una epidemia de esterilidad. Si bien es indudable que cada vez consulta un mayor número de pacientes por esterilidad, presumiblemente sean dos los factores que jueguen un mayor protagonismo en este incremento en la demanda. Por una parte el incremento en

la oferta (mayor número de centros de reproducción asistida, tanto públicos como privados) y la existencia de técnicas cada vez más exitosas y mejor toleradas tanto física como psicológicamente y mejor aceptadas socialmente hacen que cada vez sea más fácil que las parejas con problemas de fertilidad consulten. Por otra parte el retraso de la edad en que la mujer comienza a buscar descendencia tiene un notable efecto reproductivo, reduciendo la tasa de fecundidad y aumentando la frecuencia de esterilidad. Recordemos que en nuestro país la edad media de la mujer al nacimiento del primer hijo ha pasado de ser 25,2 en 1975 a 29,1 en 2002 (4).

Según una encuesta del Instituto Nacional de Estadística, realizada en 1999 a 7749 mujeres españolas, el 3% de ellas serían estériles (4). En otra encuesta realizada en nuestro país, llevada a cabo por el Grupo de Interés de Centros Públicos de Reproducción Asistida se puso de manifiesto una proporción similar, del 4% (5). Ya hemos comentado previamente las limitaciones de las encuestas como herramienta de estudio de la epidemiología de la esterilidad.

Un análisis no efectuado en nuestro país es el que hemos llevado a cabo a partir del número de ciclos FIV-ICSI. Hemos analizado por una parte los datos del Registro Catalán de FIV-ICSI (FIVCAT, 2001) (5) que recogen todos los ciclos realizados en Cataluña y los hemos dividido entre el total de habitantes en la comunidad, lo cual arroja 625 ciclos/ millón de habitantes. Hemos efectuado un análisis similar con los datos del Registro de la Sociedad Española de Fertilidad (6) referidos a Asturias (la única comunidad autónoma cuya totalidad de centros participó en el registro SEF) y obtuvimos un cociente de 342 ciclos / millón de habitantes. Haciendo un promedio y extrapolando los datos a España corres-

pondería a 483,5 ciclos / millón de habitantes, frente a los 765 / millón que corresponde a la media europea.

Otra de las dificultades de los estudios epidemiológicos es el establecimiento del límite temporal a partir del cual debe hablarse de esterilidad. Nuestro grupo está desarrollando un trabajo en colaboración con el Hospital Virgen de la Nieves de Granada para determinar la fecundidad mensual y acumulativa de las parejas que han conseguido embarazo sin recurrir a tratamientos de fertilidad. Para ello se está efectuando una encuesta a las puérperas interrogándolas sobre el tiempo de exposición costal requerido para conseguir el embarazo, así como por otros posibles parámetros que pudieran influir (edad de los cónyuges, tabaco, alcohol, frecuencia coital). Comprobamos que la tasa de embarazo por ciclo los tres primeros meses osciló entre el 27 y el 33%, situándose entre el 10 y el 15% en los 9 meses siguientes. De los embarazos conseguidos, el 79,5% lo fueron en los 6 primeros meses, y el 92,1% a los 12 meses, mientras que el 97,4% se consiguieron a los 2 años, el 98,4% a los 3 años el 99,3% a los 5 años. Por ello se concluye que el estudio de esterilidad debe iniciarse a los 12 meses de mantenimiento de relaciones sexuales no protegidas sin conseguir embarazo.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Matorras R.:** Epidemiología de la esterilidad. Actualizaciones de la Sociedad Española de Fertilidad. Sociedad Española de Fertilidad 2000, pp: 7-9.
2. **Frank O.:** The demography of fertility and infertility. En Campana A "Frontiers in Endocrinology. Reproductive Health. Ares- Sero Symposia Publications, Roma, pp 81-92.
3. **Frank O, Bianchi PG, Campana A.:** The end of fertility: age, fecundity and fecundability in women. J Biosoc Sci 1994; 26: 349-368.
4. **Instituto Nacional de Estadística.** Demografía y población año 2002. http://www.ine.es/inebase/menu2_dem.htm.
5. **Grupo de Interés de Centros Públicos de Reproducción Asistida.** Madrid 2004. Datos no publicados.
6. **FIVCAT 2001.** <http://www.genecat.net>.
7. **Marqueta J, Hernández J, Coroleu B, Pérez Milán F, Arnott I, Blanes R., Monzó A, Cabello Y, Matorras R.:** Registro de FIV-ICSI de la Sociedad Española de Fertilidad. Año 2002. (en prensa).
8. **Rodríguez L, Matorras R, Expósito A, Burgos J, Puertas A, Herruzo A.:** Fecundidad natural y factores que la determinan. Datos no publicados.

Esterilidad idiopática. Año 2006

Vicente López Villaverde

INTRODUCCIÓN

Es difícil encontrar un artículo sobre Esterilidad Idiopática (en adelante E.I), que no utilice la excusa del empirismo para justificar determinadas conductas o enfoques terapéuticos. Por ello no es de extrañar que en la década de los 90, Rowe (1) y Helmerhorst (2) expresaran su preocupación por la falta de rigor y homogeneidad en el estudio básico de esterilidad en Europa, más asentado en la tradición y preferencias personales que en la utilidad contrastada de sus elementos.

El arte de la ciencia nos permite ir más allá de la mera descripción de los fenómenos basados en la experiencia y usar el conocimiento científico para establecer leyes y teorías que expliquen y pronostiquen los fenómenos. Sin embargo cuando la urgencia por conseguir un resultado, como ocurre cuando existe una demanda creciente de esterilidad, se convierte en auténtica prioridad, es inevitable un predominio de la investigación tecnológica- más rápida-, sobre la básica, y más aún si las pruebas diagnósticas en reproducción resultan de escasa utilidad. Establecer estándares metodológicos e instrumentales para minimizar errores y acreditar la calidad tecnológica (3), también debe ser un cometido del arte de la ciencia, pues de no ser así, los mejores resultados en reproducción podrían ser consecuencia, no sólo del perfeccionamiento de las TRA (por ejemplo de la FIV), sino también de una falta de criterios en la selección de pacientes (4). Resulta obvio que la elaboración de normas y guías de buena práctica clínica haya surgido como una necesidad compensadora para homogeneizar el uso racional de los recursos, dentro de un contexto cada vez más ponderado de coste/eficacia y seguridad.

DIAGNÓSTICO DE LA EI

Se acepta como Esterilidad de origen desconocido, también denominada idiopática, inexplicada, o sin causa aparente, a aquella situación clínica de fallo de concepción en un contexto de relaciones sexuales regulares e investigaciones básicas de fertilidad normales. Se trata de una definición basada en la “exclusión”, donde las parejas incluidas representan tanto al extremo menos rentable de la eficiencia reproductiva, como al estado, no detectable por los estudios rutinarios, de un proceso anómalo que afecta a los gametos, su fertilización, implantación o división embrionaria.

Por definición, un estudio básico debería incluir técnicas o pruebas sencillas, equilibradas en requerimientos de coste-eficacia, riesgo o variabilidad interpersonal, y con capacidad para discernir si la opción terapéutica es superior a la espera. Pero en reproducción estos objetivos son difícilmente alcanzables. Mientras que algunos procesos patológicos son fácilmente identificables, y guardan una clara relación causa-efecto con la esterilidad (azoospermia), otros son complejos y controvertidos en su relación con el estado de infertilidad. (endometriosis inicial sin adherencias tubáricas, insuficiencia luteínica, hiperprolactinemia sin anovulación, OAT moderada, etc).

Para la ESHRE,(5) las pruebas básicas se limitarían a tres test : a) estudio seminal, b) valoración de la permeabilidad tubárica- por histerosalpingografía (HSG) o laparoscopia-, y c) evaluación por laboratorio de la ovulación; el término de esterilidad “sin causa aparente” se acotaría cuando estas investigaciones ofreciesen resultados normales en la pareja con deseos genésicos y sin hijos. Aunque la ESHRE reconoce que estas determinaciones básicas son insuficientes para identificar las causas que retrasan la aparición

del embarazo, e incluso para ofrecer un pronóstico y tratamiento adecuados, también expresa con firmeza que cualquier otra investigación adicional apenas contribuye al manejo de la esterilidad, toda vez que al catalogarse una pareja como “normal” ya se le supone una alta probabilidad (30%-70%) de conseguir embarazo, sin tratamiento, en un plazo de dos años. (6)

En general, podría afirmarse que estos test han sido asumidos por las distintas guías de excelencia clínica, con algunas ampliaciones puntuales. En este sentido, la inclusión de la determinación basal de FSH en día 3° en mujeres a partir de 35 años, está recogida en la National Guideline Clearinghouse de 2004 (con un soporte de evidencia clase D) (7) y en la Prodigy Guidance-Infertility (8) de 2004; la detección de Chlamydias es requerida por The NICE Fertility Guidelines (National Collaborating Centre for Women’s and Children’s Health (2004) (9), cuando hubiera que realizar cualquier instrumentación uterina, (con categoría B de evidencia), y también por The National Institute for Clinical Excellence (10), en el que se contempla además la laparoscopia con contraste si coexistiesen antecedentes de comorbilidad.

La E.I. es todavía en 2006 un “cajón de sastre” que incluye patologías de muy diverso pronóstico. Trabajos que la relacionan (11) con una menor longitud de la fimbria ovárica, respecto a las de las mujeres con fertilidad demostrada, (2.5 ± 0.6 cm vs 3.55 ± 0.8), o a una peor accesibilidad de ésta para cubrir eficazmente la superficie ovulatoria del ovario (36% vs 93%), sólo ilustran una pequeña parte de la complejidad del problema. La confusión conceptual inherente al hecho de no estar acotada temporalmente, contribuye también en gran manera. En la actualidad no existe acuerdo respecto al tiempo que debe transcurrir para definir la situación de E.I. mientras que para algunos autores éste debería extenderse hasta los tres años de espera (12), para otros el intervalo sería de 2 años (13), e incluso hay quien exige que en este tiempo se incluya una laparoscopia previa valorada como normal (14)

HISTORIA RECIENTE DE LA EOD

Con los términos de búsqueda bibliográfica de “unexplained infertility”, encontramos una primera publicación en el Pub Med en el año 1951 (15). La exploración desde entonces nos permite valorar su impacto a través de los años y, al mismo tiempo, contrastar los distintos enfoques en sus revisiones (Tablas 1,2, Figuras 1,2).

Tabla 1

Años	Artículos	Revisiones	Total
1955-59	1	0	1
1960-64	2	0	2
1965-69	2	0	2
1970-74	5	1	6
1975-79	52	1	53
1980-84	98	3	101
1985-89	180	10	190
1990-94	263	42	305
1995-99	265	33	298
2000-2005	310	94	404

Tabla 2

Años	Revisiones	Contenido
1955-59	0	
1960-64	0	
1965-69	0	
1970-74	1	FM (100)
1975-79	1	FM (100)
1980-84	3	FM (33.3); ACD(33.3); OT(33.3)
1985-89	10	FM(20); ACD(40)(25*); OT(30); E(10)
1990-94	42	FM (7); ACD (28.6)(25*); OT(57); E (2.4); PS(5)
1995-99	33	FM(18.2);ACD(48.5)(18.8*)(12.5**)(12.5***); (OT(24.3); E (9)
2000-2005	94	FM(13.8);ACD(44.7)(9*)(23**)(11.6***);OT(37.3) E(2.1); PS(2.1)

FM (factor masculino); ACD= Aproximaciones clínico-diagnósticas (*: porcentaje de las ACD que versaron sobre endometriosis)(**: inmunología) (***: genética); OT (opciones terapéuticas); E (endometrio/implantación); PS (psicológicas)

Fue el factor masculino quién abrió la investigación en la década de los 70, aunque ya en la primera mitad de los años 80 el interés se repartiera por igual entre este factor y la necesidad de mejorar la aproximación clínica hacia el diagnóstico y el tratamiento. Desde entonces, y hasta el año 1995, el esfuerzo para optimizar el enfoque terapéutico propició que la investigación en TRA superase a la investigación básica. El carácter empírico, limitado en muchos casos a la simple modificación de dosis, a diferentes productos farmacológicos, o al uso de TRA sesgadas por el distinto estatus económico de la pareja, produjo probablemente una insatisfactoria eficacia clínica y un nuevo impulso hacia la investigación básica a partir de 1995. Desde 1995 a 2000, las tres cuartas partes de

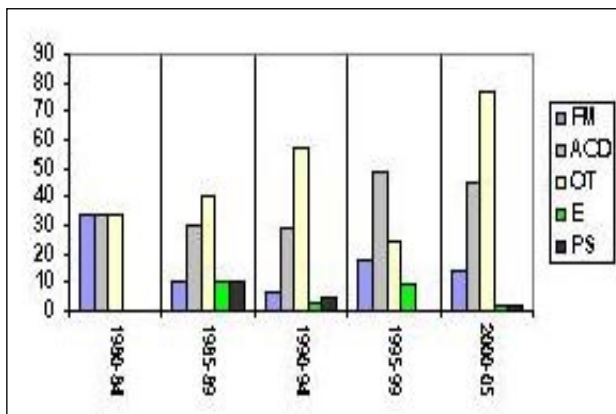


Figura 1

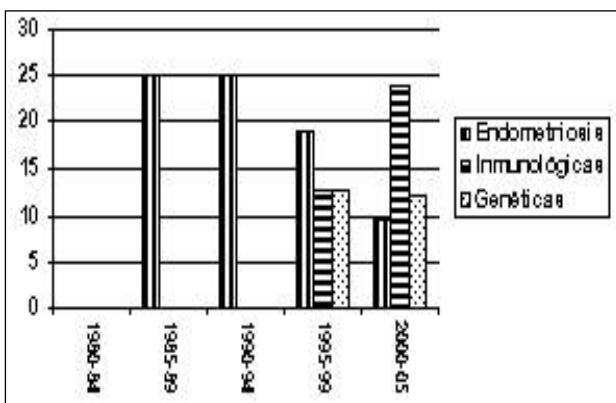


Figura 2

las revisiones profundizaron en el enfoque clínico, aumentó el interés en el estudio implantatorio, y la endometriosis, privilegiada en este contexto durante las décadas de los 80 y 90, fue desplazada por el estudio de causas genéticas e inmunológicas.

Desde el año 2000, la preocupación por el diagnóstico y la investigación básica son la segunda fuente de publicaciones, mientras que el liderazgo lo ocupa la necesidad de mejorar la rentabilidad terapéutica, que ha impulsado este tipo de trabajos en detrimento de los estudios del factor masculino y endometrial.

Un aspecto interesante a tener en cuenta, ha sido la evolución en la manera de expresar los resultados clínicos, pues muchos artículos han sido excluidos de los metanálisis por no ajustar sus resultados a un formato determinado. Conseguir un embarazo único y evolutivo en un contexto de rendimiento terapéutico (beneficio/yatrogenicidad) es una premisa relativamente reciente y que marca la eficacia y la conveniencia de una TRA.

INCIDENCIA DE LA E.I.

Tras evaluar 2.106 parejas en 12 clínicas canadienses, Collins y Rowe publicaban en 1989 una incidencia de E.I. del 22.3% (16). Este porcentaje sería rebajado por la OMS tres años más tarde hasta el 5% (17) como consecuencia de un estudio sobre 8.500 parejas estériles. De nuevo Collins lo subió al 17% en 1995, tras ampliar su estudio hasta 14.141 parejas (18) y dos años más tarde Snick, (19) en otro observacional sobre 726 parejas, elevó aún más esta cifra hasta el 30%. Posteriormente Philips (20), en un estudio de costes/eficacia de tratamientos, establecía un modelo teórico en donde la E.I. suponía el 24% de las causas.

En la literatura médica podemos encontrar cifras que oscilan entre el 5% y 60% (21) como consecuencia de la incapacidad diagnóstica y de la heterogeneidad de criterios establecidos, de aquí que fijar una incidencia de referencia de E.I. resulte arriesgado, aunque bibliografías recientes parecen coincidir en que, entre el 20-30% de la población infértil, no se encuentra una causa específica para su problema de fertilidad (22,23).

Tabla 3

Autor	Año	Muestra	%
Collins (16)	1989	2106	22.3
OMS (17)	1992	8500	5
Collins (18)	1995	14141	17
Snick (19)	1997	726	30
Philips (20)	2000	Estudio C/E	24
Evers JLH (22)	2002	20-30%	
Isaksson R (23)	2004		

TRATAMIENTO

Las parejas con E.I. constituyen un grupo heterogéneo en donde diversas hipótesis causales (calidad ovocitaria, función espermática, interacción entre gametos, funcionalidad tuboperiotoneal, endometrio, desarrollo embrionario, interacción entre embrión y endometrio, implantación, etc) pueden interaccionar alterando el potencial reproductivo, con o sin tratamiento.

Al no existir una causa definida, la opción del empirismo terapéutico (consistente en ir evolucionando desde "observar sin hacer nada", hasta utilizar las TRA más avanzadas), ha mermado el éxito terapéutico y nos ha dejado una experiencia válida, pero poco robusta.

A) ¿ Esperar?

Ya hicimos referencia que en la E.I. no existe uniformidad en el intervalo temporal considerado para su definición, sin embargo la conducta óptima para el estudio y tratamiento de la esterilidad requiere que el intervalo de espera sea el idóneo para evitar sobretratamientos y pérdidas de tiempo injustificados.

Aunque estudios prospectivos actuales consideran que el 88% de las mujeres menores de 35 años (24) quedan embarazadas en los 6 primeros meses y que el momento para contemplar el estudio y tratamiento debería adelantarse al año (25); lo cierto es que la probabilidad de gestación espontánea continúa siendo alta hasta el tercer año (15-60% tras un año de espera y entre 40-80% al cabo de tres años) (26-28). Este intervalo de tres años es de enorme trascendencia en la fecundidad humana pues a partir de aquí el índice de embarazo espontáneo disminuye un 2% mensual (24% anual) y un 9% por cada año de edad adicional en la mujer (16)

En un estudio observacional efectuado por Snick (19) en Holanda con 726 parejas durante 9915 meses sin tratamiento, y que incluía a 218 parejas (30%) con E.I. evaluadas durante 3207 meses, el índice acumulado de gestaciones para la E.I. tras 36 meses, fue del 60.61% (51.79-69.43). Un valor muy superior al obtenido por las otras patologías (defectos ovulatorios: 11.95%, oligozoospermia: 32.6%, endometriosis: 14.88%, factor cervical: 29.3%), y prácticamente el doble del obtenido por Collins (33%) (29) en otro estudio similar realizado en Canadá.

La aparente discrepancia en estos resultados fue analizada por Hunault (30) que comparó 3 grandes estudios: el de Snick (19) con 726 parejas; el de Eimers (31) con 1061 parejas y el Canadian University hospitals de Collins (29) con 1061. Estos trabajos diferían en las características clínicas de sus parejas (las de Collins eran más viejas y llevaban más años de esterilidad) y este aspecto podría explicar los diferentes porcentajes de embarazo espontáneo durante el primer año (37%, 24% y 18%, respectivamente para Snick, Eimers y Collins, $P < 0.001$). Pero lo importante es que sus conclusiones en general se superponían y que los valores predictivos expuestos por Snick se reforzaban en los trabajos anteriores. La probabilidad de gestación espontánea se vio influida negativamente por tres variables diagnósticas (TPC anormal, defecto tubárico y patología ovulatoria) y de manera positiva por una menor duración de la esterilidad (< 24 meses) y edad materna (< 30 años). De los trabajos de Snick y Eimers podía deducirse que un TPC normal aumentaba en 2-3.4 veces la probabili-

dad de gestación espontánea respecto a un TPC (-) y que la esterilidad secundaria ofrecía mejor pronóstico que la primaria.

En general se recomienda esperar siempre que la mujer tenga menos de 28 años y el tiempo de espera hasta el embarazo sea inferior a 3 años (32). En estas condiciones la tasa de embarazos por mujer/pareja asociada a 6 meses de espera, ha demostrado ser superior a la que ofrece un sólo ciclo de FIV (33).

La endometriosis leve y el factor masculino leve/moderado han demostrado un comportamiento diferente frente a la pauta expectante. En este sentido, resulta ilustrativo el trabajo retrospectivo de Akande (34) sobre una muestra de 117 parejas con EOD y 75 con endometriosis leve. Este autor concluye que se trata de dos problemas diferentes en cuanto a:

- i) Pronóstico: La probabilidad estimada de embarazo y de un nacido vivo a los 3 años en la E.I. era de 54.6% y 48%, mientras que la endometriosis estos porcentajes descendían al 35.5% y 33.3%, respectivamente.
- ii) Influencia de la edad de la mujer: Afecta negativamente en los casos de E.I. pero no es tan importante para la endometriosis leve
- iii) Comportamiento a lo largo del tiempo de las curvas de probabilidad de embarazo.

Por otra parte, este estudio refuerza los trabajos previos comparativos que concluían en el distinto comportamiento para la endometriosis valorada globalmente (16, 19, 29, 35) y sin especificar estadíos.

B) Terapia empírica en la EOD:

En ausencia de una anomalía corregible, la terapia de la E.I. es por defecto empírica. Resulta obvio que ante un 3% de fecundidad tras 3 años de espera (36), la FIV destaque como opción eficaz al conseguir un 20% en las mismas condiciones (37). Pero la aproximación empírica, basada en el uso racional del coste, agresividad y eficacia de las intervenciones, nos obliga a tener que posponerla como alternativa inicial siempre y cuando existan niveles más elementales que hubieran demostrado utilidad. Ello implicaría comenzar por valorar niveles básicos (inseminación intrauterina (IUI) o citrato de clomifeno (CC), con o sin IUI) , continuar por niveles intermedios (administración de gonadotropinas con o sin IUI) y dejar para el final los más avanzados (FIV).

Lo difícil es justificar este algoritmo cuando hay escasez de estudios controlados y randomizados y falta evidencia en la utilidad. Las guías de conducta clínica basadas en la evidencia han surgido como al-

ternativa necesaria para paliar esta falta, homogeneizar criterios y evitar enfoques dispersos. Se trata de documentos de enorme utilidad respaldados por grupos de reconocido prestigio pero contruidos en gran parte con metanálisis con heterogenicidad clínica entre sus ensayos (que en el caso de la EOD se hace más evidente por la falta de límites en su definición), amplias variaciones muestrales, distintos métodos de asignación al azar, o maneras distintas de expresar sus resultados.

a) Nivel I: CC/IUI/CC+IUI

a.1) Citrato de Clomifeno (CC):

La evidencia actual (38) sugiere que en la EOD el CC no aporta beneficio clínico (Grado A) y que su uso sólo se justifica en el contexto de estudios amplios controlados y randomizados(Grado C)

Si bien es cierto que en tres estudios controlados y randomizados sobre 1471 parejas (39, 40, 41), el CC ofrece una probabilidad de embarazo 1.9 veces superior al placebo o pauta expectante, y que la Cochrane Database (42) aumentó posteriormente esta probabilidad hasta 2.5 veces, en la práctica clínica esta superioridad sólo supone una ventaja marginal. toda vez que se necesitarían 40 ciclos de tratamiento para conseguir un embarazo adicional (43).

Tabla 4

	CC	CD	P
Autor	Nº (%)Gestaciones/ciclos		
Harrison(39)	5/159 (5.9%)	1/158 (0.6%)	0.15
Fisch (40)	10/290 (3.4%)	4/274 (1.5%)	0.15
Glazener (41)	24/295 (8.1%)	15/295 (5.1%)	0.17

CC: citrato de clomifeno; CD: coito dirigido

a.2) La Inseminación intrauterina (IUI):

Teóricamente la IUI aportaría ventajas por mejorar pequeños defectos espermáticos durante la capacitación, aumentar la concentración de espermatozoides móviles intraútero, evitar interacciones negativas moco semen, y asegurar la presencia de espermatozoides en el momento ovulatorio; pero los ensayos disponibles concluyen en que, por si misma, la IUI tampoco parece aportar beneficio alguno sobre la simple espera.

Él único estudio randomizado comparando IUI con el coito dirigido en la E.I. se debe a Kirby (44), quien tras estudiar a 73 parejas concluía que la IUI apenas mejora las expectativas de fecundidad (6/145 (4.1%) vs 3/123 (2.4%)). Guzick (45) en un análisis que recopilaba la información de 45 publicaciones, y

en el que se incluían 17 estudios como grupo control (6 de ellos randomizados) con más de 4.000 ciclos y 9 estudios con IUI en 378 ciclos, obtenía un porcentaje similar de gestaciones por ciclo iniciado con el coito (1.8-4.1%) y con la IUI (3.8%). Posteriormente este autor en un estudio multicéntrico, en el que el “no tratamiento” fue definido como IAC (inseminación intracervical), obtendría mejores porcentajes de embarazo por ciclo con IUI (4.9%) que con IAC (2.0%). (46)

Sin embargo, la repercusión clínica de estas experiencias se concretaba en que la IUI necesita 37 ciclos para aumentar un embarazo respecto al ciclo natural (43)

Tabla 5

	IUI	CD (*) = IAC	P
Autor	Nº (%) Gestaciones/ciclos		
Kirby (44)	6/145(4.1%)	3/123 (2.4%)	0.46
Guzick(46)	35/717(4.9%)	(*)14/706(2.0%)	0.005

IUI: inseminación intrauterina ; IAC: inseminación intracervical; CD: coito dirigido

Esta falta de utilidad de la IUI en ciclo natural también ha sido confirmada recientemente por Cohlen en un metanálisis sobre 10 ensayos randomizados. (47)

a.3) IUI + CC

En ocho estudios, incluidos en el análisis de Guzick (45), que sumaban 932 ciclos, la fecundidad por ciclo era superior con CC+IUI que con CC (8.3% vs.5.6%) (45).

El uso empírico de esta asociación se basa, sin embargo, en un escaso número de estudios randomizados que fueron analizados por Deaton (48), y que agrupan a tan solo 67 pacientes y 298 ciclos de tratamiento. En este trabajo, la fecundidad por ciclo obtenida fue del 9.5% con CC+IUI y del 3.3% en el grupo control de coito dirigido, con un porcentaje de embarazos tras 4 ciclos, del 35% y 15%, respectivamente.

Otro estudio prospectivo randomizado sugirió que la asociación IUI + CC era superior a la IUI sola con una fecundidad por ciclo de 26% vs 5% (49)

El estudio de Deaton (48) ha sido utilizado para demostrar el escaso interés clínico de esta asociación ya que se necesitarían 16 ciclos de tratamiento para aumentar un embarazo respecto a la espera. El nivel más básico de partida, considerado como 3-6 ciclos de CC+ IUI, sólo sería una alternativa eficaz para una

Tabla 6

CC + IUI vs CC	Ciclos	% gestación/ciclo	Autor
(45)	932	8.3% vs 5.6%	Guzick
CC + IUI vs CD	298	9.5% vs 3.3%	Deaton
(48)			
CC + IUI vs IUI	43	26% vs 5%	Arici (49)
<i>CC: citrato de clomifeno; IUI: inseminación intrauterina ; CD: coito dirigido</i>			

minoría de pareja (43) y experiencias más recientes confirman su escasa eficacia (50)

b) Nivel II: Gonadotropinas / IUI+Gonadotropinas

b.1) Gonadotropinas vs CC

El mayor coste de la gonadotropinas respecto al Clomifeno las condiciona para su inclusión en este segundo nivel.

La Cochrane (51), tras comparar la asociación CC+IUI con Gonadotropinas+ IUI en 5 ensayos controlados y randomizados (RCT), no evidenció pruebas suficientes para determinar la inferioridad o superioridad del CC respecto a las gonadotropinas, aunque si observó mejores tasas de gestación por ciclo (25% vs 18%) a favor de éstas.

Aunque las gonadotropinas poseen ventajas clínicas respecto al CC, éstas no se ha demostrado con la contundencia necesaria. La falta de homogeneidad en los protocolos de tratamiento y maneras de expresar resultados, junto con el diferente peso de los ensayos recogidos o seleccionados, y heterogeneidad en las gonadotropinas empleadas, dan idea del sesgo y de la dificultad para sacar conclusiones útiles de la literatura.

b.2) IUI+FSH

Existen trabajos importantes que abogan por la utilidad de la asociación IUI/FSH:

- b.2.1. En 1996, la ESHRE Capri Workshop Group (5) basándose en 2065 ciclos espontáneos y 956 ciclos estimulados con gonadotropinas procedentes de 13 ensayos clínicos randomizados, comprueba que el índice de embarazo por ciclo aumenta desde el 3% en ciclos con coito dirigido,

al 6% si se asocia FSH, y al 14% si se combinan FSH más IUI, y confirma, tras un análisis de regresión logística, que cada tratamiento multiplica por dos la posibilidad de concepción.

- b.2.2. En 1997, Hughes (52) hace una revisión sobre la utilidad de la IUI con o sin estimulación ovárica en el tratamiento de la E.I. En ocho ensayos compara FSH/IUI con la FSH/CD y observa un OR de embarazo por ciclo de 2.37(95% CI, 1.43-3.90) y que tanto la FSH como la IUI poseen efectos independientes favorables [OR FSH: 2.35 (95% CI 1.87-2.94) , OR IUI: 2.82(95% CI 2.18-3.66)], duplicándose la fecundidad por ciclo con cada alternativa terapéutica, que llega a ser 5 veces más alta si se combinan.

- b.2.3. En 1998, Zeyneloglu (53) en siete ensayos prospectivos y randomizados concluye también que el uso combinado de FSH más IUI es útil en el tratamiento de la EOD.

- b.2.4. Ese mismo año de 1998 la Guía del RCOG (54) le otorga un grado A de evidencia a la asociación IUI +Gonadotropinas, basándose en revisiones sistemáticas (24 RCT que comparan IUI más gonadotropinas, respecto a gonadotropinas más coito controlado) que conferirían un OR de 2.37 (95% CI 1.43-3.90) con un nivel de evidencia Ia. Estas conclusiones fueron asumidas en 2004 por la guía NCCWCH (9) (National Collaborating Centre for Women's and Children's Health).

- b.2.5. En 1999, Guzick (46), tras un estudio multicéntrico y randomizado que incluía a 932 parejas y en el que el no tratamiento fue definido como inseminación intracervical, concluye que la asociación de IUI más gonadotropinas multiplica por 3.2 las posibilidades de embarazo ofrecida por la IAC, y por 1.7 las de la IUI.

- b.2.6. Balasch en 2004 (55), tras analizar los principales trabajos en E.I. y dejar constancia de su heterogeneidad clínica y metodológica, considera útiles las siguientes recomendaciones terapéuticas para este nivel II:

Frente a estas opiniones existen también experiencias contrarias a esta asociación, por lo que la guía

Tabla 7

Mejor Resultado	FSH/CD vs CD	FSH/IUI vs FSH/CD	FSH/IUI vs IUI
Autores	FSH/CD	FSH/IUI	FSH/IUI
	5,45,46,47,52	5,45,46,47,52,53,56,57,58	5,45,46,47,52,56,57,58
<i>IUI: inseminación intrauterina ; CD: coito dirigido</i>			

RCOG (54) ha tenido que soportar numerosas críticas surgidas de la heterogeneidad de los trabajos en los que se basa y de los pocos estudios que incluye sin contaminación muestral (endometriosis leve o factor masculino moderado).

La primera crítica para la Guía del RCOG vino aquel mismo año de 1998, cuando Guzick (45) afirmó para la American Society for Reproductive Medicine Practice Commite que la escasez de estudios controlados y randomizados existentes hasta la fecha impedía elaborar una guía basada en la evidencia.

Collins (43), basándose en el estudio de Guzick de 1999, cuestiona seriamente la utilidad clínica de la asociación FSH/IUI, ya que la significación clínica de este trabajo se traduce clínicamente en que se necesitarían 31 ciclos, o 13 parejas tratadas (cuatro ciclos por pareja) para aumentar un embarazo.

El metanálisis de Hughes (52), que servía de base para la conclusión de la guía RCOG (50), también ha sido muy discutido (59) por contar con un único trabajo (60) apto para la significación estadística, que está lastrado por el elevado número de embarazos múltiples (36%, con un promedio de 3.8 folículos periovulatorios).

Además, la polémica es susceptible de ampliarse aún más si consideramos que en la asociación IUI/gonadotropinas existen dudas no resueltas: ¿Radica el éxito de la IUI estimulada en la hiperestimulación ovárica y multifoliculogénesis?, ¿En este caso, cuál sería la utilidad de la IUI en un contexto actual de estimulación mínimamente agresiva para evitar riesgos de embarazo múltiple?

La NICE Fertility Guidelines (9) recomienda no usar la estimulación de forma aislada, sin inseminación, por el alto riesgo de gestación múltiple, y la ESHRE (61) convino ya en 1999 que la IUI en ciclo estimulado no es precisamente una técnica segura y que sus beneficios podrían no superar a las desventajas originadas por el riesgo de gestación múltiple.

Ninguna de las pautas clásicas (step-down y step-up a bajas dosis) parece diferir lo suficiente en el balance seguridad/rentabilidad para decantarnos por alguna de ellas, [tasas de embarazos (14.6% vs 14.3%; RR 1.02), abortos (14.3% vs. 14.3%) y embarazos múltiples (28.6% vs. 14.3%, RR:2)], aunque el riesgo de OHSS parezca ser más elevado para las primeras (27.1% vs. 8.3%, RR 3.32) con nivel de significación Ib (62). En un reciente análisis retrospectivo (63) sobre 3219 ciclos con estimulación suave, entre 50-75 UI diarias de FSH, no se pudieron evitar un 8% de gemelos e incluso un triple, para un PR del 10% por ciclo comenzado.

Una de las críticas más recientes para la asocia-

ción IUI+ gonadotropinas, ha sido esgrimida por Goverde (64) en base a un estudio previo (57), prospectivo randomizado de coste-eficacia. Este autor afirma que la IUI con ciclo estimulado en la E.I. no es una alternativa útil frente a la IUI en ciclo natural porque eleva el porcentaje de múltiples (7% vs. 4%) sin mejorar las tasas de embarazo por ciclo (9.9% vs 9%)

El reto está en identificar los factores se asocian al riesgo de gemelaridad y evitarlos sin perder eficacia terapéutica. Modelos predictivos de riesgo como el de Tur (65) han sido aplicados prospectivamente con una mínima disminución (8%) en la tasa de gestaciones, pero con un gran reducción (285%) en los grandes múltiples (66)

b.3) Análogos GnRH

La asociación de agonistas o antagonistas de la GnRH a la FSH/IUI para optimizar el rendimiento del ciclo ha sido contemplada como otra opción en este segundo nivel. La falta de beneficio de la asociación de agonistas (67) ha sido contemplada como de nivel de evidencia 1b para la RCOG (50). Aunque los resultados para la asociación de antagonistas con la IUI, son más optimistas (68), sus complicaciones lastran la utilidad clínica. En un estudio prospectivo y randomizado efectuado obre 65 pacientes comparando análogos y antagonistas GnRH, y que concluía con la ventaja de éstos últimos por requerir menos días y menos dosis de tratamiento, se produjeron excesivas tasas de gestaciones múltiples (análogos: 23.5%, antagonistas: 27.2%) y de pérdidas embrionarias (análogos: 6/13, antagonistas: 9/16) en ambos grupos(69)

b.4) La perfusión espermática intratubárica.

Como variante de la inseminación intrauterina, esta técnica ha demostrado ser superior a la IUI en algunos ensayos controlados y randomizados(70, 71), pero no en otros (72)

c) Nivel III: FIV

La eficacia de la fertilización in vitro (FIV) está bien documentada y ofrece resultados homogéneos en los distintos grupos de trabajo. Las tasas promedio de nacidos vivos por ciclo comenzado se estiman en el 20% para la (HFEA 2000) (73); las de embarazo por ciclo comenzado, en el 13% para La Infertility Treatment Authority (ITA) de Australia (74) %, en el 25% en el informe FIVNAT 1996 de Francia (75); y las de nacimientos por recuperación en el 27,9% para la American Society for Reproductive Medicine y la Society for Assisted Reproductive Technology Registry (ASRM/SART) (76) en el año 2000.

Con estas referencias, y dado que la FIV se acepta ampliamente como tratamiento para la infertilidad inexplicada (9, 54), parece lógico plantearse esta opción como tratamiento inicial en lugar de la crítica asociación IUI/FSH, o de la pauta expectante, que condena la fecundidad por ciclo al 1.8-3.8%. Pero lo cierto es que todavía no existen estudios suficientes para concluir con evidencia si la FIV debe sustituirlos.

c.1) FIV vs pauta expectante:

Respecto de la pauta expectante, el único trabajo disponible (33) hasta el año 2003 concluía con peores tasas de embarazo por mujer/pareja para un ciclo FIV que para 6 meses de espera. Se trataba de un ensayo con un tamaño muestral escaso (14 casos expectantes versus 21 en FIV) y con errores metodológicos en la duración del seguimiento de los grupos tomados al azar. Pero el panorama cambió radicalmente cuando en 2004 Hughes, en un trabajo sobre 139 parejas randomizadas, obtuvo una superioridad 20.9 veces más elevada con un ciclo FIV que con tres ciclos de conducta expectante (77)

c.2) FIV vs. FSH/IUI

La ESHRE (78) concluye, tras una experiencia con 86 ciclos, que la FIV no es una buena opción como tratamiento inicial de la E.I. En ella, el índice de nacidos era similar tras dos ciclos de FIV y de FSH/IUI (22.9 % y 24.5%, respectivamente).

Goverde (57) refuerza esta postura y considera que, incluso ampliando a 6 ciclos el tratamiento, la superior tasa de un único nacido vivo por pareja (31% vs 26%) se traduce clínicamente en 25 ciclos y 20 parejas para que la FIV consiguiese un nacido vivo adicional. Dado que este estudio es el único admitido por la Cochrane (79) para obtener un estudio de costes directos por paciente (personal, equipación, materiales, medicación, etc) hasta la semana 12 de gestación, la evidencia concluye que el pequeño incremento en la eficacia de la FIV se consigue a expensas de un aumento considerable en los costes.

Resulta tristemente paradójico que los 270 ciclos de la Cochrane soporten todo el peso de la evidencia cuando el 20% de la totalidad de los ciclos FIV que se realizan lo son por EOD. ¿Hasta qué punto deberíamos seguir confiando en esta evidencia cuando en la actualidad los protocolos de estimulación para la IUI y FIV se han suavizado para evitar gestaciones múltiples?

Es evidente que la FIV implica elevados costes económicos, emocionales y riesgos para la salud, pero también es cierto que en la actualidad todo ello se

ha minimizado y que la FIV proporciona información diagnóstica única en ciertas situaciones (v.g.: mujeres jóvenes con EOD que responden mal a la hiperestimulación ovárica y en donde un fallo ovárico oculto podría justificar su esterilidad (80)).

Recientemente, un estudio de Kansal-Kalra (81) parece aportar una solución a este dilema. Este autor considera que la FIV podría ser una opción válida cuando esa fuera la conclusión tras un árbol de decisiones basado en el rendimiento particular de cada centro. Sobre una hipotética cohorte de 100.000 mujeres menores de 35 años con EOD que no han conseguido gestar tras tres ciclos de CC/IUI se construyen dos brazos de opciones (brazo a: directamente a 3 ciclos de FIV con transferencia de 2 embriones ; brazo b: 3 ciclos de estimulación con gonadotropinas y si fallasen continuar con 3 ciclos de FIV). En total, este algoritmo enfrenta un máximo 3 ciclos en el brazo "a", con 6 ciclos en el brazo "b". El modelo incorporaba el estudio de la eficacia y de costes teniendo en cuenta los derivados de las gestaciones múltiples y el riesgo y coste de la parálisis cerebral. El trabajo concluye en que ambos protocolos son similares en cuanto a probabilidades de conseguir un embarazo (>80%) y a gestaciones gemelares ("a": 33% FIV, "b": 27.7%), pero con menor riesgo de grandes múltiples (4 veces menos) en el de FIV ("a": 0.8%, "b": 4.1%). Aunque al final el coste era superior en el brazo de la FIV (61.930 \$ vs. 58.401\$), este exceso podría evitarse elevando el rendimiento por ciclo en la FIV más allá del 42% establecido como estándar, o si éste estuviera por debajo del 14% en el grupo con gonadotropinas. En la siguiente tabla se constataban las equivalencias:

Tabla 8

Porcentaje de gestaciones/ciclo en grupos de FIV y Gonadotropinas para igualar costes

% gestaciones / ciclo FIV	% gestaciones / ciclo Gonadotropinas
25	5.5
30	6.8
35	8.1
40	9.5
45	10.9
50	12.4
55	13.9
60	15.6

Como ejemplo, si el rendimiento de la FIV en un determinado centro fuera del 25% por ciclo, cualquier resultado inferior al 5.5% por ciclo con gonadotropinas (FSH/IUI) le otorgaría ventajas a la FIV como tratamiento inicial.

c.3) ¿ Mejor ICSI que FIV?

La ICSI es un procedimiento más invasivo y costoso que la FIV. Algunos autores no encuentran ventaja en la ICSI y recomiendan la FIV en los casos en los que no existe factor masculino severo (82). Existen experiencias favorables a la FIV en la E.I (83), pero en ellas se incluyen mujeres con endometriosis que poseen un menor potencial de conseguir embarazo (34).

Otras publicaciones han demostrado en la E.I, peores índices de fertilización. Con FIV que con ICSI (84,85), e incluso riesgos más elevados de fallo total de fertilización (20%-25% para la FIV (84,86) y 4% para la ICSI (86)), que pueden repetirse en sucesivos ciclos (84).

FUTURO

A) Alternativas al estudio básico:

El concepto de E.I. será por definición inevitable, dado que surge a partir del momento en el que el estudio básico no detecta anomalías relacionadas con el fracaso genésico. Traspasar este límite diagnóstico implica iniciar un proceso complejo sin rumbo, y sin garantías de eficacia, hacia las múltiples alternativas causales.

Ante este panorama, parece más rentable perfeccionar las técnicas básicas actuales que abrir nuevas vías diagnósticas, si con ello se aporta precisión y accesibilidad diagnósticas, y unas alternativas terapéuticas más eficientes. Pero en la actualidad, estos requisitos, como veremos a continuación, continúan aún sin cumplirse ya que las nuevas alternativas, aunque relevantes, sólo ofrecen un papel complementario.

A.1) Factor tuboperitoneal:

a) Hidrolaparoscopia transvaginal (THL): Puede realizarse en régimen ambulatorio y posibilita la inspección detallada de las estructuras tuboováricas y su manipulación. Ha demostrado capacidad para ser reproducible entre distintos centros (87, 88), más eficacia y mejor tolerancia que la HSG para el diagnóstico de la permeabilidad tubárica (89, 90) y superioridad para la valoración de la patología adherencial ovárica (91). Pero en la actualidad son necesarios estudios prospectivos y randomizados para justificar su uso como técnica de primera línea (92)

b) Faloposcopia con cateter coaxial: no existen estudios controlados o con calidad suficiente para otorgarle un nivel de utilidad (9). La imprecisión sobre

los criterios de normalidad y las frecuentes limitaciones técnicas hacen que su uso quede relegado sólo para casos seleccionados (93)

c) Histerosonosalingografía con contraste: ha surgido como una alternativa a la HSG y a la laparoscopia con hidrotubación para mejorar la relación coste/beneficio en el estudio morfológico del útero y trompas. En la actualidad existen estudios prospectivos con suficiente nivel de evidencia (94) que conceden la misma eficacia a ambos procedimientos cuando se testan mediante exploración laparoscopia complementaria. El uso de la Histerosonografía parece estar justificado como recurso de primera línea diagnóstica aunque no haya desplazado aún a la HSG.

d) Histeroscopia: es el procedimiento ideal para la evaluación de la cavidad uterina pero no debe ser ofrecida como parte de la investigación inicial (6, 10) a menos que exista una sospecha clínica de patología uterina susceptible, tras su tratamiento, de mejorar las expectativas de fertilidad, o deban confirmarse dudas diagnósticas (94).

e) Laparoscopia: ha sido considerada como un test estándar para la función tubárica con capacidad para reducir entre 3-10% la incidencia de esterilidad inexplicada (95). Aunque también se le ha catalogado como exploración necesaria para que un diagnóstico sea correcto (96), en la actualidad, indicar una laparoscopia cuando datos aportados por la HSG y ecografía pélvica son normales - y no existen antecedentes inflamatorios pélvicos ni de enfermedades de transmisión sexual-, carece de sentido. Aún en el caso de estar frente a una endometriosis no diagnosticada, por ser de grado I-II, la laparoscopia resultaría criticable por la controvertida utilidad de la cirugía en estos estadíos.

f) Salpingoscopia: el cateterismo tubárico perlaparoscópico con endoscopio rígido o flexible, puede identificar pacientes con mucosa tubárica normal y también detectar anomalías que podrían haber pasado desapercibidas por la laparoscopia. Solamente las mujeres jóvenes, con mucosa tubárica normal y que precisasen de salpingoovariolisis o salpingosneostomía, serían candidatas propicias para beneficiarse del empleo de esta técnica (97)

A.2) Factor masculino:

a) HOST TEST: el estudio de la membrana plasmática del espermatozoide mediante choque hipoosmótico, ha sido usado como test funcional para valo-

rar su potencial fertilizante (98, 99, 100), pero existen también suficientes trabajos que no han demostrado tal correlación (101, 102). El HOST TEST, por lo tanto, no debe usarse como test rutinario.

b) Anticuerpos antiespermatozoide: El estudio de anticuerpos antiespermatozoides no debe ser ofrecido de inicio ya que no existe evidencia de que su tratamiento mejore la fertilidad (10).

c) Estudios hormonales plasmáticos (FSH, inhibina): En la actualidad la Asociación Europea de Urología no aconseja su determinación de rutina (103)

d) Selección de espermatozoides móviles: Las técnicas de lavado seminal no son en sí mismas pruebas diagnósticas, sino que forman parte de los métodos de tratamiento del semen. Cuando los parámetros seminales son normales este procedimiento de selección no está justificado (103)

A.3) Factor ovulatorio

a) Test de reserva ovárica: La utilidad actual es sólo informativa (aquellas mujeres que obtuvieran resultados anormales deberían ser informadas de que poseen una fertilidad disminuida) ya que carecen de sensibilidad y especificidad suficientes para predecir el potencial de fertilidad. El valor de confianza de la Inhibina B para predecir la reserva ovárica es insuficiente y su determinación no está recomendada (10). La variabilidad mensual en la secreción de FSH basal (día 3), junto con la falta de un valor de corte y la dispersión interlaboratorio, limitan su valor pronóstico. La medida del estradiol basal asociado a la de la FSH, mejora la información predictiva aportada por la FSH sola (104). La hormona anti-mulleriana (AMH) es un marcador prometedor pero no ha demostrado aún su eficacia para el uso individual (105). Ninguno de los Test dinámicos (Test de Navot, EFORT, GAST) ha demostrado suficiente capacidad de predicción por sus resultados variables y su uso clínico controvertido. De los estudios ecográficos morfométricos, merece destacar la determinación del número de folículos antrales (entre 2-10 mm) medidos por ecografía transvaginal durante la primera fase folicular. Este parámetro guarda mejor correlación con el envejecimiento ovárico que los marcadores bioquímicos (FSH, estradiol, inhibina B)(106) y que el resto de los morfométricos (107) .

B) Ecografía Doppler en E.I.

Ya se expuso que un estudio básico debería incluir

técnicas o pruebas poco complejas (coste-eficacia, riesgo, variabilidad interpersonal) que fueran capaces de aportar niveles de evidencia suficiente. ¿Podrían desempeñar las nuevas técnicas ecográficas mediante power Doppler, o más recientemente, la ecografía tridimensional, un nuevo recurso para el estudio funcional del ovario y endometrio que ayudase a la comprensión de la E.I.?

La ecografía es un técnica no invasiva, sencilla, barata y que aporta gran información, como hemos expuesto, en el estudio de la reserva ovárica. El Doppler valora la vascularización o flujo perifolicular y los cambios del flujo ovárico a nivel estromal, folicular y lúteo durante todo el ciclo ovárico. El power Doppler tridimensional aporta información de la totalidad de la vascularización perifolicular por englobar volumétricamente a todos los vasos perifoliculares .

Se ha publicado que los folículos bien vascularizados ofrecen mejores índices de ovocitos recuperados, maduros y fertilizados que los mal vascularizados (108), y éstos, por el contrario, una tasa de triploidias significativamente aumentada. La posibilidad de embarazo es mayor si al menos un folículo presenta una velocidad del pico sistólico igual o superior a 10 cm/s (109).

El diagnóstico de ovulación implica una serie de cambios denominados “conversión lútea” (110), cuya ausencia es el parámetro más fiable para el diagnóstico de LUF .

A pesar de que el endometrio desempeña un papel activo en la implantación, su abordaje se ha hecho de forma simplista mediante determinaciones histológicas (descartadas como de utilidad por la ESHRE), o estudios ecográficos morfométricos (grosor y del patrón morfológico) que han confirmado su ineficacia en los casos de E.I. (111, 112). Sin embargo, la aplicación del power Doppler en el estudio de flujos uterinos ha aportado datos muy valiosos. Actualmente conocemos que el incremento de resistencia en la arteria uterina se asocian con malos resultados en TRA (113), que el flujo en la arteria uterina durante el ciclo estimulado no es representativo de la perfusión endometrial, y que la vascularización aislada de las arterias radiales y espirales no es representativa de la perfusión endometrial como conjunto.

La combinación de power Doppler y ecografía 3D ofrece la posibilidad de demostrar y cuantificar el flujo sanguíneo total endometrial. A través de estos estudios se ha constatado la existencia de un periodo de disminución en su perfusión que comienza dos días antes de la ovulación y que se extiende hasta la implantación. Estos cambios vasculares conducen a una hipoxia que es beneficiosa para expresar marcadores

de la implantación (vg.: aumentan el VEGF y el uPAR necesarios para la invasión trofoblástica y degradación de la matriz extracelular) y consiguientemente para la receptividad endometrial. (112)

El aumento en la perfusión que el endometrio necesita en la implantación es la consecuencia de un desequilibrio previo, en donde el descenso de aquella debe ser muy brusco. La vascularización endometrial y subendometrial observada por angiografía Doppler pulsada 3D, es menor en la E.I. durante la fase folicular media, independientemente de los valores de estradiol, progesterona o morfometría endometrial; por eso, en el caso de la E.I., al existir una menor perfusión preovulatoria, se produce una caída periovulatoria más suave y un menor estímulo para que se activen los mecanismos que se ponen en marcha por la hipoxia.

A pesar de que esta disminución de la perfusión endometrial en mujeres subfértiles ya fue publicada por primera vez en 1988 (114) y corroborada por otros estudios (115) que han relacionado la E.I. con una perfusión aberrante de la arteria uterina, el esfuerzo investigador en este campo ha sido escaso, todo lo contrario de lo que ha ocurrido con la estimulación de la ovulación.

Opciones terapéuticas de aumento de la perfusión (Citrato de Sildenafil-Viagra-, aspirina, factores de crecimiento angiogénicos) endometrial podrían empezar a ser consideradas como de primera línea (116). No obstante, la necesidad de nuevos estudios se desprende de los resultados adversos, publicados recientemente, en la capacidad predictora de éxito que el flujo endometrial y subendometrial medido por 3D power Doppler tiene en FIV (117) o por los malos resultados publicados por otros autores con el sildenafil (118).

BIBLIOGRAFÍA:

1. **Rowe PJ, Comhaire FH, Hargreave TB et al.**(1993) WHO Manual for the Standardized Investigation of the Infertile Couple. Cambridge University Press, Cambridge, UK
2. **Helmenhorst FM, Oei SG, Bloemenkamp KW and Keirse MJ.** Consistency and variation in fertility investigations in Europe. Hum Reprod 1995; 10: 2027-2030
3. **Bjorndahl L, Barratt CL, Fraser LR, Kvist U, Mortimer D.** ESHRE basic semen analysis courses 1995-1999: immediate beneficial effects of standardized training. Hum Reprod 2002; 17: 1299 - 1305
4. **Balasch J.** Investigation of the infertile couple:

- Investigation of the infertile couple in the era of assisted reproductive technology: a time for reappraisal. Hum Reprod 2000; 15: 2251 - 2257
5. **ESHRE Capri Workshop.** Guidelines to the prevalence, diagnosis, treatment and management of infertility, Hum Reprod 1996; 11: 1775-1807
 6. **ESHRE Capri Workshop Group.** Optimal use of infertility diagnostic tests and treatments. Hum Reprod 2000; 15: 723-732
 7. http://www.guideline.gov/summary/summary.aspx?view_id=1&doc_id=5567
 8. <http://www.prodigy.nhs.uk/guidance.asp?gt=Infertility>
 9. **National Collaborating Centre for Women's and Children's Health.** Fertility: Assessment and Treatment for People with Fertility Problems. Clinical Guideline. London: RCOG Press. 2004. <http://www.nice.org.uk>.)
 10. **Clinical Guideline 11.Fertility:** assessment and treatment for people with fertility problems.2004 http://www.rcog.org.uk/resources/Public/Fertility_summary)
 11. **Roy KK, Hegde P, Banerjee K, Malhotra N, Nayyar B, Deka D, Kumar S.** Fimbrio-ovarian relationship in unexplained infertility. Gynecol Obstet Invest 2005;60:128-32
 12. **Hull, M.G.R., Glazener, C.M.A., Kelly, N.J., Conway, D.I., Foster, P.A., Hinton, R.A., Coulson, C., Lambert, P.A., Watt, E.M. and Desai, K.M.** Population study of causes, treatment and outcome of infertility. Br Med J 1985; 291:1693-1697
 13. **Pepperell, RJ and McBain,JC.** Unexplained infertility. A review. Br J Obstet Gynaecol 1985; 92:569-80
 14. **Rousseau S, Lord J, Lepage Y and van Campenhout J.** The expectancy of pregnancy for "normal" infertile couples. Fertil Steril 1983; 40:768-72
 15. **Abarbanel AR.** Unexplained infertility and culdoscopy: observations in fifty consecutive cases. Urol Cutaneous Rev. 1951; 55:339-44.
 16. **Collins JA and Rowe TC.** Age of the female partner as a prognostic factor in prolonged unexplained infertility: a prospective study. Fertil Steril 1989;52: 15-20
 17. **WHO Scientific Group Report.** Recent Advances in Medically Assisted Conception. WHO Technical Report Series 820. Geneva, World Health Organization
 18. **Collins JA.** Unexplained infertility. In Keye WR, Chang RJ, Rebar RW, Soules MR (eds). Infertility: Evaluation and Treatment. Philadelphia, WB Saunders, 1995, pp 249-62
 19. **Snick HK, Snick TS, Evers JL and Collins JA.** The spontaneous pregnancy prognosis in untreated subfertile couples: the Walcheren primary care study. Hum Reprod 1997;12,1582-1588
 20. **Philips, Z., Barraza-Llorens, M. and Posnett, J.**

- Evaluation of the relative cost-effectiveness of treatments for infertility in the UK. *Hum Reprod* 2000; 15: 95-106
21. **Zayed F, Abu-Heija A.** The Management of unexplained infertility. *Obstet Gynol Surv.* 1999; 54,suppl:263-72
 22. **Evers JLH .**Female subfertility. *Lancet* 2002; 360,151-59
 23. **Isaksson R, Tiitinen A.** Present concept of unexplained infertility.*Gynecol Endocrinol.*2004;18:278-90. Review
 24. **Wang X, Chen C, Wang L, Chen D, Guang W and French J .**Conception, early pregnancy loss, and time to clinical pregnancy: a population-based prospective study. *Fertil Steril* 2003;79:577-584.
 25. **Brosens I, Gordts S, Valkenburg M, Puttemans P,Campo R and Gordts S .** Investigation of the infertile couple: when is the appropriate time to explore female infertility? *Hum Reprod* 2004;19: 1689-1692.
 26. **Templeton AA, and Peney GC.**The incidence , characteristics,, and prognosis of patients whose infertility is unexplained. *Fertil Steril* 1982; 37: 175-82.
 27. **Rousseau S, Lord J, Lepage Y and Van Campenhout J.** The expectancy of pregnancy for “normal” infertile couples. *Fertil Steril*1983; 40: 768-772,
 28. **Hull MGR, Fahy U, Abiuzeid MJ.** Expectations of assisted conception for infertility. *Br Med J* 1992; 304:1465-69.
 29. **Collins JA, Burrows EA and Willan AR.**The prognosis for live birth among untreated infertile couples. *Fertil Steril* 1995; 64: 22-28
 30. **Hunault CC, Eijkemans MJC, te Velde ER, Collins JA, Evers JLH and Habbema JDF.** Two new prediction rules for spontaneous pregnancy leading to live birth among subfertile couples, based on the synthesis of three models. *Hum Reprod* 2004;19: 2019-2026
 31. **Eimers JM, te Velde ER, Gerritse R, Vogelzang ET, Looman CW and Habbema JD.** The prediction of the chance to conceive in subfertile couples. *Fertil Steril* 1994; 61: 44-52
 32. **Isaksson R, Tiitinen A.** Present concept of unexplained infertility.*Gynecol Endocrinol.* 2004 ;18:278-90
 33. **Soliman S, Daya S, Collins J, Jarrell J.** A randomized trial of invitro fertilization versus conventional treatment for infertility. *Fertil Steril* 1993;59:1239-44
 34. **Akande VA, Hunt LP, Cahill DJ and Jenkins JM.** Differences in time to natural conception between women with unexplained infertility and infertile women with minor endometriosis. *Hum Reprod* 2004;19: 96-103
 35. **Collins JA, Garner JB, Wilson EH, Wrixon W and Casper RF .**A proportional hazards analysis of the clinical characteristics of infertile couples. *Am J Obstet Gynecol* 1984;148:527-532
 36. **Hull, M.G.R., Glazener, C.M.A., Kelly, N.J., Conway, D.I., Foster, P.A., Hinton, R.A., Coulson, C., Lambert, P.A., Watt, E.M. and Desai, K.M.** Population study of causes, treatment and outcome of infertility. *Br. Med. J.*, 1985;291:1693-1697
 37. **HFEA Annual Report (2000)** Human Fertilisation and Embryology Authority, (London)
 38. **Hughes EG.** Stimulated intra-uterine insemination is not a natural choice for the treatment of unexplained subfertility. ‘Effective treatment’ or ‘not a natural choice’? *Hum Reprod* 2003;18: 912-914
 39. **Harrison, R.F. and O’Moore, R.R.** The use of clomiphene citrate with and without human chorionic gonadotropin. *Irish Med J* 1983;76: 273-274
 40. **Fisch, P., Casper, R.F., Brown, S.E., Wrixon, W., Collins, J.A., Reid, R.L. and Simpson, C.** Unexplained infertility: evaluation of treatment with clomiphene citrate and human chorionic gonadotropin. *Fertil Steril* 1989;51: 828-833
 41. **Glazener, C.M.A., Coulson, C., Lambert, P.A., Watt, E.M., Hinton, R.A., Kelly, N.G. and Hull, M.G.R.** Clomiphene treatment for women with unexplained infertility: placebo-controlled study of hormonal responses and conception rates. *Gynecol Endocrinol* 1990; 4: 75-83)
 42. **Hughes E, Collins J, Vandekerckhove P.** Clomiphene citrate for unexplained subfertility in women.*Cochrane Database Syst Rev.* 2000;(3):CD000057. Review
 43. **Collins J.** Current best evidence for the advanced treatment of unexplained subfertility. *Hum Reprod* 2003; 18: 907-912
 44. **Kirby, C.A., Flaherty, S.P., Godfrey, B.M., Warnes, G.M. and Matthews, C.D.** A prospective trial of intrauterine insemination of motile spermatozoa versus timed intercourse. *Fertil Steril* 1991;56:102-107
 45. **Guzick, D.S., Sullivan, M.W., Adamson, G.D., Cedars, M.I., Falk, R.J., Peterson, E.P. and Steinkampf, M.P.** Efficacy of treatment for unexplained infertility. *Fertil Steril* 1998; 70: 207-213
 46. **Guzick, D.S., Carson, S.A., Coutifaris, C., Overstreet, J.W., Factor-Litvak, P., Steinkampf, M.P., Hill, J.A., Mastroianni, L., Buster, J.E., Nakajima, S.T., Vogel, D.L. and Canfield, R.** Efficacy of superovulation and intrauterine insemination in the treatment of infertility. *N Engl J Med* 1999; 340: 177-183
 47. **Cohlen BJ,,Hughes E, te Velde ER.** Intra-uterine insemination for unexplained infertility (protocol for a Cochrane Review). In: *The Cochrane Library, Issue 3.* Wiley, Chichester, 2004
 48. **Deaton, J.L., Gibson, M., Blackmer, K.M., Nakajima, S.T., Badger, G.J. and Brumsted, J.R.** A randomized, controlled trial of clomiphene citrate and intrauterine insemination in couples with unexplained

- infertility or surgically corrected endometriosis. *Fertil Steril* 1990; 54: 1083-1088
49. **Arici A, Byrd W, Bradshaw K, Kutteh WH, Marshburn P, Carr BR.** Evaluation of clomiphene citrate and human chorionic gonadotropin treatment: a prospective, randomized, crossover study during intrauterine insemination cycles. *Fertil Steril* 1994; 61:314-18
 50. **Agarwal S, Mittal S.** A randomised prospective trial of intrauterine insemination versus timed intercourse in superovulated cycles with clomiphene. *Indian J Med Res* 2004;120:519-22
 51. **Athallah N, Proctor M, Johnson NP.** Oral versus injectable ovulation induction agents for unexplained subfertility. *Cochrane Database Syst Rev.* 2002;(3):CD003052. Review)
 52. **Hughes, E.G.** The effectiveness of ovulation induction and intrauterine insemination in the treatment of persistent infertility: a meta-analysis. *Hum Reprod* 1997; 12: 1865-1872
 53. **Zeyneloglu HB, Arici A, Olive DL, Duleba AJ** Comparison of intrauterine insemination with timed intercourse in superovulated cycles with gonadotropins: a meta-analysis. *Fertil Steril* 1998; 69:486-91
 54. **RCOG Infertility Guideline Group.** The management of infertility in secondary care. London, RCOG. 1998.
 55. **Balasz J** Gonadotrophin ovarian stimulation and intrauterine insemination for unexplained infertility. *Reprod Biomed Online* 2004; 9:664-72
 56. **Crosignani PG, Walters DE, Soliani A.** The ESHRE multicentre trial on the treatment of unexplained infertility: a preliminary report. *Hum. Reprod* 1991; 6:953-58.
 57. **Goverde AJ, McDonnell J, Vermeiden JPW, Schats R, Rutten FFH and Schoemaker J.** Intrauterine insemination or in-vitro fertilisation in idiopathic subfertility and male subfertility: a randomised trial and cost-effectiveness analysis. *Lancet* 2000; 335:13-18
 58. **Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI, Al-Inany HG.** Diagnosis and management of unexplained infertility: an update. *Arch Gynecol Obstet* 2003; 267: 177-88
 59. **Stewart JA** .Should the guidelines be changed?.*Hum Reprod* 2003; 18: 903-907
 60. **Zikopoulos, K., West, C.P., Thong, P.W., Kacser, E.M., Morrison, J. and Wu, F.C.** Homologous intrauterine insemination has no advantage over timed natural intercourse when used in combination with ovulation induction for the treatment of unexplained infertility. *Hum Reprod* 1993; 8: 563-567
 61. **ESHRE Capri Workshop Group.** Multiple gestation pregnancy. *Hum Reprod* 2000;15:1856-1864
 62. **Sengoku K.** The clinical efficacy of low-dose step-up follicle stimulating hormone administration for treatment of unexplained infertility. *Hum Reprod* 1999;14:349-53
 63. **Papageorgiou TC, Guibert J, Savale M, Goffinet F, Fournier C, Merlet F, Janssens Y and Zorn J-R.** Low dose recombinant FSH treatment may reduce multiple gestations caused by controlled ovarian hyperstimulation and intrauterine insemination. *BJOG* 2004;111:1277-1282
 64. **Goverde AJ, Lambalk CB, McDonnell J, Schats R, Homburg R, Vermeiden JP.** Further considerations on natural or mild hyperstimulation cycles for intrauterine insemination treatment: effects on pregnancy and multiple pregnancy rates. *Hum Reprod* 2005;20:3141-16
 65. **Tur R, Barri PN, Coroleu B et al.** Risk factors for high-order multiple implantation after ovarian stimulation with gonadotrophins: evidence from a large series of 1878 consecutive pregnancies in a single centre. *Hum Reprod* 2001;16:2124-29
 66. **Tur R, Barri PN, Coroleu B et al.** Use of a prediction model for high-order multiple implantation after ovarian stimulation with gonadotropins. *Fertil Steril* 2005; 83:116-21.
 67. **Sengoku K, Tamate K, Takaoka Y, Morishita N, Ishikawa M.** A randomized prospective study of gonadotrophin with or without gonadotrophin-releasing hormone agonist for treatment of unexplained infertility. *Hum Reprod* 1994; 9:1043-7
 68. **Ragni G, Alagna F, Brigante C, Riccaboni A, Colombo M, Somigliana E and Crosignani PG.**GnRH antagonists and mild ovarian stimulation for intrauterine insemination: a randomized study comparing different gonadotrophin dosages. *Hum Reprod* 2004; 19:54-58
 69. **Zikopoulos K, Kaponis A, Adonakis G, Sotiriadis A, Kalantaridou S, Georgiou I, Paraskevaidis E.** A prospective randomized study comparing gonadotropin-releasing hormone agonists or gonadotropin-releasing hormone antagonists in couples with unexplained infertility and/or mild oligozoospermia. *Fertil Steril* 2005; 83:1354-62
 70. **Trout SW, Kemmann E.** Fallopian sperm perfusion versus intrauterine insemination: a randomized controlled trial and metaanalysis of the literature. *Fertil Steril* 1999; 71:881-5.
 71. **Ricci G, Nucera G, Pozzobon C, Boscolo R, Giolo E, Guaschino S.** A simple method for fallopian tube sperm perfusion using a blocking device in the treatment of unexplained infertility. *Fertil Steril* 2001;76:1242-8.
 72. **El Sadek MM, Amer MK, Abdel-Malak G.** Questioning the efficacy of fallopian tube sperm perfusion. *Hum Reprod* 1998;13:3053-6.

73. **Human Fertilisation & Embryology Authority.** Ninth Annual Report & Accounts. HFEA. 2000:11
74. **Infertility Treatment Authority. 2000 Annual Report.** Melbourne, Australia. 2000.
75. **Bachelot A., Thepot F, Logerot-Lebrun H, Renon C, Devecchi A, De Mouzon J.** French IVF registry FIVNAT, 1996 report. *Contraception Fertilite Sexualite* 1997; 25:499-502.
76. **American Society for Reproductive Medicine, Society for Assisted Reproductive Technology. Assisted reproductive technology in the United States: 1997 results generated from the American Society for Reproductive Medicine/Society for Assisted Reproductive Technology Registry.** *Fertil Steril* 2000; 74:641-54.
77. **Hughes EG, Beecroft ML, Wilkie V, Burville L, Claman P, Tummon I et al.** A multicentre randomized controlled trial of expectant management versus IVF in women with fallopian tube patency. *Hum Reprod* 2004; 19:1105-9
78. **Crosignani, P.G., Walters, D.E. and Soliani, A.** Addendum to the ESHRE multicentre trial: a summary of the abortion and birth statistics. *Hum Reprod* 1992;7: 286-287
79. **Pandian Z, Bhattacharya S, Vale L, Templeton A.** Fertilización in vitro para la subfertilidad de causa desconocida (Revisión Cochrane traducida). En: La Biblioteca Cochrane Plus, 2005 Número 4. Oxford: Update Software Ltd. Disponible en: <http://www.update-software.com>. (Traducida de The Cochrane Library, 2005 Issue 4. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.).
80. **Goverde AJ, McDonnell J, Schats R, Vermeiden JP, Homburg R, Lambalk CB.** Ovarian response to standard gonadotrophin stimulation for IVF is decreased not only in older but also in younger women in couples with idiopathic and male subfertility. *Hum Reprod* 2005; 20:1573-7
81. **Kansal-Kalra S, Milad MP, Grobman WA.** In vitro fertilization (IVF) versus gonadotropins followed by IVF as treatment for primary infertility: a cost-based decision analysis. *Fertil Steril* 2005;84: 600-4 .
82. **Bhattacharya S, Hamilton MP, Shaaban M, Khalaf Y, Seddler M, Ghobara T, Braude P, Kennedy R, Rutherford A, Hartshorne G, Templeton A.** Conventional in-vitro fertilisation versus intracytoplasmic sperm injection for the treatment of non-male-factor infertility: a randomised controlled trial. *Lancet*. 2001;357:2075-9.
83. **Ruiz A, Remohi J, Minguez Y, Guanes PP, Simon C, Pellicer A.** The role of in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection in couples with unexplained infertility after failed intrauterine insemination. *Fertil Steril* 1997; 68:171-3
84. **Mansour RT, Aboulghar MA, Serour GI, et al.** Intracytoplasmic sperm injection using microscopically retrieved epididymal and testicular sperm. *Fertil Steril* 1996;. 65:566-72.
85. **Mansour RT, Aboulghar MA, Serour GI, et al.** Management of long-standing unexplained infertility: A prospective study. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181:371-5
86. **Bungum L, Bungum M, Humaidan P, Andersen CY.** A strategy for treatment of couples with unexplained infertility who failed to conceive after intrauterine insemination. *Reprod Biomed Online* 2004;8:584-9.
87. **Watrelot, A.A., Dreyfus, J.M. and Andine, J.P.** Evaluation of the performance of fertiloscopy in 160 consecutive infertile patients with no obvious pathology. *Hum. Reprod.* 1999; 14, 707-711.
88. **Moore, M.L. and Cohen, M.** Diagnostic and operative transvaginal hydrolaparoscopy for infertility and pelvic pain. *J. Am. Assoc. Gynecol. Laparosc.* 2001; 8: 393-397
89. **Cicinelli, E., Matteo, M., Causio, F., Schonauer, L.M., Pinto, V. and Galantino, P.** Tolerability of the mini-pan-endoscopic approach (transvaginal hydrolaparoscopy and minihysteroscopy) versus hysterosalpingography in an outpatient infertility investigation. *Fertil. Steril* 2001; 76: 1048-1051.
90. **Mol, B.W.J., Collins, J.A., Burrows, E.A., van der Veen, F. and Bossuyt, P.M.M.** Comparison of hysterosalpingography and laparoscopy in predicting fertility outcome. *Hum. Reprod* 1999; 14: 1237-1242
91. **Shibahara, H., Fujiwara, H., Hirano, Y., Suzuki, T., Obara, H. Takamizawa, S., Idei, S. and Sato, I.** Usefulness of transvaginal hydrolaparoscopy in investigating infertile women with Chlamydia trachomatis infection. *Hum. Reprod* 2001; 8: 1690-1693.
92. **Gordts S, et al.** Investigation of the infertile couple. *Hum. Reprod* 2002; 17:1684-87
93. **Rimbach, S., Bastert, G. and Wallwiener, D.** Technical results of falloposcopy for infertility diagnosis in a large multicentre study. *Hum. Reprod* 2001;16: 925-930.
94. **Exacoustos C, et.al.** Hysterosalpingo-contrast sonography compared with hysterosalpingography and laparoscopic dye pertubation to evaluate tubal patency. *J. Am. Assoc. Gynecol. Laparosc.* 2003;10:367-72..
95. **Drake, T., Tredway, D., Buchanan, G., Takaki, N. and Daane, T.** Unexplained infertility. A reappraisal. *Obstet. Gynecol.* 1977; 50: 644-646.
96. **Speroff, L., Glass, R.H. and Kase, N.G. Female infertility. In Speroff, L., Glass, R.H., Kase, N.G. (eds) Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility, 6th edn. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, USA 1999.**
97. **Marana, R., Catalano, G.F., Muzii, L et al.** The

- prognostic role of salpingoscopy in laparoscopic tubal surgery. *Hum. Reprod* 1999;14: 2991-2995.
98. **Van der Ven HH, Jeyendran RS, Al-Hasani S, Perez-Pelaez M, Diedrich K, Zaneveld LJ.** Correlation between human sperm swelling in hypo-osmotic medium (hypoosmotic swelling test) and in vitro fertilization. *J. Androl* 1986; 7: 190-6.
 99. **Check JH, Stumpo L, Lurie D, Benfer K, Callan C.** A comparative prospective study using matched samples to determine the influence of subnormal hypo-osmotic swelling test scores of spermatozoa on subsequent fertilization and pregnancy rates following in vitro fertilization. *Hum. Reprod* 1995; 10: 1197-200
 100. **Oosterhuis GJ, Hampsink RM, Michgelsen HW, Vermes I.** Hypo-osmotic swelling test: a reliable screening assay for routine semen specimen quality screening. *J. Clin. Lab. Anal.*1996;10: 209-12
 101. **Barratt CL, Osborn JC, Harrison PE, Monks N, Dunphy BC, Lenton EA, et al.** The hypo-osmotic swelling test and sperm mucus penetration test in determining fertilization of the human oocyte. *Hum. Reprod* 1989;4:430-4.
 102. **Biljan MM, Taylor CT, Manasse PR, Joughin EC, Kingsland CR, Lewis-Jones DI.** Evaluation of different sperm function tests as screening methods for male fertilization potential - the value of the sperm migration test. *Fertil. Steril* 1994; 62: 591-8.
 103. **European Association of Urology.** Guidelines on male infertility. www.uroweb.org/files/uploaded_files/guidelines/22891_Male_Infertility.pdf
 104. **Buyalos, R.P., Daneshmand, S. and Brzechffa, P.R.** Basal oestradiol and follicle-stimulating hormone predict fecundity in women of advanced reproductive age undergoing ovulation induction therapy. *Fertil. Steril* 1997; 68: 272-77
 105. **Wallace, W.H. and Kelsey, T.W.** Ovarian reserve and reproductive age may be determined from measurement of ovarian volume by transvaginal sonography. *Hum. Reprod* 2004; 19: 1612-17.
 106. **Scheffer, G.J., Broekmans, F.J., Looman, C.W., Blankenstein, M., Fauser, B.C., teJong, F.H. and te Velde, E.R.** The number of antral follicles in normal women with proven fertility is the best reflection of reproductive age. *Hum. Reprod* 2003;18: 700-706.
 107. **Tufan, E., Elter, K. and Durmusoglu, F.** Assessment of reproductive ageing patterns by hormonal and ultrasonographic ovarian reserve test. *Hum Reprod* 2004; 19: 2484-89.
 108. **Bhal PS, Pugh ND, Chui DK, Gregory L, Walker SM, Shaw RW.** The use of transvaginal power Doppler ultrasonography to evaluate the relationship between perifollicular vascularity and outcome in in-vitro fertilization treatment cycles. *Hum Reprod* 1999; 14: 939-45
 109. **Coulam CB, Goodman C, Rinehart JS.** Colour Doppler indices of follicular blood flow as predictors of pregnancy after in-vitro fertilization and embryo transfer. *Hum Reprod* 1999; 14: 1979-82.
 110. **Mercé LT, Garcés D, De la Fuente F.** Conversión lútea de la onda de velocidad de flujo intraovárica: nuevo parámetro ecográfico de ovulación y función lútea. *Acta Obstet Gynecol Scand* (ed. esp.) 1989; 2: 113-4.
 111. **Edi-Osagie EC, Seif MW, Aplin JD, Jones CJ, Wilson G, Lieberman BA.**Characterizing the endometrium in unexplained and tubal factor infertility: a multiparametric investigation. *Fertil Steril.* 2004, 82:1379-89.)
 112. **Raine-Fenning NJ, Campbell BK, Kendall NR, Clewes JS and Johnson IR** Endometrial and subendometrial perfusion are impaired in women with unexplained subfertility. *Hum Reprod* 2004;19: 2605-2614.
 113. **Coulam CB, Bustillo M, Soenksen DM and Britten S** .Ultrasonographic predictors of implantation after assisted reproduction. *Fertil Steril* 1994; 62:1004-1010
 114. **Goswamy RK, Williams G and Steptoe PC.** Decreased uterine perfusion-a cause of infertility. *Hum Reprod* 1988; 3:955-959
 115. **Kurjak A, Kupesic-Urek S, Schulman H and Zalud I.** Transvaginal color flow Doppler in the assessment of ovarian and uterine blood flow in infertile women. *Fertil Steril* 1991;56:870-873
 116. **Sher G and Fisch JD.** Effect of vaginal sildenafil on the outcome of in Vitro fertilization (IVF) after multiple IVF failures attributed to poor endometrial development. *Fertil Steril* 2003; 79:1256-57
 117. **Ng E HY, Chan C Ch W, Tang O S, Yeung W S B, and Ho P Ch.** The role of endometrial and subendometrial blood flows measured by three-dimensional power Doppler ultrasound in the prediction of pregnancy during IVF treatment. *Hum Reprod.* 2006; 21: 164 - 170
 118. **Check JH, Graciano V, Lee G, Nazari A, Choe JK, Dietterich C.** Neither sildenafil nor vaginal estradiol improves endometrial thickness in women with thin endometria alter taking oral estradiol in graduating dosages. *Cin Exp Obstet Gynecol* 2004; 31: 99-102

Intervención sobre el embrión para mejorar su capacidad implantatoria

Gloria Calderón

IVI-Barcelona. Ronda General Mitre 14. Barcelona

INTRODUCCIÓN

Actualmente disponemos de tres técnicas en el laboratorio de Fecundación in Vitro que nos ayudaran a mejorar la capacidad implantatoria de los embriones. El Assisted Hatching con aspiración de fragmentos es la única permitida actualmente por la ley Española que regula las Técnicas de Reproducción Asistida. La transferencia de citoplasma y la Transferencia de núcleo, también mejoran la viabilidad embrionaria pero no esta permitida su utilización en nuestro país.

Este trabajo pretende describir estas tres técnicas y valorar su utilidad dentro del laboratorio de fecundación in Vitro.

ASSISTED HATCHING Y ASPIRACIÓN DE FRAGMENTOS

Cohen et al., (1) fueron los primeros en desarrollar la técnica del Assisted Hatching (AHA). La idea de crear artificialmente un orificio en la zona pelúcida no era nueva. Cohen en 1989 observó que los embriones en los que se había practicado la técnica de la disección parcial de la zona pelúcida (PZD) tenían unas tasas de implantación más altas concluyendo que la abertura de un orificio en la zona pelúcida favorece el proceso de hatching o eclosión sufrido por todos los embriones antes de su implantación en el endometrio (2). Desde entonces, un número creciente de unidades de reproducción han utilizado esta técnica para aumentar las tasas de implantación (3). Sin embargo, el estudio pormenorizado de los trabajos sobre esta técnica es extremadamente complejo. Las diferencias metodológicas, los diversos diseños de los trabajos de investigación, los diferentes criterios

de selección de las mujeres y los embriones, y el reducido número de casos incluidos en los estudios, dificulta la comparación entre grupos. Su utilidad es aún controvertida. Schoolcraft et al. (4), comunicaron, en mujeres de mal pronóstico, un aumento de la tasa de implantación (33% en el grupo de AH frente a 6,5% en el grupo no-AH) y de la tasa de gestación (64% en el grupo de AH frente a 19% en el grupo no-AH). Stein et al., (5) en 154 pacientes seleccionadas con al menos, tres ciclos de FIV fallidos con transferencia de embriones de óptima calidad, observaron un aumento en la tasa de gestación sólo en la mujeres >38 años (23,9% en el grupo de AH frente a 7% en el grupo no-AH); no encontraron diferencias en el grupo <38 años. Sin embargo, otros autores, en estudios prospectivos, no han encontrado un incremento significativo de la tasa de implantación y gestación (6). Lanzendorf et al., (7) en un estudio prospectivo, doble ciego, no han encontrado beneficios cuando se aplicó el AHA.

Indicaciones del AHA

Desde finales de la década de los 80 se han ido definiendo un número progresivo de indicaciones (tabla 1).

Edad de la mujer

La tasa de implantación desciende progresivamente a partir de los 37 años, siendo dramático su descenso a partir de los 40 años. La edad por si sola es una indicación para la aplicación del AHA independientemente de cualquiera de las otras indicaciones. No existen dudas en cuanto a que debe aplicarse en mujeres ≥ 38 años (5). Sin embargo, la explicación de por qué las mujeres de este grupo de edad

Tabla 1
Indicaciones del AHA

Edad de la mujer
FSH sérica basal elevada
Esterilidad de origen desconocido
Historia reproductiva anterior
Baja tasa de división embrionaria
Morfología embrionaria alterada
Grado de Fragmentación citoplasmática
Zona pelúcida de color anormal
Grosor de la zona pelúcida
Baja respuesta a la Hiperestimulación Ovárica Controlada
Zona pelúcida de aspecto anormal
Embriones con una forma anormal

son las más beneficiadas es aún materia de debate. Se piensa que el proceso de envejecimiento afecta a los ovocitos de formas diversas. La edad altera cromosómicamente a los ovocitos. Se ha observado en ovocitos no fertilizados de mujeres >35 años un aumento significativo de las alteraciones cromosómicas (8). La edad parece afectar a la meiosis. Battaglia et al., (9) observaron que las mujeres de edad presentan un 79% de aneuploidias frente al 17% que presentaban las mujeres más jóvenes. Munné et al., (10) estudiaron un grupo de embriones antes de ser transferidos y mostraron que las aneuploidias son más frecuentes en las mujeres >40 años, lo que sugiere que la calidad del ovocito y los embriones de las mujeres >40 años está alterada. Es posible que las consecuencias de esta alteraciones den lugar a embriones que han perdido su habilidad para implantar. Por otro lado, los embriones de las mujeres más jóvenes no parecen beneficiarse del AHA (5).

Aumento de la FSH basal sérica.

El cambio neuroendocrino más temprano del envejecimiento ovárico es un aumento de la FSH basal (11). Este cambio puede afectar el ambiente endocrino, paracrino y autocrino del folículo y la zona pelúcida del ovocito (12). Cohen et al., (13) demostraron en los pacientes con una FSH basal elevada que el aplicar el AHA a los embriones obtenidos, aumentaba significativamente la tasa de implantación frente a los embriones que no habían sido sometidos a AHA.

Esterilidad de origen desconocido

Existen situaciones en las que los fallos repetidos no son atribuibles a ninguna causa específica. Se ha propuesto el AHA como una técnica de rescate. Los resultados son variables y depende más de la experiencia del embriólogo que de unos criterios estandarizados.

Historia reproductiva anterior

El AHA es una técnica consolidada cuando una mujer presenta dos fallos previos, independientemente de la edad (14).

Baja tasa de división embrionaria

Los embriones con una tasa de división lenta (<6 células el tercer día post-punción) tienen una tasa de implantación menor que los embriones con una tasa de división adecuada. En los que se aplica el AHA, implantan en un número significativamente mayor que aquellos que no fueron sometidos a AHA (15).

Morfología embrionaria alterada

El AH tiene claras ventajas en embriones con alteraciones morfológicas: inclusiones y vacuolas visibles en el citoplasma, blastómeras asimétricas, citoplasma de aspecto anormal o poco convencional. El criterio del embriólogo es claro para la selección de los embriones subsidiarios de esta técnica.

Grado de Fragmentación citoplasmática

Una de las principales indicaciones del AHA es la presencia de fragmentación citoplasmática. Los fragmentos son porciones de citoplasma rodeados de una membrana de aspecto y características diferentes a la membrana de los blastómeros. Otra característica es que no contienen material nuclear (AND) (16). Los fragmentos suelen producirse entre el estado de pronúcleo y la segunda división. Los embriones que presentan la fragmentación en las primeras 24 horas son los que tienen un pronóstico más incierto. Parece ser una característica exclusiva de humanos y primates (14). Los embriones con un elevado grado de fragmentación tienen menores tasas de implantación. La causa es desconocida, pero se piensa que cuánto mayor es el grado de fragmentación menor es la cantidad de citoplasma disponible para mantener una adecuada división celular (17). Otras hipótesis relacionan el grado de fragmentación con la dificultad para la compactación embrionaria o para la comunicación intercelular. Sin embargo, se han descrito múltiples causas de la fragmentación citoplasmática: alteraciones de la cariocinesis y la citocinesis, integridad cromosómica y genética, alteraciones del citoplasma, condiciones de los medios de cultivo, estrategias de estimulación ovárica, y desordenes en los mecanismos de apoptosis. La fragmentación citoplasmática es un proceso dinámico y no es el mismo proceso según el estadio de desarrollo. La localización, patrón y grado determinan el pronóstico del embrión. Cada grupo

establece sus criterios para la clasificación y grado de fragmentación. Todo embrión que presente más de un 15% de fragmentación es candidato al assisted hatching con aspiración de fragmentos.

Zona pelúcida de color anormal

Los ovocitos de aspecto postmaduro o que presenten un color infrecuente, así como los embriones que van cambiando su color en el medio de cultivo parecen beneficiarse del AHA.

Grosor de la zona pelúcida

El grosor de la zona pelúcida varía durante el desarrollo embrionario y va adelgazándose durante la primera y segunda división celular hasta ser una fina capa durante el estadio de blastocisto. El fallo de este proceso de adelgazamiento puede impedir la implantación del embrión. Cohen et al., propusieron el uso sistemático de AHA cuando el grosor de la zona pelúcida fuese $>15 \mu\text{m}$ (13).

Baja respuesta a la Hiperestimulación Ovárica Controlada

La baja respondedora a los protocolos de hiperestimulación ovárica controlada suele tener, con más frecuencia que las normo-respondedoras, embriones con alteraciones de la zona pelúcida. La elasticidad y el grosor de la zona pelúcida están influenciadas por el ambiente endocrino durante el desarrollo folicular (18). Sin embargo, la baja respondedora es un grupo heterogeneo y no siempre se benefician de esta técnica. Aquellas mujeres con baja respuesta que presentan niveles séricos basales de FSH elevados si parecen aumentar la tasa de gestación tras el AHA (3). Sin embargo, otros no han observado mejor tasa de implantación y gestación tras la aplicación de esta técnica en bajas respondedoras (6).

Zona pelúcida de aspecto anormal

Los embriones con la zona pelúcida doble o con alteraciones en su arquitectura, tiene menor tasa de implantación tras la aplicación de AHA.

Embriones con una forma anormal

Embriones con una forma ovoide o con formas poco convencionales suelen asociarse con zonas pelúcidas anormales y por lo tanto también son candidatos a la aplicación del AHA para aumentar sus tasas de implantación.

Procedimiento técnico

Se han descrito diversas técnicas para la realización del AHA (tabla 2). Los métodos invasivos crean un orificio en la zona pelúcida utilizando diversos procedimientos, como son el Acido Tyrodes o el laser. Los métodos no invasivos buscan un adelgazamiento y ablandamiento de la zona pelúcida pero sin romperla (19). Los distintos grupos que usan esta técnica de forma rutinaria, utilizan uno u otro método dependiendo de la experiencia del biólogo que lo realiza.

Tabla 2

Técnicas para la realización del AHA

Técnicas no invasivas

Exposición del embrión a una solución ácida débil

Exposición del embrión a una proteasa

Técnicas invasivas

Digestión química con ácido Tyrodes

Dissección mecánica con PZD

Dissección de la zona pelúcida con Láser

“piezo manipulation”

PZD: Dissección parcial de la zona pelúcida.

El Assisted hatching se lleva a cabo en el microscopio invertido. Se utilizan placas de petri en las que se disponen las microgotas de medio de micromanipulación (buffer Hepes) y la de tyrodes lo suficientemente separadas para evitar el contacto entre ellas. El pH extremadamente ácido del tyrodes lo convierte en altamente agresivo para el embrión. Se utilizan micropipetas comerciales tanto la de sujeción como la de Tyrodes. Se utiliza la misma micropipeta para realizar el agujero y para la aspiración de fragmentos. Se dispondrán como mucho dos embriones por placa. Debido a la alta complejidad de la técnica, requiere de mucha pericia y de tiempo para realizarla. Reduciendo el número de embriones por placa, se logra evitar cambios de temperatura. Una vez finalizado, se procederá a la transferencia de los embriones de la forma habitual.

Experiencia propia

Tanto en el IVI-Sevilla como en el IVI-Barcelona, el Assisted Hatching con Aspiración de fragmentos, se aplican de forma rutinaria en todos los embriones que en día 3 de desarrollo presentan un 15% o más de fragmentación. Los resultados obtenidos en los dos centros son alentadores ya que hemos conseguido demostrar que tras la aplicación de estas dos técnicas los embriones con peor morfología en día 3 implantan significativamente igual que los embriones con mejor morfología. Tablas 3 y 4.

Tabla 3
Resultados IVI-Sevilla

	Assisted Hatching y Aspiración de Fragmentos			Transferencia tras AHA	p
	Sin AHA <34 sin indic.	Sin AHA >34 sin indic.	Sin AHA >34 con indic.		
Ciclos	44	26	11	152	
Edad	30,2*	36,2	36,2	34,6	<0.001
Emb Trans	2,46*	2,92	3,18	2,90	<0.001
Nº cél	7,5*	6,92	6,91	6,89	0.015
% frag	7,02	6,49	10,92	*	8,57*
0,003					
% gest	70,5% (31)	69,2% (18)	45,5% (5)	51,3% (78)	ns
% impl	50,1%*	31,6%	20%	27,3%	<0.001

Tabla 4
Resultados IVI-Barcelona

	Assisted Hatching y Aspiración de Fragmentos. IVI. Barcelona		
	SIN AHA+AF	SIN AHA+AF con indicación	CON AHA+AF
N. Ciclos	41	24	60
X CEL D3	7,8	7,7	7,5
X FRAG D3	6,8	8,5	11,7*
XET	2	1,9	2,05
Embarazo%	68,3	41,2	60
Implantación%	47,5	27,1?	39,9

TRANSFERENCIA DE CITOPLASMA

La importancia del ooplasma en la maduración y activación de los ovocitos humanos es todavía un gran desconocido. En los procesos de reactivación de la meiosis, fecundación y activación del genoma embrionario están implicados tanto el núcleo como el citoplasma del ovocito. Los factores citoplasmáticos involucrados en estos procesos son entre otros, RNA mensajero materno, proteínas de origen materno, agentes productores de energía y otros muchos factores todavía por determinar. En Reproducción Asistida es relativamente frecuente encontrarse con dimorfismos y anomalías morfológicas tanto en el ovocito como en el embrión que pueden ser debidas tanto a causas genéticas como no genéticas (10, 20, 21). Algunas de estas anomalías de causa no genética originadas en el citoplasma del ovocito pueden, y de hecho interfieren en el posterior desarrollo y viabilidad del embrión. Un determinado grupo de pacientes sometidas a ciclos de Fecundación in vitro, experimenta repetidamente mala calidad embrionaria y fallos de implantación a pesar de cambiar el protocolo de estimulación, utilizar ICSI, cocultivos, hatching asistido y aspiración de fragmentos (1, 22). Hasta hace poco

tiempo, la única alternativa para este tipo de parejas era el uso de gametos de donantes para solucionar su problema de esterilidad.

Con la puesta a punto de las técnicas de la transferencia de citoplasma, se pretende reestablecer el desarrollo correcto y viabilidad de los propios embriones de la pareja, mediante la introducción de factores citoplasmáticos del ovocito de la donante, en el ovocito receptor. Uno de estos factores citoplasmáticos introducido mediante esta técnica son las mitocondrias. Estas juegan un papel muy importante en la producción de compuestos energéticos en el citoplasma del ovocito que proporcionarían el ATP necesario durante la fecundación y el desarrollo embrionario temprano. Las mitocondrias de cualquier tejido contienen ADN específico llamado ADN mitocondrial (mtADN) que es distinto al ADN nuclear. Se cree que el mtADN humano es heredado exclusivamente de la madre aunque este es un debate todavía abierto. También se sabe que las mitocondrias proporcionan ciertas proteínas involucradas en el proceso de fosforilación oxidativa aunque la mayoría de ellas estén codificadas por el ADN nuclear y sean incorporadas a las mitocondrias a través del citoplasma.

Las mutaciones aparecidas en el mtADN son las responsables de algunas enfermedades neuromusculares como el síndrome de Kearns-Sayre. Además se conocen otros 150 tipos de reorganizaciones del mtADN que incluyen deleciones, inserciones y duplicaciones. Las reorganizaciones deletéreas del mtADN son las causantes de deficiencias energéticas celulares dando como resultado desordenes clínicos que afectan el cerebro, corazón, riñones, medula ósea y células pancreáticas. Las reorganizaciones en el mtADN se acumulan más rápidamente en los tejidos sin actividad celular como por ejemplo el muscular y cerebral. Cuando estos tejidos envejecen, la posibilidad de acumular reorganizaciones deletéreas en el mtADN aumentan hasta tal punto que se llega a ver afectado el mecanismo de fosforilación oxidativa necesario para la producción energética. Este puede ser también el caso de los ovocitos en reposo en el ovario. Se ha sugerido que los ovocitos pueden acumular reorganizaciones del mtADN durante el periodo de reposo ovárico aunque su relación con el envejecimiento reproductivo esté todavía por demostrar. Se sabe que el número de mitocondrias aumenta significativamente durante la ovogénesis aunque el número de copias de mtADN por mitocondria se reduzca. La falta de copias de mtADN redundantes en los ovocitos en metafase II puede convertirlos en más sensibles a posibles mutaciones. Los ovocitos afectados pueden sufrir defectos en la producción de energía

debido a disfunciones del mecanismo de fosforilación oxidativa y estas alteraciones pueden afectar la fertilidad. Se sabe que el bloqueo en el desarrollo embrionario en el ratón es debido a la falta de niveles de ATP en los ovocitos (23). La replicación mitocondrial y la acumulación de ATP durante la ovogénesis son cruciales para el posterior desarrollo embrionario.

En los últimos 15 años han sido publicados varios estudios en los que se pretendían solucionar las deficiencias y anomalías ooplasmicas en mamíferos mediante la micromanipulación de ovocitos y embriones a nivel subcelular (24-27). Fueron los estudios de Levron et al. (28), los que sentaron las bases para las primeras experiencias en transferencia de citoplasma en la especie humana (29, 30).

Los primeros casos clínicos de transferencia de citoplasma se realizaron mediante electrofusión de ooplastos de donante en los ovocitos maduros de la receptora. Debido a los bajos resultados obtenidos, se decidió utilizar la microinyección para la transferencia de citoplasma entre ovocitos (30).

El éxito de este tratamiento se basa principalmente en los criterios de selección de las pacientes tratadas, ya que la transferencia de citoplasma no puede solucionar problemas no relacionados con la propia constitución del citoplasma del ovocito maduro. Los ovocitos susceptibles de ser tratados mediante transferencia de citoplasma son aquellos, que teniendo un genoma normal, su citoplasma es anormal debido principalmente a factores maternos. La introducción de pequeñas porciones de ooplasma donado en ovocitos deficientes, evidentemente mejora su funcionamiento, aunque los mecanismos de acción son todavía desconocidos. Estos mecanismos de acción pueden incluir efectos como (1) Las mitocondrias procedentes del ovocito de donante provocan una mejora fisiológica en las primeras fases del desarrollo embrionario, al aportar niveles de ATP necesarios para las funciones celulares; (2) El contenido de mRNA interno puede estar comprometido y ser estimulado tras la inyección de citoplasma. Este es el mecanismo de acción más probable, ya que los niveles de mRNA interno dependen de recursos maternos, hasta la completa expresión geonómica del embrión alcanzada días después de la fecundación. Además también se sabe que ovocitos procedentes de distintas mujeres tienen un contenido de mRNA interno distinto; (3) Otros orgánulos o estructuras organizadoras, tales como el huso mitótico pueden estar específicamente afectados y la transferencia de suficiente ooplasma puede revertir este defecto. Desde hace tiempo se sabe que es el centríolo espermático el responsable de la formación del huso mitótico (31-33.). Debido a que

la inyección de citoplasma donado se hace conjuntamente con el espermatozoide, la composición del ooplasma donado puede mejorar la formación del huso mitótico por parte del centríolo masculino en la singamia.

Uno de los factores que ha causado mas interés en la transferencia de citoplasma, es la posible transferencia de mitocondrias del ovocito de la donadora en la receptora, obteniendo como resultado un cigoto mitocondrialmente heteroplástico. Aunque la transferencia de citoplasma no conlleva la transferencia de ningún ADN nuclear, todavía no se conocen las consecuencias de la transferencia de mtADN en la descendencia. Se sabe que los niños nacidos mediante esta técnica son portadores de 2 genomas nucleares procedentes uno del padre y otro de la madre y de 2 mtADNs, uno procedente de la madre y el otro de la donadora. Debido a que se sabe muy poco sobre el mantenimiento y regulación nuclear de la heteroplasmia mitocondrial en la especie humana, los posibles efectos de la mezcla de dos tipos de mitocondrias esta todavía en discusión (34).

Recientes estudios llevados a cabo utilizando microscopia confocal, han puesto de manifiesto que la porción de citoplasma donado contiene mitocondrias activas que son transferidas al ovocito receptor después de la inyección de citoplasma. También se realizaron estudios en tejidos resultantes de los casos clínicos realizados analizando la secuencia de mtADN de donadora y receptora. Una vez conocidos se compararon con ovocitos y embriones no viables obtenidos en los casos clínicos. También fueron analizados amniocitos, placenta y sangre de cordón umbilical. Los resultados confirmaron la presencia de pequeñas porciones de ADN mitocondrial en un 56,6% de los ovocitos y embriones analizados, un 16,6% de las amniocentesis y en un 50% de las placentas y sangres de cordón (35). Al analizar el ADN cromosómico, no se pudo encontrar ADN cromosómico procedente de la donadora en ninguno de los casos. Estos hechos demuestran que la transferencia de citoplasma altera la herencia normal de mtADN resultando en una heteroplasmia mitocondrial, pero no altera los patrones de herencia del material nuclear. Estos hallazgos también confirman que la heteroplasmia mitocondrial perdura durante el desarrollo embrionario y posiblemente es replicada durante el desarrollo fetal.

INDICACIONES

Se debe ser muy cuidadoso y estricto a la hora de seleccionar las parejas que van a ser sometidas a una transferencia de citoplasma.

- 1.- Mujeres normo respondedoras cuya única causa de no embarazo tras repetidos ciclos de Fecundación in vitro (FIV) sea debida a una mala calidad embrionaria.
- 2.- Las parejas incluidas en el estudio deben haber realizado un mínimo de tres ciclos de FIV anteriores (al menos uno de ellos con Assisted Hatching y Aspiración de fragmentos en los embriones a transferir) habiéndose podido descartar en ellos los posibles fallos de implantación debidos a:
 - A.- Edad avanzada de la mujer
 - B.- Mala respuesta al tratamiento inductor de la ovulación
 - C.- Problemas en la transferencia
 - D.- Patologías que afecten al tracto genital femenino

En resumen, cualquier situación que justifique de manera adecuada un fallo repetido de implantación debe descartarse antes de la aplicación de esta técnica.
- 3.- El factor masculino debe ser completamente normal (preferiblemente no ICSI en ciclos previos).
- 4.- La paciente receptora debería ser sometida a un protocolo agresivo de estimulación ovárica para la recuperación del máximo número de ovocitos posible.

DEFINICIÓN DE MALA CALIDAD EMBRIONARIA

- 1.- Desarrollo embrionario lento (< 6 células en día 3 de desarrollo) y/o
- 2.- Alto grado de fragmentación (% fragmentación > 25 %) y/o
- 3.- Fragmentación Tipo IV (fragmentos de gran tamaño fácilmente confundibles con blastómeros) y/o
- 4.- Presencia de blastómeros multinucleados

TÉCNICA

- 1.- Sincronización entre donante y receptora. Por este motivo sería conveniente utilizar donantes con fertilidad probada. Sabemos que han tenido descendencia sana en ciclos previos de donación y se conoce su respuesta al tratamiento estimulador de la ovulación (simplifica enormemente la sincronización entre donante y receptora).
- 2.- Administración de HCG el mismo día a la do-

nante y a la receptora. Si se produjera una desincronización entre ellas, la administración de HCG se haría en función de la respuesta de la receptora.

- 3.- Es conveniente programar la punción de la receptora antes (en el mismo día) que la de la donante, de esta forma, si hubiera algún problema con la receptora, siempre se esta a tiempo de cancelar la punción de la donante (sí fuera necesario).
- 4.- La técnica de la transferencia de citoplasma es muy parecida a la técnica del ICSI.
- 5.- Un mismo ovocito de la donante es utilizado para microinyectar un máximo de tres ovocitos de la receptora.
- 6.- Normalmente sobran ovocitos de la donante por lo que sería conveniente utilizarlos para la misma receptora. De esta forma, se realizaría además un ciclo de donación que nos serviría de "back up" en caso de fallo en la transferencia de citoplasma (no obtención de embriones viables para la transferencia) y de "test" para conocer la importancia del espermatozoide en la calidad embrionaria de esa pareja.
- 7.- Una vez finalizada la transferencia de citoplasma entre ovocitos maduros, se debe proceder a la fijación y posterior análisis cromosómico (tan solo de contaje) de los ovocitos de la donante utilizados en la transferencia de citoplasma, para la comprobación de la presencia de los 23 cromosomas meióticos. En caso de falta de alguno de ellos no se deberían transferir ninguno de los embriones provenientes de la donación de citoplasma de ese ovocito debido al posible error cromosómico numérico de los mismos.
- 8.- Antes de la transferencia, los embriones seleccionados para la misma deben ser sometidos a Assisted hatching y eliminación de fragmentos aumentando de esta forma sus posibilidades de implantar.
- 9.- La pareja debe ser informada de:
 - A.- La Transferencia de citoplasma es una técnica muy experimental por ahora. Los niños nacidos hasta el momento en todo el mundo, son una treintena y por ahora son todos sanos. Aún así, se debe recomendar la práctica de una amniocentesis a todas las mujeres embarazadas mediante esta técnica.
 - B.- Hasta el momento y seguramente debido al reducido número de casos realizado, no se ha conseguido una mejora en la calidad embrionaria pero sí un aumento significativo en las tasas de gestación e implantación embrionaria (35, 36).

10.- Análisis mediante técnicas de PCR de la posible presencia de heteroplasmia en ovocitos, cigotos y embriones no viables. Para ello es necesario disponer de muestras de sangre de la donante y de la receptora y someterlas a técnicas de PCR para amplificar la región hipervariable de mtADN obteniendo de esta forma los polimorfismos de mt ADN (mt DNA fingerprints) de cada una. Una vez conseguidos los patrones de la donante y receptora se pueden comparar con los obtenidos en los ovocitos, cigotos y embriones no viables determinando de esta forma el grado de heteroplasmia. Al poder determinar la frecuencia de heteroplasmia en este material no viable se podrá establecer el porcentaje de heteroplasmia en los embriones transferidos.

11.- En todas las pacientes embarazadas sería conveniente analizar el posible grado de heteroplasmia a través de las mismas técnicas de PCR en amniocitos, placenta y sangre de cordón fetal.

12.- Todos los niños nacidos mediante esta técnica deberán ser sometidos a reconocimientos pediátricos estrictos desde su nacimiento y hasta los 10 años de vida.

ESTADO ACTUAL

Son varios los centros que actualmente practican esta técnica en todo el mundo. Todos ellos tienen resultados similares aunque utilizan distinta metodología. Actualmente, la serie más larga pertenece al equipo de Cohen y col. Publican una serie de 26 ciclos, 25 transferencias y 13 embarazos (52%) con 17 latidos cardiacos fetales. (18,2%). También hacen un estudio comparativo de los ciclos de FIV realizados anteriormente por estas mismas parejas con el ciclo de citotransferencia, no encontrando diferencias significativas en ninguno de los parámetros estudiados. No consiguen una mejora significativa en la calidad embrionaria obtenida tras la citotransferencia pero sí un aumento significativo en la tasa de embarazo e implantación embrionaria. Al no encontrar diferencias significativas en el desarrollo embrionario ni en la calidad embrionaria obtenida, no pueden explicar la forma de actuación de la transferencia de citoplasma entre ovocitos maduros.

Tanto Levron y col (comunicación personal) como Dale y col (37) han publicado series cortas con embarazos utilizando esta misma técnica de transferencia de citoplasma.

Lazendorf y col (38) utilizan para la transferencia de citoplasma ovocitos previamente congelados, sien-

do su tasa de embarazo del 50%. Huang y col (39) transfieren citoplasma de cigotos en 3 pronucleos consiguiendo una tasa de embarazo del 56%.

Los estudios realizados por Barritt y col (40) y Wilding y col (41) ponen de manifiesto la transferencia de DNA mitocondrial de la donante tras la transferencia de citoplasma. Se ha comprobado su presencia tanto en ovocitos no fecundados como en los embriones obtenidos, amniocitos, placenta y sangre de cordón fetal, demostrando de esta forma la creación de individuos heteroplásmicos. Debido a este hecho, la transferencia de citoplasma entre ovocitos maduros se ha convertido en una técnica muy controvertida.

TRANSFERENCIA DE NÚCLEO

Son conocidos por todos, los bajos resultados obtenidos con las técnicas de Reproducción Asistida cuando se tratan mujeres de edad avanzada. Se sabe que el efecto negativo del envejecimiento de los ovocitos en la implantación embrionaria está relacionado con un aumento en la incidencia de aneuploidia (10) debido principalmente a un defecto en la formación del huso meiótico (42). Gran parte de las anomalías del huso meiótico aparecen durante la primera división meiótica aunque se sabe que no todas las anomalías de segregación cromosómica son debidas únicamente a malformaciones en el huso meiótico. La segregación cromosómica está controlada por el huso meiótico cuyos componentes básicos son producidos por el citoplasma del ovocito. De esta forma se puede concluir que la aneuploidia encontrada en mujeres de edad avanzada puede estar creada por defectos en el citoplasma del ovocito que son los responsables de las posibles anomalías del huso meiótico (43). Hasta el momento, lo único que se le podía ofrecer a este tipo de parejas es una mejor selección de ovocitos y embriones a transferir a través de la aplicación de las técnicas de Diagnóstico Genético Preimplantacional (DPI) (44, 45). El aumento de las tasas de implantación y la reducción de los abortos obtenidos tras DPI confirman que la reducción en las tasas de implantación obtenidas en mujeres de edad avanzada son debidas a la aneuploidia. El siguiente problema al que nos enfrentamos al tratar a este tipo de mujeres es el reducido número de ovocitos y por lo tanto de embriones disponibles para la transferencia. Por todo lo anteriormente expuesto, la única alternativa aceptable para este tipo de pacientes es el recurrir a un ciclo de donación de ovocitos, teniéndose que enfrentar entonces a la decisión de tener un hijo no genéticamente propio.

Gracias al nacimiento del primer mamífero obtenido mediante técnicas de clonación, la oveja "Dolly" en 1997, seguida por la obtención de monos Rhesus, han hecho resurgir las técnicas de transferencia de núcleo en mamíferos. La transferencia de núcleo básicamente consiste en: La obtención de citoplastos que actuaran como célula receptora, en la mayoría de los casos ovocitos maduros en metafase II a los que se les han retirado previamente las placas metafásicas. El núcleo donado (carioplasto) se introduce en el espacio perivitelino del citoplasto receptor y normalmente se procede a la electrofusión para conseguir la reconstitución nuclear y citoplasmática.

Los primeros casos de transferencia nuclear en la especie humana fueron publicados en 1999 por Zhang y col.(46). En este estudio se utilizaron ovocitos en estadio de vesícula germinal (VG). De él se concluye que la meiosis se reanuda y termina de forma normal después de la transferencia de núcleo entre vesículas germinales. En una segunda fase de este estudio, transfieren VG de mujeres de edad avanzada a citoplastos de mujeres jóvenes obteniendo en un 80% de los ovocitos reconstruidos un segundo complemento meiótico normal, apuntando la posibilidad de un descenso en la tasa de aneuploidia al madurar VG de pacientes de edad avanzada en citoplastos de mujeres jóvenes. La eficiencia de la técnica en ese momento era baja debido principalmente a la poca experiencia en cada una de los pasos de esta compleja técnica y a la baja eficacia de las técnicas de maduración in vitro de ovocitos. Aun así concluyen que tras la transferencia de núcleo, los ovocitos reconstituidos son capaces de madurar en la misma proporción que los controles y de completar la meiosis de forma normal. Al realizar análisis citogenéticos en los ovocitos maduros obtenidos no encuentran diferencias al compararlos con los datos publicados en la literatura. Los autores hacen hincapié en realizar estudios en el modelo animal para poder determinar las posibles consecuencias de su aplicación de forma rutinaria en la especie humana y consideran este modelo como muy apto para realizar posteriores investigaciones en la posible contribución de factores citoplasmáticos y nucleares para el desarrollo normal del proceso de meiosis.

Liu y col (47) publicaron un estudio sobre transferencia de núcleo entre cigotos de ratones jóvenes y mayores llegando a la conclusión de que por lo menos en el ratón las bajas tasas de embarazo eran debidas al bajo número de embriones obtenidos más que a un defecto en la maduración del citoplasma o núcleo del ovocito envejecido ya que las tasas de ratones vivos fueron las mismas en los dos experimentos realizados y no diferentes a las de los controles.

En 2001 Takeuchi y col (48) consiguieron embriones humanos tras la transferencia de VG, posterior maduración in vitro, fecundación mediante ICSI y cultivo de los cigotos obtenidos. La eficiencia de la transferencia de núcleo fue del 73%, con una maduración in vitro de los ovocitos reconstruidos del 62%. La tasa de aneuploidia obtenida en esta serie fue similar a la de los controles. La tasa de supervivencia tras ICSI fue del 77% con un 52% de cigotos. El desarrollo embrionario obtenido fue pobre aunque no distinto al obtenido tras la maduración in vitro de ovocitos y posterior fecundación. En un pequeño número de casos en los que transfirieron VG de mujeres mayores a citoplastos de mujeres jóvenes encontraron una segregación cromosómica normal, confirmando los hechos encontrados por Zhang y col. previamente.

Tesarik fue más allá en el 2001 (49) al publicar el primer caso de transferencia de núcleo en la especie humana, utilizando como carioplasto núcleos de células del cúmulo ooforo, y como citoplastos, ovocitos en metafase II. Una de las novedades propuestas por Tesarik es la reconstitución por métodos mecánicos ya que la electrofusión provoca, en estos estadios, un alto grado de activación en ovocitos humanos. Además utiliza métodos químicos previamente descritos para conseguir la correcta haploidización de la célula somática utilizada como carioplasto. También hace constar que el citoplasto en metafase II es capaz de conseguir que el núcleo de una célula diploide sufra una reducción parecida a la meiosis de la gametogénesis y que extruya el set extra de cromátidas haploides en un pseudo corpúsculo polar. Más tarde obtiene cigotos tras la utilización de ICSI como técnica de inseminación. Los embriones obtenidos se desarrollaron normalmente hasta el día 2 de cultivo siendo congelados para su transferencia en un ciclo posterior.

CONCLUSIONES

De todo lo anteriormente expuesto se puede concluir que, tanto la tecnología como la instrumentación de la que se dispone actualmente en los laboratorios de Reproducción Asistida han avanzado muchísimo. Este avance nos permite realizar con éxito técnicas tan laboriosas como la transferencia nuclear y de citoplasma. Ambas pretenden lo mismo, que la pareja estéril sea capaz de reproducirse utilizando sus propios gametos. Las indicaciones para su aplicación son distintas: La transferencia de citoplasma se aplicará principalmente en pacientes jóvenes con déficit citoplasmáticos y la transferencia de núcleo en pacientes

de edad avanzada con posibles problemas cromosómicos.

Lo que realmente sorprende es su aplicación en la especie humana con resultados increíbles. Son técnicas todavía en desarrollo e investigación pero con resultados positivos hoy en día. La transferencia de citoplasma se ha aplicado en la especie humana con unos resultados similares a los obtenidos en ciclos de fecundación in vitro, aunque todavía no ha ocurrido con la transferencia nuclear, no tardará mucho.

En España, la ley que regula las técnicas de Reproducción Asistida no está muy clara en cuanto si se puede aplicar este tipo de tecnología. La Comisión Nacional de Reproducción Asistida, por el momento desaconseja su práctica. No nos queda otra alternativa que seguir experimentando en el modelo animal para desarrollar mejores tecnologías que nos lleven a mayor seguridad y rendimiento en estos procesos.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Cohen J, Elsner C, Kort H, Malter H, Massey J, Mayer MP, Wiemer K.:** Impairment of the hatching process following IVF in the human and improvement of implantation by assisted hatching using micromanipulation. *Hum Reprod* 1990; 5: 7.
2. **Cohen J, Inge KL, Suzmann M, Wiker SR, Wright G.:** Video-cinematography of fresh and cryopreserved embryos: A retrospective análisis of embryonic morphology and implantation. *Fertil Steril* 1989; 51: 820.
3. **Fasouliotis SJ, Simon A, and Laufer N.:** Evaluation and treatment of low responders in Assited Reproductive Technology: A challenge to meet. *J Assist Reprod Genet* 2000; 17: 357-73.
4. **Schoolcraft WB, Schlenker T, Gee M, Jones GS, Jones HW Jr.:** Assisted Hatching in the treatment of poor prognosis in vitro fertilization candidates. *Fertil Steril* 1994; 62: 551.
5. **Stein A, Rufas O, Amit S, Avrech O, Pinkas H, Ovadia J, Fish B.:** Assisted Hatching by partial zona dissection of human pre-embryos in patients with recurrent implantation failure after invitro fertilization. *Fertil Steril* 1995; 63: 838.
6. **Hellebaut S, De Sutter P, Dozortsev D, Onghena A, Quian C, Dhont M.:** Does assisted hatching improve implantation rates after in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection in all patients? A prospective randomized study. *J Assist Reprod Genet* 1996; 13: 19.
7. **Lanzendorf SE, Nehrini F, Mayer JF, Oehninger S, Muasher SJ.:** A prospective, randomized, double-blind study for the evaluation of assisted hatching in patients with advanced maternal age. *Hum Reprod* 1998; 13: 409.
8. **Plachot M, Veiga A, Montagut J, de Grouchy J, Calderón G, Lepetre S, Junca AM, Santaló J, Carles E, Mandelbaum J, Barri P, Degoy J, Cohen J, Egozcue J, Sabatier JC, Salat-Baroux J.:** Are clinical and biological IVF parameters correlated with chromosomal disorders in early life?: a multicentric study. *Hum Reprod* 1988; 3: 627.
9. **Battaglia DE, Goodwin P, Klein NA, Soules MR.:** Influence of maternal age on meiotic spindle assembly in oocytes from naturally cycling women. *Hum Reprod* 1996; 11: 2217.
10. **Munné S, Alikani M, Tomkin G, Grifo J, Cohen J.:** Embryo morphology, developmental rates, and maternal age are correlated with chromosomal abnormalities. *Fertil Steril* 1995; 64: 382.
11. **Klein NA, Battaglia DE, Fujimoto VY, Davis GS, Bremner WJ, Soules MR.:** Reproductive aging: accelerated ovarian follicular development associated with a monotropic follicle-stimulating hormone rise in normal older women. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 1038.
12. **Loret de Mola JR, Garside WT, Bucci J, Tureck RW, Heyner S.:** Análisis of the human zona pellucida during culture: correlation with diagnosis and the pre-ovulatory hormonal environment. *J Assist Reprod Genetics* 1997; 14: 332.
13. **Cohen J, Alikani M, Trowbridge J, Rosenwaks Z.:** Implantation enhancement by selective assisted hatching using zona drilling of human embryos with poor prognosis. *Hum Reprod* 1992; 7: 685.
14. **Nikica Zaninovic.:** Assisted Hatching and fragment removal. From: *An Atlas of human gametes and conceptuses*, 1998. Lucinda LL Veeck, DSc.
15. **Cohen J.:** Assisted Hatching of human embryos. *J In Vitro Fert Embryo Transfer* 1991; 8: 179.
16. **Dale B, Tosti E, Iaccarino M.:** Is the plasma membrane of the human oocyte reorganized following fertilization and early cleavage? *Zygote* 1995; 3: 31.
17. **Xu K, Rosenwaks Z.:** The importance of cytoplasm in early embryonic development. *J Assist Reprod Genetics* 1996; 13: 1.
18. **Loret de Mola JR, Garside WT, Bucci J, Tureck RW, Heyner S.:** Análisis of the human zona pellucida during culture: correlation with diagnosis and the pre-ovulatory hormonal environment. *J Assist Reprod Genetics* 1997; 14: 332.
19. **Katayama KP.:** Assisted Hatching. The current status and future projections. *Assist Reprod Rev* 1994; 4: 33.
20. **Alikani M, Palermo JP, Adler A, et al.:** Intracytoplasmic sperm injection in dysmorphic human oocytes. *Zygote*, 1995; 3: 283-288.
21. **Van Blerkom J. And Henry G.:** Oocyte dysmorphism

- and aneuploidy in meiotically mature human oocytes after ovarian stimulation. *Hum. Reprod.*, 1992; 7: 379-390.
22. **Cohen J, Alikani M, Ferrara T.:** Rescuing abnormally developing embryos by assisted hatching. In Mori T., Aono T., Tominaga T. And Hirió H. (eds), *Perspectives on Assisted Reproduction*. Serono Symposia Series Frontiers in Endocrinology. Christengraf, Rome, Italy, 537 pp., 1994.
 23. **Van Blerkom J, Davis PW and 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.
 24. **Muggleton-Harris A, Whittingham DG and Wilson L.:** Cytoplasmic control of preimplantation development in vitro in the mouse. *Nature*, 1982; 299: 460-462.
 25. **Kishimoto T.:** Microinjection and cytoplasmic transfer in starfish oocytes. In Prescott D.M. (ed.), *Methods in cell biology*. Academic Press, London, 1379pp., 1986.
 26. **Pratt HPM and Muggleton-Harris AL.:** Cycling cytoplasmic factors that promote mitosis in the cultured two cell mouse embryo. *Development*, 1988; 104: 115-120.
 27. **Flod JT, Chillac CF, Van Uem JF, et al.:** Ooplasmic transfusión: prophase germinal vesicles oocytes made developmentally competent by microinjection of metaphase II egg cytoplasm. *Fertil. Steril.*, 1990; 53: 1049-1054.
 28. **Levron J, Willadsen S, Bertoli M and Cohen J.:** The development of mouse zygotes after fusion with synchronous and asynchronous cytoplasm. *Hum. Reprod.*, 1996; 11: 1287-1292.
 29. **Cohen J, Scott RT, Schimmel T et al.:** Birth of infant after transfer of anucleated donor oocyte cytoplasm into recipient eggs. *Lancet*, 1997; 350: 186-187.
 30. **Cohen J, Scott RT, Alikani M et al.:** Ooplasmic transfer in mature human oocytes. *Mol. Hum. Reprod.*, 1998; 4: 269-280.
 31. **Schatten H, Schatten G, Mazia D et al.:** Behavior of centrosomes during fertilization and cell division in mouse oocytes and in sea urchin eggs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986; 83: 105-109.
 32. **Sathananthan AH, Kola I, Osborne J et al.:** Centrioles in the beginning of human development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991; 88: 4806-4810.
 33. **Palermo G, Munne S, and Cohen J.:** The human zygote inherits its mitotic potential from the male gamete. *Hum. Reprod.* 1994; 9: 1220-1225.
 34. **Robetson JA.:** Reconstituting eggs: the ethics of cytoplasm donation. *Fertil. Steril.*, 1999; 71: 219-221.
 35. **Barritt JA, Willadsen S, Brenner C and Cohen J.:** (in press). Cytoplasmic transfer in Assisted Reproduction.
 36. **Calderon G, Barritt JA, Tomkin G, Willadsen S, Brenner CA, Cohen J.:** Transferencia de citoplasma en ovocitos humanos maduros. *Rev. Iberoamericana de Fertilidad*. Vol. XVII, 2000; 4: 201-205.
 37. **Dale B, Wilding M, Botta G, Rasile M, Marino M, Di Mateo L, De Placido G, Izzo A.:** Pregnancy after cytoplasmic transfer in a couple suffering from idiopathic infertility: Case report. *Hum. Reprod.* 2001; 16: 1469-1472.
 38. **Lazendorf S, Mayer J, Toner J, et al.:** Pregnancy following transfer of ooplasm from cryopreserved-thawed donor oocytes into recipient oocytes. *Fertil. Steril.*, 1999; 71: 575-577.
 39. **Huang CC, Cheng TC, Chang HH, et al.:** Birth after the injection of sperm and the cytoplasm of tripronuclear zygotes into metaphase II oocytes in patients with repeated implantation failure after assisted fertilization procedures. *Fertil. Steril.*, 1999; 74: 702-706.
 40. **Barritt JA, Brenner CA, Willadsen S, Cohen J.:** Spontaneous and artificial changes in human ooplasmic mitochondria. *Hum. Reprod.*, 2000; 15: 207-217.
 41. **Wilding M, Dale B, Marino M, et al.:** Mitochondrial aggregation patterns and activity in human oocytes and preimplantation embryos. *Hum. Reprod.*, 2001; 16: 909-917.
 42. **Battaglia DE, Goodwing P, Klein NA, et al.:** Influence of maternal age on meiotic spindle assembly in oocytes from naturally cycling women. *Hum. Reprod.*, 1996; 11: 2217-2222.
 43. **Van Blerkom J.:** Developmental failure in human reproduction associated with chromosomal abnormalities and cytoplasmic pathologies in meiotically mature oocytes. In Van Blerkom J. (ed), *The Biological Basis of Early Human Reproductive Failure*. Oxford University Press, New York, p.283, 1994.
 44. **Gianaroli L, Magli MC, Ferraretti AP, et al.:** Preimplantation diagnosis for aneuploidies in patients undergoing in vitro fertilization with a poor prognosis: identification of the categories for which it should be proposed. *Fertil. Steril.*, 1999; 72: 837-844.
 45. **Verlinsky Y, Cieslak J, Ivakhnenko V, et al.:** Prevention of age-related aneuploidies by polar body testing of oocytes. *J. Assist. Reprod. Genet.*, 1999; 16: 165-169.
 46. **Zhang J, Wang CW, Krey L, et al.:** In vitro maturation of human preovulatory oocytes reconstructed by germinal vesicle transfer. *Fertil. Steril.*, 1999; 71: 726-731.
 47. **Liu H, Krey LC, Zhang J, et al.:** Offspring produced by nuclear transfer can evaluate the developmental competency of the nucleus and cytoplasm of oocytes from old mice. *Fertil. Steril.*, 2000; 74: S0191-S192.
 48. **Takeuchi T, Gong J, Veeck LL, et al.:** Preliminary findings in germinal vesicle transplantation of immature human oocytes. *Fertil. Steril.*, 2001; 16: 730-736.
 49. **Tesarik J, Nagy ZP, Sousa M, et al.:** Fertilizable oocytes reconstructed from patient's somatic cell nuclei and donor ooplasts. *RBMOnline*, 2001; 2: 160-164.

Receptividad uterina e implantación

Dr. Carlos Simón y Dr. José Horcajadas

Durante las últimas décadas, los índices de fertilidad en Europa y más concretamente en España, han decaído dramáticamente. En nuestro país alrededor de 600.000 parejas (una de cada cuatro en edad reproductiva) sufren problemas para conseguir un embarazo, la Sociedad Española de Fertilidad incluso habla de una “epidemia” de problemas de fertilidad. Esto sitúa a nuestro país a la cola de la Unión Europea con tan sólo 1,2 niños por pareja. La caída en el número de niños llevará a un envejecimiento de la población mundial. España perderá el 22% de su población en los próximos 50 años. El número de habitantes se reducirá a 31,2 millones y la media de edad se situará en 55,2 años, la más alta del mundo.

En el otro lado, en el tercer mundo, el problema de la superpoblación alcanza dimensiones trágicas. Muchos de las soluciones a ambos problemas pasan por un conocimiento más profundo de la fisiología de la reproducción humana y el desarrollo de novedosas técnicas de diagnóstico tanto de mejora en el caso de la esterilidad como en el desarrollo de fármacos contraceptivos en el caso de la superpoblación de los países subdesarrollados.

El endometrio humano es un órgano regulado hormonalmente de forma cíclica que alcanza un estado de receptividad durante un corto período de tiempo que se denomina la “ventana de implantación”. La implantación embrionaria es un complejo proceso por el cual un embrión, en estadio de blastocisto se adhiere al endometrio en un estado receptivo. Este proceso ocurre unos 6-7 días post-fertilización una vez que el blastocisto se ha liberado de la zona pelúcida. La preparación del endometrio depende de una proliferación celular inducida por estradiol y una diferenciación dependiente de progesterona lo que produce un gran número de cambios en el perfil de expresión génica del endometrio que conducen a la

“ventana de implantación” (Wilcox y cols., 1999). Aunque no hay total acuerdo sobre el día exacto de la implantación en humanos, los estudios clínicos sugieren que este proceso sucede entre los días 20–24 de un ciclo ovulatorio normal (Psychoyos, 1994).

El estudio de los cambios que suceden en el endometrio humano durante el período receptivo y en situaciones de infertilidad ha sido, sin duda, una de las preocupaciones principales de los investigadores que trabajan en el campo de la reproducción humana. En la era pre-genómica, sólo se podían llevar a cabo estudios “gen a gen” para estudiar la “ventana de implantación”. Sin embargo, es mucho mejor pensar en el proceso de implantación embrionaria como un equilibrio de genes inducidos y reprimidos bajo el control de hormonas esteroideas y probablemente otros factores reguladores locales (regulación paracrina y autocrina) (Reese y cols., 2001). La tecnología de microarrays permite exactamente eso, estudiar de forma global la regulación transcripcional de un proceso biológico.

Se ha postulado que una expresión alterada de los genes regulados en el endometrio y de las proteínas que generan es una de las causas que producen infertilidad y aborto recurrente en las mujeres con endometriosis (Kao et al., 2003). La tecnología de microarray (Schena, 1995) permite el estudio de la expresión de miles de genes al mismo tiempo y en un solo experimento y su análisis requiere de complejos programas bioinformáticos que analizan de forma estadística las variabilidades intra- e inter-ensayo para la generación de resultados estadísticamente significantes y biológicamente coherentes. Está basada en la complementariedad del DNA y la capacidad del DNA de una hebra para unirse a soportes sólidos como membranas de nylon o cristal. Normalmente se hibridan DNA complementarios (cDNA) marcados

con sondas inmovilizadas. El marcaje suele hacerse por medio de fluorescencia o radiactividad dependiendo del sistema elegido. Hay un amplio rango de microarrays comercialmente disponibles y que se dividen en dos categorías, de cDNA o de oligonucleótidos sintéticos de alta densidad (Barret and Kawasaki, 2003).

En la actualidad, la tecnología de microarray ha permitido estudiar de forma global la expresión génica del endometrio bajo condiciones fisiológicas durante las diferentes fases del ciclo menstrual en ciclo natural (Ponnampalam y cols., 2004, Talbi y cols., 2005) que han demostrado que las distintas fases del ciclo menstrual tienen perfiles de expresión definidos entre individuos y diferentes según las fases. En lo que respecta a la ventana de implantación humana los perfiles de expresión génica del endometrio en ciclo natural han sido descritos (Carson y cols., 2002; Kao y cols., 2002; Borthwick y cols., 2003; Riesewijk y cols., 2003; Mirkin y cols., 2005). También se ha analizado el perfil de expresión génica del endometrio durante la ventana de implantación en ciclos estimulados (Horcajadas y cols., 2005; Simón y cols., 2005) y en respuesta a fármacos como RU486 (Catalano y cols., 2003). Asimismo se ha estudiado el perfil refractario del endometrio humano en presencia de un dispositivo intrauterino (DIU) durante la ventana de implantación (Horcajadas y cols., 2006), recién publicado. Todos estos trabajos han producido una gran cantidad de información y han mejorado nuestro conocimiento de la fisiología y patología del endometrio humano a nivel molecular gracias a la tecnología de microarray.

En la actualidad, la valoración del endometrio se realiza por medio de estudios histológicos basados en observaciones descritas hace más de 50 años (Noyes y cols., 1950) o técnicas macroscópicas y poco resolutivas como estudios ecográficos igualmente poco objetivos, faltos de concreción y muy criticados últimamente debido a las variaciones existentes entre los observadores. El uso de los datos histológicos del endometrio como forma de discriminar entre mujeres fértiles e infértiles ha sido cuestionado debido al número de fallos que produce (Coutifaris y cols., 2004). En otro estudio, Murray y cols., 2004, demuestran que el uso de las características histológicas falla a la hora de distinguir la fase del ciclo menstrual concluyéndose que no es útil para su uso clínico. Es, pues, lógico pensar, que en esta época de la genómica en la que nos encontramos, se añadan herramientas objetivas basadas en criterios moleculares que vengán a mejorar la capacidad diagnóstica de determinadas técnicas como la histológica, muy útil, sin embargo, para otro tipo de necesidades.

BIBLIOGRAFÍA

- **Barret JC. and Kawasaki ES.** (2003) Microarrays: the use of oligonucleotides and cDNA for the analysis of gene expression. *Drug Discovery Today* 8, 134-141.
- **Borthwick JM, Charnock-Jones DS, Tom BD, Hull ML, Teirney R, Phillips SC and Smith SK** (2003) Determination of the transcript profile of human endometrium. *Mol Hum Reprod* 9,19-33.
- **Carson DD, Lagow E, Thathiah A, Al-Shami R, Farach-Carson MC, Vernon M, Yuan L, Fritz MA and Lessey B** (2002) Changes in gene expression during the early to mid-luteal (receptive phase) transition in human endometrium detected by high-density microarray screening. *Mol Hum Reprod* 8,871-879.
- **Catalano RD, Yanaihara A, Evans AL, Rocha D, Prentice A, Saidi S, Print CG, Charnock-Jones DS, Sharkey AM and Smith SK** (2003) The effect of RU486 on the gene expression profile in an endometrial explant model. *Mol. Human Reprod.*, 9, 465-473.
- **Coutifaris C, Myers ER, Guzik DS, Diamond MP, Carson SA, Legro RS, McGovern PG, Schlaff WD, Carr BR, Steinkampf MP, Silva S, Vogel DL, Leppert PC** 2004 Histological dating of timed endometrial biopsy tissue is not related to fertility status. *Fertil Steril* 82:1264-72
- **Horcajadas JA, Riesewijk A, Martin J, Cervero A, Mosselman S, Pellicer A and Simon C** (2004) Global gene expression profiling of human endometrial receptivity. *J Reprod Immunol* 63,41-49.
- **Horcajadas JA, Sharkey AM, Catalano R, Sherwin JRA, Domínguez F, Burgos LA, Castro A, Peraza MR, Pellicer A and Simón C** (2006) Human Endometrial Refractoriness. Aceptado en el *J. Clin. Endocrinol. & Metabol.*
- **Kao LC, Tulac S, Lobo S, Imani B, Yang JP, Germeyer A, Osteen K, Taylor RN, Lessey BA and Giudice LC** (2002) Global gene profiling in human endometrium during the window of implantation. *Endocrinology* 143,2119-2138.
- **Kao LC, Germeyer A, Tulac S, Lobo S, Yang JP, Taylor RN, Osteen K, Lessey BA and Giudice LC** (2003) Expression profiling of endometrium from women with endometriosis reveals candidate genes for disease-based implantation failure and infertility. *Endocrinology* 144,2870-2881.
- **Klein-Hitpass L, Schorpp M, Wagner U and Ryffel GU** (1986) An estrogenresponsive S.Mirkin, M.Arslan, D.Churikov, A.Corica, J.I.Diaz, S.Williams, S.Bocca and S.Oehninger In search of candidate genes critically expressed in the human endometrium during the window of implantation *Human Reproduction* Vol.20, No.8 pp. 2104-2117, 2005.
- **HYPERLINK** "http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=15531538&query_hl=5&itool=pubmed_d

- ocsum” Mirkin S, Nikas G, Hsiu JG, Diaz J, Oehninger S. (2004) Gene expression profiles and structural/functional features of the peri-implantation endometrium in natural and gonadotropin-stimulated cycles. *J Clin Endocrinol Metab.* 11:5742-52.
- **Mirkin S, Arslan M, Churikov D, Corica A, Diaz JI, Williams S, Bocca S and Oehninger S** (2005) In search of candidate genes critically expressed in the human endometrium during the window of implantation. *Human Reproduction* 20: 2104–2117.
 - **Murray MJ, Meyer WR, Zaino RJ, Lessey BA, Novotny DB, Ireland K, Zeng D, Fritz MA** 2004 A critical analysis of the accuracy, reproducibility, and clinical utility of histologic endometrial dating in fertile women. *Fertil Steril* 81:1333-43.
 - **Noyes RW, Hertig AT, Rock J** 1950 Dating the endometrial biopsy. *Fertil Steril* 1:3-17.
 - **Ponnampalam AP, Weston GC, Trajstman AC, Susil B and Rogers PA** (2004) Molecular classification of human endometrial cycle stages by transcriptional profiling. *Mol Hum Reprod* 10,879–893.
 - **Psychoyos A** (1994) The implantation window; basic and clinical aspects. In Mori et al. (eds) *Perspectives on Assisted Reproduction*. Ares-Serono Symposium 4, Roma, 1994, pp 57–63.
 - **Reese J, Das SK, Paria BC, Lim H, Song H, Matsumoto H, Knudtson KL, DuBois RN and Dey SK** (2001) Global gene expression analysis to identify molecular markers of uterine receptivity and embryo implantation. *J Biol Chem* 276,44137–44145.
 - **Riesewijk A, Martin J, van Os R, Horcajadas JA, Polman J, Pellicer A, Mosselman S and Simon C** (2003) Gene expression profiling of human endometrial receptivity on days LH ? 2 versus LH ? 7 by microarray technology. *Mol Hum Reprod* 9,253–264.
 - **Schena M, Shalon D, Davis RW and Brown P. O.** 1995 Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science* 270:467-470.
 - **Simón C, Bellver J, Vidal C, Bosch E, Horcajadas J A, Murphy C, Adams S, Riesewijk A., Oberyé J, Mannaerts B and Pellicer A.** (2005) Similar endometrial development in oocyte donors treated with high- or low-dose GnRH-antagonist compared to GnRH-agonist treatment and natural cycles. *Human Reprod* 20:3318-27
 - **Talbi** HYPERLINK “http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=16306079&query_hl=1&itool=pubmed_docsum” S, Hamilton AE, Vo KC, Tulac S, Overgaard MT, Dosiou C, Le Shay N, Nezhat CN, Kempson R, Lessey BA, Nayak NR, Giudice LC. (2005) Molecular phenotyping of human endometrium distinguishes menstrual cycle phases and underlying biological processes in normo-ovulatory women. *Endocrinology* Nov 23; [Epub ahead of print].
 - **Vaquerizas JM, Conde L, Yankilevich P, Cabezón A, Mínguez P, Díaz-Uriarte, R Al-Shahrour F, Herrero J and Dopazo J** (2005) GEPAS, an experiment-oriented pipeline for the analysis of microarray gene expression data. *Nucleic Acids Res* 33:616-620.
 - **Wilcox AJ, Baird DD and Weinberg CR** (1999) Time of implantation of the conceptus and loss of pregnancy. *New Engl J Med* 340,1796–179.

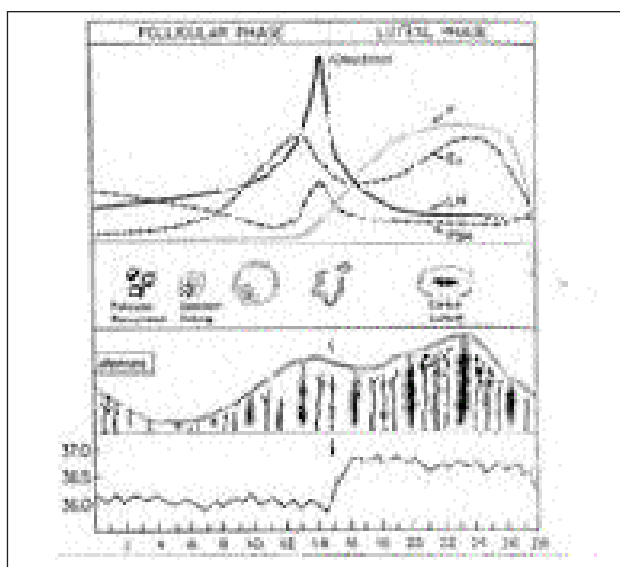
LH y su papel en la estimulación ovárica

Dr. J. Alonso Zafra

Hospital General Universitario Gregorio Marañón

INTRODUCCIÓN

En condiciones fisiológicas, el desarrollo folicular normal precisa de la participación tanto de la FSH como de la LH que cumple funciones cruciales.



Proporciona el sustrato androgénico para la aromatización y secreción de estradiol, tiene una función sinérgica con la FSH en la fase folicular, produce la maduración del óvulo y es esencial en la formación del cuerpo lúteo. Tomando como base el modelo fisiológico, diferentes autores han propuesto la posible utilidad de la LH en la estimulación gonadotrópica del ovario destinada a la Fecundación 'In Vitro'.

Su utilidad en los ciclos de estimulación ovárica para técnicas de reproducción asistida está muy discutida. Por un lado el uso de FSH sola ha demostrado

su eficacia y seguridad para completar el reclutamiento folicular, quedando la LH exclusivamente como aporte final para la maduración ovocitaria y desencadenamiento de la ovulación. De otra parte algunos autores, basándose en ensayos clínicos sugieren que la adición de LH durante la estimulación ovárica puede mejorar los resultados finales en poblaciones seleccionadas o en ciertos tipos de pacientes.

La disyuntiva así planteada no es tan sencilla, la incorporación de nuevos fármacos como los antagonistas de la GnRH, la diversidad de fármacos con 'efecto LH', el uso de estos fármacos para diversos tratamientos de reproducción asistida (FIV, ICSI, ovidonación...) complican la valoración de la efectividad del uso de la LH en la estimulación ovárica. Nuestro objetivo es realizar una revisión de la literatura e intentar alcanzar algunas conclusiones prácticas que puedan ser de utilidad para la clínica.

NIVELES DE LH EN CICLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA Y SU INFLUENCIA EN LOS RESULTADOS

La LH es necesaria para el crecimiento y maduración folicular completa. En pacientes con amenorrea central (WHO I) es necesaria la administración de LH exógena para conseguir la ovulación, siempre que los niveles de LH plasmática sean inferiores a 1,2 UI/l. Por otro lado se conoce que concentraciones altas de LH durante la fase folicular, pueden producir un aumento de la secreción de progesterona, luteinización prematura, exceso en aporte de andrógenos y como consecuencia atresia folicular. Estos dos hechos citados han conducido a enunciar el concepto de 'suelo' y 'techo de LH', entre los que se deben situar la concentración de LH circulante para alcanzar la correcta maduración folicular.

Se sabe que la LH se secreta en condiciones fisiológicas mediante pulsos cada 1-2 horas y su vida media es corta. Estas dos características dificultan la interpretación funcional de los niveles basales obtenidos mediante las determinaciones habituales y su influencia real en el proceso de reclutamiento, selección y maduración folicular.

Una primera aproximación a la influencia de la LH en los resultados de las TRA es la observación de los niveles de la hormona en distintos momentos del ciclo y su influencia en el desenlace del proceso. Debido a la desensibilización hipofisaria, en el protocolo largo con agonistas de la GnRH, se produce un descenso acusado en los niveles de LH plasmática durante la estimulación folicular. Habitualmente esta concentración de LH se encuentra entre 0,5 y 2,5 UI/L. Según algunos autores este descenso puede perjudicar los resultados del tratamiento en ciclos de FIV/ICSI (Westergaard, 1996, Humadaian 2002).

Otros autores defienden por el contrario que el umbral para una correcta función ovárica se obtiene con la ocupación de menos del 1% de los receptores y que la estimulación con FSH de forma exclusiva es suficiente para obtener una maduración correcta de los ovocitos en mujeres normogonadotropas (Chappel 1991; Daya, 1995; Loumaye 1997 Balasch 2001).

Recientemente Kolibianakis (2006) ha publicado una revisión sistemática de la evidencia acerca de este asunto. Selecciona y analiza 6 estudios Tabla 1.

los con agonistas en protocolo largo. Sin embargo en su análisis incluye 33 ciclos en los que el frenaje se había prolongado mas de 90 días y en los que la media de nivel de LH era de 1,2 UI/L frente a 2,0 UI/L del grupo de frenaje menor de 90 días. Comparando los dos grupos observa una diferencia en las tasas de embarazo de 9,1 frente a 27,7 en el grupo de frenaje corto (p= 0.03).

Esta observación junto con la conocida de que niveles inferiores a 1,2 UI/l en pacientes con anovulación tipo I de la OMS precisan de la adición de LH exógena para completar la maduración folicular apunta a que la valoración del efecto de la LH debe considerar un tiempo mas largo. La concentración de LH podría determinar la calidad de la foliculogénesis, no solo a lo largo de la fase folicular de la estimulación ovárica con FSH, sino también en las fases previas a la misma. En aquellos casos en los que los niveles bajos se prolongan mas atrás en el tiempo, se obtienen unos resultados son peores, o bien podría ser necesaria la administración de LH para obtener la maduración folicular completa. Esto concuerda con la afirmación de que la síntesis androgénica estimulada por la LH parece favorecer los estadios iniciales del desarrollo folicular (Vendola 1999)

Ernesto Bosch mide la concentración LH en los días 3, 6 y 8 de estimulación de ciclos cortos con antagonistas y concluye que el uso de FSH sola no empeora el pronóstico de los ciclos y que los niveles de

Tabla 1

Estudio	Pacientes	Ciclo	Conclusión
Westergaard 2000	200	Agon. Largo	No asociación
Balasch 2001	144	Agon. Largo	No asociación
Esposito 2001	166	Agon. Largo	No asociación
Humadaian 2001	207	Agon. Largo	No asociación
Mervile 2004	270	Antagonista	No asociación
Kolibianakis 2004	116	Antagonista	Asociación negativa

El autor concluye que la evidencia disponible en el momento actual indica que en mujeres normoovuladoras o con anovulación tipo II de la OMS, los niveles bajos de LH no se asocian con un descenso en la probabilidad de obtener un embarazo evolutivo mas allá de la 12 semana.

Cuando el parámetro que se mide es el nivel de LH e el primer día de estimulación la conclusión que obtiene Bjerkce (2005) es similar. Este autor concluye que los niveles de LH no influyen en la tasa de embarazo, aborto o gestación evolutiva en 2.625 ci-

LH plasmática no influyen en los resultados finales. A la misma conclusión llega Peñarrubia (2003) analizando 246 ciclos, en los que no observa diferencias en el desenlace de los ciclos en relación con la concentración de LH medida en el día 0, 5 y de administración de la HCG.

Otro concepto clásico de la influencia de la LH es el de techo terapéutico. Niveles demasiado altos de LH pueden inducir la luteinización prematura o la atresia folicular por el exceso de estimulación del estroma ovárico y el exceso de aporte de andrógenos

que supere la capacidad de aromatización de los folículos menos desarrollados. Liu et al publican sus resultados en 308 ciclos de agonistas en protocolo largo en los que determinan la LH en el 8º día de estimulación estratificando las pacientes según los niveles de LH en ≥ 5 y < 5 UI/L. Encuentra una tasa de embarazo significativamente menor (35% frente a 53%) en los ciclos en los que la concentración de LH era igual o superior a 5 UI/L.

USO DE LH EN CICLOS CON AGONISTAS DE LA GnRH

En este como en otros aspectos del tema los resultados que se publican parecen contradictorios. Sabemos que la FSH sola es capaz de producir una maduración folicular completa con buenos resultados de los ciclos en términos de desarrollo, maduración folicular, calidad ovocitaria y tasas de embarazo. La pregunta es si la adición de LH puede o no mejorar estos resultados y si es así en que circunstancias. Para contestar esta pregunta se han propuesto varios ensayos clínicos, el más importante el publicado por Richard Marrs en 2003. Este autor llevó a cabo un estudio multicéntrico en pacientes sometidas a estimulación previa frenación hipofisaria con agonistas de la GnRH. Las pacientes fueron asignadas aleatoriamente a dos grupos de forma que recibieran FSH sola o FSH + LH. No se obtuvieron diferencias en parámetros de la estimulación ovárica, cantidad, calidad ovocitaria y embrionaria. Tampoco en las tasas de embarazo por ciclo (41,6 frente a 42,5). Cuando los autores estratifican a las pacientes por edad y comparan las tasa de embarazo en las mayores de 35 años (N = 65 en el grupo de LH y N= 56 en el grupo de FSH) si encuentran diferencias (41,5% frente a 30,4%) especialmente si compara aquellas pacientes que recibieron su primer ciclo de tratamiento. De estos resultados se deduce que no se puede recomendar el uso del suplemento de LH en mujeres no seleccionadas pero que su uso en mujeres mayores de 35 años puede mejorar los resultados en términos de tasas de embarazo por ciclo. En la misma línea se sitúan las conclusiones de Humadaian 2004 que no observa diferencias cuando analiza los resultados globales pero cuando estratifica el análisis por edades encuentra que en pacientes mayores de 35 años con suplemento de LH las tasas de embarazo son del 33,3% frente al 22,2% registrado en los ciclos sin suplemento de LH. Estos resultados no permiten obtener

conclusiones debido al número de pacientes en cada grupo (21 y 18 respectivamente). El tamaño de las muestras tras la estratificación determina una escasa potencia estadística y no permite alcanzar conclusiones definitivas.

En otro estudio prospectivo aleatorizado Lisi realiza un estudio de búsqueda de dosis de suplementación de LH en ciclos de estimulación ovárica en pacientes en protocolo largo con agonistas para TRA. La aportación original de este autor es el análisis de los resultados en función de la LH y FSH basal. En aquellos ciclos en los que la FSH basal era mayor de 10 UI/l las tasas de embarazo obtenidas fueron de 0% en el grupo de FSH sola, 31% en el que recibió 37,5 UI de LH y 26% en el que recibió 75 UI de LH. De la misma forma observó una mejoría de los resultados en relación con los niveles de LH tras la supresión hipofisaria y un incremento de los mismos en aquellos ciclos en los que la concentración de LH había descendido por debajo de 1 UI/l, 17% en el grupo que recibió FSH sola frente al 40% del grupo de pacientes que recibieron 37,5 UI de LH y el 36% del grupo de pacientes que recibieron 75 UI.

Conclusiones similares respecto al uso de la LH en la segunda mitad de la fase folicular pueden obtenerse del ensayo aleatorizado, doble ciego publicado en Hum Rep en 2006 por Tarlatzis. El autor seleccionó una muestra de 123 pacientes normoovuladoras de entre 18 y 37 años que recibieron 75 UI de LH o placebo desde el momento en el que el folículo dominante alcanzó los 14 mm. Observó un aumento en los niveles de estradiol en el grupo de pacientes que recibieron LH sin ningún efecto sobre los demás parámetros analizados (número y calidad de ovocitos, número y calidad de los embriones, tasas de embarazo, tasas de implantación).

Otro posible grupo en el que la administración de LH puede conducir a una mejora en los resultados estaría compuesto por aquellas mujeres en las que se produce una respuesta baja inesperada, es decir aquellas en las que el estradiol no alcanza determinados niveles y no se observa crecimiento folicular el día 8º del ciclo, o bien aquellas en las que no se han alcanzado respuestas aceptables en ciclos previos. En este grupo de pacientes se concentran algunos de los ensayos publicados para analizar la eficacia de la adición de LH. El primero analizado de 2003 es un estudio en el que el grupo control son 41 mujeres en las que se han necesitado dosis altas de FSH en un ciclo previo. En el segundo ciclo se programa una pauta de inicio similar con la adición de LH. Encuentra unas tasas de embarazo del 5% en el grupo A frente al 22% en el

	Diseño	Numero	Compara	Conclusión	Estratificacion
Marrs 2004	Multicentrico Randomizado	431	FSHr/FSHr+LHr	No influye	Mejora los resultados en > 35 años
Humadaian 2004	Prospectivo Randomizado	231	FSHr/FSHr+LHr	No influye	Mejora los resultados en > 35 años
Drakakis 2005	Prospectivo Randomizado	46	FSH/FSH+HMG	Mejora tasas de embarazo	
Lisi 2005	Prsopectivo Randomizado	428	FSH/FSH+37,5 LH/FSH+75 LH	Mejora tasas de embarazo	Mejoría en LH < 1 y FSH > 10
Plateau 2004	Reanailis de datos de estudio randomizado	781	FSH/HMG	No influye	Mejora en FIV
Tarlatzis 2006	Multicentrico Randomizado, Doble ciego	123	FSHr/FSHr+LHr	No influye	NO

grupo B ($p < 0.03$) con una tasa de implantación del 3,4% y del 12.7% respectivamente.

Con otro enfoque, De Placido (2004) selecciona a las pacientes durante la estimulación por no alcanzar en el día 8° del ciclo determinados niveles de estradiol (180 pg/ml) o de desarrollo folicular (no foliculos > 10 mm) se dividen aleatoriamente en 2 grupos que reciben 75 o 150 UI de LH desde ese día, comparando estos grupos con el que no necesitó el suplemento. El autor concluye que la dosis de 150 UI diaria desde el día 8° del ciclo iguala los resultados a aquellos de las pacientes con normo-respuesta.

Finalmente en un estudio multicéntrico publicado en 2005 De Placido comunica los resultados de un ensayo en el que de 1.389 pacientes elegibles tienen una respuesta inadecuada 130 que se asignan aleatoriamente a dos grupos, unas pacientes reciben un suplemento LH y a las otras se les sube la dosis de FSH. Estas se comparan con un grupo control de 130 pacientes extraídas del resto con respuesta normal. Las tasas de embarazo son del 37% en el grupo que recibió LH frente al 29% en el grupo que recibió FSH

sola con incremento de la dosis, con una tasa de implantación del 14,2 y 10,5% respectivamente. No se obtuvieron diferencias significativas en la comparación de los resultados de los grupos que recibieron LH frente a las que no, aunque estas si lo fueron en la comparación del grupo que no recibió LH y el grupo control de normo-respuesta.

Los autores concluyen que los resultados mejoran de forma más apreciable en el grupo que recibió un suplemento de LH frente a aquellas pacientes en las que solo se corrigió la dosis de FSH, aunque reconocen que son necesarios estudios que incluyan un número mayor de pacientes para poder alcanzar conclusiones más sólidas.

USO DE LA LH EN CICLOS CON ANTAGONISTAS DE LA GnRH

Los antagonistas se han puesto a nuestra disposición recientemente. Su uso terapéutico permite acortar la duración del ciclo y reducir las necesidades de

	Diseño	Número	Compara	Conclusión
Lisi 2003	Cohortes	41	FSHr/FSHr+LHr	Mejora tasas de embarazo
De Placido 2004	Prospectivo Randomizado	92	FSHr/FSHr+LHr (75 ó 150 UI)	Mejora tasas de embarazo
De Placido 2005	Prospectivo Randomizado Multicéntrico	250	FSH/FSH+LHr	Mejora tasas de embarazo

gonadotropinas para la estimulación. Su efecto es la inhibición competitiva del receptor de GnRH sin fase de estimulación o 'flare-up'. De esta forma se produce un bloqueo inmediato de la secreción de gonadotropinas tras la administración del antagonista. Este descenso brusco en los niveles de LH junto con la observación de que dosis más elevadas de antagonistas se asociaban a resultados peores en tasas de embarazo y de implantación en comparación con dosis más bajas, sugirieron la hipótesis de que podría resultar útil contrarrestar ese bloqueo con la administración de LH coincidiendo con el inicio del uso del antagonista. Para analizar si la adición de LH desde el momento de la administración del antagonista se han diseñado y publicado varios ensayos clínicos. El primero analizado (Cédrin-Durnerin 2004) incluye 218 pacientes a las que se administra una dosis única de 3 mg de cetrotorelix, momento en el que las pacientes se distribuyen de forma aleatoria en dos grupos, uno recibe una dosis de 75 UI de LH diaria y otro no. Observan unos niveles de estradiol más altos en el grupo de LH, sin cambios en el resto de parámetros analizados. El diseño de Griesinger, incluye la administración de la LH desde el inicio de la estimulación en uno de los grupos, el antagonista se administra en dosis diarias de 0,25 mg y las conclusiones son similares.

Los resultados de los ensayos clínicos que han analizado este aspecto son aparentemente discordantes. Los dos que analizan la intervención con adición de LH en ciclos para FIV/ICSI llegan a la misma conclusión. Los resultados no se ven modificados por la adición de LH. El artículo firmado por Belén Acebedo analiza el efecto de la misma intervención en ciclos de estimulación ovárica aplicados a donantes de ovocitos. Observa una mejoría significativa en los resultados en términos de tasas de implantación en aquellos casos en los que los óvulos procedían de ciclos en los que se había administrado un suplemento 75 UI de LH desde el momento de la administración del antagonista (tasas de implantación de 35%

frente a 15%). Sin embargo no observa diferencias en las tasas de embarazo por ciclo.

USO DE LA LH PARA EL DESENCADENAMIENTO DE LA OVULACIÓN

El uso sobre el que existe más acuerdo del llamado "efecto LH" se produce en el desencadenamiento de la ovulación. En este caso se usa HCG debido a su mayor disponibilidad cuando su origen era exclusivamente urinario, y a su menor precio ahora que existe tanto LH como HCG de origen urinario y recombinante. Recientemente se ha publicado una revisión sistemática de la evidencia (Alinnani 2005) que analizan estudios comparativos del uso de la HCG urinaria y recombinante y HCG urinaria versus LHr. La conclusión es que no existen diferencias en los parámetros de eficacia, tasas de embarazo por ciclo ni en las tasas de aborto. Tampoco encuentra diferencias en los parámetros de seguridad siendo las tasas de hiperestimulación ovárica similares en los ciclos con los distintos fármacos. En este momento la relación coste efectividad inclina la elección del uso hacia la HCG.

USO DE LA LH EN PACIENTES CON HIPOGONADISMO HIPOGONADOTROPO

La teoría de que ambas gonadotropinas son necesarias para la maduración folicular en estos casos se basa en la observación de que, en los ciclos estimulados exclusivamente con FSH, se obtiene menor desarrollo folicular y se producen niveles bajos de estradiol, que impiden un desarrollo sincrónico y correcto del endometrio e impiden una correcta implantación embrionaria. Además, por debajo del llamado suelo de la LH la maduración folicular tampoco tiene lugar. Esta necesidad se hace evidente cuando se compara la estimulación con FSH frente a HMG (Sohan 1991).

	Diseño	Número	Compara	Conclusión
Giessinger 2005	Randomizado	127	FSHr/FSHr+LHr	No influye
Cedrin-Durnerin 2004	Prospectivo Randomizado	218	FSHr/FSHr+LHr	No influye
Acebedo 2004	Prospectivo Randomizado	55	FSH/FSH+LHr	Mejora tasas de embarazo
Sauer 2004	Randomizado Multicéntrico	75	FSH/FSH+LHr	No influye

Solo la mitad de las pacientes tratadas con FSH pura alcanzaban la ovulación mientras que lo hacían la totalidad de las tratadas con HMG (Couzinet 1988). En estos casos el uso de la HMG se asocia frecuentemente a un crecimiento multifolicular y riesgo de hiperestimulación ovárica y de embarazo múltiple. El primer embarazo publicado con uso de LH recombinante data de 1994 (Hull).

La aparición de esta gonadotropina ha permitido el desarrollo del conocimiento del comportamiento de la respuesta folicular en condiciones diversas de adición de LH, sin la relación rígida de 1:1 de 'efecto LH' que porta la HMG.

La mayoría de las pacientes con hipogonadismo hipogonadotropo no alcanzan el nivel mínimo de LH para permitir el desarrollo folicular, En este grupo de pacientes se ha observado que las cifras de LH por debajo de 1,2 UI/l se asocian con una ausencia de maduración folicular completa sin la adición de LH.

El primer estudio aleatorizado para búsqueda de dosis se llevó a cabo por el "The European Recombinant Human LH study group" (1998). Los resultados que se publicaron concluyen que la administración de una dosis diaria de 75 UI de LH es suficiente para permitir un desarrollo folicular completo en la mayoría de las pacientes. En un ensayo multicéntrico español (Burgues 2001) llevado a cabo en 38 pacientes que se sometían a tres ciclos de estimulación ovárica consecutiva, se concluye que dosis de 150 UI de FSH con 75 UI de LH son suficientes para alcanzar el desarrollo folicular en la mayoría de las pacientes. Solo 3 ciclos requirieron un incremento de la dosis a 150 UI y 2 ciclos 225 UI de LH. Tanto el estudio europeo como el español no demostraron un incremento en los niveles plasmáticos de LH, lo que sugiere que la medición de este parámetro no refleja el efecto de la LH administrada.

USO DE LA LH EN DOSIS ALTAS PARA LA SELECCIÓN FOLICULAR EN PACIENTES CON RIESGO DE HIPERRESPUESTA

Este uso de la LH se basa en el conocimiento del hecho de que un exceso de LH puede inducir la atresia de folículos por sobrecarga de andrógenos que no pueden ser aromatizados por aquellos con menor desarrollo. Con el objeto de encontrar la dosis eficaz para alcanzar el objetivo del desarrollo folicular único Hugues emprendió un ensayo clínico multicéntrico que se llevó a cabo en pacientes con anovulación tipo II de la OMS y a las que tras 5 días de administración de 150 UI de FSH se trató mediante asignación aleatoria con placebo, 150 UI, 300 UI, 660 UI u 1325 UI de LH recombinante. Los resultados muestran que la dosis más eficaz en la selección de 1 folículo fue la de 660 UI (32%), también en este grupo se alcanzaron las tasas más altas de embarazo (28%). Las críticas a este estudio se deben a la dosis de inicio excesivamente elevadas en pacientes con estas características (150 UI de FSH) y en el uso de una pauta descendente, el grupo placebo recibe 37,5 UI desde el momento de la asignación aleatoria. Los autores proponen el uso de la LH como 'rescate' en los ciclos en los que se ha producido una hiperrespuesta, como opción frente a la cancelación. En la misma línea Loumaye realiza un ensayo en el que las dosis de LH administradas van desde el placebo a 445 UI. No encuentra diferencias probablemente por que la dosis máxima elegida no es suficiente para obtener el efecto deseado, como se puede deducir del resultado de Hugues.

La LH tiene una participación esencial en el desarrollo folicular en condiciones fisiológicas. Hasta el momento, las evidencias del beneficio del uso de la LH en la estimulación ovárica podríamos situarlas en tres niveles

RESUMEN

La LH tiene una participación esencial en el desarrollo folicular en condiciones fisiológicas. Hasta el momento, las evidencias del beneficio del uso de la LH en la estimulación ovárica podríamos situarlas en tres niveles

1. Evidencia clara y recomendación de uso
 - Desencadenamiento de la ovulación
 - Maduración folicular en hipogonadismo hipogonadotropo
 2. Alguna evidencia de mejoría de resultados, sin acuerdo acerca de la recomendación de su uso
 - Mujeres de más de 35 años en ciclo largo con agonistas
 - Mujeres con baja respuesta no prevista o en ciclos previos
 - Mujeres con FSH basal mayor de 10
 - Selección folicular 'rescate' en ciclos para crecimiento mono folicular
 3. Evidencia de que no mejora los resultados
 - Ciclos con antagonistas en población sin seleccionar
 - Ciclos con agonistas en población sin seleccionar
- Es necesario profundizar en la identificación de aquellos casos en los que el uso de la LH puede ser beneficioso, esta posible mejora de los resultados puesta de manifiesto por los trabajos que seleccionan las pacientes, indican que los esfuerzos de la investigación deben dirigirse a mejorar la evidencia en estos

grupos e identificar factores que discriminen los casos que puedan o no beneficiarse de la adición de LH, en que condiciones y en que momento del ciclo.

De otra parte debe profundizarse en el conocimiento del comportamiento de la LH y los preparados que contienen el llamado 'efecto LH', cuya cuantificación se basa en un bioensayo (Van Hell) cuyo efecto terapéutico trasladamos a la función ovárica de la LH con, como mínimo, un margen de error del 20%, y es semejante, aunque no por completo similar, a la función fisiológica de la LH sobre el ovario.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Al-Inany H, A.Aboulghar M, T.Mansour R, and Proctor M.:** Recombinant versus urinary gonadotrophins for triggering ovulation in assisted conception. *Human Reproduction*, 2005; 20,8: 2061-2073.
2. **Balasz J, Vidal E, Penarrubia J, Casamitjana R, Carmona F, Creus M, Fabregues F and Vanrell JA.:** Suppression of LH during ovarian stimulation: analysing threshold values and effects on ovarian response and the outcome of assisted reproduction in down-regulated women stimulated with recombinant FSH. *Hum Reprod*, 2001; 16: 1636-1643.
3. **Bjercke S, P.Fedorcsak, T.A° byholm, R.Storeng, G.Ertzeid, N.Oldereid, A.Omland and Tanbo T.:** IVF/ICSI outcome and serum LH concentration on day 1 of ovarian stimulation with recombinant FSH under pituitary suppression *Human Reproduction*, 2005; 20: 2441-2447.
4. **Bosch E, Escudero E, Crespo J, Simón C, Remohí J, Pellicer A.:** Serum luteinizing hormone in patients undergoing ovarian stimulation with gonadotropin-releasing hormone antagonists and recombinant follicle-stimulating hormone and its relationship with cycle outcome *Fertil Steril*, 2005; 84: 1529-32.
5. **Burgues S.:** The effectiveness and safety of recombinant human LH to support follicular development induced by recombinant FSH in WHO group I anovulation: evidence from a multicentre study in Spain. *Human Reproduction*, 2001; 16: 2525-2532.
6. **The European recombinant human LH study group:** Recombinant Human Luteinizing Hormone (LH) to Support Recombinant Human Follicle-Stimulating Hormone (FSH)-Induced Follicular Development in LH- and FSH-Deficient Anovulatory Women: A Dose-Finding Study *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 1998; 83, 5
7. **Cédrin-Durnerin I, Grange-Dujardin D, Laffy A, Parneix I, Massin N, Galey J, Théron L, Wolf JP, Conord C, Clément J, Jayot S and Hugues JN.:** Recombinant human LH supplementation during GnRH antagonist administration in IVF/ICSI cycles: a prospective randomized study *Human Reproduction*, 2004; 19, 9: 1979-1984.
8. **Couzinet B, Lestrat N, Brailly S et al.:** Stimulation of ovarian follicular maturation with pure follicle stimulating hormone in women with gonadotropic deficiency. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 1988; 66: 552-556.
9. **Chappel SC and Howles CM.:** Re-evaluation of the roles of luteinizing hormone and follicle stimulating hormone and follicle stimulating hormone in the ovulatory process. *Hum Reprod*, 1991; 6:1206-1212.
10. **Daya S, Gunby J, Hughes EG, Collins JA and Sagle MA.:** Follicle stimulating hormone versus human menopausal gonadotrophin for in vitro fertilization cycles: a meta-analysis. *Fertil Steril*, 1995; 64: 347-354.
11. **De Placido G, Alviggi C, Mollo A, Strina I, Ranieri A, Alviggi E, Wilding M, Varricchio MT, Borrelli AL, Conforti S.:** Effects of recombinant LH (rLH) supplementation during controlled ovarian hyperstimulation (COH) in normogonadotrophic women with an initial inadequate response to recombinant FSH (rFSH) after pituitary downregulation. *Clin Endocrinol*, 2004; 60(5): 637-43.
12. **De Placido G, Alviggi C, Perino A, Strina I, Lisi F, Fasolino A, De Palo R, Ranieri A, Colacurci N, Mollo A.:** Italian Collaborative Group on Recombinant Human Luteinizing Hormone Recombinant human LH supplementation versus recombinant human FSH (rFSH) step-up protocol during controlled ovarian stimulation in normogonadotrophic women with initial inadequate ovarian response to rFSH. A multicentre, prospective, randomized controlled trial. *Hum Reprod*. Feb, 2005; 20(2): 390-6.
13. **P. Drakakis, D. Loutradis K, Kallianidis A, Liapi A, Milingos S, Makrigiannakis A, Dionyssiou-Asteriou A, Michalas S.:** Small doses of LH activity are needed early in ovarian stimulation for better quality oocytes in IVF-ET *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 2005; 121: 77-80.
14. **Hull M, Corrigan E, Piazzzi A, Loumaye E.:** Recombinant human luteinizing hormone: an effective new gonadotropin preparation. *Lancet*, 1994; 344: 344-335.
15. **Humaidan P, Bungum L, Bungum M and Yding Andersen C.:** Ovarian response and pregnancy outcome related to mid-follicular LH levels in women undergoing assisted reproduction with GnRH agonist down-regulation and recombinant FSH stimulation. *Hum Reprod*, 2002; 8: 2016-2021.
16. **Humaidan P, Bungum L, Bungum M and Yding Andersen C.:** Effects of recombinant LH supplementation in women undergoing assisted reproduction with GnRH agonist down-regulation and stimulation with

recombinant FSDH: an opening study. *RBM online*, 2004; 6: 635-43.

17. **Kolbianakis EM, Collins J, Tarlatzis B, Papanikolaou E, Devroey P.:** Are endogenous levels during ovarian stimulation for IVF using GnRH analogues associated with the probability of ongoing pregnancy? A systematic review. *Hum Rep Upd*, 2006; 12: 3-12.
18. **Marrs R, Meldrum D, Muasher S, Schoolcraft W, Werlin L, Kelly E.:** Randomized trial to compare the effect of recombinant human FSH (follitro`pin alfa) with or without recombinant human LH in women undergoing assisted reproduction treatment. *RBM on line*, 2003; 8: 175-182
19. **Lisi F, Rinaldi L, Fishel S et al.:** Use of recombinant FSH and recombinant LH in multiple follicular stimulation for IVF: a preliminary study. *Reproductive BioMedicine Online*, 2001; 3: 190-194.
20. **Lisi F, Rinaldi L, Fishel S et al.:** Use of recombinant LH in a group of unselected IVF patients. *Reproductive BioMedicine Online*, 2002; 5: 104-108.
21. **Franco Lisi, Leonardo Rinaldi, Simon Fishel, Donatella Caserta, Rosella Lisi, and Alison Campbell.:** Evaluation of two doses of recombinant luteinizing-hormone supplementation in an unselected group of women undergoing follicular stimulation for in vitro fertilization *Fertility and Sterility*, 2005; Vol. 83, No. 2.
22. **Loumaye E, Engrand P, Howles CM and O`dea L.:** Assessment of the role of serum luteinizing hormone and estradiol response to follicle stimulating hormone on in vitro fertilization treatment outcome. *Fertil Steril*, 1997; 67: 889-899.
23. **Sauer MV, Thornton MH, Schoolcraft W, Frishman GN.:** Comparative efficacy and safety of cetrorelix with or without mid-cycle recombinant LH and euprolide acetate for inhibition of premature LH surges in assisted reproduction *Reproductive BioMedicine Online*, 2004; Vol. 9, No. 5. 487-493.
24. **Su-ying Liu, Jin-lan Han, Xian-dong Peng, Xi Dong, Jun Xu, Jing-ming Yan.:** Effect of midfollicular luteinizing hormone levels on ovarian response and pregnancy outcome in patients undergoing in vitro fertilization in a short-term protocol *Fertility and Sterility*, 2005; Vol. 83, No. 4.
25. **Joana Peñarrubia, Francisco Fabregues, Montserrat Creus, Dolors Manau, Roser Casamitjana, Marta Guimera, Francisco Carmona, Juan A. Vanrell and Juan Balasch.:** LH serum levels during ovarian stimulation as predictors of ovarian response and assisted reproduction outcome in down-regulated women stimulated with recombinant FSH *Human Reproduction*, 2003; Vol.18, No.12 pp. 2689-2697.
26. **Shoham Z, Balen A, Patel A, Jacob H.:** Results of ovulation induction using human menopausal gonadotropin or purified follicle stimulating hormone in hypogonadotropic hypogonadism patients. *Fertility and Sterility*, 1991; 56: 1048-1053.
27. **Vendola K, Zou J, WangJ, Famuyiwa OA, Bierge M, Bondy CA.:** Androgens promote oocyte Insulin-like factor I expression and initiation of follicle development in the primate ovary. *Biol Reprod*, 1999; 61: 353-57.
28. **Westergaard LG, Erb K, Laursen SB, Rasmussen PE and Rex S.:** The effect of human menopausal gonadotrophin and highly purified urinederived follicle stimulating hormone on the outcome of in-vitro fertilization in down-regulated normogonadotrophic women. *Hum Reprod*, 1996; 11: 1209-1213.

Los agonistas de la dopamina (Cabergolina) previenen el síndrome de hiperestimulación ovárica moderado-severo en pacientes de riesgo

Claudio Álvarez y Antonio Pellicer

Instituto Valenciano de Infertilidad (IVI), Universidad de Valencia.

El síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO) es una respuesta suprafisiológica y una rara complicación iatrogénica secundaria a la estimulación con gonadotropinas en una inducción de ovulación, que en general ocurre en la fase lútea o en el embarazo precoz.

Su forma severa se presenta en el 0,5 a 5%, con un potencial desenlace fatal y por enmarcarse dentro de un tratamiento no vital, el SHO representa un serio problema para el especialista (1).

A través de los años el SHO ha sido prevenido y tratado en forma empírica, ya que su fisiopatología sigue siendo no conocida del todo, sin embargo el fenómeno básico es el aumento de la permeabilidad vascular (PV).

El SHO raramente se desencadena si no se administra la hCG para la luteinización y maduración folicular final. Ahora bien, el aumento de la PV es desencadenada por la secreción de sustancias vasoactivas en respuesta a la hCG (1).

El factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), potente citoquina que participa en la regulación de la reparación y remodelación vascular, es el más importante mediador de la angiogénesis ovárica dependiente de la hCG. Es conocido que los niveles de VEGF se incrementan después de la administración de la hCG, así como también los niveles de su RNAm en las células de la granulosa (2) y la secreción de proteínas en suero, plasma y líquido peritoneal (3). El VEGF no solo estimula el desarrollo de nuevos vasos sanguíneos en el ovario si no que también induce un incremento de la PV. Las acciones del VEGF son mediadas a través de la unión a un receptor de membrana tirosin-kinasa, R1VEGF (flt-1) o R2VEGF (KDR/flt-1). El aumento de la PV se debe a la unión del VEGF a su R2VEGF (4, 5).

Empleando modelos animales, hemos demostrado que el incremento de la PV es asociado con el incre-

mento de la expresión ovárica de VEGF y su receptor (2) (R2VEGF). La unión del VEGF al R2VEGF produce disrupción de las uniones celulares e incremento de la PV. Además, administrando un anticuerpo específico (SU5416) al R2VEGF, se revierte el aumento de la PV44,5. Lo anterior, no solo demostró el rol del VEGF en el SHO, si no que también aportó señales de una nueva estrategia en la prevención y tratamiento del SHO. Lamentablemente el SU5416 se asocia a severos efectos adversos (vómitos explosivos, cefalea, tromboembolismo, etc) y por su acción antiangiogénica, su uso clínico podría producir interferencia en el proceso de implantación embrionaria y desarrollo gestacional temprano.

En otra línea, al estudiar el perfil de expresión de genes en ovarios de ratas normales e hiperestimuladas, observamos genes que se expresaban al alza y otros a la baja en condiciones de SHO. En este estudio encontramos que el gen que codifica la enzima tirosina hidroxilasa (enzima crítica en la síntesis de Dopamina) se expresa a la baja hasta 8 veces bajo su valor en condiciones normales (6). Además, encontramos en la literatura que la Dopamina y sus agonistas (DA) inhiben selectivamente la angiogénesis y la PV mediada por el VEGF. La dopamina a través de su receptor D2 induce endocitosis del R2VEGF, el cual es crítico para promover la angiogénesis, previniendo la unión del VEGF, su fosforilación y la consecuente detención de su señal (7).

Por lo anterior, pensamos que los DA podrían revertir la PV en animales con SHO por inhibición de la fosforilación del R2VEGF. Para esto diseñamos experimentos usando Bromocriptina (Br2) y Cabergolina (Cb2), donde se demostró que la Br2 y la Cb2 son efectivos en disminuir el incremento de la PV inducida por la hCG (8).

Basado en la experiencia acumulada en animales,

el uso clínico de la Cb2 podría prevenir el SHO en mujeres con riesgo durante una hiperestimulación ovárica controlada (HOC). Para esto, diseñamos un estudio prospectivo, randomizado, doble ciego, placebo-control. Dentro del programa de donación de ovocitos del IVI Valencia, 54 pacientes donantes de ovocitos fueron reclutadas. Se sometieron a una HOC con un protocolo largo de agonista de la GnRH a dosis diaria, iniciado en la fase lútea del ciclo anterior. Luego de la menstruación y demostrar el reposo ovárico con una ecografía iniciamos la estimulación ovárica con FSH-r, LH-r o HMG en dosis basadas en el índice de masa corporal (IMC), número de folículos antrales y antecedentes personales de la paciente. La hCG-r fue administrada cuando al menos 3 folículos tenían un diámetro medio >18 mm. La aspiración folicular se realizó 36 h después de la inyección de hCG.

El riesgo para SHO se definió como la presencia de 20-30 folículos >12 mm y >20 ovocitos aspirados. El día de la hCG, las pacientes fueron randomizadas en dos grupos. El grupo de estudio (n=29) recibió Cabergolina 0,5 mg, 1 comprimido día, el grupo control (n=25) recibió 1 comprimido día de placebo, ambos fueron administrados por 8 días. Las mujeres fueron monitorizadas cada 48 horas desde el día de la hCG (Día 0) hasta el Día 8. La presencia de ascitis fue definida como un bolsillo de líquido peritoneal en la pelvis >9 cm² (valor 3 veces la media en pacientes sin riesgo de SHO en día 4), medidos por ecografía vaginal en posición de litotomía (tronco en 45° respecto a la horizontal). La ecografía fue realizada por un solo investigador que desconocía el grupo al que pertenecía la paciente. Se evaluaron parámetros de laboratorio para medir hemoconcentración, función renal, función hepática, balance electrolítico y prolactina.

El principal objetivo fue evaluar la incidencia de SHO moderado y severo (9), los cambios en el líquido ascítico y cambios bioquímicos.

Como resultados, no encontramos diferencias en edad, IMC, N° ovocitos aspirados y estradiol plasmático en el día de la hCG. Hubo diferencias significativas en los valores de hematocrito y hemoglobina en los días 4 y 6 post hCG, ambos valores, mayores para el grupo placebo. No observamos diferencias importantes en cuanto a función renal, hepática y electrolitos plasmáticos entre ambos grupos. El área de líquido ascítico fue superior en el grupo placebo en los días 4 y 6 post hCG. La incidencia de SHO moderado fue inferior en el grupo de Cb2 y el SHO severo fue superior en el grupo placebo pero sin diferencia significativa.

Nuestros resultados nos permiten concluir que la Cb2 es efectiva en reducir la hemoconcentración y la formación de ascitis en mujeres de riesgo de SHO

precoz. Estos hallazgos aportan una primera aproximación fisiopatológica en la prevención del SHO.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Delvingne A, Rozenberg S.:** Epidemiology and prevention of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS): a review. *Hum Reprod Update* 2002; Vol.8, 6: 559-77.
2. **Pellicer A, Albert C, Mercader A, Bonilla-Musoles F, Remohí, Simón C.:** The pathogenesis of ovarian hyperstimulation syndrome: in vivo studies investigating the role of interleukin (IL)-1 β , IL-6 and vascular endothelial growth factor (VEGF). *Fertil Steril* 1999; 7: 482-89.
3. **Chen CD, Wu MY, Chen SU, Ho HN, Yang YS.:** Prognostic importance of serial cytokine changes in ascites and pleural effusion in women with severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 1999; 72: 286-92.
4. **Gómez R, Simón C, Remohí J, Pellicer A.:** Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2 Activation Induces Vascular Permeability in Hyperstimulated Rats, and this Effect Is Prevented by Receptor Blockade. *Endocrinology* 2002; 143(11): 4339-48.
5. **Gómez R, Gonzalez M, Sanchez-Criado J, Simón C, Pellicer A.:** Dopamine (D) agonists (A) administration diminishes increased vascular permeability (iVP) in ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) animals by blocking vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR2) phosphorylation (ph). 60th Annual Meeting ASRM 2004. Philadelphia, USA.
6. **Gómez R, González M, Simón C, Remohí J, Pellicer A.:** Tyroxine hydroxylase (TH) downregulation in hyperstimulated ovaries reveals the dopamine agonist bromocriptine (Br2) as an effective and specific method to block increased vascular permeability (VP) in OHSS. 59th Annual Meeting ASRM 2003. San Antonio (TX) USA.
7. **Basu S, Nagy J, Pal S, Vasile E, Eckelhoefer I, Bliss S, Manseau E, Dasgupta P, Dvorak H, Mukhopadhyay D.:** The neurotransmitter dopamine inhibits angiogenesis induced by vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor. *Nature Medicine* 2001; 7(5): 569-74.
8. **Gómez R, González M, Alonso-Muriel I, Novella E, Sánchez-Criado J, Remohí J, Simón C, Pellicer A.:** Cabergoline administration is a non-toxic and specific approach to effectively treat OHSS. *J Soc Gynecol Invest.* 52TH Annual Meeting 2005. Los Angeles, California, USA.
9. **Golan A, Ron-el R, Herman A, Soffer Y, Weinraub Z, Caspi E.:** Ovarian hyperstimulation syndrome: an update review. *Obstet Gynecol Surv* 1989; 44: 430-40.