

Variaciones en el VEGF en ciclos de estimulación ovárica usando el antagonista de la GnRH

Requena A, García-Velasco JA, Villasante A, Anarte C, Aragonés M, Scheffer R, Pellicer A.

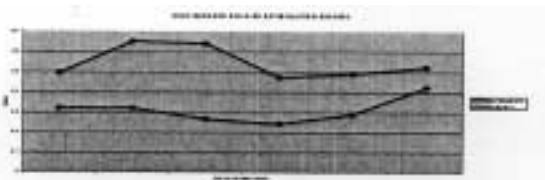
IVI-Madrid.

Antecedentes: El VEGF es un factor de crecimiento producido y liberado por las células de granulosa, de la teca interna y las células endoteliales. Dentro de sus acciones se encuentra la de incrementar la permeabilidad vascular y se ha relacionado con la respuesta ovárica a los tratamientos de estimulación.

Objetivo: Estudiar las variaciones del VEGF en suero a lo largo de un ciclo de estimulación ovárica en el que se han usado en antagonista de la GnRH comparándolo con ciclos en los que se usó el análogo de la GnRH.

Material y Métodos: Estudio prospectivo en el que se analizan 10 ciclos en los que se empleó un antagonista de la GnRH (Cetrotide 0,25®) comenzando el día 6º de la estimulación ovárica frente a 10 casos control los que se usó un agonista (Decapeptyl 0,25®) en un protocolo largo de estimulación. Como gonadotropina se usó FSHr (Gonal F®) a una dosis inicial de 225 UI que se disminuyó a 150 UI desde el 4º día de estimulación.

Resultados: Se observaron diferencias estadísticamente significativas en día 5º y 6º de estimulación (0,65 vs 0,31 pg/ml en el 5º día; 0,64 vs 0,26 pg/ml en el 6º día). A partir del 7º día y coincidiendo con el descenso de los niveles de estradiol en el grupo del antagonista, se observó un descenso paralelo de los niveles de VEGF (0,47 vs 0,24 pg/ml). Estos niveles tienden a ser parecidos en ambos tratamientos el día de la captación ovocitaria (0,52 vs 0,42 pg/ml).



Conclusiones: Aunque se observa una disminución en los valores de VEGF con el uso de antagonistas, en general los niveles observados son mayores que los observados en un ciclo con agonista. Esto podría justificar su empleo en pacientes con baja respuesta a la estimulación ovárica.

Liberación endógena periovulatoria de FSH y LH tras administrar leuprorelina vs triptorelina en inducción de la ovulación

Gil-Raga F, Monzó A, Herrero G, Antonio P, Gil-Gracia F, Romeu A.

Servicio de Ginecología
(Reproducción Humana) Hospital
Univ. La Fe. Valencia.

Objetivos: Analizar la liberación hipofisaria de FSH y LH, inducida por la administración de dos agonistas de GnRH (aGnRH), leuprorelina (L) y triptorelina (T), en mujeres pretratadas con FSH recombinante. Determinar la capacidad del pico de gonadotropinas obtenido para luteinizar el folículo. Comparar la potencia estimulante de las dosis administradas de ambas sustancias valorando la descarga de FSH y LH. Comparar la fase lútea de ambos grupos.

Métodos: 23 pacientes estériles de 33,7±3,3 años de edad estimuladas con 50-75UI/día de FSH recombinante para inseminación intrauterina, hasta obtener 1-3 folículos ≥18 mm. Desencadenamiento de la ovulación con dosis de 0,3 mg de L (n=7) o dos dosis de 0,1 mg de T (n=15) separadas por un intervalo de doce horas. Determinación de FSH y LH previa y a las 8, 12, 16 y 32 horas de la primera dosis de aGnRH. Determinación de estradiol y progesterona los días -1, 0 (día de inseminación), +2, +5 y +8. Comparación de ambos grupos mediante el test de U Mann-Whitney.

Resultados: Los dos grupos fueron comparables en cuanto a edad, IMC, años de esterilidad, características de la estimulación (días de estimulación y dosis de FSH, niveles de estradiol durante el estímulo, número y diámetro folicular) y niveles de estradiol y progesterona y duración de la fase lútea. Los niveles de FSH a las 8 horas (43,9±4,6 UI/1 p=0,001) de la administración de T fueron significativamente superiores a los observados con la administración de L. Los niveles de LH a las 8 horas de la administración de T fueron significativamente superiores cuando se compararon con L (163,8±62,8 UI/1 vs 102,9±47,4 UI/1 p=0,02). Se consiguió tres gestaciones en el grupo T y 2 gestaciones en el grupo L.

Conclusiones: Ambos análogos son eficaces en la inducción de un pico endógeno preovulatorio de gonadotropinas en pacientes previamente tratadas con

FSH. En las pacientes tratadas con triptorelina se produjo mayor liberación de gonadotrofinas.

Inducción de la ovulación y óxido nítrico

Carrera J*, Estrada I**, Gutiérrez C***, Matute L*, Vendrell Y***, Soriano P****, Pastor R*****.

*Servei Ginecologia i Obstetricia.
Servei Neurofisiologia. *Unitat de Recerca. ****Servei Anàlisis Clíniques. Hospital de Figueres.
*****Servei Anàlisis Clíniques. Hospital Universitari Joan XXIII. Tarragona.

Introducción: El óxido nítrico (NO) es un radical libre que se produce de manera generalizada en el organismo. Desde la demostración de la existencia del sistema productor de NO a nivel ovárico, se le considera como uno de los factores más importantes de regulación del proceso ovulatorio. La acción del NO sobre este proceso parece depender de su concentración, así en estudios experimentales en animales se ha visto que altas concentraciones ejercen un efecto inhibitorio sobre la síntesis de estradiol y la ovulación, a la vez que unas mínimas concentraciones de NO se requieren para conseguir una ovulación eficaz. El objetivo de este trabajo es analizar en mujeres con esterilidad primaria y en tratamiento inductor de la ovulación para programa de FIV, los niveles sanguíneos de óxido nítrico pre y durante el tratamiento con agentes inductores de la ovulación, así como analizar los posibles efectos de las variaciones de este parámetro sobre los niveles de estradiol, nº de ovocitos recuperados, nº de embriones obtenidos y tasa de gestación.

Material y Métodos: Se han estudiado 25 parejas con diagnóstico de esterilidad primaria debida a factor masculino y en tratamiento para FIV-TE. El estudio de esterilidad practicado a laspacientes fue normal. Se ha utilizado como tratamiento inductor de la ovulación análogos GnRh pauta larga y FSH recombinante (PUREGON). La ovulación se indujo con HcG 10.000 unidades y el soporte de fase lútea con progesterona natural. La transferencia embrionaria se realizaba al día +3. Se ha determinado en suero de

las pacientes los niveles de NO antes de iniciar el tratamiento, durante la fase de tratamiento con análogos y la fase de tratamiento con gonadotrofinas. Las determinaciones de NO se han realizado mediante ELISA.

Resultados: El análisis inicial de los datos ha permitido distinguir tres grupos de pacientes que presentan diferencias significativas en los niveles de NO. Un primer grupo lo formarían laspacientes de < 38 años, con una óptima respuesta al tratamiento inductor de la ovulación y con la mayor tasa de gestación, éste sería el grupo con menores niveles de NO. Un segundo grupo estaría constituido por pacientes con baja respuesta al tratamiento (<5 folículos y niveles de E2 < 500), que presentaría un incremento significativo de los niveles de NO. Un tercer grupo lo formarían las pacientes > de 38 años, que son las que presentan unos mayores niveles de NO. También se ha observado una correlación significativa entre la existencia de menores niveles de NO y mejor calidad embrionaria.

Conclusiones: Los niveles de NO parecen tener una relación significativa en la respuesta a los tratamientos inductores de la ovulación y en la calidad embrionaria.

¿Juega un papel el hiperinsulinismo en el riesgo de aborto espontáneo en pacientes con síndrome de ovario poliquístico?

Monzó A, García-Gimeno T, Rodríguez-Ineba A, Rubio JM, Díez E, Romeu A

Servicio de Ginecología.
(Reproducción Humana). Hospital Universitario la Fe. Valencia.

Objetivos: Estudiar las características clínicas y el perfil hormonal de pacientes con diagnóstico de anovulación crónica hiperandrogénica (síndrome de ovario poliquístico-SOP) que gestan tras un tratamiento de reproducción asistida. Analizar la insulinosecreción estimulada por la glucosa en las mujeres que gestaron y determinar si existen diferencias entre abortos y gestaciones evolutivas.

Métodos: 55 pacientes estériles de 32.8±2,9 años de edad, con SOP como diagnóstico principal de esterili-

dad, que gestaron tras un tratamiento de reproducción asistida entre enero-2000 y marzo-2001 (15 IA, 9 FIV y 31 ICSI). Estudio clínico, determinaciones hormonales basales de FSH, LH, PRL y SHBG, test de ACTH, test de GnRH, sobrecarga oral con 100 g de glucosa, determinando niveles de glucosa e insulina. Comparación de pacientes que presentaron aborto espontáneo (n=16) con aquellas en que la gestación evolucionó normalmente (n=39) mediante el test de U Mann-Withney.

Resultados: Los dos grupos fueron comparables en cuanto a edad, IMC, años de esterilidad, edad y diagnóstico de sus parejas, niveles hormonales basales, y niveles basales y estimulados con ACTH de 17-OH-progesterona y SDHEA. Las pacientes que abortaron presentaron niveles significativamente menores de FSH y LH tras estímulo con 10 mcg de GnRH, y niveles significativamente superiores de insulina basal (16.9(13.2 mcUI/mL vs 34.5(13.3 mcUI/mL, p=0.02).

	Ins 0	Ins 15	Ins 30	Ins 60	Ins 120	Ins 180
Gestación evolutiva	16,9±13,2	102±54	149±73	153±75	118±74	81±53
Aborto	34,5±13,3	119±47	178±62	206±74	186±97	136±98

Conclusiones: El hiperinsulinismo se relaciona con abortos espontáneos tras tratamientos de reproducción asistida en pacientes con anovulación crónica hiperandrogénica

Significado de los ovarios de aspecto poliquístico y de aspecto normal en pacientes con SDR poliquístico ovárico

Valdés I, González J, Matallín P, Castellón G, Bovea C, Román MJ, Diéguez F.

Hospital General Universitario de Alicante.

El síndrome de ovario poliquístico (PCOS) es muy heterogéneo en sus manifestaciones, que pueden ir desde el acné y ligero hirsutismo, hasta el clásico SDR de Stein-Leventhal. Como consecuencia de ello, todavía no hay consenso acerca de los criterios diagnósticos y, en este aspecto, no todos los investigadores coinciden en la necesidad de la presencia de ovarios de aspecto poliquístico.

Objetivo: Evaluar qué parámetros hormonales y metabólicos están más frecuentemente asociados a la presencia de ovarios de aspecto poliquístico (OPQ), en comparación con ovarios de aspecto normal (ON), por ecografía transvaginal, en pacientes con síndrome de ovario poliquístico (PCOS).

Material y Métodos: En el estudio participan 20 pacientes con PCOS. El diagnóstico de PCOS se basó en la presencia de hiperandrogenismo y oligomenorrea y/o anovulación crónica. A todas las pacientes se les realizó una ecografía transvaginal, y fueron sometidas a una sobrecarga oral con 75 gr de glucosa determinándose los niveles séricos de glucosa e insulina basales, así como a los 30, 60, 90 y 120 minutos. Al mismo tiempo, y antes comenzar la sobrecarga, se determinaron los niveles séricos basales de FSH, LH, testosterona, DHEAS, androstendiona, SHBG, 3- α -glucoronido, 17-OH-Progesterona, PRL, TSH, IGF-I e IGFBP-3.

Resultados: Los resultados preliminares de las 10 primeras pacientes, 7 con OPQ y 3 con ON, fueron los siguientes: No encontramos diferencias entre ambos grupos en edad media (31,6 vs 27,3) e índice de masa corporal (IMC) (30,4 kg/m² vs 30,1 kg/m²). No encontramos diferencias estadísticamente significativas en los dos grupos en los niveles séricos de FSH, LH, testosterona, DHEAS, androstendiona, SHBG, 3- α -glucoronido, 17-OHP, IGF-1 e IGFBP-3. Tampoco encontramos diferencias entre ambos grupos en el comportamiento de la glucosa, insulina y cociente glucosa/insulina basal tras la sobrecarga oral de 75g de glucosa, aunque las pacientes del grupo de OPQ tenían niveles más elevados de insulina basal (21,9±12,06 vs 14,5±8,81 μ UI/ml) y un cociente glucosa/insulina basal más bajo (4,8±1,82 vs 8,24±4,7).

Conclusiones: No hemos encontrado una asociación significativa entre los parámetros bioquímicos y hormonales estudiados, y el hallazgo de ovarios de aspecto poliquístico, en comparación con los ovarios de aspecto normal, en mujeres con PCOS.

Apuntes para la universalización del diagnóstico genético preimplantación

Hernández ER, Martínez-Burgos M, Andrés Criado L, Sánchez de Burgos M, Cuadros Fernández JM, Peramo B, Ricciarelli E

Clínica de Medicina de la Reproducción y Ginecología "Madrid-FIV". Madrid

El Diagnóstico Genético Preimplantación (DGP), permite identificar alteraciones cromosómicas en blastómeras embrionarias por medio de la FISH. En la actualidad, y desde el origen de esta técnica, han sido los embriólogos los que la han venido desarrollando e incorporándola a los laboratorios de FIV. Sin embargo, llevar a buen término un DGP, supone la necesidad de aprender a biopsiar embriones, hibridar, identificar las alteraciones cromosómicas y a que la clínica de FIV emita un diagnóstico de la alteración genética. Lo primero (biopsiar) es fácil, para un embriólogo experto. Lo segundo (hibridar) requiere conocimientos en biología molecular y disponer de una gran variedad de sondas (gran inversión económica). Lo tercero (identificación), requiere una gran experiencia para identificar las señales generadas en la FISH, sin equivocarse. Lo último (diagnóstico) está fuera de nuestra competencia y conocimientos genéticos.

En Madrid-FIV, hemos asumido que es tal la variedad y la complejidad de las enfermedades genéticas, que hace literalmente imposible que podamos mantener la maquinaria del DGP siempre a punto. Por otra parte, pensamos que descartar una aberración cromosómica en DGP es un acto de máxima responsabilidad que obliga, a quien la realiza, a poseer una gran experiencia en la FISH. Más aún, somos de la opinión de que el diagnóstico emitido y que se le dé a la pareja, debe estar rubricado por un especialista en genética, y no por el embriólogo del laboratorio.

El propósito de esta comunicación, es re-definir la práctica del DGP en las clínicas de FIV. Enfatizar y enmarcar la importante labor del embriólogo, que es asegurar la supervivencia del embrión, y no la FISH. Proponer la vía que en un futuro hará posible la universalización del DGP en la mayoría de las clínicas de FIV, sin tener que realizar una inversión económica importante.

Diagnóstico preimplantacional en embriones humanos criopreservados

Calafell JM, Vidal E, Cívico S,
Creus M, Fábregues F, Santaló J¹,
Balasch J, Vanrell JA

Unidad de Reproducción Asistida.
ICGON. Hospital Clínic. Barcelona.
¹Dep. Biología Celular. U.A.B.

Objetivo: Valorar los resultados obtenidos en dife-

rentes ciclos de diagnóstico preimplantacional en los que se han utilizado embriones criopreservados (1 ciclo) o conjuntamente con embriones no criopreservados procedentes de un segundo ciclo de FIV (3 ciclos).

Métodos: Se han estudiado 15 embriones criopreservados y 11 embriones no criopreservados procedentes de 4 parejas. Se realizó un estudio de aneuploidias en 3 parejas y un estudio para la translocación robertsoniana (13, 14) en la pareja restante.

Resultados: A) Embriones criopreservados: se diagnosticaron 7 embriones viables (46%), 3 no viables (20%) y 5 no informativos (33%). B) Embriones no criopreservados: se obtuvieron 15 ovocitos maduros de los que se fecundaron 12 (80%) y se realizaron 11 biopsias. Se diagnosticaron 4 viables (36%), 3 no viables (27%) y 4 no informativos (36%). Todos los ciclos tuvieron transferencia, dos con ambos tipos de embriones, uno con sólo embriones no criopreservados y otro con sólo embriones descongelados en el que se obtuvo una gestación evolutiva.

Conclusiones: La criopreservación embrionaria en casos de bajo número de embriones disponibles es una alternativa válida para el DPI.

Estudio genético de los niños nacidos mediante ICSI

Buch B, Martínez Moya M, Segura C, Lara M, Flores A, García-España JF, Sánchez JJ

URE Centro Gutenberg, Málaga

Introducción: La ICSI ha sido una de las TRA que más polémica ha creado por lo que está indicado un estrecho seguimiento de las gestaciones que se consigan mediante esta técnica. En febrero de 2002 ha comenzado, en nuestro centro, un programa de seguimiento de los niños nacidos por ICSI.

Objetivos: Seguimiento de las gestaciones conseguidas mediante ICSI, entre noviembre de 1995 y diciembre de 2000, en la Unidad de Reproducción del Centro Gutenberg. Estudio de la fórmula cromosómica de cada niño y de microdeleciones del cromosoma Y de los niños varones.

Material y métodos: Se han recopilado los datos necesarios de las historias clínicas de las pacientes o mediante entrevista telefónica. A los niños cuyas madres

no se sometieron a amniocentesis se les realiza un cariotipo de alta resolución y a todos los niños varones un estudio de microdeleciones del cromosoma Y.

Resultados: Durante el periodo antes mencionado se han conseguido 235 gestaciones clínicas mediante ICSI, de las cuales, 171 han llegado a término (72.76%), naciendo un total de 229 niños, 5 de estas parejas no están disponibles para el estudio por lo que contaremos con los datos de 166 gestaciones: 211 niños nacidos, 114 varones y 107 mujeres en 117 partos únicos, 43 dobles y 6 triples. Se dispone del cariotipo (por amniocentesis) de 63 niños (28.51%), habiéndose encontrado anomalías en 4 niños (6.35%). Se presentan los datos preliminares del estudio genético (cariotipo y estudio de microdeleciones del cromosoma Y de los varones) de los niños de ICSI.

Conclusiones: La aparición de anomalías cromosómicas de novo en nuestro centro se ajustan a los datos presentados en la literatura. La ICSI no favorece la aparición de microdeleciones en el cromosoma Y de los niños varones nacidos gracias a esta técnica. Esta indicado el estudio y consejo genético las parejas que se someten a ICSI.

Estudio de cromosomas meióticos y FISH en espermatozoides

Marina S¹, Marina F¹, Fernández S¹,
Alcolea R¹, Egozcue S², Blanco J³,
Vidal F³, Egozcue J^{2,3}

¹Instituto de Reproducción CEFER.

²Servicio de Genética. Barcelona.

³Universidad Autónoma de
Barcelona

Introducción: La andrología dispone en la actualidad de dos útiles herramientas para diagnosticar a los pacientes con oligoastenozoospermia (OA) severa. El estudio con sondas fluorescentes (FISH) en espermatozoides actualmente nos permite ver una muestra del producto de la meiosis (en la clínica práctica se estudian los cromosomas X, Y, 13, 18 y 21) y se trata de una prueba no invasiva. El estudio de cromosomas meióticos nos muestra el comportamiento de todos los cromosomas. En este trabajo presentamos 8 casos en los que se correlacionan las dos pruebas diagnósticas. Siete consultaron por esterilidad primaria y 1 por infertilidad (3 abortos)

Material y métodos: La biopsia testicular se hizo a cielo abierto, con anestesia local y ambulatoria. Se

tomó fragmento de pulpa testicular para estudio anatómopatológico (se fijó en líquido Bouin); y para estudio citogenético de la meiosis (en solución hipotónica de ClK 0,075M) Para la FISH, las muestras se fijaron y se incubaron a 37°C en la solución de descondensación (5mM 1,4-Ditiotreitol) durante 8-15 minutos. Se usaron sondas Vysis®. Se aplicó Triple FISH: sondas centroméricas cr. X, cr. Y y cr.18; y FISH Dual: Sondas locus específicas cr. 13 y cr. 21.

Resultados: Los 7 pacientes que consultaron por esterilidad tenían OAT. En uno, el cariotipo dió 45 XY, der(13;14) (q10;q10) La meiosis en biopsia dio alterada en 6 y normal en 1. La FISH en espermatozoides mostró alteraciones en 5 pacientes (2 disomías gonosómicas; 1 disomías del cr. 13; 1 disomías del cr. 21 más diploidías; y 1 disomías de los cr. 13, 18 y 21) En dos la FISH fue normal. Uno corresponde al caso de meiosis normal y uno mostraba metafases I con univalentes. El paciente que consultó por infertilidad tenía el semen normal, el cariotipo normal y la meiosis mostró desinapsis de 2-3 bivalentes. La FISH en este último paciente fue normal.

Conclusiones: La correlación entre ambas pruebas ha sido del 87,5% (7/8) Un caso dio alteración meiótica y FISH normal (12,5%) No se ha observado ningún caso de meiosis normal y FISH alterado. La FISH se perfila como una técnica poco invasiva y útil a la hora de sugerir el diagnóstico genético preimplantacional del embrión en un programa de FIV-ICSI. La disponibilidad clínica de estudiar más cromosomas mediante FISH aumentará la fiabilidad de esta prueba.

Evaluación de la fragmentación nuclear en espermatozoides por tunel

Bodelon OG, Martínez-Burgos M,
Andrés Criado L, Sánchez de
Burgos M, Cuadros Fernández JM,
Ricciarelli E, Hernández ER

Clínica de Medicina de la
Reproducción "Madrid-FIV".
Madrid

La muerte celular programada (apoptosis) es la manera que los organismos eucariotes tienen para prescindir de aquellas células que no son necesarias (morfogénesis) o que son perjudiciales (tumores). Contrariamente a la inflamación, la apoptosis es un proceso fisiológico perfectamente orquestado a nivel transcripcional y que conlleva la activación de una

serie de genes protectores o inductores de muerte celular. Durante la apoptosis, se producen roturas en la cadena del ADN que se pueden evidenciar por medio de la reacción de la enzima deoxinucleotidil terminal transferasa (TdT) que incorpora nucleótidos marcados a las roturas del ADN (TUNEL). Aunque es conocido que el ADN de los espermatozoides está muy compactado y se le supone escasa o nula actividad transcripcional, nos propusimos determinar la presencia de apoptosis en los espermatozoides de pacientes normo y oligozoospermicos (según los parámetros de la OMS).

Para tal fin, los espermatozoides se fijaron en portaobjetos con p-formaldehído 4% a 22°/30'. Posteriormente se permeabilizaron con Triton X-100 al 2% y se llevó a cabo la reacción TUNEL. Finalmente se tiñeron con DAPI y se evaluaron en microscopio confocal. Como controles positivos se emplearon espermatozoides tratados con DNasa I. En todas las muestras analizadas (normo y oligozoospermicos) se observó fragmentación nuclear. Sin embargo, el índice de apoptosis aumentó 2-3 veces en los pacientes oligozoospermicos.

El impacto que estas alteraciones puedan tener en la fecundación y el desarrollo embrionario está aún por determinar.

La citogenética molecular de la parada de maduración revela distintas poblaciones de pacientes

Cremades N, Sousa M, Alves C, Fernandes MS, Carvalho F, Silva J, Barros A

Dept Genetics. Faculty of Medicine.
Center for Reproductive Genetics.
Lab Cell Biology, Institute of
Biomedical Sciences Abel Salazar.
University of Porto. Portugal

Introducción: Se podría esperar un patrón de emparejamiento y segregación meiótico diferente en la parada de maduración completa (cMA) y la parada de maduración incompleta (iMA) al existir diferentes causas genéticas.

Objetivos: Estudiar el emparejamiento meiótico y la segregación de los cromosomas en células germinales aisladas por estadios específicos. Se incluyen 7 pacientes control (azoospermia obstructiva) y 22 pa-

cientes con MA, cariotipos normales y ausencia de microdeleciones en AZF.

Métodos: Las muestras testiculares fueron disociadas enzimáticamente y las células aisladas por micromanipulación. Los núcleos fueron aislados con tampón de lisis. El análisis de FISH se realizó utilizando sondas para los cromosomas 7, 18, X e Y.

Resultados:

Estado-especifico de las células	Controles (7)	cMA (10)	IMA (12)
Tasa de aneuploidias (n)			
Células de Sertoli	10.2 (293)	12.4 (226)	24.9 (317)
Espermatocitos I	2.5 (277)	7.4 (984)	8.1 (652)
% (n) segregación	65.6 (177)	66.4 (605)	81.1 (486)
% (n) emparejamiento	34.4 (93)	33.6 (306)	18.9 (113)
Espermatocitos II	3.5 (397)		10.5 (304)
Espermátidas redondas	11 (418)		16.8 (143)
Espermátidas elongadas	6.6 (442)		7.3 (179)

Conclusiones: Los pacientes con MA completa presentaron emparejamiento normal (2) o anormal (8), sugiriendo la presencia de dos subgrupos distintos. La disminución del emparejamiento meiótico en pacientes con MA incompleta indica la presencia de una mutación menos severa, y que puede no estar relacionada con una lesión de la espermiogénesis. La tasa de aneuploidia de las espermátidas/espermatozoides también reveló que no hay un riesgo incrementado cuando se utiliza estos gametos para el tratamiento de la infertilidad.

Agradecimientos: FCT (Sapiens: 36363/99, 35231/99; UMIB). (msousa@icbas.up.pt)

Mejora en la viabilidad embrionaria tras Assisted Hatching y aspiración de fragmentos

Calderón G, Prados N, Crespo M, Caligara C, Badalotti F, Pellicer A, Navarro J

Clínica IVI. Sevilla.

Antecedentes: Fueron Cohen y col en 1990 los que primero publicaron las ventajas de la aplicación del Assisted Hatching (AHA) en embriones humanos cultivados in vitro. Más tarde, en 1999 fueron Alikani y col. los que demostraron la utilidad de la Aspiración de Fragmentos (AF) cuando el embrión humano cultivado in vitro presentaba más de un 10% de fragmentos nucleares.

Objetivos: Evaluar la eficacia de la aplicación del AHA y AF a través de las tasas de embarazo e implantación embrionaria obtenidas en el IVI Sevilla.

Método: Estudio retrospectivo de las tasas de embarazo e implantación embrionaria obtenidas en todos los ciclos de FIV realizados durante 2001. Se utilizó AHA y AF cuando la edad de la mujer era ≥ 36 años y/o tenía un ciclo de FIV anterior y/o el embrión presentaba más de un 10% de fragmentos anucleares y/o desarrollo lento del embrión y/o zona pelucida con alguna anomalía. Las parejas tratadas se dividieron en tres grupos: Grupo A: Pacientes < 34 años, primer ciclo de FIV y buena calidad embrionaria. En este grupo no se aplicó AHA y AF. Grupo B: Pacientes de ≥ 34 años, primer ciclo de FIV y con excelente calidad embrionaria, no se realizó AHA y AF. Grupo C: pacientes con al menos un ciclo previo de FIV fallido en las que los embriones eran candidatos a la aplicación de AHA y AF. Todas las transferencias fueron realizadas en día 3 del desarrollo embrionario.

Resultados:

	GRUPO A	GRUPO B	GRUPO C
Transferencias	26	10	65
Edad	30,0	35,8	34,5
Emb. Transf.	2,35	3	2,84
X Nº Celulas	7,65	7,52	7,53
X % Fragmentos	6,42	4	9,22
Embarazos (%)	16 (61,5%)	6 (60,0%)	35 (53,8%) NS
Implantación	50,82 *	26,67	28,95 * < 0.01

Conclusiones: Las tasas de embarazo son similares en los 3 grupos siendo significativamente superior la tasa de implantación del grupo A frente al B y C. Al comparar el grupo B con el C, no encontramos diferencias significativas. Aparentemente, hemos paliado la mala calidad embrionaria con la aplicación del AHA y AF consiguiendo las mismas tasas de implantación que en embriones de excelente calidad.

Eclosión asistida selectiva versus eclosión asistida en todos los embriones en un programa de FIV-ICSI

Marina F, Fosás N, Martín P, Pérez N, Alcolea R, Fernández S, Arnedo N, Torres PJ, Jove I y Marina S.

Instituto de Reproducción CEFER, Barcelona.

Introducción: Presentamos un estudio que intenta demostrar qué estrategia de eclosión asistida (EA) presenta mayor probabilidad de gestación en un programa de FIV-ICSI y transferencia embrionaria eco-guiada. Si se practica EA sólo en algunos embriones no podemos saber si el embrión o embriones que se implantan son los que han sido sometidos a la técnica de EA o los que no. Intentamos demostrar en un estudio retrospectivo si el hecho de realizar AH a todos los pacientes y en todos los embriones transferidos influye negativamente en la tasa de gestación frente a si realizamos EA sólo en algunos embriones.

Métodos: Se practica EA con ácido Tyrode y transferencia en día +3. Siempre con consentimiento por escrito de la pareja se transfieren de 2 a 4 embriones. Se transfieren 2 embriones cuando la paciente es menor de 35 años y los embriones de buena calidad y 4 cuando la paciente es mayor de 35 años y los embriones son de mala calidad o ha tenido fallos previos de implantación. Se incluyen 120 ciclos consecutivos no seleccionados. Las indicaciones de la FIV en los 60 primeros ciclos (grupo A) frente a los 60 ciclos posteriores (grupo B) fueron respectivamente: tubárica, 3 (5%) vs 6 (10%); sólo otras causas femeninas, 10 (16,7%) vs 11 (18,3%); sólo causas masculinas, 27 (45%) vs 23 (38,3%); causas múltiples, 10 (16,7%) vs 15 (25%); y sin diagnóstico, 10 (16,7%) vs 9 (15%). No hay diferencias significativas entre los dos grupos en las indicaciones. En el grupo A de pacientes se realiza EA en todos los pacientes y en todos los embriones. En el grupo B se practica EA siempre en al menos un embrión cuando se transfieren 1, 2 ó 3 embriones y en 2 cuando se transfieren 4. En el grupo B se practicó también EA a todos los embriones que mostraron zona pelúcida gruesa o más de un 15% de fragmentación. Así, en el grupo B en 11 casos se realizó EA en todos los embriones por presentar más de un 15% de fragmentación y en 4 casos por solo poder transferir un embrión.

Resultados: Los resultados de las FIV-ICSI en los grupos A y B son respectivamente: edad media de las pacientes, 33,6 vs 33,6 (ns); ovocitos recuperados, 13,6 vs 12,9 (ns); metafase II, 10,4 vs 10,0 (ns); 2 PN, 8,2 vs 8,2 (ns); embriones transferidos, 3,1 vs 3,1 (ns); gestaciones, 27 vs 38 ($P < 0,05$).

Conclusiones: La estrategia de realizar EA selectivo en todos los ciclos en un programa de FIV-ICSI mejora significativamente la tasa de gestación respecto a realizar EA en todos los embriones transferidos 45% vs 63,3% ($P < 0,05$). La introducción de EA selectivo como técnica de laboratorio en todos los ciclos de FIV-ICSI consigue una alta tasa de gestación.

¿Puede la eclosión asistida incrementar el rendimiento del ciclo de criotransferencia?

Belil I, Vanrell I, Castelló C,
Coroleu B, Barri PN, Veiga A

Servicio de Medicina de la
Reproducción. Departamento de
Obstetricia y Ginecología. Institut
Universitari Dexeus. Barcelona.

Introducción: Las tasas de embarazo y de implantación obtenidas tras la transferencia de embriones criopreservados son generalmente reducidas. Una causa podría ser el endurecimiento de la zona pellucida (ZP) del embrión debido al proceso de congelación-descongelación. Se ha sugerido que la co-presencia de blastómeros lisados e intactos en un embrión, tras la descongelación, puede afectar a la viabilidad de los intactos y comprometer el desarrollo embrionario. El objetivo del estudio es comparar las tasas de embarazo e implantación que se obtienen tras la transferencia convencional de embriones criopreservados, y tras la aplicación de la técnica de eclosión asistida a los embriones descongelados, con y sin eliminación del material degenerado.

Material y métodos: Estudio prospectivo que incluye a 94 pacientes (p) con embriones congelados en D+2 o/y D+3 que realizaron un ciclo de criotransferencia en nuestro centro durante el primer semestre del año 2000. Fueron distribuidas de forma aleatoria en 3 grupos: en el grupo 1 los embriones descongelados fueron transferidos tras 24 h de cultivo (34 p); en el grupo 2 se aplicó la eclosión asistida con eliminación de material degenerado a los embriones recién descongelados, y éstos fueron transferidos a las 24 h de cultivo (31 p); en el grupo 3 se aplicó la eclosión asistida sin eliminación de fragmentos a los embriones justo antes de la transferencia, tras 24 h de cultivo post-descongelación (29 p). Se utilizó Thaw kit 1 para la descongelación embrionaria y G1-G2 para el cultivo de los embriones (Vitrolife, Suecia). La eclosión embrionaria asistida fue realizada aplicando un sistema diodo láser de 1.48 (M (Fertilase, Suiza). Se analizó la edad de la paciente, la tasa de embriones evolutivos, la media de embriones transferidos, la tasa de embarazo por paciente y la tasa de implantación embrionaria. El estudio estadístico se realizó aplicando el test de ANOVA para comparar variables cuantitativas y el test de Chi cuadrado para comparar variables cualitativas.

Resultados:

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Total
X edad	36,5	34,5	35,0	35,4
% embr. transfevolutivos	80,8	68,8	69,8	73,4
X embriones transferidos	2,3	2,5	2,2	2,3
(N) Tasa embarazo	(10) 29,4%	(6) 19,4%	(3) 10,3%	(19) 20,2%
(N) Tasa implantación	(11) 14,1%	(8) 10,4%	(4) 6,3%	(23) 10,6%

No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los 3 grupos.

Conclusiones: A pesar de que las diferencias entre las tasas no son significativas (probablemente debido al tamaño de la muestra), la eclosión embrionaria asistida realizada con láser en embriones criopreservados, con o sin eliminación de material degenerado, no parece incrementar el rendimiento del ciclo de criotransferencia sino al contrario.

Valor pronóstico de la división embrionaria en el día de la descongelación en ciclos de transferencia de embriones criopreservados

Soares SR, de los Santos MJ,
Romero JL, Remoh J, Pellicer A,
Ruiz A

Instituto Valenciano de Infertilidad.
Valencia

Objetivo: La congelación de embriones en el día 3 de su desarrollo y su posterior descongelación y transferencia (ambos en el mismo día) habitualmente no permiten la evaluación del desarrollo embrionario tras la criopreservación. El objetivo de este trabajo ha sido evaluar la utilidad de observar la presencia de división celular tras la descongelación en embriones transferidos en este mismo día, como factor pronóstico de embarazo.

Métodos: en este estudio retrospectivo referente al año 2001 fueron evaluados los ciclos de transferencia de embriones congelados en día 3 del desarrollo y luego descongelados y transferidos en el mismo día. Fueron incluidas pacientes con edad inferior a 40 años, estimuladas en el ciclo en fresco con un protocolo de estimulación larga con agonistas de la GnRH. Se utilizó un protocolo de congelación lenta en Planer Cryo 10, con propanodiol + sacarosa como crioprotector. Dos grupos de transferencia embrionaria fueron definidos. En el primero (grupo A), había en los

embriones transferidos un mínimo de un embrión con división celular en las horas previas a la transferencia. En el segundo grupo (grupo B), ninguno de los embriones transferidos presentó división celular tras la descongelación. Las tasas de embarazo en los dos grupos fueron comparadas mediante el test de Chi-cuadrado.

Resultados: durante el año 2001 se realizó en nuestra institución un total de 64 transferencias embrionarias con las características descritas en Material y Métodos. Treinta y seis de ellas resultaron en embarazo (56,25%). En 18 transferencias embrionarias (el 28% del total) había como mínimo un embrión dividido en las horas previas a la transferencia (grupo A) y en 46 de ellas (el 72%) no había embriones con división celular post-descongelación (grupo B). No hubo diferencia estadísticamente significativa en el número medio de embriones transferidos por grupo. En el grupo A, el número medio de embriones divididos por transferencia fue 1,4. Doce de las 18 transferencias de este grupo (66,7%) resultaron en embarazo, y en el grupo B, 25 de las 46 (52,2%), no habiendo significación estadística en dicha diferencia.

Conclusiones: a pesar de la ausencia de diferencia estadísticamente significativa en las tasas de embarazo, nuestros resultados sugieren que la observación de división celular en alguno de los embriones transferidos durante el mismo día de la descongelación está asociada a un incremento en la probabilidad de embarazo. Por ello, sería conveniente dejar pasar el mayor tiempo posible entre la descongelación y la transferencia, para una mejor definición del pronóstico de esta última.

Criotransferencia: Valor pronóstico de la integridad celular del embrión

Moragas M, Giménez C, Olivares R, Aura M, Pérez-Ares C, López-Teijón M.

Institut Marquès-Laboratori de Fecundació in vitro. Barcelona.

Se analizan los resultados del Programa de Criotransferencia del Laboratorio de FIV de Institut Marquès. Los objetivos de este estudio fueron valorar por un lado si la tasa de supervivencia de los embriones congelados-descongelados influía en la tasa de gestación y por otro si el número de blastómeros que tenía el embrión en el momento de ser congelado influía en dicha tasa de supervivencia. Los embriones de este estudio fueron descongelados

entre octubre de 1997 y junio de 2001. Todos ellos fueron criopreservados en estadios tempranos (2 a 6 células) siguiendo la pauta de congelación propuesta por Lasalle y col. (1985). La transferencia embrionaria se realizó a las 3 horas de cultivo post descongelación y todas las pacientes habían recibido un tratamiento hormonal sustitutivo en el ciclo de criotransferencia.

El análisis estadístico se realizó mediante una chi-cuadrado.

Se analizaron un total de 137 ciclos de criotransferencia donde se descongelaron 521 embriones. En el 93,4% de los ciclos se realizó transferencia y fueron transferidos una media de 2,9 embriones por ciclo. Se obtuvieron un total de 38 embarazos que corresponde a una tasa de embarazo por ciclo del 27,7% y por transferencia del 29,7%.

La tasa de supervivencia embrionaria fue del 77,2%. De los 521 embriones descongelados, un 47,9% conservaban el 100% de sus blastómeros intactos, el 21,5% más del 50% y un 7,7% menos del 50%. Al comparar los ciclos de criotransferencia en los que se había producido embarazo (n=38) o no embarazo (n=90) con la tasa de supervivencia de los embriones transferidos, se observaron diferencias significativas en los ciclos con embarazo donde el 65,7% de los embriones transferidos estaban intactos, mientras que en los ciclos sin embarazo solo el 46,4% lo estaban (p=0,0002). Se observa que la supervivencia de los embriones en 4 y 5 células presentan diferencias significativas respecto a la supervivencia de los embriones en 2 células (p<0,05 y p<0,04, respectivamente). En este estudio se pone de manifiesto que la tasa de embarazo por ciclo en criotransferencia puede estar relacionada con la obtención de una elevada tasa de embriones intactos ya que podemos cerciorar que en todos los embarazos conseguidos por lo menos uno de los embriones transferidos estaba intacto. A su vez se ha observado una mayor lisis celular cuando el número de blastómeros del embrión congelado era menor.

Influencia de la selección de embriones en el programa de criopreservación

Martínez-Burgos M, Cuadros Fernández JM, Andrés Criado L, Sanchez de Burgos M, Peramo B, Ricciarelli E, Hernández ER

Clínica de Medicina de la Reproducción y Ginecología Madrid FIV. Madrid.

Actualmente la criopreservación de embriones es una técnica de rutina en los centros de reproducción asistida. En general, las tasas de gestación reportadas en ciclos de criotransferencia son sensiblemente inferiores a las obtenidas con transferencias en fresco (14% vs 28% según resultados de la SEF de 1998).

Para alcanzar unas tasas de embarazo aceptables en un programa de criopreservación es imprescindible, no solo disponer de un protocolo de congelación/descongelación optimizado que de una tasa de supervivencia elevada, sino que se deben seleccionar los embriones a congelar evitando aquellos cuyo potencial de desarrollo sea mínimo.

La selección de embriones a criopreservar se basa en la tasa de fragmentación, número y regularidad de las blastómeras y en la ausencia de blastómeras multinucleadas (MNBs). Este último criterio es muy importante para el futuro del embrión ya que hemos encontrado alteraciones cromosómicas importantes analizando blastómeras biopsiadas de estos embriones mediante hibridación in situ fluorescente (FISH), lo que está relacionado con una probabilidad de embarazo menor.

En este estudio presentamos el efecto de la inclusión de este nuevo criterio de selección sobre las tasas de gestación en los ciclos con criotransferencia.

Para ello, se compararon 34 ciclos de congelación/descongelación cuyos embriones fueron seleccionados incluyendo el criterio de la ausencia de MNBs con 47 ciclos de descongelación en los cuales no se tuvo en cuenta este criterio de selección.

Cuando se incluyó la ausencia de MNBs como criterio de selección, 17 de los 34 ciclos resultaron en un embarazo (50%), mientras que en el grupo control, de los 47 ciclos de descongelación 14 dieron lugar a embarazos (29.8%).

Aunque las diferencias no son estadísticamente significativas, el aumento en las tasas de embarazo en los ciclos con criotransferencia de embriones seleccionados por la ausencia de MNBs, nos afirma en la idea de que hay que seleccionar los embriones a congelar evitando aquellos que presentan MNBs, ya que sabemos que el desarrollo de estos embriones está afectado.

Factores de esterilidad en el programa de donación de ovocitos

Rodríguez R, Blanes R, Vaca R,
Báez D, Marques N, Alberto J.

Hospital Universitario de Canarias.
Universidad de La Laguna.
Tenerife.

Objetivo: Valorar que factores de esterilidad son más frecuentes en las pacientes del programa de donación de ovocitos (PDO) de nuestro Centro, tanto en las receptoras como en las donantes, y la posible influencia de dichos factores en los porcentajes de gestación.

Métodos: Hemos analizado un total de 102 mujeres que habían recibido ovocitos durante los últimos 2 años (2000-2001), además de sus respectivas 102 donantes. Se ha evaluado el número de ovocitos recibidos, así como la técnica de inseminación de dichos ovocitos. Asimismo, analizamos los factores de esterilidad que presentaban ambos grupos.

Resultados: La media de edad en las receptoras fue de 36.2 ± 4 años. La media de ovocitos recibidos fue de 6.2 ± 1.5 , con un 5.4 en M-II, y tuvieron un porcentaje de fertilización del 81.6%, transfiriendo una media de 2.82 ± 1 embrión por transfer. El semen en este grupo fue normozoospermico en el 26.5%, llevando a cabo una FIV en el 28.4%, utilizando semen de donante en el 1%. La microinyección espermática se realizó en el 68.6% y con semen de donante en el 2%.

De los factores de esterilidad presentes en las receptoras destacó el ovárico (34.3%): el ser baja respondedora, seguido por el fallo ovárico precoz y la endometriosis (NS). En las donantes los factores de esterilidad que presentaron fueron el tubárico (16.7%) y el ovárico (22.5%) y dentro de este último el Sdr. de ovarios poliquísticos (9.8%). El porcentaje de embarazos fue mayor en pacientes con factor ovárico, del 25.8% y en pacientes con fallo ovárico precoz del 19.7% (NS). En el 9.7% de los casos en que la receptora quedó embarazada, también lo hizo la donante, y en el 23.1% de los embarazos en donantes, también quedó gestante la receptora. (NS).

Conclusiones: La indicación principal de entrada en el PDO fue el ser baja respondedora y el fracaso de otras técnicas de reproducción asistida. Las gestaciones fueron más frecuentes en las pacientes con factor ovárico, y no hallamos relación entre las gestaciones de ambos grupos.

Influencia de la calidad seminal en nuestro programa de donación de ovocitos

Giles J, Requena A, Herrero R,
Minguez Y, García Velasco JA,
Pellicer A

IVI-Madrid. Madrid

Introducción: Uno de los factores más importantes en la tasa de gestación es la calidad embrionaria, que depende en gran medida de los gametos, siendo fundamental la calidad del gameto femenino como lo demuestran los mejores resultados de los ciclos con donación de ovocitos frente a aquellos en los que el ovocito procedía de la paciente.

Objetivos: Evaluar los resultados de nuestro programa de donación de ovocitos según las características del semen que se utilizó para la fecundación, con objeto de determinar el papel del gameto masculino.

Material y métodos: Estudio retrospectivo en el que se analizan 600 ciclos de donación de ovocitos, en el periodo 2000-2001. La estimulación ovárica de la donante se realizó según nuestro protocolo. Para la preparación endometrial se empleó Viteriano de Estradiol a dosis crecientes y progesterona natural. Las variables analizadas son: número de embriones transferidos, tasa de implantación y resultados gestacionales.

Resultados:

	Nº Treanf.	Edad	Embriones transferidos	Tasa fecund.	Tasa impla/pac fecund.	Fallo Embarazo %	Embarazo %	Múltipl %	Abortos %	Ectópico
FIV										
eyaculado	141	378	2,45	77,6	312	0,5	60,9	30,3	20,5	3,4
ICSI										
Eyaculado	472	38	2,62	74,8	27,23	0,3	58,2	31	19,2	2,1
FIV										
Banco	31	58,9	2,59	80,1	38,8	5,1	70,9	35	4,5	4,5
ICSI										
Testículo-epididimo	16	37,1	2,62	56,3	19,79	0	50	25	0	0

Conclusiones: Aunque no se observan diferencias estadísticamente significativas entre los cuatro grupos estudiados debido al tamaño muestral, si se observa una tendencia hacia unos peores resultados a medida que la calidad seminal se deteriora.

Donantes de ovocitos: Evaluación de la respuesta folicular

Serra O, Olivares R, Moragas M, Giménez C, López-Teijón M.

Institut Marqués. Barcelona.

Objetivos: El objetivo de este trabajo es evaluar los resultados de la respuesta folicular a la inducción de ovulación en donantes de ovocitos.

Material y Métodos: Se realizó un estudio retrospectivo de los 150 últimos ciclos iniciados. Protocolo de estimulación: Nafarelina en protocolo largo y FSHr 150 ó 225 UI/día según edad y masa corporal.

Se consideró baja respuesta folicular 5 ó menos folículos de 18 mm., descartándose la recuperación de ovocitos.

Se consideró excesiva respuesta folicular 12 ó más folículos de 18 mm., descartándose también la recuperación de ovocitos.

Resultados: Se descartaron por baja respuesta 14 ciclos (9,3%) y por excesiva respuesta 3 ciclos (2%). Edad media de las donantes: 25,9 años. Edad media de donantes descartadas por mala respuesta: 26,5 años (n.s.).

Se realizaron 133 punciones ováricas y en 9 casos se calificaron los ovocitos de aspecto morfológico desfavorable (7,4%), no realizándose transferencia embrionaria.

En total, el 14% de las pacientes que iniciaron ciclo para donación de ovocitos no pudieron hacerlo.

Dieron lugar a embarazo en la paciente receptora el 57% de los ciclos en que hubo transferencia de embriones (todos los ciclos fueron sincrónicos, en fresco). La tasa de implantación fue similar en embriones clasificados como tipo 8, 9 y 10.

Comentarios: 1. Llama la atención que el 14% de mujeres jóvenes, sanas y no estériles presente incapacidad para donar ovocitos.

2. Se plantea como transmitir esta información a las donantes.

3. En FIV con donación de ovocitos la tasa de implantación de los embriones tipo 8 es similar a los tipo 10 (Siguiendo la clasificación de Planchot y col.).

Motivos de cancelación de donantes de óvulos no pacientes

Marina S, Marina F, Jové I, Hochman M, Suñol J, Expósito R, Torres PJ.

Instituto de Reproducción CEFER, Barcelona.

Introducción: Las donantes de óvulos en el Instituto CEFER no son pacientes. Se seleccionan entre estudiantes universitarias informadas, y que los siguientes análisis han salido normales: serología de sífilis, hepatitis B y C, SIDA, cariotipo, factor VIII de la coagulación (hemofilia A), hemoglobina fetal (talase-

mia), hemograma, glucemia y pruebas de coagulación. Presentamos 98 donantes aceptadas que iniciaron la estimulación pero se cancelaron antes de la punción folicular y las causas de la cancelación.

Material y método: La pauta de estimulación ha sido con protocolo corto con análogos agonistas de la GnRH (Procrin, Abbott) y FSHr (Gonal-F, Serono) El día 5 del ciclo se hace ecografía ovárica y se mide 17- β -estradiol sérico. Se consideró respuesta insuficiente para donación cuando no se consiguieron al menos 6 folículos superiores a 16 mm. Se consideró riesgo de hiperestimulación cuando el primer control ecográfico mostró patrón polimicroquístico acompañado de cifras de 17- β -estradiol elevadas; o si tras más de 3-4 días de coasting no descendió el valor del estradiol. Se han englobado como motivos personales: informalidad, accidente, aprehensión y cambio de decisión durante la estimulación.

Resultados: Iniciaron la estimulación 562 donantes. Se cancelaron 98 (17,4%) Las causas fueron: 1) Pobre respuesta ovárica: 72 (73,4%); 2) Riesgo de SHO: 10 (10,2%); y 3) Motivos personales: 16 (16,3%)

Discusión: El objetivo en la estimulación de donante de óvulos no paciente es que no corra riesgo, solo el mínimo, y que el número de ovocitos en metafase II sea al menos seis. En caso contrario se cancela. Ciclos cancelados en este colectivo por pobre respuesta o por riesgo de SHO no se cancelarían en mujeres pacientes. El enfoque dado a las donantes no pacientes nos parece que es el correcto, pues permite compaginar los dos objetivos: minimizar el riesgo de la donante y garantizar a la receptora un mínimo de ovocitos maduros.

La fertilidad previa de la donante no es un factor pronóstico en la donación de ovocitos

Scheffer B¹, García-Velasco JA¹,
Scheffer J¹, Remohí J^{2,3}, Pellicer A^{2,3},
Simón C^{2,3}.

¹IVI-Madrid, ²Instituto Valenciano de Infertilidad (IVI), ³Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología. Facultad de Medicina Universidad de Valencia.

Objetivo: La donación de ovocitos ofrece excelentes

tasas de gestación independientemente de su indicación. Algunos autores han comunicado que el éxito del programa puede estar influido por la fertilidad previa de la donante. El objetivo del estudio ha sido evaluar si las tasas de embarazo son más altas cuando se utilizan ovocitos donados de donantes con gestaciones previas.

Materiales y métodos: Un total de 808 ciclos de donación fueron evaluados retrospectivamente entre enero de 2000 y diciembre de 2001. Las pacientes receptoras de ovocitos fueron divididas en dos grupos según la fertilidad previa de la donante. El grupo A (n=486) recibieron ovocitos de donantes con fertilidad comprobada y el grupo B (n=322) pacientes receptoras de ovocitos de donantes núlparas.

Resultados: No hubo diferencias entre los grupos con respecto a las indicaciones de donación ovocitaria, presencia o ausencia de factor masculino asociado, edad (Grupo A 37 \pm 4,9 años vs Grupo B 36 \pm 6,7 años), estradiol sérico (Grupo A 275 \pm 63 pg/mL vs Grupo B 259 \pm 44 pg/mL), grosor endometrial (Grupo A 8,7 \pm 0,4 mm vs 8,3 \pm 0,5 mm), número de ovocitos donados (Grupo A 8,7 vs 8,3), tasas de fecundación (Grupo A 83,3% vs Grupo B 85,2%), número de embriones transferidos (Grupo A 3,06 versus Grupo B 3,11) y tipo de catéter utilizado en la transferencia embrionaria. Las tasas de embarazo (Grupo A 56,28% vs Grupo B 54,71%) y aborto (7,5% vs 5,8%) no presentaron diferencias estadísticamente significativas.

Conclusiones: El hecho de constatar la fertilidad previa de la donante de ovocitos no aporta nada a los resultados del programa de donación de óvulos.

Probablemente se deba al hecho de que muchas donantes sin hijos son jóvenes que aún no se han planteado su reproducción.

Relación de los días de estimulación ovárica con la calidad de los ovocitos en un programa de donación de ovocitos

Corona I¹, Requena A¹, Viñuela C¹,
Remohí J^{2,3}, Pellicer A^{2,3}, Simón C².

¹IVI-Madrid, ²Instituto Valenciano de Infertilidad (IVI), ³Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina Universidad de Valencia

Introducción: Dentro de las variables que pueden afectar las tasas de embarazo tras un tratamiento de estimulación ovárica podrían encontrarse los días de estimulación necesarios.

Materiales y métodos: Estudio retrospectivo en el que se analizaron 603 ciclos de estimulación ovárica de pacientes incluidas en nuestro programa de ovodonación en el periodo de 1999 al 2001. Se analizaron aquellos ciclos que presentaban 2 desviaciones estándar respecto a la media, evaluándose las siguientes variables: Edad, IMC, Dosis/día, Tasa de fecundación, # de embriones transferidos por ciclo, Tasa de embarazo y Tasa de implantación.

Resultados: La media de días de estimulación de los ciclos estudiados fue de 9 días por lo que fueron incluidos en este estudio 12 ciclos con una duración ≤ 6 días y 52 con una duración ≥ 13 días. No se encontraron diferencias significativas estadísticas en las variables estudiadas.

	edad	IMC	Dosis día	# ovoc	T.fec	Emb.tran	T.emb	Timp
<6 días	24,1 \pm 1,4	23,5 \pm 1,02	196,1 \pm 18,6	18,1 \pm 4,0	86,7 \pm 4,6	3 \pm 01	57%	33%
>3 días	26 \pm 1,4	23,5 \pm 0,61	226,6 \pm 8,7	14,4 \pm 1,5	72,1 \pm 3,9	3,05 \pm 0,09	65%	31%
Estadist.	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Conclusiones: Los días de estimulación no parecen ser un factor que influya en la calidad ovocitaria ni en las tasas de implantación tras un tratamiento en Reproducción Asistida en el programa de donación ovocitaria.

Programa de ovodonación del Hospital Universitario de Canarias (HUC): factor edad en la previsión de resultados

Blanes R, Vaca R, Rodríguez R,
Marques N, Báez D, Alberto JC

Unidad de Reproducción Humana.
Hospital Universitario de Canarias.
Tenerife

Introducción: El programa de donación de ovocitos del HUC atiende un importante grupo de pacientes que por diversas causas no pueden tener sus propios ovocitos. En nuestro centro, el 93,2% de las donaciones proceden de las propias pacientes de los programas de FIV/ICSI, y sólo el 6,8% proceden de donantes voluntarias. Esta técnica ofrece buenas perspectivas de éxito en este grupo de pacientes.

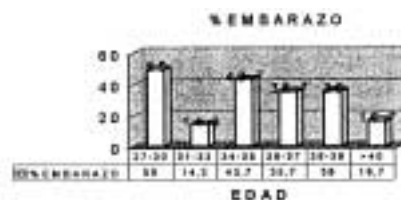
Material y métodos: En los años 2000 y 2001 realizamos un total de 100 ciclos de donación de ovocitos de

los cuales en 30 se aplicó FIV y en 70 ICSI. Las pacientes receptoras se estimularon con el protocolo habitual de valerianato de estradiol (progynova), y la fase lútea se suplementó con progesterona micronizada.

Resultados: En total fueron donados 690 ovocitos, una media de 6,9 ovocitos por paciente de los que 590 (5,9 por paciente) fueron maduros MII. La tasa de fertilización fue del 82,3%, y la tasa de división embrionaria del 94,8%. Se transfirieron una media de 2,86 embriones por paciente y el promedio de embriones transferidos de buena calidad (grado 1+2) fue de 2,1. El total de embriones congelados fue de 38.

Agrupamos las pacientes por grupos de edad: 27-30 años (n=8), 31-33 años (n=15), 34-35 años (n=16), 36-37 años (n=15), 38-39 años (n=26) y >40 años (n=20).

Conclusiones: Al analizar los resultados por grupos



de edad, vemos que el grupo de menor edad tiene la máxima tasa de embarazo (50%), y que le siguen en resultados los grupos de 34-35 (43,7%), los grupos de 36-37 y 38-39 similares (35,7% y 36%) y con un descenso pronunciado el grupo de >40 (16,7%). A mayor edad, disminuye la tasa de embarazo viéndose a partir de los 40 años una brusca disminución. Escapa de la clara curva de descenso el grupo de 31-33 años con una tasa anormalmente baja (14,3%). En este grupo vemos que hay un menor promedio de embriones transferidos respecto al resto de grupos (2,73 vs. 2,97) (P=0.000) y menor promedio de embriones de grado 1+2 (2,0 vs. 2,14) (P=0.000). Destacamos con nuestros resultados la influencia no sólo de la edad sino también del número de embriones transferidos y calidad embrionaria en la tasa de embarazo.

¿Afecta la duración del coasting los resultados del programa de donación de ovocitos?

Scheffer B¹, García-Velasco JA¹,
Scheffer R¹, Remohí J^{2,3}, Pellicer
A^{2,3}, Simón C^{2,3}.

¹IVI-Madrid., ²Instituto Valenciano de Infertilidad (IVI), ³Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología. Facultad de Medicina Universidad de Valencia.

Objetivo: Describir los resultados del programa de donación de ovocitos en donantes sometidas a coasting y determinar la influencia de su duración en los resultados.

Materiales y métodos: 52 receptoras de ovocitos de donantes que fueron sometidas a coasting por hiperespuesta a la estimulación ovárica, fueron evaluadas entre agosto 2000 a agosto de 2001. Todas las receptoras recibieron THS según lo descrito previamente por Remohí et al, Fertil Steril 1997; 67: 717-23. Los resultados fueron divididos en 4 grupos de acuerdo con la duración del coasting: Grupo A (coasting de 2 días), Grupo B (coasting de 3 días), Grupo C (coasting de 4 días) y Grupo D (coasting superior a 4 días). Resultados: Tabla 1: Resultados de las donaciones según la duración del coasting

Nº receptoras	Grupo A (15)	Grupo B (13)	Grupo C (14)	Grupo D (10)
Ovocitos recibidos	8,46±0,2	9±0,2	8,26±0,2	9,4±0,2
Nº embriones				
Transferidos	2,46±0,1	2,3±0,2	2,27±0,2	2,32±0,2
Embarazo (%)	8/15 (53%)	6/13 (46%)	7/14 (50%)	4/10 (40%)
Abortos	2/15 (13,3%)	1/13 (7,69%)	2/14 (14%)	1/10 (10%)
Implantación (%)	30,5%	24,3%	24,5%	14,7%
Cancelación (%)	3/15 (20%)	2/13 (15%)	3/14 (21%)	4/10 (40%)
OHSS Severa	0	0	0	0

Conclusiones: Cuando el coasting dura más de 4 días observamos una tendencia hacia una menor tasa de implantación y de gestación, así como un mayor número de ciclos cancelados.

Resultado reproductivo en mujeres fallo ovárico prematuro (FOP) con donación de ovocitos

Muñoz M¹, Muñoz A. E¹, López D¹, Campos L.¹, Ruzafa C¹, Remohí J², Pellicer A².

¹IVI (Almería, Valencia),

²Departamento de Obstetricia y Ginecología Universidad de Valencia. IVI-Almería

Objetivo: FOP origina esterilidad en mujeres menores de 40 años con amenorrea e hipergonadotropismo. La donación de ovocitos es el tratamiento más utilizado, pero ha mostrado resultados variables. Nosotros evaluamos nuestros resultados comparados con mujeres con baja respuesta y con un grupo de menopausia.

Método: Un análisis retrospectivo de 878 pacientes sometidas a 1554 ciclos donación de ovocitos de Enero de 1994 a Diciembre de 2001. Ellas fueron divididas de acuerdo con su etiología en 550 ciclos de FOP, 888 ciclos de pacientes con baja respuesta y 116 ciclos de menopausia, en similares condiciones de estimulación de las donantes y reemplazo hormonal.

Resultados: No hubo diferencias en los ovocitos donados, ni en la calidad espermática. Las pacientes con FOP fueron significativamente más jóvenes.

Resultados de donación de ovocitos en diferentes grupos de pacientes

	FOP	Menopausia	Baja Respuesta	P
Ciclos	550	116	888	
Edad**	35.1±4.7	46.2±4.9	37.2±4.1	0.001
Tasa de embarazo*	289(52.5)	58(50)	425(47.9)	0.255
Tasa de implantación*	2.1	20.9	17.8	0.001
Tasa de aborto*	51(17.6)	16(27.5)	87(20.5)	0.200
Embarazo evolutivo	232(42.1)	42(36.2)	335(37.5)	0.145

Los valores son la media + desviación standard. Kruskal-Wallis test.

*x² test. En paréntesis porcentaje.

Conclusión: Las pacientes con FOP que reciben óvulos donados alcanzan similares resultados que las pacientes con menopausia pero más alta tasa de implantación que las bajas respondedoras.

Resultados gestacionales en pacientes ≥ 45 años del programa de donación de ovocitos

Viñuela C, Requena A, Corona J, Landazábal A, Salazar JM, Remohí J.

IVI-Madrid.

Introducción: Asistimos a un retraso en la edad reproductiva de la mujer que implica un aumento de las TRA. Por otra parte, la edad es un factor de riesgo añadido para la gestación con aumento de la patología gestacional y de la morbimortalidad perinatal.

Objetivos: Estudio de los resultados gestacionales y perinatales de pacientes mayores de 44 años que quedaron gestantes tras un tratamiento de Reproducción Asistida con Donación de Ovocitos.

Material y métodos: Se estudiaron 29 pacientes mayores de 44 años que entraron en el programa de donación de ovocitos de IVI-MADRID consiguiendo un embarazo tras el mismo.

Resultados: La edad materna media fue de 46,24 años. El 100% de las pacientes fue tratada mediante donación de ovocitos por factor edad. La *transferencia de embriones* fue en día 2 en el 48,28% del total, en día 3 en el 41,38% y en día 6 en el 10,34%. Se transfirieron 4 embriones en el 27,59% de las pacientes, 3 embriones en el 68,97% y 2 embriones en el 3,45%, con una media de 3,24 embriones de calidad transferidos. Se objetivan 4 sacos embrionarios en el 1,45% de las mujeres, 3 sacos en el 15,03%, 2 sacos en el 22,93% y 1 saco en el 60,59%. *Tasa de implantación:* 44,37%. Se realizaron 5 reducciones de un embrión las cuales evolucionaron bien. *Tasa de aborto* espontáneo del 25%. El 50% de los 26 embarazos presentaron algún tipo de *patología obstétrica*. El porcentaje de embarazos múltiples fue del 43,85%. Hubo prematuridad en 7 casos (26,92%), crecimiento intrauterino retardado en 4 (15,38%), hipertensión en 6 casos (23,07%) y diabetes gestacional en 2 pacientes (7,69%).

Finalización del embarazo mediante cesarea en 23 pacientes (88,46%) frente a la vía vaginal en el 11,54%. En 2 ocasiones hubo hemorragias. Se obtuvieron 12 gestaciones gemelares y 14 simples. Peso medio de 2483,69 g. El 97,5% de los fetos nacieron vivos.

Conclusiones: La donación de ovocitos constituye una técnica excelente en mujeres mayores que deseen descendencia. Los resultados perinatales reflejan una mayor frecuencia de patología obstétrica que podría estar relacionada con la edad de la paciente, a la que se le añade el factor de riesgo del embarazo múltiple. Por ello, nuestra política actual es transferir máximo 2-3 embriones.

Alteraciones obstétricas en las gestaciones por donación de ovocitos

Ricciarelli E, Martínez-Burgos M,
Andrés Criado L, Sánchez de
Burgos M, Cuadros Fernández JM,
Peramo B, Hernández ER

Clínica de Medicina de la
Reproducción y Ginecología
"Madrid-FIV"

La donación de ovocitos es una técnica que ha ido creciendo progresivamente de forma espectacular. En Madrid -FIV la demanda aumentó de un 5% en el año 97 hasta más de un 20%, del total de ciclos realiza-

dos, en el 2001. Este aumento de la donación de ovocitos se debe principalmente a factores sociales (incorporación de la mujer a la vida laboral, divorcios, mujeres solas, etc.) más que a causas iatrogénicas, inmunológicas, etc. que conllevan a la pérdida de la vida ovárica. Sin embargo, el impacto que la gestación menopáusica acarrea en el bienestar materno-fetal no está perfectamente evaluado. Por tanto, el propósito de esta comunicación es analizar los efectos secundarios de las gestaciones en el periodo menopáusico.

Se han evaluado 347 donaciones de ovocitos a mujeres menopáusicas durante el periodo comprendido entre Enero de 1997 a Diciembre de 2001. Estratificando por edades a las receptoras, un 64% tenían entre 30-40, un 35% entre 40-50 y 1% entre 50-55 años. No hubo diferencias estadísticamente significativas en las tasa de embarazo (58% por ciclo) respecto de la edad de las receptoras. Las tasas de aborto y de alteraciones cromosómicas se situaron al mismo nivel que el de la población general (10 y 1%, respectivamente) para la edad ovocitaria. Hubo un ligero ascenso de hipertensión (25%) y diabetes gestacional (26%). El 90% de los embarazos acaban en cesárea. Sin lugar a dudas, el efecto secundario más importante fue la gestación múltiple (31% gemelares y 8% de triples), lo que agravó aún más las complicaciones obstétricas.

En conclusión, aunque existe un ligero aumento en las complicaciones obstétricas respecto a la población general, son fácilmente controlables. Por otra parte, si se evitan las gestaciones múltiples y teniendo en cuenta los avances en los cuidados obstétricos y perinatales la mayoría de estas gestaciones menopáusicas llegarán a buen término.

Donación de embriones: Estado actual en nuestro centro

Sánchez MD, Hurtado de Mendoza
MV, González-Utor AL, Cháscales
O, Zamorano M, Fernández S,
Gutiérrez P.

Centro Hispalense de Reproducción
asistida (CEHISPR). Hospital
Infanta Luisa. Sevilla.

Objetivo: Revisión del Programa de Donación de Embriones (DE) en cuanto a la eficacia del mismo, tasa de embarazo, demanda y actitud de las pacientes a donarlos.

Metodos y resultados: En nuestro Centro para dar salida a los embriones almacenados una vez cumplido el tiempo de almacenamiento según estipula la Ley 33/85 apartado 11.3, solicitamos a las parejas que poseían embriones criopreservados una ratificación de su postura frente a la donación (58%) y 2 de ellas incluso estarían dispuestas a su destrucción. 13 parejas donaron embriones (n= 62), el 87% debido a que obtuvieron el hijo/os deseado/os (en el 38% gestación múltiple); en un 13% por haber transcurrido el tiempo legal y un 7% tras embarazo espontáneo. Se realizaron 25 ciclos de transferencia, con una media de 2,24 embriones/paciente. La tasa de embarazo/ciclo y embarazo/paciente fue del 16% y del 33,3% respectivamente.

Comentarios: La D.E. es un proceso técnicamente factible. Podría parecer una alternativa no aceptable, ya que proceden de pacientes infértiles, pero la mayoría de los embriones donados fueron de pacientes que consiguieron su embarazo. Aspectos a considerar: 1) No se ha establecido en España ni Francia el perfil que ha de tener la donante de embriones. 2) Es un proceso psicológico complejo tanto en la donante como la receptora que usualmente no se apoya profesionalmente en todos los centros. 3) El aspecto económico del proceso suele ser un escollo con implicaciones éticas que no acaba de definirse desde el punto de vista normativo. 4) Por último, queda pendiente la futura información a los hijos de su ascendencia genética. La donación de embriones es más una acción contemplada que ejecutada ya que los Centros no insisten tanto en la D.E, su articulación y contemplación como una adopción preimplantacional.

Comparación de riesgo obstétrico y perinatal de embarazos concebidos in vitro con ovocitos propios y de donante

Gaytán J., Troncoso C., Camargo F.,
Rossal LP., Escudero E., Bosch E.,
Pellicer A., Remohí J.

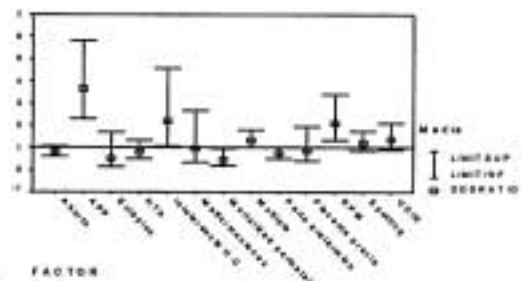
Instituto Valenciano de Infertilidad.
Valencia

Introducción: En pacientes de edad reproductiva tardía, sobre los 35 años, las gestaciones obtenidas de ciclos con ovocitos propios tienen diferente evolución obstétrica y perinatal al compararse con gestaciones originadas en ciclos de ovodonación.

Materiales y Métodos: Estudio retrospectivo en el que se analizan la evolución obstétrica y perinatal de

889 pacientes embarazadas con ovocitos propios, comparándose con 450 pacientes embarazadas en ciclos de ovodonación. Los datos fueron analizados mediante una regresión logística para determinar los riesgos relativos de diferentes complicaciones en las pacientes gestantes con sus propios ovocitos en comparación al de las pacientes gestantes en ovodonación.

Resultados: El promedio de edad fue de 35,4+4,6 y 35,1+1,9 (p N.S) años en el grupo de ovocitos propios y donados respectivamente. Se puede observar que al comparar las pacientes del grupo de ovocitos propios con el grupo de ovodonación (línea de referencia), el primer grupo presenta un mayor incidencia de amenaza de parto pretérmino (APP), también se encontró una mayor incidencia de desprendimiento prematura de placenta y retardo del crecimiento intrauterino ($p < 0,05$), no encontrándose diferencia significativa en el resto de las variables.



Conclusiones: Las pacientes embarazadas con ovocitos propios en edad reproductiva tardía, presentan un mayor riesgo de patología obstétrica y perinatal, lo cual se puede atribuir a su calidad ovocitaria, restando importancia al factor uterino como causa de estas enfermedades.

Resultados perinatológicos del programa de cocultivo embrionario con células endometriales epiteliales

Escudero E., Mercader A., Rossal
L.P, Trocoso C., Gaytan J., Remohí
J., Pellicer A., Simón C.

Instituto Valenciano de Infertilidad.
Valencia

Introducción: Desde el año 1997 empezó a realizarse en el IVI la transferencia de blastocistos utilizando un programa de cocultivo embrionario con células epiteliales endometriales. Este programa ha producido de forma estable una tasa de formación de blasto-

cistos de 60% y de gestación de 47,08% dando lugar al nacimiento de 199 niños.

Objetivo: Determinar los resultados perinatológicos de los niños procedentes de embarazos con transferencia de blastocistos obtenidos mediante cultivo embrionario. **Material y método:** Estudio retrospectivo en el que se analizó las características principales de los 199 recién nacidos vivos (RNV) desde Enero de 1997 a Diciembre 2001.

Resultados obstetricos

Parto	Único	Múltiple	Total
Número de emb. Transf.	2,84	2,93	2,88
Tasa de implantación	47,36	79,74	60,87
RNV81	118*	199	
EG (en semanas)	37,5 + 1,8	34,5 + 2,3	
Tipo de parto			
- Cesárea	68%	86%	75,5%
- Vaginal	32%	14%	24,5%
Sexo			
- Varón	58%	60%	59%
- Mujer	42%	40%	41%
Peso 3187 + 524	2283 + 516		
Malformaciones			
- Menores	1 ^a	1 ^b	3 (1,5%)
- Mayores	1 ^c	2 ^d	2 (1,0%)
- Total	2	3	5 (2,5%)

Malformaciones: ^atumoración suprarrenal ^balteración cardíaca inespecífica ^chidronefrosis, ^dhidrocefalia. / CIV.- comunicación interventricular *1 parto de embarazo multifetal (4 RNV - 28 semanas)

Conclusiones: El índice malformaciones de los niños nacidos tras transferencia de blastocistos es similar a los encontrados en la población general que oscila entre 2-5% según los distintos estudios publicados, al igual que la EG y el peso de los RNV al momento del parto.

Existe un porcentaje mayor de RNV varones, que se explica por una mayor rapidez de desarrollo de los embriones de sexo masculino, lo que hace que sean frecuentemente los elegidos al momento de la transferencia.

Influencia de las técnicas de reproducción asistida en los resultados obstétricos y perinatales

Padilla A, Rodríguez R, González N, Báez D, Jiménez A, Fernández A, Alberto J

Unidad de Reproducción Humana.
Hospital Universitario de Canarias.
Universidad de la Laguna. Tenerife.

Objetivo: Comparar la evolución de la gestación, el parto y de los recién nacidos en pacientes sometidas a técnicas de reproducción asistida (TRA) frente a mujeres con gestaciones espontáneas.

Métodos: Se han estudiado tres grupos de pacientes, uno de 140 mujeres estériles con gestación obtenida tras TRA, otro de 69 estériles con gestación espontánea sin tratamiento, y un tercero de 50 mujeres no estériles con gestación espontánea. Se han valorado los antecedentes médico-quirúrgicos, la evolución de la gestación por trimestres y el tipo de patología presentada, el momento de desencadenamiento del parto, la terminación del mismo así como el peso, sexo y test de Apgar del recién nacido (RN).

Resultados: En el primer grupo de estériles con gestación tras TRA la edad media fue de 34 años, con 16 gestaciones gemelares y una de trillizos. La gestación se terminó en la 38 semanas de media, y en el 13% inferior a 34. En el 45.4% de los casos se realizó una cesárea (p<0.05) y fórceps en el 16%. El peso medio de los RN fue de 2972 gr. (p<0.05). Con un Apgar inferior a 7/7 en el 9% de ellos.

En el apartado de mujeres estériles con gestación espontánea no se encontraron diferencias con el curso de la gestación en el primer grupo (NS). La edad gestacional en el parto fue de 39 semanas de media, con un 8% de pretérminos. Se realizaron 24.75% de cesáreas y un 31.57% fórceps. El peso medio de los RN fue de 3.363 gr. Con un Apgar inferior a 7/7 era de 3.96% (NS).

En el grupo de gestantes no estériles la edad media era de 29.23, mientras que el curso de la gestación fue fisiológico en el 90% de los casos. Se realizaron cesáreas en el 25.4% de las pacientes y fórceps en el 14.5%. El Apgar inferior a 7 en el primer minuto se presentó en el 7.27% de los casos, y ninguno a los 5 minutos.

Conclusiones: No se encontraron diferencias en el curso de la gestación de los tres grupos de estudio. En las pacientes sometidas a TRA fueron más frecuentes las gestaciones múltiples, los partos prematuros, la realización de cesárea y fórceps, y fue inferior el peso de los RN.

Gestación posterior tras embarazo ectópico

Rosas M, Arnau B, Aznar M, Saez J.

Servicio de Obstetricia y Ginecología. Consorci Sanitari de Terrassa. Terrassa. Barcelona.

Introducción: La incidencia del embarazo ectópico es del 1% siendo responsable de un 10% de mortalidad con una tasa de infertilidad posterior de un 20% al 60%. Los avances en el diagnóstico y tratamiento han llevado a una intervención temprana reduciendo la mortalidad e intentando preservar la fertilidad.

Objetivos: Evaluar la tasa de fertilidad posterior en pacientes con antecedentes de gestación ectópica comparando el impacto del tratamiento quirúrgico (salpingectomía) y del médico (metotrexate).

Material y métodos: Entre los años 1995-2000 fueron tratadas en nuestro servicio un total de 94 pacientes con embarazo ectópico. Realizamos un estudio retrospectivo en una muestra de 49 pacientes con antecedentes de embarazo ectópico con deseo gestacional posterior de las cuales 23 (47%) recibieron tratamiento médico y 26 (53%) tratamiento quirúrgico.

Resultados: La tasa acumulada de fertilidad en el grupo médico fue de 82% y en el quirúrgico del 73%. La tasa de gestación intrauterina fue del 78% para el metotrexate y 65% para el quirúrgico. La recurrencia de gestación ectópica se dio en un 4% para el médico y del 12% para el quirúrgico.

Conclusiones: En este estudio las tasas de fertilidad fueron semejantes en ambos grupos.

Evolución de la gestación y el parto en mujeres mayores de 40 años

de la Fuente PE(*) (**), Mendez R (***) , Baragaña FS(*) , Lázaro MJ(*) , Villaverde S(*)

* Servicio de Ginecología. Hospital Central de Asturias.Oviedo. **CEFI-VA (Centro de Fertilización In Vitro de Asturias) Oviedo.*** Hospital San Agustín.Avilés. Asturias.

Asturias es una de las regiones con menor tasa de natalidad del mundo y con una población cada vez mas cada vez más envejecida a partir de 1985 en que el crecimiento vegetativo de la población comenzó a ser negativo (1) .Por ello nos hemos propuesto valorar la tendencia a tener gestación en edad superior a 40 años , así como las incidencias en las gestaciones y partos en estas mujeres añosas.

Material y métodos: para valorar la tendencia a tener partos en pacientes mayores de 40 años, hemos efectuado una revisión de 37.288 partos que tuvieron

lugar en los 5 hospitales asturianos mas importantes durante dos años de cada década (años 1980-81;1990-91;2000-01). Por otra parte se hace un análisis estadístico de las características específicas del embarazo y parto en mujeres añosas efectuándose un estudio de casos y controles: 260 casos de gestantes mayores de 40 años cuyo parto tuvo lugar los dos últimos años y el grupo control constituido por otras 260 gestantes de 20 a 30 años de edad que hayan parido el mismo día que cada una del grupo de estudio.

Resultados: Se revisan 37.288 partos de los que 673 tuvieron lugar en mujeres mayores de 40 años.

Años 1980-81	16.591 partos	281 partos en >40 años	1'69%			
Años 1990-91	9 758	118	"	"	"	1'21%
Años 2000-01	10.939	274	"	"	"	2'5% P < 0'01
Grupo	Nº Casos	Multiparas	Primiparas	Cesareas		
>40Años	260	71'9% *	29% *	30% * *		P<0'01
G.Control	260	29 % *	71% *	13% *		
Grupo	Gest.Normal	P.Premat.	Diabetes	Preeclam.	CIR	
>40 Años	70%	7%	15%	7%	1%	
G. Control	81%	7%	4%	1%	7%	N.S

Conclusiones: 1.- El numero de partos en mujeres mayores de 40 años ha aumentado significativamente en Asturias, habiéndose duplicado en la última década .2.-La edad materna avanzada, por si misma, no es responsable de los efectos adversos en el embarazo.3.-El índice de cesáreas en mujeres añosas es significativamente alto, pero con un control prenatal e intraparto adecuados podría reducirse el numero de cesáreas electivas.

Gemelos monocigóticos en reproducción asistida

Ferrer E, Moreno J, Moreno DP, Casañ EM, Molero MD, Dolz M, Bonilla-Musoles F

Unidad de Reproducción Asistida.
Servicio de Obstetricia y
Ginecología del Hospital Clínico
Universitario de Valencia.

Objetivo: Evaluación de la elevada incidencia de gemelos monocigóticos en las gestaciones de las pacientes sometidas a técnicas de reproducción asistida en el año 2001, en comparación con el porcentaje en la población normal (0,42%, Bulmer, 1970).

Material: De 389 ciclos de Fecundación in vitro con

354 transferencias embrionarias, en las que se consiguieron 135 embarazos evolutivos (38,1%) durante el año 2001.

Método: Valoración de la presencia de gemelos monocigóticos en los embarazos conseguidos mediante fecundación in vitro. Estudio del número de embriones con FCF + en función del número de sacos y embriones transferidos.

Resultados: De las 135 gestaciones hubo tres pacientes con gemelos monocigóticos procedentes de ciclos de FIV convencional sin manipulación adicional resultando un porcentaje general del 2,22%. En una paciente se transfirieron 2 embriones (0.74%) y las dos restantes se les transfirieron 2 blastocistos respectivamente (15,38%), en los tres casos se observaron ecográficamente 2 sacos y tres embriones con FCF +.

Conclusión: Las técnicas de reproducción asistida y el cultivo a blastocistos se relacionan con una elevada incidencia de gemelos monocigóticos y en nuestro caso sin una manipulación adicional de la zona.

¿La transferencia embrionaria ecoguiada mejora la tasa de embarazo?

Aura M, Olivares R, Feliu P, Pérez Ares C, Moragas M, Giménez C, López-Teijón M.

Institut Marqués. Barcelona.

Antecedentes: Diferentes estudios aprecian que la transferencia de embriones bajo control ecográfico mejora la tasa de embarazo respecto a la transferencia tradicional.

Objetivos: El objetivo de este trabajo es valorar si la transferencia embrionaria ecoguiada mejora las tasas de embarazo y de implantación.

Material y Métodos: Se realizó un estudio prospectivo randomizado que incluye 200 ciclos de transferencia embrionaria. En 100 ciclos la transferencia se realizó con control ecográfico, 50 vía abdominal y 50 vía vaginal. En los otros 100 ciclos no hubo control ecográfico. Los dos grupos estudiados fueron comparables en cuanto a causa de esterilidad, edad de la paciente, número y calidad de embriones transferidos. Destacar que siguiendo el protocolo de nuestro Centro se practicó estudio de cateterismo bajo control ecográfico en todas las pacientes antes de iniciar la estimulación ovárica.

Resultados: No se observan diferencias estadística-

mente significativas (método Chi-cuadrado) en cuanto a tasa de embarazo y de implantación embrionaria entre los grupos de transferencia tradicional y transferencia ecoguiada. Tampoco hay diferencias entre las transferencias ecoguiadas vía abdominal y vía vaginal.

Comentarios: 1. Cuando previamente se realiza cateterismo con control ecográfico la transferencia ecoguiada no parece aportar ninguna ventaja.

2. El cateterismo con control ecográfico previo permite detectar falsas vías, elegir el tipo de catéter más adecuado a cada canal cervical, detectar los casos difíciles y habitualmente poder facilitarlos tras la dilatación manual o histeroscópica. Posiblemente estas pacientes son las que en otras series no se realizaba correctamente la transferencia y se beneficiaron del control ecográfico.

3. Se plantea si la transferencia ecoguiada estaría indicada solamente en las pacientes con cateterismo previo difícil o presencia de falsa vía.

Importancia de la transferencia embrionaria bajo control ecográfico en el éxito de la Fecundación In Vitro

Encabo C, Evangelio B, Serrano L, Ferrer E, Moreno L, Dolz M

Servicio de Ginecología y Obstetricia. Hospital Clínico Universitario de Valencia. Unidad de Reproducción Asistida.

Objetivo: valorar si el control ecográfico al efectuar la transferencia embrionaria modifica la tasa de embarazos en la fecundación in vitro.

Métodos: Comparamos la transferencia embrionaria realizada de forma clásica (sin control ecográfico) mediante una cánula modelo Tdt, con la efectuada bajo control ecográfico mediante una cánula modelo Labotec.

Resultados: 218 transferencias embrionarias realizadas en 203 pacientes fueron analizadas. La tasa de embarazos en el grupo en el que se realizó la transferencia embrionaria bajo control ecográfico fue significativamente superior siendo de 59,7% frente a una tasa de embarazos en el grupo donde se realizó la transferencia de forma clásica de 37,9%.

Conclusión: El control ecográfico de la transferencia embrionaria influye en el número de embarazos obtenidos mediante fecundación in vitro, a favor de su aplicación sistemática.

Tasa de gestación en Fecundación In Vitro con cánula de Tránsfer Wallace ecoguiado

Badalotti F, Caligara C, Calderón G,
Prados N, Remohí J, Navarro J

Clínica IVI. Sevilla

Antecedentes: En los últimos años se ha reconocido la importancia de la técnica de la transferencia de embriones en la obtención de tasas más elevadas de gestación en los ciclos de FIV-ET. El uso de cánulas blandas en lugar de rígidas, la mínima manipulación del cérvix, la histerometría previa y la utilización de la ecografía abdominal para guiar el procedimiento han demostrado mejorar las tasas de gestación.

Objetivo: Determinar la tasa de gestación en pacientes sometidas a FIV-ET según las características de la transferencia embrionaria.

Métodos: Análisis retrospectivo de las características de las transferencias embrionarias realizadas entre el 15 mayo 2001 al 18 febrero 2002 en el IVI Sevilla. Se analizaron 218 ciclos, de los cuales 166 corresponden a ICSI (73,9%), 22 a FIV (10,1%), 16 a FIV/ICSI (7,3%), 11 a donación de ovocitos con ICSI (5%), y 8 a donación de ovocitos con FIV convencional (3,7%). Todas las transferencias fueron uterinas transcervicales, realizadas con cánula de Wallace, ecoguiadas por vía transabdominal con vejiga llena, y habiéndose realizado en un ciclo previo una prueba para determinar la dirección de la cánula y la histerometría. En ningún caso se utilizó pinza de Pozzi para horizontalizar el eje cervicouterino, y en sólo 6 casos (2,8%) se requirió repetir el procedimiento al identificar uno o más embriones en la cánula luego de la transferencia.

En 53 de los 218 procedimientos (24,3%) se observó sangre en la cánula luego de la transferencia, y en 59 de 127 procedimientos (46,4%) se observó moco cervical.

Resultados: Se obtuvieron 117 gestaciones (53,7%). La presencia de sangre y/o moco en la cánula no influyó negativamente en la tasa de gestación.

	Gestación sí (n)	Gestación no (n)	p
Sangre en cánula: NO	54,5% (90)	45,5% (75)	NS
Sangre en cánula: SI	50,9% (27)	49,1% (26)	NS
Moco en cánula: NO	52,9% (36)	47,1% (32)	NS
Moco en cánula: SI	64,4% (38)	35,6% (21)	NS

Conclusiones: Cuando se cumplen en la transferencia de embriones los criterios de uso de una cánula blanda, conocer la profundidad de la cavidad uterina por una histerometría previa, y realizarla ecoguiada por vía transabdominal, la presencia de sangre y/o moco en la cánula no influye negativamente en las tasas de gestación.

Prevención del SHO grave. protocolo de actuación

Ibáñez N, G^a Rigo E, G^a Galiana S,
Ferrer E, Moreno J, Dolz M

Dpto. de Obstetricia y Ginecología.
Hospital Clínico Universitario de
Valencia. Valencia

Objetivo: Minimizar la probabilidad de desarrollo de síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO) grave en pacientes de alto riesgo, sometidas a técnicas de reproducción asistida

Material y metodos: Estudio descriptivo en el que se incluyeron 32 pacientes diagnosticadas de síndrome de ovario poliquístico sometidas a procedimientos de FIV, ICSI o FIV-ICSI en el periodo de Enero de 2000 a Diciembre del 2001 en la Unidad de Reproducción Asistida del Hospital Clínico Universitario de Valencia. Se les realizó un ciclo de hiperestimulación ovárica controlada, previa supresión hipofisaria con agonistas de GnRH, y se practicaron controles mediante cuantificación de estradiol y ecografía. Para la maduración final se utilizaron 5000 UI de HCG. La aspiración folicular se realizó con una presión de 180 mmHg, y a todas las pacientes se les administró postpunción 150 ml de albúmina. La transferencia se llevo a cabo en fase de blastocistos (día +5).

Resultados:

Edad (años)	32.6 ± 3.4
Dosis de FSHr (UI)	1725 ± 596
Días estimulación	9.3 ± 1.6
Estradiol (pg/ml)	4664 ± 1057
Nº Ovocitos recuperados	16.3 ± 5
Nº Blastocistos transferidos	1.83
Tasa de embarazo clinico	52.1%
Embarazo múltiple (2 sacos)	25%
SHO grave	0%

Conclusiones: En pacientes con alto riesgo de desarrollar SHO grave el seguimiento del protocolo propuesto nos ha llevado a la ausencia de presentación de esta complicación, sin producir una merma en la tasa de embarazos.

Síndrome de hiperestimulación ovárica severa complicada con edema de vulva

Pelayo Delgado I*, Bajo Arenas JM**, Uguet de Resayre C*, Huertas MA*, Mateos F*, Ponce S*, Rubio A*, Almarza L*.

*Servicio de Obstetricia y Ginecología. Hospital Universitario de Getafe (Madrid). ** Servicio de Obstetricia y Ginecología. Hospital Universitario de Santa Cristina. Madrid

Resumen: El Síndrome de Hiperestimulación Ovárica (SHO) grave puede ser una de las complicaciones más severas de las Técnicas de Reproducción Asistida al suponer un riesgo vital para la paciente. En nuestro caso clínico una paciente con ovarios de aspecto poliquístico es sometida a un proceso de fertilización in vitro, lo que desencadena un síndrome de hiperestimulación ovárica con criterios de severidad (ascitis severa, hemoconcentración, derrame pleural bilateral, ovarios de gran tamaño (>120mm), crisis de disnea y diarrea). A los 2 días de las primeras paracentesis transvaginales apareció un importante edema vulvar que dificultaba la micción espontánea. Tras el control hemodinámico, la administración de albúmina y el drenaje repetido de líquido ascítico (13.5 litros), la paciente se recuperó satisfactoriamente tanto de los datos clínico-analíticos como del edema vulvar. En el proceso de FIV se realizó la transferencia de 2 embriones con implantación intrauterina lo que agravó el cuadro. A las 7 semanas de gestación se evidenció el aborto de ambos embriones lo que requirió legrado evacuador.

Conclusión: El SHO puede llegar a ser un proceso grave que puede complicarse con edema vulvar que suele remitir con la recuperación del cuadro clínico.

Análisis de resultados de un programa de FIV-ICSI para verificar un protocolo de transferencia embrionaria

Bruna Catalán I, Prados Mondéjar F, Gálvez Bueno G, Ibáñez Santamaría A., Cano Vieco ML.

Unidad de Medicina de la Reproducción. Hospital de Madrid-Montepíncipe. Boadilla del Monte. Madrid.

Objetivo: Realizar un Análisis Descriptivo preliminar de los resultados de 74 transferencias embrionarias en fresco. Desde los años 80 se observa un notable incremento de los partos múltiples derivados de programas de FIV, habiéndose cuadruplicado la tasa de Embarazos Triples (ET) en España entre 1980 y 96 (del 11 al 41 por 100.000 RN). El segundo propósito de este estudio es verificar la proporción de embarazos Múltiples (EM) de nuestro programa de FIV.

Material y métodos: Fueron estudiados 74 Transfers en fresco procedentes de 81 ciclos de FIV-ICSI llevados a cabo en nuestra Unidad desde el 1/3/01 hasta el 31/12/01, tras realizar modificaciones en las condiciones del laboratorio (Incremento del CO2 del incubador a 5,4% y aplicación de un filtro Coda InLine). Protocolo de estimulación largo de análogos y Step-down en administración de FSHr ó pauta combinada de FSHr+HMG. Transferencia Ecoguiada con Catéter de Cook en día +3. Edad Media de pacientes: 33,6 (3,8 SD). Media de Embriones transferidos 2,54 (0,95 SD)

Resultados: 1. Tasa de Embarazo clínico por Transfer: 43,2% (66,7% únicos; 33,3% Gemelares; 0% Triples). Calidad embrionaria: 34,85% de G1 y 66,5% G1+G2. Tasa de implantación 25%..

2. Existen diferencias significativas en la proporción de embarazos entre transferir al menos 1 embrión de calidad óptima (G1) y no transferir ningún G1 (57,5% de embarazo vs 23,5%; $p < 0,02$).

3. Existen diferencias significativas en la proporción de embriones de calidad óptima (G1) que se obtienen según el nivel plasmático de Estradiol previo a punción (37,9% de G1 con Estradiol > 1.500 pg/ml. vs 15,2% de G1 con Estradiol < 900 pg/ml.; $p < 0,0002$).

4. La proporción de embarazos al transferir al menos 1 embrión de calidad óptima (G1) fue del 57,5% en Endometrios tipo C y del 66,7% en Endometrios tipo A y B ($p = 0,067$).

Conclusion: La posibilidad de embarazo depende esencialmente de la calidad embrionaria. Dada la tasa de implantación de nuestros embriones, los resultados apuntan a que nuestro protocolo permite mantener el equilibrio entre la consecución de embarazo y la prevención del ET.

Análisis de los resultados de ICSI según el diagnóstico de la pareja

Engórdanos García A, Núñez Calonge R, Izquierdo García M, González López de Bustamante B, Caballero Peregrín P.




Unidad de Reproducción Humana. Clínica Tambre. Madrid.

Introducción: Dada la variedad de diagnósticos que pueden llevar a la necesidad de realizar una ICSI, es interesante analizar los resultados obtenidos con dicha técnica en función del diagnóstico de la pareja.

Objetivo: Analizar los resultados obtenidos en pacientes que realizaron una ICSI en función del diagnóstico.

Materiales Y Métodos: Hemos estudiado los 452 ciclos de FIV realizados en 2001 en la Clínica Tambre para ver cuáles de ellos necesitaron la práctica de una ICSI. En este grupo analizamos los diagnósticos y reevaluamos los resultados en función de este dato.

Resultados: De los 410 ciclos de FIV con transferencia realizados en 2001, en 208 se realizó sólo una ICSI como técnica de fecundación. Mientras que las tasas de embarazo de los grupos de FIV pura o FIV/ICSI mixta eran de 35% y de 38,6%, en el grupo de ICSI pura era sólo de 26%. Analizando por diagnóstico este grupo observamos lo que vemos en la tabla:

F Masculino	19/56	33,9%
F. Masculino severo	8/18	44,4%
Fallo FIV	11/29	37,9%
Baja respuesta	4/33	12,1%
Edad (>40a)	2/25	8%
Endometriosis	3/10	30%
.Otros (SOP,miomas... etc)	1/4	25%
F  + F 	5/21	23,8%
F  + Edad	1/12	8,3%

Conclusiones: El factor más importante en la tasa de éxito global en ICSI es el diagnóstico de la pareja. El grupo de pacientes bajas respondedoras y de edad

>40 años presentan las peores tasas de gestación pudiendo hacer descender la tasa global de gestación de la técnica, que en el resto de diagnósticos es igual al de una FIV convencional.

Valor pronóstico de los niveles de estradiol sérico el día de la administración de HCG, en ciclos de ICSI

Saucedo E, Moraga R, De la Orden M, Monzó A, Gil F, Rubio JM, García-Gimeno T, Romeu A.

Servicio de Ginecología. (Reproducción Humana). Hospital Universitari La Fe. Valencia.

Objetivo: Analizar la utilidad del estradiol y el cociente estradiol/folículo el día de la administración de HCG, como factor pronóstico de embarazo.

Método: Análisis retrospectivo de 70 pacientes con función reproductora normal, a quienes se realizó ICSI por oligoastenospermia severa entre el 1 de enero y el 31 de diciembre del 2000. Se realizó hiperestimulación ovárica con FSH recombinante y un protocolo largo de acetato de leuprolide. Se administró HCG al observar al menos 3 folículos ≥ 16 mm. Se realizó transferencia embrionaria y suplementación con progesterona vaginal hasta prueba de embarazo. Se comparó mediante test de U de Mann-Whitney, los valores de estradiol por folículo ≥ 16 mm y se relacionaron con tasa de embarazo.

Resultados: Se dividieron las pacientes en tres grupos dependiendo de las cifras de estradiol el día de HCG. (Grupo A: 12 mujeres con < 1000 pg/ml. Grupo B: 41 mujeres con 1000-2000 pg/ml y Grupo C: 17 mujeres con > 2000 pg/ml) Los grupos presentaron una media de concentración de estradiol/folículo de 139, 193 y 228 pg/ml respectivamente. No existieron diferencias entre los grupos en edad, FSH y LH basal, años de esterilidad ni embriones transferidos. La tasa de embarazo por grupo fue de 12%, 48,7% y 58,8% entre los grupos A, B y C respectivamente. El grupo con cifras de estradiol sérico < 1000 pg/ml presentó una significativa menor tasa de embarazo.

Conclusiones: Mujeres con niveles de estradiol sérico < 1000 pg/ml presentan una relación estradiol/folículo menor y se asocian con una menor tasa de embarazo.

Grupo	Estradiol sérico	Embarazos	Tasa embarazo
A (n12)	< 1000 pg/ml	3	12,0%
B (n41)	1000-2000 pg/ml	20	48,7%
C (n17)	> 2000 pg/ml	10	58,8%

El descenso de estradiol en la fase lútea no afecta la tasa de gestación en Fecundación In Vitro

Muñoz E.A¹, Muñoz M¹, Miralles F¹, López D¹, Pellicer A.^{2,3}, Remohí J^{2,3}.

Instituto Valenciano de Infertilidad (Almería¹ y Valencia²)

Facultad de Obstetricia y Ginecología, Universidad de Valencia³, Almería.

Objetivo: Evaluar el valor de los niveles de estradiol y progesterona durante la fase lútea en tratamientos de reproducción asistida. **Material y Métodos:** En 276 pacientes sometidas a 421 ciclos, distribuidas en 4 grupos según el tipo de tratamiento (Ciclos sustituidos: T de congelación (n: 52), donación de ovocitos (n:82) y ciclos estimulados: FIV o ICS (n:254) y cocultivo (n: 33)) analizamos la diferencia entre los niveles de estradiol el día de aplicación de la hCG al 7º día después de la ovulación y su relación con la gestación. Analizamos el valor de la progesterona en una toma única en día 7 de la fase lútea.

Resultados: En los tratamientos de reproducción asistida donde le reemplazo hormonal es la base de la preparación endometrial (Ciclos sustituidos; transfer de congelados, donación de ovocitos) no se encontró ninguna correlación ni modificación significativa en los niveles de estradiol o progesterona en fase lútea. El grupo de Fecundación in vitro fue dividido en pacientes embarazadas y no embarazadas. El análisis de los grupos permitió establecer que eran comparables en edad y número de ovocitos recuperados. El número embriones transferidos fue mayor en el grupo de embarazadas (p: 0,001).

La diferencia en los niveles de estradiol en el día de hCG y el séptimo día de fase lútea no mostró diferencia estadísticas entre el grupo de pacientes embarazadas y no embarazadas (p: 0,864 para grupo in Vitro y p: 0,137 para cocultivo). Los niveles medios de progesterona en pacientes embarazadas fueron significa-

tivamente mayores en pacientes no embarazadas en el grupo de FIV o ICSI (p: 0,037).

Conclusión: Modificaciones en los niveles de estradiol en la mitad de la fase lútea de tratamientos de reproducción asistida no tienen efecto adverso sobre la tasa de gestación. La evaluación sistemática de la progesterona en fase lútea parece ser útil en la predicción de embarazo.

La suplementación de la fase lútea 48-72 horas antes de la transferencia embrionaria incrementa el porcentaje de implantación positiva tras fecundación in vitro (FIV).

Bernabeu R, Cuevas I, Mendiola J, Llacer JI, Ten J

Instituto Bernabeu. Alicante

Introducción: Hoy en día, la utilización de progesterona durante la fase lútea después de una FIV con análogos es necesaria para incrementar la tasa de embarazo. Sin embargo, el momento de inicio de este tratamiento después de la recuperación ovocitaria puede afectar el resultado posterior y no se conoce con exactitud.

Objetivo: En este trabajo comparamos dos protocolos de suplementación de la fase lútea con progesterona, con la finalidad de establecer el momento idóneo de administración del tratamiento.

Material y método: Evaluamos de forma retrospectiva 150 pacientes que se sometieron a un ciclo de FIV durante el año 1999. Setenta y cinco pacientes (antes de Julio de 1999) comenzaron la suplementación con progesterona en el día de la transferencia embrionaria (48-72 horas post-punción ovárica, grupo I) y las otras 75 en el día de la recuperación ovocitaria (grupo II). La suplementación consistió en el empleo de cápsulas de 200 mg de progesterona micronizada (Progeffik, Effik S.A. o Utrogestán, SEID S.A.). El análisis estadístico se llevó a cabo con el programa SPSS 10.0. Se utilizó el test de U de Mann-Whitney para comparar las diferencias entre los grupos.

Resultados: Los 2 grupos de estudio fueron homogéneos y no encontramos diferencias significativas respecto a la edad, protocolo y días de estimulación, estradiol en el día de la HCG, número de ovocitos recuperados y número de embriones transferidos. La

tasa de implantación positiva por transferencia (β -hCG (mUI/ml) fue significativamente inferior ($p \leq 0.05$) en el grupo I (22,7%) comparado con el grupo II (41,9%).

Conclusiones: De acuerdo con nuestros resultados, la tasa de implantación positiva está incrementada de forma significativa cuando iniciamos la suplementación de la fase lútea con progesterona en el día de la recuperación ovocitaria vs día de la transferencia.

Ovocitos recuperados y tasa de gestación en Fecundación In Vitro

Caligara C, Badalotti F, Prados N,
Calderón G, Remohí J, Navarro J

Clínica IVI. Sevilla

Objetivo: Determinar si hay un número mínimo de ovocitos recuperados por debajo del cual hay una disminución significativa de la tasa de gestación en los ciclos de fecundación in vitro.

Métodos: Análisis retrospectivo de los ciclos de estimulación ovárica controlada con recuperación ovocitaria en un programa de fecundación in vitro entre el 17 abril 2001 y el 20 diciembre 2001. Se analizaron 150 ciclos, en los que se recuperaron un promedio de $13,2 \pm 6,8$ ovocitos, con un mínimo de 2 y un máximo de 37. En un 73,3% ($n=110$) de los ciclos se realizó inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), en un 16,7% ($n=25$) FIV convencional, y en un 10% (15) FIV/ICSI. El protocolo de estimulación más frecuentemente utilizado fue el largo con dosis reducidas de análogos de la GnRH (0,5 mg acetato leuprolide por día) en 54 ciclos (36,2%), el largo con dosis convencionales de análogos de la GnRH (1 mg acetato leuprolide por día), el corto o flare-up, ambos con 42 ciclos (28,2%). En 7 casos se utilizó un protocolo con clomifeno, hMG y antagonista de la GnRH (4,7%), y en 4 casos algún otro protocolo de estimulación ovárica controlada.

En 11 casos no se realizó transferencia embrionaria por varias razones (fallo fecundación, bloqueo embrionario, embriones anormales, riesgo SHO), no habiendo diferencias en la distribución según el número de ovocitos recuperados.

Resultados:

Ovocitos recuperados	% gestación (n=139)	p
< 4	0% (0/6)	$p < 0,033$
4-6	50% (7/14)	
7-11	52,4% (22/42)	
12 o más	59,7% (46/77)	

Conclusiones: A partir de 4 ovocitos, las tasas de gestación se mantienen con una tendencia en ascenso, sin llegar a ser estadísticamente significativa. Si en la EOC no se logra el desarrollo de por lo menos 4 folículos mayores de 16 mm, es preferible cambiar de protocolo de estimulación con el objetivo de mejorar la respuesta antes que proseguir con la punción de recuperación ovocitaria. Así mismo, no es necesario una estimulación ovárica excesiva para obtener tasas de gestación satisfactorias.

¿Influye el nivel de actividad en la tasa de gestaciones?: análisis multicéntrico SEF 98

Castilla JA, Martínez L, Peinado JA, Ballezá JL, Viscasillas P, Matorras R.

Registro resultados FIV/ICSI,
Sociedad Española de Fertilidad.

Objetivo: Determinar si existe relación entre el grado de actividad de un centro y su práctica clínica y calidad asistencial

Material y métodos: A partir del registro nacional de centros de FIV de la Sociedad Española de Fertilidad de 1998 en el cual participaron 31 centros se obtuvieron los siguientes datos: nº de punciones, nº de transferencias, gestaciones, porcentaje de transferencias de más de 3 embriones, y porcentaje de gestaciones múltiples. Se agruparon los centros en dos grupos: A) menos de 250 punciones: con un total de 23 centros y B) más de 250 punciones: con un total de 8 centros. Se calculó el coeficiente de correlación de Spearman entre las diferentes variables analizadas, ya que las variables nº de punciones y nº de transferencias no siguieron una distribución normal (test de Shapiro-Wilks). La comparación de medias entre los dos grupos se realizó mediante el test de la t de Student y la comparación de varianzas mediante el test de la F de Snedecor. Los porcentajes se transformaron mediante el cálculo del $\arcsen \sqrt{x}$ para homogeneizar las varianzas.

Resultados: No se observó relación significativa entre el nº de punciones y transferencias con el porcentaje de gestaciones, transferencias de más de 3 embriones y gestaciones múltiples. Tampoco se observó diferencia en las medias de los porcentajes de gestaciones, transferencias de más de 3 embriones y gesta-

ciones múltiples entre el grupo de centros de baja y alta actividad. Sin embargo, si observamos una varianza significativamente mayor en la tasa de gestaciones en el grupo de baja actividad que en el de alta actividad.

Conclusiones: Aunque el grado de actividad de un centro no se relaciona con la tasa de gestaciones, ni con transferir más embriones, ni obtener más embarazos múltiples. La tasa de gestaciones que se obtiene en los grupos de alta actividad es más homogénea que en los centros de baja actividad, es decir los centros con alta actividad obtienen similares resultados, pero los de baja actividad obtienen resultados más dispares.

Indicadores de calidad asistencial en un programa de FIV/ICSI

Luceño F, Castilla JA, Núñez AI,
García-Peña ML, Blanco M,
Fernández A, Maldonado V,
Martínez L

Unidad de Reproducción, HU
Virgen de las Nieves. Granada

Objetivo: Determinar el grado de cumplimiento en el registro de la Historia clínica de determinadas pruebas de laboratorio consideradas obligatorias en pacientes de nuestro programa de fecundación in vitro/microinseminación.

Material y métodos: Se revisaron las historias clínicas de 251 pacientes que se sometieron a punción folicular por FIV o ICSI en el año 2001 y se fijó la atención en los siguientes registros de parámetros que pueden considerarse críticos según la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia: serologías (VIH, VHB, VHC, Lues), realización de un seminograma en nuestro laboratorio, realización de un cariotipo (esto sólo se valoró si la técnica a la que se sometían era una ICSI), presencia o no de un Consentimiento Informado (CI) y si éste estaba debidamente cumplimentado. También se analizó la relación existente entre grado de cumplimiento de dichos registros y el nivel de actividad (número de punciones llevadas a cabo el mes anterior), agrupándose éstas según el nivel de actividad: baja si hubo <15, media si hubo entre 15-20, y alta si hubo >15 punciones en un mismo mes. La revisión de las historias se realizaba en el día de la hCG.

Resultados: De las 251 parejas, 164 se sometieron a ICSI y 87 a FIV. Se encontró que un 97.6% de las parejas presentaban completo el registro de serologías; un 86% presentaba al menos un seminograma realizado en nuestro laboratorio; un 51.8% de las parejas so-

metidas a ICSI presentaba cariotipos; un 90% de las parejas presentaban el CI firmado (aunque sólo un 20.3% lo presentaba correctamente cumplimentado). Se comprobó un menor, aunque no estadísticamente significativo ($p=0.07$) porcentaje de Historias Clínicas con todos los parámetros críticos registrados (cumplimiento global) en pacientes de ICSI que de FIV (7.9% vs 16.1%). Además, observamos una relación indirecta entre el grado de actividad asistencial y el cumplimiento global de estos registros.

Conclusiones: El futuro de cualquier prestación sanitaria implica el establecimiento y desarrollo de evaluaciones internas y externas que detecten el grado de cumplimiento de los procedimientos establecidos para un proceso concreto. El nivel de cumplimiento global de registro de la Historia Clínica observado es similar al descrito en otros ámbitos sanitarios como en Atención Primaria (10-20%), existiendo mucho margen de mejora en este aspecto de la Calidad Asistencial. De igual manera, el nivel de cumplimiento individual observado para cada parámetro analizado es parecido al de estudios similares como en el control del embarazo (65-95%).

Presión asistencial en los laboratorios de reproducción asistida de los centros públicos de Sistema Nacional de Salud

Núñez AI, Castilla JA, Blanco M,
García ML, Fernández A, Clavero
A, Ardoy M*, Bassas LL**.

HU Virgen de las Nieves, Granada.
*HU La Paz, Madrid. **H de San
Pablo-F. Puigvert, Barcelona.

Introducción: El laboratorio de Reproducción, a parte de la escasa automatización con relación a los laboratorios de análisis, presenta otras peculiaridades como imposibilidad de programación de actividad, estrecho contacto con el paciente y trabajo continuo (festivos y fines de semana), que hace que una adecuada organización de los recursos humanos sea clave para un rendimiento eficiente.

Objetivos: Conocer la organización, recursos humanos y labor asistencial de los laboratorios de reproducción asistida de los centros públicos que realizan FIV en el Sistema Nacional de Salud.

Material y métodos: Se enviaron encuestas no anónimas a los 22 centros públicos nacionales que hacen FIV y 20 contestaron al cuestionario de preguntas so-

bre organización de los laboratorios, recursos humanos y actividad asistencial entre otras. Se calculó la actividad por persona y el índice de presión asistencial (IPA) del personal de laboratorio, índice que será uno cuando todo el tiempo del que una persona del laboratorio dispone, lo dedica a actividad asistencial. Los datos se analizaron mediante estadística descriptiva; en el caso de los datos cualitativos, se calculó el porcentaje y en los cuantitativos la media, los máximos y los mínimos.

Resultados: En el 79% de los centros, existe unificación jerárquica del laboratorio de reproducción y del de semen. La mayoría de los laboratorios dependen del Servicio de Ginecología; concretamente el laboratorio de semen depende de ginecología en el 66,6% de los casos y sólo el 33,3% dependen de análisis; el banco de semen, el laboratorio de FIV y el banco de embriones también dependen en mayor proporción de ginecología, en un 83,3%, 84,21% y 91,66% respectivamente. La media de los IPA calculados fue de 0,94, con un mínimo de 0,16 y un máximo de 1,89. Los datos de la actividad por persona al año se presentan en la siguiente tabla:

	Media	Máximo	Mínimo
Seminogramas /Persona	517	50	1465
FIV/persona	89	6	300
ICSI/persona	113	15	300
IAC-IAD/persona	240	40	783

Conclusiones: La mayoría de los laboratorios de reproducción asistida del sistema nacional de salud dependen de los servicios de Ginecología de cada uno de los centros encuestados. El personal que trabaja en ellos soporta una alta presión asistencial y creemos necesario un análisis objetivo de esta realidad desde la perspectiva de los nuevos modelos de gestión del Laboratorio Clínico.

Carga de trabajo en reproducción asistida en el SNS

Expósito A, Mendoza R, Matorras R, Corcóstequi B

Unidad de Reproducción Humana.
Hospital de Cruces.
Baracaldo. Vizcaya.

Objetivo: conocer y analizar la situación actual de los Centros Hospitalarios del Sistema Nacional de Salud que cuentan con Unidad de Reproducción y realizan FIV-ICSI.

Material y métodos: contactamos con 21 Centros

Públicos con programas de Reproducción Asistida a nivel de fecundación in vitro (FIV) e inyección intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI) en el año 2000. Se solicitó, mediante encuesta voluntaria, información tanto sobre las actividades que llevaban a cabo (nº de ciclos de FIV-ICSI, IAC e IAD) como sobre la dotación de medios personales (ginecólogos, biólogos, residentes y becarios) para el ejercicio de dichas actividades. Hemos asignado, tanto para residentes como para becarios, un 70% al área de reproducción. La encuesta fue cumplimentada por un ginecólogo de la Unidad correspondiente, con una participación del 100%. Aunque contábamos con el consentimiento de todos los participantes para la publicación de los datos, decidimos que los Centros aparecieran en anónimo. Tan sólo un Centro se excluyó de este trabajo puesto que su registro de actividad no cumplía con los objetivos del mismo.

Resultados: * *Recursos humanos:* compuesto por personal clínico (ginecólogos y residentes) y personal de laboratorio (biólogos y becarios). La media de ginecólogos por centros es 3 con un rango (1-6,4) y la de biólogos es de 1,9 con un rango (0,2-4,7).

* *carga de trabajo:* el personal clínico realiza una media de 85 ciclos/ginecólogo con un mínimo de 27 y un máximo de 308 ciclos/ginecólogo. La media de ciclos de IAD e IAC es de 96 y 22 ciclos/clínico, respectivamente. El personal de laboratorio realiza por término medio 118 ciclos FIV-ICSI/biólogo, con un mínimo de 53 y un máximo de 365 ciclos FIV-ICSI/biólogo. La media de ciclos de IAC e IAD es de 128 y 22 ciclos/ginecólogo respectivamente.

Conclusiones: la carestía de personal clínico y de laboratorio se evidencia cuando casi la mitad de los Centros de Reproducción Asistida (45%) cuentan con un número inferior a la media general.

La carga de trabajo, número de ciclos de FIV-ICSI, que deben soportar clínicos y biólogos llegan a ser 11 y 14 veces mayor de unos centros a otros. A esto debemos sumarle los ciclos de inseminaciones (IAC e IAD) lo que incrementa la carga asistencial del personal.

Valor predictivo de la Gonadotropina coriónica humana β (β -HCG) sobre la evolución de un ciclo de fecundación "In Vitro"

Cuevas I., Llácer J., Ten J.,
Mendiola J., Berbabéu R.

Instituto Bernabéu, S.L. Alicante

Objetivo: Determinar el punto de corte de B-HCG con la mayor sensibilidad y especificidad que nos permita discriminar entre gestaciones evolutivas y pérdidas tempranas del embarazo y entre gestaciones simples y múltiples.

Material y Método: Estudio retrospectivo de 100 gestaciones conseguidas tras un ciclo de FIV durante el periodo de Enero a Octubre de 2001 con B-HCG positiva mayor de 5 mUI/ml en día 13 post-punción ovárica. Se tomaron muestras de sangre, y la concentración sérica de B-HCG se determinó con el VIDAS HCG. Se hicieron 2 grupos de estudio:

Grupo 1 (G).- pérdidas tempranas del embarazo. n=44 (embarazos bioquímicos, ectópicos y abortos del primer trimestre).

Grupo 2 (G2).- embarazos evolutivos (embarazos únicos, múltiples y abortos del segundo trimestre). Este grupo se subdividió a su vez en únicos/múltiples. El análisis estadístico se llevó a cabo con el programa SPSS 10.0. Se utilizó el test de U de Mann-Whitney para comparar las diferencias entre los grupos, y se realizaron curvas ROC (receiver operating characteristic) para determinar los puntos de corte.

Resultados: No hubieron diferencias significativas en cuanto a la edad materna (media G1= 32,80; media G2= 34,21), edad paterna (media G1= 35,87; media G2= 37,88); causa de esterilidad, T.R.A. (FIV o ICSI), estradiol el día de la administración de la hCG (media G1= 3769,95; media G2= 3480,57); o número de embriones transferidos (media G1= 2,93; media G2= 2,98). El valor de b-hCG en el G2 fue significativamente mayor que en el G1 (P-valor <0,001). Con una sensibilidad del 84% y una especificidad del 73%, el punto de corte se determinó en b-hCG (44 mUI/ml para gestaciones evolutivas. Los embarazos múltiples presentaron valores de beta mayores que los embarazos únicos (P-valor<0,001). El punto de corte, en este caso, fue de b-hCG≥87,50 mUI/ml para gestación evolutiva múltiple (sensibilidad=83%; especificidad=78%).

Conclusiones: De acuerdo con nuestros resultados, el valor de b-hCG el día 13 post-punción es un buen predictor de la evolución de las gestaciones en ciclos de FIV.

Expresión de integrinas endometriales en esterilidad: correlación con la fertilidad

Creus M, Ordi J, Ferrer B, Fábregues F, Carmona F, Casamitjana R, Vanrell JA, Balasch J.

Hospital Clínic. ICGON. Barcelona.

Objetivo: Analizar la correlación entre el datado histológico y la expresión de integrina $\alpha V \beta 3$ en el endometrio de pacientes estériles y la ulterior fertilidad de la mujer.

Material y métodos: Se incluyeron en el estudio 100 pacientes estériles de $31,9 \pm 3,4$ años de edad media, a las que se practicó 2 biopsias endometriales en un mismo ciclo (el día +7 o +8 postovulatorio y 4 días más tarde) evaluándose histológicamente el endometrio y la expresión de integrinas $\alpha 4$ y $\alpha V \beta 3$ mediante inmunohistoquímica. Todas las pacientes fueron seguidas posteriormente durante 18-24 meses sin tratamiento.

Resultados: El 25% de las biopsias realizadas en fase lútea media mostraron un endometrio "fuera de fase" y solamente una realizada en fase lútea tardía. Se objetivó expresión glandular de integrina $\alpha V \beta 3$ en el 50% de las muestras tomadas en fase lútea media siendo significativamente más frecuente su expresión en los endometrios "en fase" (63%) que en los endometrios "fuera de fase" (12%) ($p < 0,001$). Todas las biopsias practicadas en fase lútea tardía expresaban dicha integrina. La expresión glandular de integrina $\alpha 4$ se objetivó en un 99% de las biopsias realizadas en fase lútea media y sólo en un 32% de las practicadas en fase lútea tardía, no observándose diferencias entre los endometrios "en fase" y "fuera de fase".

Treinta y ocho mujeres quedaron gestantes espontáneamente durante el período de seguimiento. No se hallaron diferencias al comparar los grupos con expresión positiva y negativa de integrina $\alpha V \beta 3$ ni tampoco al comparar los grupos con endometrio "en fase" y "fuera de fase".

Conclusiones: Ni la evaluación histológica del endometrio en fase lútea media ni la expresión de integrina $\alpha V \beta 3$ en endometrio en fase lútea media o tardía se correlacionan con el pronóstico de fertilidad de las pacientes estériles.

Agradecimientos: Trabajo realizado con las ayudas FIS 98/1193 y 00/0399

Expresión de integrina $\alpha V \beta 3$ y formación de pinópodos en el endometrio normal y "fuera de fase" de mujeres fértiles y estériles

Creus M, Ordi J, Fábregues F, Carmona F, Casamitjana R, Ferrer B, Coll E, Vanrell JA, Balasch J

Hospital Clínic. ICGON. Barcelona

Objetivo: Investigar la relación temporal entre la expresión de integrina $\alpha V \beta 3$ y la formación de pinópodos, en biopsias de endometrio normal y “fuera de fase” de mujeres fértiles y pacientes estériles.

Material y métodos: Se incluyeron en el estudio 36 pacientes estériles y 12 mujeres fértiles control, todas ellas con ciclos regulares de 27-32 días y una edad media de 32.1 ± 1.3 y $33,8 \pm 1.1$ respectivamente. Se practicaron 2 biopsias de endometrio (el día +7 ó +8 postovulatorio y 4 días más tarde) en un mismo ciclo en todas ellas, determinándose asimismo el estradiol y la progesterona plasmáticos los mismos días. En todas las muestras de endometrio se valoró el datado histológico, la expresión de integrina $\alpha V \beta 3$ y la formación de pinópodos.

Resultados: No se hallaron diferencias significativas en la expresión de integrina $\alpha V \beta 3$, la formación de pinópodos y las determinaciones hormonales entre los controles y las pacientes estériles independientemente de que el endometrio fuera “en fase” o “fuera de fase”. El período de máxima expresión de los pinópodos fue entre los días 4º y 8º postovulatorio, mientras que la integrina $\alpha V \beta 3$ se expresó esencialmente desde el 7º día postovulatorio hasta el final del ciclo.

Conclusiones: Existe una clara disociación en la expresión temporal de dichos marcadores. Queda por determinar el significado funcional de los mismos.

Agradecimientos: Trabajo realizado con las ayudas FIS 98/1193 y 00/0399

Gestación bioquímica: valor clínico en reproducción asistida

Vidal C, Bellver J, Bosch E, Crespo J, Remohí J, Pellicer A, Serra V

Instituto Valenciano de Infertilidad.
Valencia.

Introducción: Existe controversia en la literatura mundial sobre el valor clínico de las gestaciones bioquímicas.

Objetivo: Analizar el significado clínico de las gestaciones bioquímicas obtenidas tras técnicas de reproducción asistida (TRA) con vistas al pronóstico reproductivo posterior.

Pacientes y método: Hemos evaluado 927 ciclos de pacientes sometidas a TRA en nuestro centro dividiendo a las pacientes en tres grupos según el resultado obtenido en el primer ciclo: no gestación (n=513), embarazo bioquímico (n=207) y aborto clínico (n=147). Se ha analizado la evolución en ciclos pos-

teriores (2º, 3º y 4º ciclo). Se realizó determinación de niveles séricos de β -hCG a los 16 días post-hCG y se realizaron ecografías vaginales semanalmente. Hemos considerado como gestaciones precoces no evolutivas los abortos clínicos, ectópicos y gestaciones bioquímicas.

Resultados: No se han encontrado diferencias significativas en la probabilidad de gestación en los tres siguientes ciclos entre las pacientes que no gestaron en el primer ciclo, tuvieron una gestación bioquímica o abortaron. Sin embargo, la probabilidad de gestación evolutiva precoz en caso de embarazo obtenido en cualquiera de los tres ciclos siguientes difiere si en el primer ciclo no se obtuvo gestación (73,4%), se obtuvo un embarazo bioquímico (60,5%) o se produjo un aborto (65,9 %), (p=0,024). Hay diferencias significativas al comparar las pacientes que no gestaron frente a las que tuvieron una gestación bioquímica (p< 0,006), no así entre los bioquímicos y abortos ni los abortos frente a las que no gestaron.

Conclusiones: Tener una gestación bioquímica previa supone un factor de mal pronóstico para obtener una gestación evolutiva en los ciclos siguientes.

Factores pronósticos de aborto en gestaciones conseguidas tras fecundación in vitro

Villasante A, Landazabal A,
Requena A, Martínez-Salazar J,
García-Velasco JA, Simón C*.

IVI-Madrid. *IVI-Valencia

Objetivos: Evaluar qué factores de la estimulación ovárica están implicados en un mayor riesgo de aborto en gestaciones conseguidas tras FIV.

Método: Estudio observacional, retrospectivo, entre Enero de 2000 y Febrero de 2002, de 505 gestaciones obtenidas tras FIV-ICSI, de las cuales 57 (11,29%) finalizaron en aborto durante el primer trimestre. La transferencia embrionaria se realizó en fresco, en día 2 o día 3, excluyendo el programa de ovodonación. Las variables cualitativas han sido analizadas mediante el test de χ^2 y el test de CMH, y las variables cuantitativas por medio de modelos de Análisis de la Varianza. Adicionalmente se han calculado OR ajustadas por medio de un modelo de regresión logística multivariante. Todos los análisis estadísticos se han realizado con el Sistema SAS versión 8.

Resultados:

- Niveles plasmáticos de estradiol <1000 o >2500

pg/ml, el día de la hCG, se relacionan con una tasa mayor de aborto (CMH;p=0,037).

- En las pacientes con <6 o >24 ovocitos, se observó una tasa mayor de aborto (CMH;p=0,006).

- Se detectó mayor tasa de abortos en las pacientes que obtuvieron más de 10 embriones en día 2 o día 3 (25,5%), respecto a las pacientes con 10 o menos embriones en esos mismos días (9,6%) (χ^2 ; p>0,001).

- Tanto en las pacientes que no criopreservaron embriones como aquellas que criopreservaron 8 o más, se observó mayor tasa de abortos respecto a las pacientes que criopreservaron entre 1 y 7 (X²; p<0,001). La OR ajustada por edad ha resultado ser de 5,10 mas riesgo de aborto cuando se congelan más de 8 embriones, que cuando se congelan entre 1 y 7 (IC95% entre 2,19 y 11,90).

- Los niveles plasmáticos de beta-hCG, el día +12 post transferencia, fueron inferiores en gestaciones que finalizaron en aborto (ANOVA;p=0,040).

Conclusiones: Los resultados de este estudio demuestran que pacientes con alta y baja respuesta para los protocolos de estimulación ovárica controlada presentan una mayor tasa de aborto, que resulta estadísticamente significativa.

Resultados de las técnicas de reproducción asistida en pacientes tratados de cancer

Molina N., Crespo J., Bosch E.,
Escudero E., Simón C, Remohi J.,
Pellicer A.

Instituto Valenciano de Infertilidad.
Valencia

Antecedentes: El Tto. Oncológico con quimioterapia / radioterapia puede producir un daño gonadal severo tanto en mujeres como en hombres.ç

Objetivos: Demostrar que las TRA dan alternativas de solución cuando la fertilidad es una consecuencia de tto. Oncológico y cuando es necesario preservar la capacidad reproductiva antes de iniciarlo.

Material y Método: Estudio retrospectivo de 36 pacientes (26 ♀ / 10 ♂) con antecedentes de Ca e Infertilidad de Enero de 1998 a Febrero de 2002.

Resultados.-Mujeres con Ca. Tratado oncológicamente y TRA (n=26)

Dx. Ca	N	Tx.	Dx.	TRA	Tasa Embar.	Tasa Implant.	Emb. criop
L.Hodgkin	9	Qm+Rd.	9 FOP	D.Ov	57% (4/7)	30% (6/20)	-
L. No Hodg	2	Qm+Rd	1 FOP 1Nor	D.Ov ICSI	50% (1/2)	33% (1/3)	- 5
Ca. Mama	3	2Qm+ Rd+Mas	2 FOP	D.Ov	33% (1/3)	41,6%(5/12)	-
		1Qm+ Rd+Mas	1Nor	FIV	100% (1/1)	100% (3/3)	-
Leucemia	4	Cm y/o TMO	3FPO	D.Ov	50% (1/2)	33% (1/3)	-
		1FOQ	FIV	0% (0/1)	0% (0/1)	-	-
A. intestino	1	Cx	Norm	-	-	-	-
Ca. Colon	1	Cx	Tubá	FIV	100% (1/1)	33%(1/3)	-
Ca. Ovario	2	Cx	Norm	ICSI	-	-	4
Ca. Cerviz	1	HAT	-	-	-	-	-
Ca. Tiroide	1	y.Rd	-	-	-	-	-
Ostrosarc	1	Cx+Qm	FOP	-	-	-	-

Hombres con Ca. Tratado oncológicamente y TRA (n=0)							
Dx. Ca	N	Tx.	Dx.	TRA	Tasa emb.	Tasa imp	
Seminorma	2	Orquitect Orq.Un+Qm	Azoosp	IAD	0% (0/2)	-	-
L.Hodgkin	9	Qm+Rd.	1Azoosp 1Cripto	ICS	0% (0/2)	-	-
L. No Hodg	1	T.M.O	Azoosp	ICS	100% (1/1)	33% (1/3)	-
Leucemia	2	1Qm	Azoosp	IAH	0% (0/3)	0%	-
		1Qm	Asteno	FIV	100% (1/1)	33% (1/3)	-
Ca. Tiroid	3	Y.Rd.	Asteno Necrozo	ICSI-Dov ICSI	0% (0/2) 0% (0/1)	0% (0/8) 0% (0/4)	-

Qm=quimioterapia, Rd= Radioterapia, Cx= Cirugía, Y.Rd= YodoRadioactivo, Mas=Mastecto Mi D.OV=DonacionOvacitaria, YRd.=Yodoradioactivo, T.M.O= Transplante Médula Osea.

Conclusiones: La TRA ayuda a preservar la capacidad reproductiva afectada por los tratamientos oncológicos.

-La donación ovocitaria tiene altas tasas de embarazo, esto refleja la ausencia de afección uterina con los tratamientos oncológicos

-La criopreservación embrionaria, permite a las pacientes con cáncer, preservar su capacidad reproductiva potencial, con la oportunidad de tener un hijo con su propio material genético.

Resultados reproductivos en pacientes con disgenesias gonadales

Badalotti F, Navarro J, Caligara C, Escudero L, Prados N, Pellicer A, Remohí J.

Clínica IVI-Sevilla.

Objetivo: Analizar los resultados de las pacientes con una disgenesia.

Material y método: Estudio retrospectivo, en el que 45 pacientes con disgenesia gonadal, se compararon con 680 ciclos en 358 mujeres con un fallo ovárico precoz (FOP) sin causa genética. Las diferencias significativas entre los grupos se determinaron con Test de Fisher, ANOVA o t-Student. Consideramos como estadísticamente significativo valores de $P < 0,05$.

Resultados: Tablas I y II.

Tabla I. Datos de los ciclos donación en las receptoras.

	46XX	45XO	46XY	Todas disg.	FOP
Nº pacientes	19	20	6	45	358
Nº ciclos	39	45	9	92	680
Nº ciclos Tranf.	32	33	7	72	567
Nº ovo. Dona.*	7,73±2,10	8,70±2,89	8,50±1,80	8,17±,48	8,04±2,13
Tasa fert.*	68,5±28,2	74,9±20,0	57,4±17,8	70,2±24,9	73,6±25,0
Nº emb.Trans.*	2,92±1,44	2,97±1,38	3,43±1,05	2,98±1,39	2,99±1,52
Estradiol(pg/ml)*	309,2±121	361,4±128	278±84	328,4±124	341,8±212
Días THS V.E*	36,3±17	38,4±21	38,8±22,6	38,6±8,2	37,9±17,4
Endo mm*	9,3±2,1	10,1±2,5	8,9±2,34	9,6±2,3	9,3±2,5

Tabla II. Resultados reproductivos tras la donación ovocitaria.

	46XX	45XO	46XY	Todas disg	FOP
Nº ciclos	39	45	9	92	680
Nº cicl. Transf.	32	33	7	72	567
Años ± DE	31,9±5,2	35,2±4,7	30,5±3,8	33,3±5,2	35,5±4,8
T. implant	28,83	26,36	37,50	28,28	22,72
T. gest/ciclo %*	(19)59,3	(20)60,6	(5)71,4	(44)59,7	(286)50,4
T nac/ciclo (%)*	(16)50	(11)33,3	(4)57,1	(31)43,0	(279)49,2
Pérdidas temp	(2%)10,5	(4%)20,2	(1%)20,0	(7%)15,9	(45%)15,7
Gest. en curso %	(1)5,2	(5)25,0	(0)0	(5)11,3	(32)11,1

*No diferencias estadísticas entre grupos. Valores expresados como medias ±DE

Conclusiones: Los resultados gestacionales no parecen afectarse cuando se realiza una óptima preparación con THS, al tiempo que una adecuada sincronización de la donante y de la receptora proporciona resultados similares a los de las pacientes con FOP sin alteraciones cromosómicas.

Resultados perinatales en pacientes con disgenesias gonadales

Navarro J, Caligara C, Escudero L, Badalotti F, Prados N, Pellicer A, Remohí J

Clínica IVI. Sevilla.

Objetivo: Resultados perinatales en las pacientes con un fallo gonadal secundario a una disgenesia.

Material y método: estudio retrospectivo en el que treinta y nueve ciclos de pacientes con disgenesias gonadales puras (46,XX), 45 con Síndrome de Turner (45,X0) y 9 con Síndrome de Swyer (46,XY), se compararon con 680 ciclos en 358 mujeres con FOP, sin causa genética. Los resultados se expresan como porcentajes y medias ± DE. Las diferencias significativas entre los grupos se determinaron con Fisher Exact Test, ANOVA o Student t-test. Consideramos como estadísticamente significativo valores de $P < 0,05$.

Resultados: La tasa de gestación múltiple en todas las disgenesias fue del 24% y 30,7% en las pacientes con FOP; no existieron diferencias estadísticamente significativas. Se diagnosticaron tres casos de hipertensión inducida por el embarazo (uno en cada grupo de disgenesia gonadal); sin embargo, ninguna comprometió la gestación. No observamos partos pretérmino.

	46XX	45XO	46XY	FOP
GESTACIÓN ÚNICA				
Nº de casos	10	5	4	124
P. Vaginal	1 (10%)	1 (25%)	1 (25%)	38 (30,7%)
Cesárea	9 (90%)	4 (75%)	4 (75%)	86 (69,3%)
Edad gest. media (sem)	3036±639	38,2±1,1	37,7±2,3	37,5±2,5
varón	8 (80%)	2 (40%)	0 (0%)	65 (52,4%)
Mujer	2 (20%)	3 (60%)	4 (100%)	59 (47,6%)
Peso medio (gr)	2845±730	2966±360	3053±370	3036±639
GESTACIÓN MÚLTIPLE				
Nº de casos	3	3	0	55
Parto Vaginal	0 (0%)	0 (0%)		4 (7,3%)
Cesáreas	3 (100%)	3 (100%)		51 (92,7%)
Edad gest. media (sem)	35,5±0,5	34,5±4,9		36,1±1,9
varón	4 (66,6%)	3 (50%)		62 (53,6%)
mujer	2 (33,3%)	3 (50%)		52 (46,4%)
Peso medio (gr)	2541±257	1712±358		2284±670

Conclusiones: La tasa de gestación, y de recién nacido vivo por ciclo demuestra que la donación es una opción con aceptables resultados. Sin embargo, recomendamos que estas pacientes se controlen en unidades de alto riesgo obstétrico.

Características y manejo clínico de pacientes con Síndrome de Klinefelter

López E, Bassas L, Pomerol JM

Servicio de Andrología, Fundació Puigvert. Barcelona.

Antecedentes: El síndrome de Klinefelter (SK), es la cromosomopatía más frecuentemente asociada a hipotrofia testicular (prevalencia 1:500 varones). La reciente posibilidad de acceder a la procreación ha reabierto el interés por las características del SK.

Objetivo: Describir la clínica, fertilidad, y progresión de la espermatogénesis en una serie histórica de pacientes con SK en un Servicio de Andrología.

Material y Métodos: Se revisaron los registros de 111 pacientes diagnosticados de SK entre 1970 y 2001, incluyendo la edad de presentación, motivo de consulta, hallazgos físicos, hormonas, cariotipo, seminogramas, y biopsia testicular. Se consignó la actitud reproductiva.

Resultados: La media de edad en el momento del diagnóstico fue de $32,6 \pm 8,2$ años (media (DS)), el motivo principal de consulta fue esterilidad (75,6%), seguida de bajo volumen testicular (8,1%) disfunción eréctil (8,1%) y ginecomastia (6,3%). Los procesos sistémicos más frecuentes fueron psicopatías (7,2%), diabetes (5,4%), dislipemia y asma, ambos con un 3,6%. El cariotipo más frecuente fue 47XXY (74%) seguido de mosaicismo 46XY/47XXY (12,6%). Diez de 93 pacientes en los que realizó al menos un seminograma (10,7%) tenían espermatozoides en eyaculado ($0,52 \pm 0,69$; rango 0,001-2 millones/mL). En 5 pacientes se realizó un seguimiento limitado (media 13 meses), apreciándose disminución en la concentración espermática en 4 de ellos. Se realizó biopsia de testículo en 14 pacientes, hallando representación germinal en 6 muestras (42,8%) y espermatozoides en 2 (14,3%). Diez pacientes con pareja optaron por IAD, y uno efectuó ICSI con gametos propios como tratamiento de la esterilidad, y consiguieron descendencia. En 6 casos se optó por la adopción, y en 2 pacientes no se especifica.

Conclusiones: En una amplia serie de pacientes con SK destaca la edad tardía del diagnóstico, la significativa prevalencia de psicopatías y diabetes, y la escasa proporción de sujetos con espermatozoides en el semen y en biopsia testicular. A pesar de que la evolución seminal sólo se realizó en pocos pacientes y durante un corto período de seguimiento, parece ob-

servarse una tendencia al deterioro de la concentración espermática. A este respecto parece aconsejable realizar estudios prospectivos a partir de la entrada en la adultez, con el fin de establecer la evolución del SK en pacientes con espermatogénesis residual.

Influencia del método de preparación de semen en los resultados de ICSI

Núñez Calonge R, Sarrias O, Cortés S, González B, Caballero P.

Unidad de Reproducción, Clínica Tambre. Madrid.

El objetivo de este estudio es conocer si el método de recuperación de espermatozoides móviles (swim-up o gradientes de densidad), puede afectar los resultados de fecundación en Microinyección espermática (ICSI).

Material y métodos: Se han estudiado un total de 500 ciclos de FIV-ICI (Septiembre 1999-Octubre 2001) en los cuales se ha realizado ICSI solamente (317 ciclos, 219 pacientes) o FIV-ICSI (60 ciclos, 56 pacientes). En todos los ciclos de FIV-ICSI se empleó como técnica de preparación espermática los gradientes de densidad (Puresperm, Scandinavian), y en los ciclos de ICSI, indistintamente swim-up o gradientes, dependiendo de la calidad inicial de la muestra de semen. En total, se realizaron 357 ciclos con swim-up y 143 ciclos con gradientes. En cada caso hallamos la tasa de fecundación y porcentaje de ovocitos degenerados al microinyectar.

Resultados: De los 357 ciclos en los que se ha realizado swim-up (4284 ovocitos) han fecundado 3598 (84%) y han degenerado 119 (2,8%). De los 143 ciclos con gradientes (3146 ovocitos) fecundaron 2454 (78%) y degeneraron 346 (11,2%). No existen diferencias en la tasa de fecundación entre ambos grupos, pero existen diferencias significativas en el porcentaje de ovocitos degenerados ($p < 0,01$).

Si separamos en los ciclos en los que se ha empleado gradientes aquellos con más de 10 ovocitos y con menos de 10 ovocitos, encontramos un porcentaje de ovocitos degenerados del 18,2% en el primer caso y en el segundo caso del 4,2%. ($p < 0,001$). Las tasas de fecundación fueron del 70 y 87% respectivamente ($p < 0,5$).

Conclusiones: El empleo de la técnica de gradientes de densidad para separación de espermatozoides en ICSI puede aumentar la tasa de embriones degenerados, sobre todo si el número de ovocitos a microinyectar es mayor de 10.

Influencia del método de congelación y descongelación de los espermatozoides de testículo en los resultados de ICSI

Núñez R, Cortés S, Sarrias O, Agustín S, González B, Caballero Peregrín P.

Unidad de Reproducción Humana, Clínica Tambre. Madrid.

El **objetivo** de este estudio es analizar los resultados de los ciclos de microinyección espermática con espermatozoides congelados-descongelados, procedentes de biopsia de testículo en relación con un nuevo método de preparación de los mismos.

Material y métodos: Se han incluido en el trabajo todos los ciclos de ICSI (21 ciclos, 17 parejas), realizados en el año 2001 utilizando espermatozoides congelados y descongelados procedentes de biopsia de testículo. Tres pacientes fueron diagnosticados de azoospermia secretora, mientras que el resto (14) eran azoospermias obstructivas.

Las muestras de biopsia de testículo se procesaron según el método habitual (aislamiento del tejido testicular, swim-up y congelación del resuspendido en píldoras). La modificación del método de congelación y descongelación consistió en la congelación de las muestras tras el, swim-up, sin incubación previa, y descongelación, preparación de microgotas de medio de cultivo (IVF, Medi-Cu!) e incubación de los espermatozoides durante al menos 4 horas.

Resultados: De los 21 ciclos, en tres: casos se realizó cultivo embrionario en medios secuenciales, llegando en ambos casos a la consecución de blastocistos, pero sin gestación por factor femenino. En otros dos casos no se realizó transferencia por riesgo de hiperestimulación ovárica, criopreservándose todos los embriones. En los dos casos se consiguió gestación en el primer criotransfer. Otro ciclo se realizó siendo la edad de la mujer de 42 años, con solo 3 ovocitos conseguidos. En el resto de los ciclos (n=15) se consiguieron 6 embarazos. La tasa global de fecundación fue del 76%, 90% de división embrionaria, y la tasa de blastocistos del 34%. Si no incluimos los ciclos en los que existía factor femenino asociado (3 casos con edad >38 años y/o baja respuesta) e incluimos las gestaciones post criotransferencia, la tasa global de gestación por transfer es del 57%.

Conclusiones: La incubación post descongelación de los espermatozoides testiculares en ciclos de ICSI pa-

rece ser un método efectivo, con el que se consiguen altas tasas de embarazo.

Efecto de la morfología del espermatozoide sobre el resultado del ICSI

Albert C., Bosch E., Gámiz P., Cobo A., Mercader A., Remohí J., De los Santos MJ

Instituto Valenciano de Infertilidad. Valencia

Antecedentes: E ICSI nos permite seleccionar espermatozoides de forma individual, esto nos permite conocer la morfología antes de ser microinyectados. En algunos casos, no todos los ovocitos se pueden microinyectar con espermatozoides normales, por los que nos interesa saber que ocurre con los embriones resultantes en estos casos.

Objetivo: Evaluar el efecto de la morfología del espermatozoide utilizado en la microinyección de los ovocitos, sobre la fecundación, y la tasa de gestación.

Material y método: 1375 ovocitos procedentes de ciclos de donación y propios, microinyectados con espermatozoide normal, borderline, o normal se analizaron en un estudio retrospectivo desde Julio del 2002 hasta diciembre de 2002.

Resultado:

Morf. Esperm.	% Fecun.	%No fecund	% F. anómala	% Degenerados
Normal (514)	63.6	19.3	7.9	9.2
Borderline (654)	56*	25	7.6	11.4
Anormal (207)	55.5*	21.3	14.6*	8.7

*Test X2 P<0.05

Propios	% Gest en curso	Donados	% Gest en curso
Normal (12)	50%	Normal (16)	50%
Borderline (18)	33%	Borderline (13)	38%
Anormal (10)	40%	Anormal (8)	25%

La tasa de fecundación conseguida con espermatozoides borderline y anormales fue estadísticamente menor que la conseguida con espermatozoide clasificados como anormales (p<0.05). No se encontraron diferencias entre los tres grupos (normal, borderline o anormal), en cuanto al porcentaje de gestaciones en curso por ciclo, probablemente por el tamaño de la muestra.

Conclusiones: La microinyección de ovocitos con espermatozoides anormales y borderline influye en el número de ovocitos fecundados y posiblemente en la calidad de los embriones dada la existencia de una tendencia a la disminución del número de la tasa de gestaciones en curso. Dichos datos pueden ser por lo tanto de gran utili-

dad para predecir la eficiencia de un ciclo de ICSI en base a la calidad de los espermatozoides utilizados.

Gestación tras microinyección intracitoplasmática (ICSI): Espermatozoides procedentes del eyaculado frente espermatozoides procedentes de biopsia testicular

Gutiérrez-Corchado L¹, Iñiguez J¹,
Bachiller J¹, Estrade A¹, Gasca L¹,
Salido E¹, Bebek H², Pedrero S¹

¹. Unidad de Reproducción Asistida.
Policlínica San Mauricio. Jerez de la
Frontera. (Cádiz). ². Hospital General
Universitario. Valencia

Introducción: La microinyección intracitoplasmática (ICSI), no sólo permite mejorar los resultados obtenidos con técnicas de FIV, sino que ha abierto nuevas alternativas terapéuticas para parejas infértiles a las que sólo se les podía ofrecer la inseminación de donante o la adopción como únicas alternativas.

El objetivo que nos marcamos fue averiguar si la procedencia de los espermatozoides para la realización de la ICSI, provocan cambios en las tasas de gestación e implantación embrionaria.

Material y métodos: Estudio retrospectivo sobre 189 ciclos de ICSI en los cuáles el factor de infertilidad fue estrictamente masculino. De ellos 29 ciclos (grupo I) fueron con espermatozoides móviles procedentes de biopsia testicular y 160 ciclos (grupo II) con espermatozoides móviles procedentes de eyaculado.

Resultados: El grupo I presentó una tasa de gestación de 48.28% frente al 46.25% del grupo II, mientras que la tasa de implantación embrionaria fue de 24.18% frente al 19.92%, a favor del grupo I. Tanto la tasa de gestación como la de implantación embrionaria no presentan diferencias significativas ($p > 0.05$) (Tabla 1).

En cuanto a las características de las pacientes no hubo diferencias significativas en ninguna de las variables cuantitativas estudiadas. La edad de los dos grupos fue pareja, 32.97 ± 3.97 y 32.54 ± 4.25 entre el grupo I y el grupo II, respectivamente. Tanto el número de ovocitos obtenidos (12.72 ± 7.73 y 14.43 ± 8.15) como el número de embriones transferidos (3.14 ± 0.64 y 3.17 ± 0.65) entre grupo I y grupo II,

respectivamente, así como la calidad de los mismos (2.16 ± 1.12 y 2.17 ± 1.2) fue muy similar.

Tabla 1.

NS: Diferencia estadística no significativa. ($p > 0.05$)

	ICSI Grupo I	ICSI Grupo II	p-valores
Tasa de fecundación (%)	72.22	79.58	NS
Tasa de gestación (%)	48.28	46.25	NS
Tasa de implantación (%)	24.18	19.92	NS

Conclusión: A la vista de los resultados obtenidos a través de nuestro estudio, concluimos que tanto la tasa de fecundación, gestación e implantación embrionaria conseguidas con espermatozoides obtenidos por biopsia testicular, no difieren estadísticamente a las obtenidas con espermatozoides del eyaculado, lo cual corrobora los resultados descritos por diferentes autores.

Relación entre la movilidad espermática, parámetros cinéticos y tasa de fecundación en FIV

Cortés S, Agustín S, González B,
Sarrias O, Núñez R, Caballero P.

Unidad de Reproducción Humana,
Clínica Tambre. Madrid.

Objetivo: El objetivo de este estudio es conocer si existe alguna relación entre la movilidad espermática objetiva (sistema CASA) y el valor de los 3 parámetros cinéticos y la tasa de fecundación en FIV convencional.

Material y métodos: El análisis de la movilidad espermática se ha realizado en muestras de semen procesadas por gradientes de densidad con el sistema computerizado Sperm Class Analyzer (SCA) (Microoptics) en 36 ciclos de FIV, en los cuales se recuperaron más de 8 ovocitos. Se compararon las medidas entre dos grupos de pacientes dependiendo de los resultados de fecundación: con $>50\%$ de tasa de fecundación y $<50\%$ de tasa de fecundación. Los parámetros analizados por el SCA fueron: % espermatozoides móviles totales, % espermatozoides lentos, % medios y % rápidos. Los parámetros cinéticos son: VCL (velocidad curvilínea), VSL (velocidad rectilínea), VAP (velocidad lineal), LIN (índice de linealidad: VSL/VCL). STR (índice de rectitud: VSL/VAP) y WOB (índice de oscilación: VAP/VCL).

En cuanto a los parámetros angulares: ALH (amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza), Dance (ALH x VCL) y BCF (frecuencia de batida de la cabeza).

Resultados:

	Tasa de fecundación	
	<50%	>50%
% rápidos + progresivos	43,6	35,6a
VCL	67,6	74b
STR	74,6	43,8c
WOB	57,8	72,9a

a<0,5; b<0,05; c<0,01

Conclusiones: Estos resultados indican que el análisis computerizado de la movilidad espermática puede proporcionar una estimación aproximada de la capacidad fertilizadora de los espermatozoides. Las diferencias encontradas entre las características de movilidad (incluyendo VCL y espermatozoides rápidos. más progresivos) indican que la distancia total que recorren los espermatozoides y su linealidad (STR) podrían influir en la fertilización.

Recuperación de espermatozoides móviles en muestras de semen descongeladas dependiendo del método (Gradientes/SWIM-UP)

González B, Agustín S, Cortés S, Núñez R, Sarrias O, Caballero P.

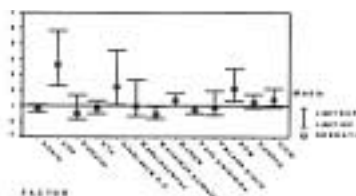
Unidad de Reproducción Humana, Clínica Tambre. Madrid.

Objetivos: El objetivo de este trabajo es conocer si existen diferencias de recuperación espermática en muestras de semen congeladas y descongeladas dependiendo del método utilizado: swim-up o gradientes de densidad.

Material y métodos: En el estudio se han incluido muestras de semen de donante en las cuales se tomaron dos alícuotas antes de la congelación y se realizó un test de capacitación (REM) con dos métodos: swim-up (medio de cultivo: IVF, Medi-Cult) y gradientes de densidad (Puresperm, Scandinavian y IVF, Medi-Cult). El método de congelación utilizado fue el sistema de píldoras y nieve carbónica, y el diluyente empleado el CRIOSPERM (Test-Yolk). Se descon-

gelaron un total de 35 dosis, cada una de las cuales se dividió en dos alícuotas y se procesaron por los dos métodos anteriores.

Resultados: Antes de la congelación, no se obtienen diferencias significativas entre los dos métodos. Después de descongelar las muestras existen diferencias estadísticamente significativas entre la media de recuperación espermática con swim-up y gradientes (4,35 versus 11 millones espermatozoides móviles). Los resultados se muestran en la gráfica siguiente.



Conclusiones: Se obtiene mayor tasa de recuperación de espermatozoides móviles de muestras de semen congeladas utilizando la técnica de gradientes de densidad que el swim-up, probablemente debido a la viscosidad del medio utilizado como crioprotector.

Estimulación folicular con hormona recombinante en el tratamiento de fiv-icsi. Experiencia clínica con folitropina alfa y beta.

Marques N, Medina V, Fernández A, Jiménez A, Mahtani V, Alberto JC

Hospital Universitario de Canarias (HUC).Santa Cruz de Tenerife.

Objetivo: Comparar los resultados de FIV-ICSI con diferentes protocolos de estimulación utilizando FSH recombinante (Foliotropina alfa y beta) en el control de la estimulación ovárica.

Material y métodos: El estudio está basado en 433 ciclos durante el año 2000 (290 ciclos Foliotropina alfa y 143 ciclos Foliotropina beta). Para la desensibilización hipofisaria se utilizó a GnRH. Se administró hCG cuando 4 ó mas folículos presentaban un tamaño de 18 mm. La recuperación ovocitaria se realizó a las 36 horas post-administración de la hCG. Hemos comparado la media de ovocitos recuperados, ovocitos en MII, embarazo y aborto en los diferentes protocolos de estimulación.

Resultados: No hubo diferencia significativa entre

los grupos de FSH recombinante. La media de ovocitos recuperados fue (Foliotropina alfa 8.8 y Foliotropina beta 9.3) y ovocitos en MII (Foliotropina alfa 7.1 y Foliotropina beta 6.7). Hemos obtenido 46 embarazos de 290 ciclos con Foliotropina alfa y 21 embarazos de 143 ciclos con Foliotropina beta, de los cuales 5 y 3 evolucionara a abortos respectivamente.

Conclusiones: La Foliotropina alfa y Foliotropina beta son igualmente eficaces en el tratamiento de la FIV-ICSI.

Valoración de resultados en 280 ciclos de Inseminación Artificial Intrauterina (IAI) en el año 2001

Román M.J., Bovea C., Castillon G., Dieguez F., Matallín P., Perez Vazquez JM., Dieguez S., Martinez escoriza JC.,

Hospital General Universitario
Alicante.

Los buenos resultados obtenidos con la IAI parecen estar en relación fundamentalmente con una correcta selección de los casos. Un ajustado Criterio de Inclusión/Exclusión respecto a determinadas variables como la edad, REM, dosis total de FSH r empleada y nº de folículos obtenidos parecen influir en mayor medida que el nº de IAI por ciclo, Técnica y apoyo de la FL.

Objetivos: Analizar los resultados obtenidos (tasa de embarazo, de aborto, de ectópico), así como analizar las variables que pueden haber influido en lo resultados de nuestro Protocolo de IAC/IAD, a la vista de la notable diferencia de resultados entre si.

Material y Métodos : de un total de 110 parejas estériles (106 IAC y IAD) con 271 ciclos de IAC y 9 ciclos de IAD estimulados con FSH r durante el año 2001, se describen los siguientes parámetros:

edad tipo y tiempo de esterilidad, nº de ciclos, protocolo de estímulo, duración del mismo, nº de ampollas, dosis total, monitorización folicular (nº de folículos mayor de 15 mm), niveles de estradiol, grosor endometrial, día y dosis de HCG, valor del REM, técnica del IAI, número de IAI, apoyo de la fase lútea, porcentaje y motivo de cancelación.

Resultados: se describen los resultados de todos los parámetros analizados relacionándolos con: la tasa de Embarzo/Ciclo IAC (7,38%), Tasa de Gestación/Pareja IAC (19,23%), Tasa de embarazo / ciclo IAD (33,3), Tasa de Gestación / Pareja IAD (100%)

Conclusiones: la calidad del REM es sin duda un factor determinante en los resultados de las IAI, como lo prueba la alta tasa de gestaciones en la IAD, aunque nuestra casuística en este caso sea reducida. Menos valor parece tener el protocolo, similar en ambos grupos. Cabe destacar también el factor edad como criterio importante en la obtención de buenos resultados.

Actividad y resultados en ciclos de I.O., IAC e IAD, en el Hospital Xeral-Cies de Vigo, durante el año 2001

Cerviño E, Vazquez D, Labandeira A, Sampayo V, Gago S

Unidad de Reproducción Asistida,
Hospital Xeral-Cies de Vigo.

Objetivos: Analizar resultados obtenidos en los ciclos de Inducción ovulación con Coitos programados y en los ciclos de Inseminaciones Artificiales con semen conyugal y con donante

Material y Métodos: Ciclos: Se incluyeron en programa durante el año 2001, 104 parejas. 22 parejas en protocolo de IO y CP, y 82 parejas en IAC/IAD (75/7) Realizamos 235 ciclos. 34 ciclos de IO y CP, 187 ciclos de IAC y 14 ciclos de IAD.

En la mayoría de los casos se emplearon gonadotropinas recombinantes (FSH) para la inducción de la ovulación. En los ciclos de IAC se incluyeron en protocolo parejas con un REM mayor de 3.

Causas: factor masculino (28%), esterilidad de causa idiopática (19%), factor cervical (13%), anovulación tipo II (9%), factor tubárico unilateral (6%), factor uterino (1%), fallo ovárico oculto (3%) y otras (3%).

Monitorización ecográfica de los ciclos, y en alguno control de estradiol sérico..

En las IAC se realizó, una inseminación a las 36 horas post hCG, y en las IAD, dos inseminaciones a las 24 y 48 horas post hCG. En tds los ciclos se empleó progesterona micronizada, vía vaginal, para soporte fase lútea.

Resultados: De los 34 ciclos de IO y CP, se consiguieron 9 gestaciones, con una tasa de gestación de 26,5% por ciclo y una tasa de gestación por paciente de 41%.

De los 201 ciclos de IAC/IAD, las gestaciones logradas fueron de 21, en los ciclos de IAC (tasa por ciclo del 11,4% y por paciente del 28%) y 2 gestaciones por IAD (tasa por ciclo del 14,2% y por paciente del 29%).

De los 32 embarazos, 24 gestaciones son únicas, 6 gemelares y 2 de las gestaciones son trillizos. La tasa de aborto fue del 9,3% (3 casos).

Se incluye en este estudio 2 parejas tratadas con semen conyugal congelado (quimioterápicos previos) . Una de ellas consiguió la gestación en el 2º ciclo.

Conclusiones: El tratamiento mediante ciclos de IO y IAC, sigue siendo sencillo y eficaz, y de elección en pacientes con integridad tubárica y recuento en capacitado > de 3 millones (la tasa de gestación mejora en REM>5 y en el grupo de menor edad)

En nuestro centro llevamos años realizando Inducciones de Ovulación y ciclos de IAC, pero con la adjudicación del banco de semen de donante, hemos podido incluir a parejas que se benefician de dicho banco para ciclos de IAD.

Actividad y resultados en ciclos de FIV/ICSI en el Hospital Xeral-Cies de Vigo, durante el año 2001

Vazquez D, CerviñoE, Labandeira A, Sampayo V, Gago S

Unidad de Reproducción Asistida, Hospital Xeral-Cies de Vigo.

Introducción: En Febrero del año 2001 se inauguró la Unidad de Reproducción Asistida en el Xeral-Cies, realizándose una recogida de datos de cada uno de los ciclos de FIV/ICSI.

Objetivos: Presentar dichos resultados, desde febrero a diciembre del 2001.

Material y métodos: Se trataron 107 parejas en nuestro programa de FIV/ICSI. En el protocolo se emplearon en la mayoría de los casos, análogos GnRh desde el día 22 del ciclo previo. La inducción de la ovulación se realizó combinando FSH y HMG (salvo en ciclos anovuladores donde se prescindió de HMG). La transferencia la realizamos en un día +2, salvo por criterios de selección embrionaria, que se realizó en un día +3. Se empleó soporte de fase lútea con progesterona micronizada vaginal.

Resultados: Se iniciaron 169 ciclos, de los cuales, 120 llegaron a la punción folicular. Se realizaron 109 transferencias. Se transfirieron 358 embriones con una media de 3,04 embriones/transfer. El total de gestaciones fue de 23. Gestaciones únicas 9 (39,1%), gemelares 4 (17,4%) y gestaciones triples 3 (13,0%). Además hubo 5 abortos (21,7%) y 2 embarazos ectópicos (8,7%). La tasa de gestación/transferencia fue del 21,1% y la tasa de gestación/paciente de 21,5%.

La tasa de cancelación de ciclos fue del 29,5% debido a las siguientes causas: -riesgo de SHO 20 ciclos(41%), baja respuesta ovárica 15(31%), caída de E2 6(12%), tumoración ovárica 1(2%) y accidental 7(14%).

No se registró ningún caso de ingreso por SHO, aunque sí uno por hemoperitoneo postpunción, que precisó laparotomía y coagulación de la superficie ovárica. Hasta diciembre del 2001 se realizaron 10 ciclos con embriones criopreservados, logrando la transferencia en 9 de ellos y consiguiendo una única gestación. Se empleó en los 10 casos el ciclo natural con monitorización ecográfica del folículo, y suplemento progestágeno.

Hasta el 22 de diciembre del 2001, el número de embriones cuantificados en nuestro banco era de 120.

Conclusiones: En este primer año de trabajo, hemos contado como primer objetivo con la puesta a punto de la Unidad, formada por personal en continuo aprendizaje.

Los resultados obtenidos, aunque algo inferiores a los de referencia, hacen que nuestras expectativas de cara al futuro sean alentadoras.

Destacamos la baja tasa de complicaciones secundarias al tratamiento.

Criotransferencia en ciclo espontáneo: Resultados del año 2001 frente al ciclo sustituido

García Enguádanos A, Núñez Calonge R, González Casbas JM, Cortés Prieto S, Caballero Peregrín P.

Unidad de Reproducción Humana. Clínica Tambre. Madrid.

Introducción: Los ciclos de transferencia mediante una técnica de criopreservación adecuada deben ser considerados en la actualidad una segunda oportunidad para la pareja de conseguir la gestación en un ciclo de FIV/ICSI. No obstante, tradicionalmente exigía la administración de un tratamiento sustitutivo con altas dosis de estrógenos.

Objetivo: Analizar los resultados obtenidos en los ciclos de criotransferencia realizados sin prescribir ningún tratamiento de sustitución, sólo con el ciclo espontáneo de la paciente.

Materiales y Métodos: Se han estudiado los 152 ciclos de criotransferencia realizados en la Clínica Tambre a lo largo del año 2001. De ellos, a toda paciente normoovuladora se le realizó siguiendo su ciclo menstrual espontáneo, transfiriendo en el momento de la ovulación, el cual se determinaba mediante control ecográfico y la administración de HCG 10.000 UI. En aquella paciente en que a priori hubiera dudas sobre su función ovárica se prescribió un tratamiento sustitutivo tradicional con dosis crecientes de valerianato de estradiol.

Resultados: De los 152 ciclos realizados hubo transferencia en 128 (84,2%). De éstos, 66 fueron con ciclo espontáneo (51,6%) y 62 con ciclo sustituido (48,4%). Hubo gestación en 28 ciclos (21,9%). De los 66 ciclos espontáneos hubo gestación en 15 (22,7%) y de los 62 ciclos sustituidos hubo gestación en 13 (21%) ($p > 0,05$). Por otro lado, se descongelaron un total de 554 embriones, sobreviviendo 465 (83,9%) y de éstos, hubo signos de división a las 24 horas en 279 (60%).

Conclusiones: La preparación para criotransferencia siguiendo el ciclo espontáneo de la paciente es una opción que ofrece unos resultados al menos iguales que el ciclo sustituido, pero aportando una mayor comodidad y seguridad para la paciente, teniendo en cuenta los posibles efectos secundarios de las dosis altas de estrógenos en tratamientos prolongados.

FIV en pacientes ≥ 40 años con óvulos propios

Tejera A, Mejjide F, villamarín M,
Rivas M, Devesa R

Unidad de Reproducción
Humana.Policlínico Povisa. Vigo

Objetivos: Comprobar la tasa de embarazo en pacientes cuya edad es ≥ 40 años, observando tasas de fecundación, de división embrionaria y de implantación, mediante FIV con sus propios óvulos.

Material y métodos: Se analizan 20 ciclos realizados a 16 pacientes con edades comprendidas entre 40-47 años durante el 2001.

Resultados: Se consiguieron 4 embarazos (2 gemelares, 1 evolutivo con un único saco y 1 que finalizó en aborto precoz) con una tasa de gestación por ciclo del 20% y una tasa de gestación por pareja del 25%. La edad media fue de 42.45, obteniéndose una media de ovocitos por ciclo de 9.35 y analizándose un total de 187 ovocitos, de los que el 82.35% eran MII (154), fecundando correctamente 103 (66.88%), se dividieron correctamente 96 (93.2%) y de éstos 85 (88.5%) eran embriones de buena calidad (grado I y grado II). La media de embriones transferidos fue de 3.1 y la tasa de implantación fue del 12.4%. TABLA:

1	42.45
2	9.35
3	3.1
4	12.4%
5	154(82.35%)
6	103(66.88%)
7	96(93.2%)
8	85(88.5%)
9	20/25%

1 = edad media, 2 = media de ovocitos obtenida por ciclo, 3 = media de embriones transferidos, 4 = tasa de implantación, 5 = total de ovocitos MII(%), 6 = total de óvulos fecundados con 2PN(%), 7 = total de embriones divididos, 8 = total de embriones buena calidad (grado I Y II), 9 = Tasa de gestación por ciclo/pareja.

Conclusiones: Como muestran los estudios publicados por diferentes grupos de trabajo, los ciclos de FIV con óvulos propios en pacientes matores de 40 años, obtienen tasas de embarazo bajas (10%).

En nuestra unidad de reproducción además de obtener resultados satisfactorios en cuanto a tasa de fecundación, tasa de división embrionaria y calidad embrionaria, obtuvimos un 20% de tasa de gestación por ciclo, un 25% de tasa de gestación por pareja y un 12,4% de tasa de implantación

Primer Premio
"Revista Iberoamericana de Fertilidad"
al mejor Trabajo publicado durante el año 2000
(Volumen XVII - Nº 5 - Septiembre-Octubre 2000)

Efecto del nifedipino sobre la tasa de ovulación, maduración meiótica y distribución cromosómica en ovocitos de ratón

Effect of nifedipine on ovulation rate, meiotic maturation and chromosomal distribution in mouse oocytes

Pérez-Albal S.¹, Vendrell F.J.^{1,3}, Ten J.^{1,4}, Cano A.¹, Tarín J.J.²

¹Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, Universidad de Valencia.

²Departamento de Biología Animal, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Valencia.

³Departamento de Biología de la Reproducción, Instituto Balear de Infertilidad, Palma de Mallorca.

⁴Departamento de Biología de la Reproducción, Instituto Bernabeu, Alicante.

Resumen

Objetivos: *Analizar el efecto del nifedipino, un agente bloqueador de canales de iones calcio, sobre la tasa de ovulación, maduración meiótica y distribución cromosómica en el uso acromático de la segunda división meiótica en ovocitos de ratón tras su ovulación.*

Métodos: *Ratonas híbridas F1 (hembra C57BL/6Jico X macho CBA/Jico) de 10-12 semanas de edad sufrieron una estimulación ovárica con gonadotropinas exógenas. Justo en el momento anterior a la inyección de la hormona coriónica humana (hCG), se inyectó intraperitonealmente 0,0.1, 1 ó 11 mg de nifedipino. Los ovocitos se recolectaron a las 14 horas tras inyección de la hCG. Los ovocitos se fijaron y se tiñeron con la sonda de DNA, DAPI, y se observaron a través de un microscopio de fluorescencia.*

Resultados: *La tasa de ovulación y maduración meiótica fue similar en los distintos grupos analizados. Sin embargo, las ratonas pertenecientes a los 2 grupos de mayor dosis de nifedipino (1 y 11 mg) presentaron conjuntamente un porcentaje de ovocitos normales significativamente ($P \leq 0.002$) menor que los grupos de 0 y 0.1 mg de nifedipino. El mayor porcentaje de ovocitos anómalos fue debido básicamente a un aumento significativo del número de ovocitos en metafase II con cromosomas dispersos y a la tendencia de los ovocitos a presentar fragmentación celular.*

Conclusiones: *El uso de bloqueadores de canales de iones calcio podría inducir anomalías cromosómicas numéricas en la descendencia si se administra durante el periodo peri-ovulatorio de ciclos gestacionales.*

Palabras clave: Anomalías cromosómicas. Bloqueadores de canales de iones calcio. Meiosis. Nifedipino. Ovocitos.

Correspondencia: Dr. Juan J. Tarín
Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología
Facultad de Medicina, Universidad de Valencia
Avda. Blasco Ibáñez 17
46010 Valencia
E-mail: tarinjj@uv.es.

Summary

Purpose: *To analyse the effect of nifedipine, a calcium ion channel blocker, on ovulation rate, meiotic maturation and chromosomal distribution in the spindle of the second meiotic division of mouse oocytes after ovulation.*

Methods: *Hybrid F1 females (female C57BL/6Jico X male CBA/Jico) of 10-12 weeks of age underwent an ovarian stimulation with exogenous gonadotrophins. Nifedipine at doses of 0, 0.1, 1 and 11 mg was intraperitoneally injected just before human chorionic gonadotrophin (hCG) injection. Oocytes were collected 14 hours after hCG. Oocytes were stained with the DNA probe DAPI and were observed by fluorescent microscopy.*

Results: *No significant differences among groups were detected in ovulation rate and meiotic maturation. However, female mice from the 2 groups with the highest doses of nifedipine (1 and 11 mg) exhibited all together a significantly ($P \leq 0.002$) lower percentage of normal oocytes when compared to the other two groups (0 and 0.1 mg nifedipine). The higher percentage of abnormal oocytes was basically due to a significant increase in number of oocytes in metaphase II with chromosome scattering and the trend of oocytes to show cellular fragmentation.*

Conclusions: *The use of calcium ion channel blockers may induce numerical chromosomal anomalies in offspring if administered at the peri-ovulation time of gestational cycles.*

Key words: Calcium ion channel blockers. Chromosomal anomalies. Meiosis. Nifedipine. Oocytes.

INTRODUCCIÓN

Los microtúbulos y microfilamentos son unas estructuras lábiles que constantemente están en proceso de formación y destrucción (polimerización y despolimerización de tubulina/actina, respectivamente), denominado equilibrio dinámico. El mantenimiento de este equilibrio permite una correcta distribución cromosómica durante las divisiones meióticas y mitóticas, así como el movimiento y migración de organelas internas y establecimiento de la morfología celular. El equilibrio dinámico de los microtúbulos/microfilamentos, puede romperse debido a muchos factores, tales como un descenso en la concentración intracelular de ATP, incremento del cociente glutatión oxidado (GSSG)/glutatión reducido (GSH) y aumento de los niveles intracelulares de iones calcio ($[Ca^{2+}]_i$). La consiguiente alteración de la homeostasis celular, y en concreto del equilibrio dinámico de los microtúbulos/microfilamentos incrementaría el riesgo de sufrir divisiones celulares anómalas (1-2).

Otro factor menos estudiado, pero que sin duda alguna puede afectar el proceso de división celular, es la ocurrencia de un descenso de $[Ca^{2+}]_i$. De hecho, nuestro grupo de investigación (3) ha demostrado recientemente que la quelación de iones calcio intracelulares de ovocitos de ratón en vesícula germinal con la molécula esterificada de bis(o-aminofenoxy) etano-ácido N,N,N,N',N'-tetra-acético (BAPTA-AM) disminuye el potencial de maduración in vitro e incrementa la in-

cidencia de ovocitos en metafase II (MII) aneuploides y con una distribución anómala de los cromosomas en el huso acromático. Estos resultados apoyan otros estudios, también realizados en el ratón, que demuestran que el agente BAPTA-AM inhibe la formación del primer corpúsculo polar, la reanudación de la segunda división meiótica y la descarga asociada de gránulos corticales (4-5). Estos estudios, por lo tanto, cuestionan la seguridad de ciertas prácticas usadas más o menos habitualmente en clínica. Entre ellas, cabe citar, por ejemplo (i) el tratamiento de la hipertensión y potencialmente, o al menos teóricamente, de la dismenorrea e inestabilidad de la vesícula urinaria, mediante agentes bloqueadores de iones calcio en mujeres que practican coito no-prottegido; y (ii) el uso de medios de cultivo carentes de iones Ca^{2+}/Mg^{2+} utilizados en algunos centros de infertilidad para facilitar la biopsia embrionaria.

El presente trabajo tiene como objetivo estudiar el efecto que produce la administración de nifedipino, un agente bloqueador de canales de iones calcio, sobre la tasa de ovulación, maduración meiótica y distribución cromosómica en el huso acromático de la segunda división meiótica en ovocitos de ratón tras su ovulación.

Los agentes bloqueadores de canales de iones calcio, también denominados inhibidores o antagonistas del calcio, inhiben el flujo de calcio hacia el interior celular y, por lo tanto, disminuyen la concentración intracelular de calcio. El nifedipino, al igual que otros

agentes tales como el nircadipino y el nitrendipino, es un bloqueador de canales de calcio perteneciente al grupo tipo II o dihidropiridino con un potente efecto vasodilatador. En concreto, el nifedipino inhibe el flujo de calcio hacia el interior celular a través de canales de calcio dependientes del voltaje del tipo L, es decir, canales de calcio lentos o de larga duración (6).

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales utilizados

En todos los experimentos, se utilizaron hembras híbridas F₁ procedentes del cruce entre hembras C57BL/6Jico con machos CBA/Jico (Criffa, Santa Perpetua de la Mogoda, Barcelona, España) de entre 10-12 semanas de edad, alimentadas con una dieta de laboratorio convencional y agua *ad libitum*. Los animales fueron alojados en grupos de 10 en jaulas de plástico de 35.5 x 23.5 x 18.5 cm en una habitación de temperatura constante (20°C) con un fotoperiodo de 14 horas de luz (8:00-22:00)-10 horas de oscuridad.

Tratamiento con gonadotrofinas y nifedipino

Las hembras de este estudio fueron estimuladas con una inyección intraperitoneal de 5 U.I. de gonadotrofina sérica de yegua preñada (PMSG) (Folligon; Intervet-Internacional, Boxmeer, Holanda) seguida 48 horas después de 5 U.I. de gonadotrofina coriónica humana (hCG) (Chorulon; Intervet-Internacional). Justo en el momento anterior a la inyección de hCG, se inyectó intraperitonealmente 0 (n = 7), 0.1 (n = 6), 1 (n = 5) ó 11 (n = 5) mg de nifedipino (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA) disueltos en 100 µl de una solución de 4% de BSA (Fracción V, Sigma Chemical Co.) y 0.1% de DMSO en H₂O bidestilada (el nifedipino se disolvió previamente en DMSO y a continuación en la solución acuosa de 4% BSA). Sabiendo que una ratona de 10 semanas pesa aproximadamente una media de 18 g, las dosis de nifedipino administradas en el ratón equivalen a dosis de 0, 0.4, 4 y 40 mg en mujeres de 65 Kg de peso. Todos los animales experimentales utilizados en este estudio fueron manejados de acuerdo con las normas del *National Research Council* (NRC) publicadas en la "Guía para el Cuidado y Manejo de los Animales de Laboratorio" (1996).

Colección de los ovocitos

Las hembras se sacrificaron 14 h después de la administración de hCG mediante dislocación cervical. A continuación, se extirparon los oviductos y se deposi-

taron en 2 ml de medio M2 (7) suplementado con BSA (4mg/ml) (Fracción V, Sigma Chemical Co.). Los ovocitos rodeados de células del cúmulus se recogieron de la ampulla y se lavaron en medio M2. Acto seguido, se transfirieron a medio M2 suplementado con 40 U.I. de hialuronidasa (Sigma Chemical Co.). La separación de las células del cúmulus de los ovocitos se realizó mediante pases sucesivos a través de una micro-pipeta. A continuación, los ovocitos se lavaron y procesaron para su posterior análisis cromosómico.

Análisis cromosómico

Los ovocitos en MII se fijaron en una solución de formaldehído al 3.7% estabilizado en un tampón fosfato salino (PBS, pH 7.2) durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se eliminó el exceso de solución fijadora mediante sucesivos lavados en medio M2 y se conservaron en este medio a 4°C. Para la tinción, los ovocitos fijados se dejaron durante 5 minutos en gotas de 20 µl de una solución 150 µM de 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI, Sigma Chemical Co.) en medio M2. La observación se realizó con un microscopio de fluorescencia (Leitz, Mod. LABORLUX S, Alemania) con un objetivo de 40X.

Los ovocitos se clasificaron en cinco grupos: (i) ovocitos normales; (ii) ovocitos con cromosomas dispersos; (iii) ovocitos con todo el DNA dentro del corpúsculo polar; (iv) ovocitos en telofase de la primera división meiótica (telofase I); y (v) ovocitos con anomalías morfológicas (fragmentación celular).

Análisis estadístico

Se aplicó un análisis de la varianza (ANOVA) de una vía para realizar comparaciones entre medias. Cuando la prueba ANOVA mostró diferencias estadísticamente significativas, se utilizó el análisis de Student-Newman-Keuls (SNK) para discriminar diferencias entre grupos concretos. Para el análisis de frecuencias se aplicó la prueba χ^2 con corrección de continuidad. Se definió la significatividad como $P \leq 0.05$. El análisis estadístico se realizó en su totalidad utilizando el paquete estadístico SPSS (Statistical Package for Social Sciences).

RESULTADOS

La tabla 1 muestra las anomalías en la distribución cromosómica en el huso acromático y morfología de los ovocitos ovulados procedentes de ratonas estimuladas con gonadotrofinas exógenas a las que se les

Tabla 1

Efecto del nifedipino sobre la incidencia de anomalías cromosómicas y morfológicas de ovocitos de ratón obtenidos tras estimulación ovárica con gonadotrofinas exógenas

Dosis de nifedipino	N° de ovocitos ovulados	N° de ovocitos analizados	Distribución cromosómica				Ovocitos con fragmentación celular
			Normal	Cromosomas dispersos	Todo elDNA dentro del corpúsculo polar	Telofase I	
0 mg	30.1 ± 2.9	161	143 (88.8)	12 (7.5)	3 (1.9)	1 (0.6)	2 (1.2)
0.1 mg	25.0 ± 2.8	130	122 (93.8)	1 (0.8) ^e	2 (1.5)	1 (0.8)	4 (3.1)
1 mg	26.6 ± 1.8	126	106 (84.1) ^c	14 (11.1)	3 (2.4)	—	3 (2.4)
11 mg	29.6 ± 3.1	141	114 (80.9) ^d	18 (12.7)	2 (1.4)	1 (0.7)	6 (4.3)

aMedia ± error estándar.

bPorcentaje entre paréntesis.

cValor significativamente diferente del grupo de 0.1 mg de nifedipino ($P \leq 0.013$).

dValor significativamente diferente del grupo de 0.0 mg de nifedipino ($P \leq 0.052$) y del grupo de 0.1 mg de nifedipino ($P \leq 0.001$).

eValor significativamente diferente del grupo de 1 mg de nifedipino ($P \leq 0.0005$) y del grupo de 11 mg de nifedipino ($P \leq 0.0005$).

administró distintas dosis de nifedipino justo antes de la inyección de hCG.

La tasa de ovulación fue similar en los distintos grupos analizados. Sin embargo, las ratonas pertenecientes a los 2 grupos de mayor dosis de nifedipino (1 y 11 mg) presentaron conjuntamente un porcentaje de ovocitos normales (Figura 1A) significativamente ($P = 0.002$) menor que los grupos de 0 y 0.1 mg de nifedipino. El mayor porcentaje de ovocitos anómalos fue debido básicamente a un aumento significativo del número de ovocitos en MII con cromosomas dispersos (Figura 1B) y a la tendencia de los ovocitos a presentar fragmentación celular (Figura 1C). La proporción de ovocitos con todo el DNA en el corpúsculo polar (Figura 1D) y en telofase I (Figura 1E) fue similar en los 4 grupos analizados. No se observaron, por tanto, diferencias significativas entre grupos con respecto a la tasa de maduración meiótica.

DISCUSION

El presente estudio muestra que la administración de nifedipino justo antes de la inyección de hCG decrece el porcentaje de ovocitos normales ovulados. Este descenso es debido básicamente a un aumento significativo de la incidencia de ovocitos con cromosomas dispersos y a la tendencia de los ovocitos a presentar fragmentación celular. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre grupos con

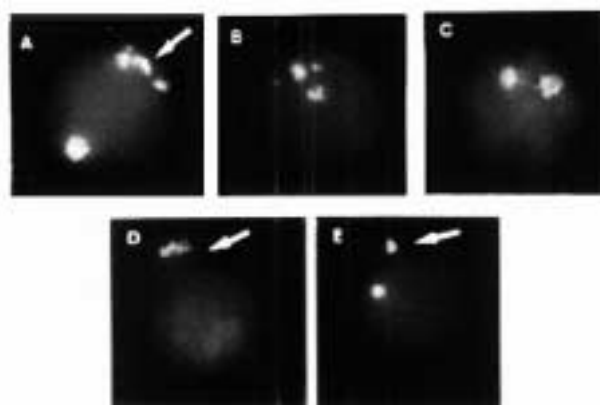


Figura 1

Distribución cromosómica de ovocitos de ratón ovulados tras estimulación ovárica con gonadotrofinas exógenas y tratamiento con nifedipino. (A) Distribución normal de los cromosomas en el huso acromático de la segunda división meiótica. (B) Dispersión cromosómica. (C) Fragmentación celular. (D) Todo el DNA en el corpúsculo polar. (E) Ovocito en telofase I. Las flechas señalan el corpúsculo polar.

respecto a la tasa de ovulación y maduración meiótica. Este último resultado discrepa con trabajos previos que muestran un efecto inhibitor del verapamil, otro agente inhibitor del transporte transmembrana de iones calcio, sobre la ovulación in vivo en el hámster (8) y la maduración in vitro en el ratón (9).

Las diferencias existentes entre estudios podrían deberse a variaciones en el diseño experimental y/o a diferencias inherentes a las especies animales analizadas. Hay que destacar, por ejemplo, que la perfusión in vitro de ovarios de conejo con verapamil no afecta la ovulación tras la administración de hCG, aunque inhibe la maduración del ovocito (10). En nuestro estudio, no se puede descartar el hecho de que los ovocitos pudiesen haber sido ovulados en estadios previos a la MII, pero que hubiesen madurado durante el periodo de tiempo transcurrido desde la ovulación (aproximadamente entre las 11 y 13 horas tras administración de hCG) y el sacrificio de los animales (14 horas post-hCG).

Es importante resaltar que, aunque el nifedipino no parece tener efectos teratogénicos ni potencial fetotóxico en humanos (6), podría inducir concepciones aneuploides si se administrase en mujeres durante los periodos peri-ovulatorios de ciclos gestacionales. En este estudio, hemos demostrado que dosis relativamente bajas de este agente (1 y 11 mg en el ratón que, tal como hemos mencionado anteriormente, son equivalentes a 4 y 40 mg en mujeres de 65 Kg) inducen dispersión de cromosomas en el huso acromático de la segunda división meiótica, lo cual se ha visto que está asociado con la aparición de anomalías en la segregación cromosómica (11).

Los efectos negativos del nifedipino, en particular, y de los agentes bloqueadores de canales de iones calcio, en general, no sólo se pueden evidenciar en las células germinales femeninas, sino también en los espermatozoides, así como en la morbilidad/mortalidad de los individuos que los utilizan. Hay que destacar, por ejemplo, varios trabajos que muestran una asociación del consumo de preparados de corta duración de nifedipino, verapamil y diltiazem con un incremento de mortalidad cardiovascular, cáncer y sangrado gastro-intestinal (12). Por otro lado, los espermatozoides móviles de hombres normozoospermicos que toman antagonistas del calcio para controlar la hipertensión, presentan una reducida expresión de receptores de manosa en la cabeza del espermatozoide y una pérdida del potencial de sufrir una reacción acrosómica espontánea in vitro (13). La fecundación de ovocitos con estos espermatozoides, sin embargo, no parece verse afectada (14).

En conclusión, aunque cualquier extrapolación de una especie a otra debe realizarse con cierta cautela, el presente trabajo sugiere que el uso de bloqueadores de canales de iones calcio podría inducir anomalías cromosómicas numéricas en la descendencia si se administra durante los periodos peri-ovulatorios de ciclos gestacionales. Debido a los problemas éticos in-

herentes a cualquier estudio prospectivo en la especie humana, se podría diseñar un estudio retrospectivo para analizar la fecundidad de mujeres que toman antagonistas del calcio durante periodos de tiempo coincidentes con coitos no-protegidos, así como la calidad de la descendencia en el supuesto de acontecer un embarazo.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio ha sido realizado gracias a la ayuda GV99-138-1-04 concedida por la "Conselleria de Cultura, Educació i Ciència, Generalitat Valenciana"; la ayuda FIS 00/0668 concedida por el "Instituto de Salud Carlos III, Fondo de Investigación Sanitaria, Ministerio de Sanidad y Consumo"; y la ayuda 1FD97-1035-C02-01 concedida por la CICYT (Ministerio de Educación y Cultura, España) y la Unión Europea.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Tarín JJ.:** Aetiology of age-associated aneuploidy: a mechanism based on the "free radical theory of ageing". *Mol Hum Reprod* 1, *Hum Reprod* 10 : 1563-1565, 1995.
2. **Tarín JJ.:** Potential effects of age-associated oxidative stress on mammalian oocytes/embryos. *Mol Hum Reprod* 2: 717-724, 1996.
3. **Vendrell FJ, Ten J, De Oliveira MN, Cano A, Tarín JJ.:** Effect of intracellular Ca²⁺ chelation with the acetoxymethyl ester-derived form of bis(o-aminophenoxy)ethane-N,N,N',N'-tetraacetic acid on meiotic division and chromosomal segregation in mouse oocytes. *J Assist Reprod Genet* 16: 276-82, 1999.
4. **Tombes RM, Simerly C, Borisy GG, Schatten G.:** Meiosis, egg activation, and nuclear envelope breakdown are differentially related to Ca²⁺, whereas germinal vesicle breakdown is Ca²⁺ independent in the mouse oocyte. *J Cell Biol* 117: 799-811, 1992.
5. **Winston NJ, McGuinness O, Johnson MH, Maro B.:** The exit of mouse oocytes from meiotic M-phase requires an intact spindle during intracellular calcium release. *J Cell Sci* 108: 143-151, 1995.
6. **Childress CH, Katz VL.:** Nifedipine and its indications in obstetrics and gynecology. *Obstet Gynecol* 83: 616-24, 1994.
7. **Quinn P, Barros C, Whittingham DG.:** Preservation of hamster oocytes to assay the fertilizing capacity of human spermatozoa. *J Reprod Fertil* 66: 161-168, 1982.
8. **Martin GG, Talbot P.:** Drugs that block smooth muscle contraction inhibit in vivo ovulation in hamsters. *J Exp Zool* 216: 483-491, 1981.
9. **Powers RD, Paleos GA.:** Combined effects of calcium

and dibutyryl cyclic AMP on germinal vesicle breakdown in the mouse oocyte. *J Reprod Fertil* 66: 1-8, 1982.

10. **Kitai H, Santulli R, Wright KH, Wallach EE.:** Examination of the role of calcium in ovulation in the in vitro perfused rabbit ovary with use of ethyleneglycol-bis(beta-aminoethyl ether)-n,n'-tetraacetic acid and verapamil. *Am J Obstet Gynecol* 152(6 Pt 1): 705-708, 1985.
11. **Tarín JJ, Vendrell FJ, Ten J, Blanes R, van Blerkom J, Cano A.:** The oxidizing agent tertiary butyl hydroperoxide induces disturbances in spindle organization, c-meiosis, and aneuploidy in mouse oocytes. *Mol Hum Reprod* 2: 895-901, 1996.
12. **Davis WB, Wells SR, Kuller JA, Thorp JM Jr.:** Analysis of the risks associated with calcium channel blockade: implications for the obstetrician-gynecologist. *Obstet Gynecol Surv* 52: 198-201, 1997.
13. **Benoff S, Cooper GW, Hurley I, Mandel FS, Rosenfeld DL, Scholl GM, Gilbert BR, Hershlag A.:** The effect of calcium ion channel blockers on sperm fertilization potential. *Fertil Steril* 62: 606-617, 1994.
14. **Katsoff D, Check JH.:** A challenge to the concept that the use of calcium channel blockers causes reversible male infertility. *Hum Reprod* 12: 1480-1482, 1997.

Primer Premio
“Revista Iberoamericana de Fertilidad”
al mejor Trabajo publicado durante el año 2001
(Volumen 18 - Nº 2 - Marzo-Abril 2001)

Folículo luteinizado no roto en inducción de ovulación para inseminación artificial

Luteinized un ruptured follicle in ovulation induction for artificial insemination

Peiró T, Garcá-Gimeno T, Monzó A, Diéguez L, Díez E, Romeu A.

Servicio de Ginecología (Reproducción Humana). Hospital Universitario La Fe. Valencia. España.

Resumen

Introducción. La ovulación es clave para el resultado de la inseminación artificial. Parece ser que existe una incidencia aumentada del fenómeno del folículo luteinizado no roto (LUF) en ciclos estimulados y, pudiendo guardar este fenómeno una relación con las características de la paciente y el protocolo de tratamiento, consideramos que su diagnóstico puede ser importante para evaluar el resultado de un ciclo de estimulación.

Diseño. Prospectivo, no randomizado, abierto y observacional.

Ambito. Servicio de Reproducción Humana. Hospital Universitario La Fe. Valencia. España.

Objetivos. a) determinar mediante ecografía vaginal la incidencia de LUF en ciclos estimulados con gonadotrofinas para inseminación artificial; b) determinar la existencia de casos de LUF recidivante; c) analizar las posibles causas de LUF; d) determinar si la incidencia de LUF es variable en función de la causa de esterilidad y/o del tipo de gonadotrofinas utilizado para estimular el ovario; e) determinar si existen diferencias en los niveles circulantes de estradiol y progesterona entre aquellos ciclos en los que se produce el LUF y los ciclos en los que no se produce, es decir, aquellos en los que se produce una ovulación normal.

Material y métodos. 713 ciclos estimulados con FSH (altamente purificada o recombinante) en 358 pacientes estériles para inseminación intrauterina (IIU). Desencadenamiento de la ovulación con hCG en 419 ciclos y con acetato de Leuprolide (AL) en 294 ciclos. IIU 36 horas tras inducción de ovulación. Ecografía transvaginal al día siguiente a la inseminación. Determinaciones de estradiol en fase folicular y de estradiol y progesterona en fase periovulatoria y lútea.

Correspondencia: Dr. A. Romeu
Jefe del Servicio de Ginecología (Reproducción Humana).
Hospital Universitario La Fe.
Avda. Campanar, 21.
46009, Valencia.
Email: alberto.1228@redestb.es

Resultados. La incidencia de LUF fue de 9,54%, con un 4,4% de falsos positivos y 8 pacientes con LUF recidivante. El número de ampollas de FSH y el número de folículos ≥ 16 mm fueron significativamente superiores con FSH-HP. La tasa de gestación fue del 20,19% por ciclo con un 16,66% de aborto. Los ciclos de las pacientes diagnosticadas de endometriosis presentaron LUF de forma significativamente superior. El grupo de ciclos LUF presentó niveles de estradiol y progesterona menores, alcanzando en algunos puntos significación estadística.

Conclusiones. El LUF observado en ciclos estimulados podría estar en relación con un desencadenamiento intempestivo de la ovulación, pudiendo ser corregido alargando la estimulación para alcanzar mayor madurez folicular.

Palabras clave: Folículo luteinizado no roto. Inducción de ovulación. Inseminación artificial. FSH.

Summary

Introduction. Ovulation is a necessary event for the outcome of artificial insemination. Is possible the incidence of luteinized unruptured follicle(LUF) in stimulated cycles is increased and being possible that either some patient's characteristics or the stimulation treatment could play a role in determining LUF. We considered that its diagnosis could be interesting to evaluate the result of a stimulation cycle.

Design. Prospective, non randomised, open and observational.

Setting. Human Reproduction Unit La Fe University Hospital. Valencia. Spain

Objetives. To determine by transvaginal ultrasound scan the incidence of LUF in stimulated cycles with gonadotropins for artificial insemination. To determine the existence of recurring LUF. Analyse possible reasons for LUF. To determine if LUF incidence changes depend of sterility cause and/or type of gonadotrophins used in ovulation stimulation. To determine if there are differences in estradiol and progesterone circulating levels between cycles LUF occurs and cycles not LUF.

Material and methods. 713 FSH (highly purified or recombinant) stimulated cycles in 358 infertile patients for IUI. Ovulation was triggered with hCG in 419 cycles and with Leuprolide Acetate in 294 cycles. Vaginal ultrasound scan twenty four hours after the insemination. Determinations of estradiol in follicular phase and estradiol and progesterone during luteal phase.

Results. LUF incidence was 9,54%, a 4,4% false positive and 8 patients with recurring LUF. The number of ampoules of FSH and number of follicles ≥ 16 mm was significantly higher with FSH-HP. Pregnancy rate per cycle of 20.19% and 16.66% of miscarriages. Cycles of endometriosis diagnosed patients presented LUF significantly higher. Group LUF cycles had lower estradiol and progesterone levels reaching statistic significance in some items.

Conclusions. LUF observed in stimulated cycles may be related to an inopportune ovulation trigger and it could be avoided increasing the stimulation to reach greater follicular maturation.

Key Words: LUF syndrome. Ovulation induction. Artificial insemination. FSH.

INTRODUCCION

La ovulación –expulsión del ovocito–, que es el proceso clave del ciclo ovárico de los mamíferos, sólo puede ser confirmada, con los medios clínicos actuales, indirectamente: sólo podremos asegurar que se ha producido la ruptura folicular si se produce una gestación, si se evidencia la presencia del estigma ovulatorio, o si se objetiva la presencia de células granulosas en el líquido del fondo del saco de Douglas.

Para que se produzca la ruptura folicular es necesaria la descarga preovulatoria de gonadotrofinas (FSH y LH) desde la hipófisis. La magnitud de esta descarga es muy variable de una mujer a otra, e incluso de un ciclo a otro de la misma mujer. Los cambios que se producen en el folículo por esta descarga son complejos y no totalmente conocidos. Se especula que la ruptura del folículo se produce de 10 a 12 horas después de que el nivel de gonadotrofinas circulantes, en particular el de LH, alcance un máximo; pero como indicador cronológico más fidedigno, se

ha calculado que la ruptura del folículo se produce de 35 a 44 horas después del inicio del ascenso de la concentración plasmática de LH (1). Respecto a la cronología de la ovulación, resulta de interés el trabajo de investigación de Sirois y cols. (2), que evidenció, a nivel de folículos preovulatorios equinos, como la enzima prostaglandín sintetasa G/H-2 se hace patente en la región perinuclear de las células de la granulosa a las 30 horas de la administración de hCG y alcanza su máxima actividad a las 39 horas. Lo que apoya el importante papel de la prostaglandinas en el proceso de la ovulación.

La causalidad de la descarga de gonadotrofinas es también compleja. Parece evidente que es inducida por el creciente nivel circulante de estradiol producido por el folículo dominante (3), pudiendo afirmarse en consecuencia, que es el propio folículo quien desencadena su ovulación cuando la acción del estradiol y de la FSH ha promovido la síntesis de receptores a LH en el propio folículo dominante.

Desde las investigaciones de Schally y cols. (4) es conocido que la secreción de gonadotrofinas depende de la secreción de LH-RH; y por las investigaciones de Carmel y cols. (5) y las de Knobil (6) se llegó al conocimiento del carácter pulsátil de la LH-RH y las gonadotrofinas, poniéndose también de manifiesto, a partir de las experiencias de este último autor, que el pico de gonadotrofinas puede ser desencadenado manteniéndose constantes amplitud y ritmo de la liberación de LHRH y como consecuencia se afirmó la inexistencia de una descarga preovulatoria de LHRH. Pero poco tiempo después, nuevas investigaciones han puesto de manifiesto la existencia de una descarga de LHRH que es prácticamente concomitante con el pico de estradiol y que precede a la descarga hipofisaria de gonadotrofinas.

Normalmente, la descarga de gonadotrofinas va seguida de la ruptura de la pared del folículo, de la luteinización de las células granulosas y de la culminación de la meiosis del ovocito. No obstante, en ocasiones se ha evidenciado que la ruptura folicular no se produce, pero sí la luteinización, siendo imposible la fecundación y por tanto el embarazo. Esta situación es conocida como luteinización del folículo no roto o LUF, the luteinized unruptured follicle de la terminología anglosajona.

La evidencia de la existencia del folículo ovárico luteinizado sin producirse su ruptura fue aportada por Koninckx y cols. (7) en un estudio prospectivo y por Marik y Hulka (8) en un estudio retrospectivo. En ambos estudios se utilizó la laparoscopia como método diagnóstico para comprobar la ausencia de estigma ovulatorio.

Se acepta que la disminución del tamaño del folículo preovulatorio y la observación de líquido en el fondo de saco de Douglas son signos de ovulación (9). Según Wetzels y Hoogland (10), la ovulación puede ocasionar la total desaparición del folículo, la disminución de su volumen junto al engrosamiento de la pared folicular o la sustitución del folículo por un área de apariencia esponjosa.

Por el contrario, el fallo de la ruptura folicular fue definido por Hamilton y cols. (11) como el aumento del tamaño folicular y la permanencia del folículo durante tres días consecutivos.

La incidencia de luteinización folicular sin ruptura LUF varía en dependencia de la población estudiada, de los métodos utilizados para el diagnóstico y de los criterios utilizados para definirlo. En general, su incidencia se sitúa en torno al 10% tanto en mujeres fértiles (12) como en mujeres estériles (13).

Un particular aspecto en relación con la falta de ruptura folicular lo constituye la inducción farmacológica de la ovulación, en la que el citado trastorno podría ser consecuencia de una defectuosa conducción del tratamiento, como la administración prematura de hCG cuando todavía la tasa de receptores a LH es baja.

Algunos autores (14), postulan que descargas de LH por debajo del dintel necesario pueden ser la causa de la aparición de LUF, y que los folículos no rotos producen progesterona durante el tiempo normal de vida del cuerpo lúteo, aunque a un nivel más bajo.

Los hallazgos de Plas-Roser en animales fueron corroborados por Hamilton y cols. (15), quienes observaron bajas descargas de LH y niveles circulantes de progesterona inferiores a lo normal en mujeres que presentaron LUF en ciclos espontáneos.

Si bien la mayor parte de autores señalaron niveles bajos de LH como factor fisiopatológico, otros (16) postularon la posibilidad de una disminución en la concentración de receptores a LH, lo cual, adquiere especial significado en relación a la aparición de LUF en ciclos estimulados (9).

A partir de la hipótesis de que la luteinización de folículos no rotos (fenómeno LUF) se produce como consecuencia de la estimulación ovárica con gonadotrofinas, quizá en dependencia del tipo de tratamiento farmacológico utilizado y del grado de estimulación ovárica alcanzado, y que puede ser adecuadamente diagnosticada mediante ecografía vaginal, se planteó el presente trabajo cuyos objetivos son los siguientes: a) determinar mediante ecografía vaginal la incidencia de LUF en ciclos estimulados con gonadotrofinas para inseminación artificial, b) determinar la existencia de casos de LUF recidivante, c) analizar las posi-

bles causas de LUF, d) determinar si la incidencia de LUF es variable en función de la causa de esterilidad y/o del tipo de gonadotrofinas utilizado para estimular el ovario y e) determinar si existen diferencias en los niveles circulantes de estradiol y progesterona el LUF y los ciclos en los que no se produce, es decir, aquellos en los que se produce una ovulación normal.

MATERIAL Y METODOS

Pacientes

En el presente estudio fueron incluidos todos los ciclos de tratamiento estimulados con gonadotrofinas para la práctica de una inseminación intrauterina (IIU) que se llevaron a cabo en el servicio de Reproducción del hospital Universitario la Fe entre Enero de 1996 y Junio de 1998 y en los cuales se llevó a cabo la IIU.

El total de la muestra incluye 358 pacientes estériles de $5,67 \pm 2,85$ años de evolución, de las cuales el 74,3% tenían una esterilidad primaria y el 25,7% restante una esterilidad secundaria.

La distribución de las pacientes según el ciclo menstrual fue la siguiente: 5 pacientes presentaron proiomenorrea, 309 pacientes tenían un ciclo menstrual normal y las 44 restantes presentaron espaniomenorrea

El estudio diagnóstico básico de la esterilidad practicado consistió en determinaciones hormonales de ciclo incluyendo niveles circulantes de LH, FSH, PRL y SHBG en día 3° y estradiol y progesterona en la fase lútea media; una biopsia de endometrio en los teóricos días premenstruales y también se practicó una histerosalpingografía para valorar la permeabilidad tubárica así como la cavidad uterina

Cuando el caso lo requirió, fueron practicadas pruebas adicionales tales como: laparoscopia, histeroscopia, pruebas hormonales funcionales (test de ACTH, test de LH-RH, y test de sobrecarga oral de glucosa con determinación de insulinemia) y determinación de anticuerpos antiespermatozoide séricos.

Completado el estudio de la paciente se llegó a los siguientes diagnósticos principales, según muestra la tabla 1.

Al varón se le practicó un espermograma con capacitación espermática mediante swim-up y sólo le fueron practicadas pruebas adicionales de determinaciones hormonales determinación de anticuerpos antiespermatozoides séricos y pruebas in vitro de capacidad fecundante del semen tales como test de hámster y test de la hemizona, cuando el caso así lo requirió.

Tabla 1

Distribución de las pacientes en función

Diagnósticos	%
Función reproductora normal	22,63
Fase lútea inadecuada	22,07
Lesión tubárica	24,3
Anovulación	21,79
Endometriosis	6,7
Cervical	2,51

Tras completar las pruebas diagnósticas del varón y siguiendo los criterios de la O.M.S se llegó a los diagnósticos de oligozoospermia moderada en un caso (0,28%), astenoospermia severa en 62 casos (17,32%) astenoospermia moderada en 137 casos (38,77%), oligoastenoospermia severa en 9 casos (2,51%) y oligoastenoospermia moderada en 5 casos (1,40%). En 100 casos (27,93%) existió una azoospermia y en los 44 restantes se hizo el diagnóstico de semen normal.

En resumen, en el 87,67% de los casos se presentó un factor masculino solo o asociado a algún factor femenino como causa de esterilidad.

En siete de los casos (1,9%) no se evidenció, tras el estudio diagnóstico, causa alguna de esterilidad, por lo que fueron catalogados como esterilidad idiopática.

Las 358 pacientes consideradas fueron estimuladas en 713 ciclos, lo que supone una media de $1,99 \pm 1,05$ ciclos estimulados por paciente.

En 526 ciclos (73,77%) la inseminación se realizó con semen de la pareja y en los 187 ciclos restantes (26,23%) se utilizó semen de donante.

Se trata de un estudio prospectivo, no randomizado y observacional de 713 ciclos de estimulación ovárica para inseminación intrauterina (IIU) realizado entre los años 1996 y 1998.

Protocolo de estímulo

El estímulo, se inició el tercer día del ciclo menstrual cuando la paciente presentaba ciclos espontáneos entre 26 y 35 días y el quinto día de ciclo si su ciclo habitual era menor de 26 días o mayor de 35 días.

Fue empleada para el estímulo ovárico una pauta lenta a dosis bajas y crecientes hasta alcanzar el dintel de FSH, es decir, la mínima dosis eficaz para iniciar el desarrollo folicular de forma clínicamente apreciable y a partir de este momento se mantuvo la dosis hasta conseguir folículos preovulatorios.

En 468 ciclos (65,64%) se utilizó FSH altamente

purificada (Neofertinorm 75 UI. Lab. Serono, Madrid) y en los 245 ciclos restantes (34,36%) se empleó FSH recombinante (Gonal F, Lab. Serono, Madrid).

El tratamiento se inició con la inyección diaria de 75 UI de FSH (urinaria o recombinante) por vía subcutánea; esta dosis se mantuvo durante al menos 7 días. A partir de este momento, se aumentó o disminuyó en 37,5 UI/día según la respuesta ovárica se considerara insuficiente o excesiva (por ser el número de folículos en crecimiento elevado).

El control del desarrollo folicular se llevó a cabo mediante ecografía transvaginal y determinaciones del nivel circulante de estradiol, siendo ambos parámetros valorados en el mismo día. En todos los casos se realizó un control el día de inicio del estímulo, previo al mismo, y diariamente a partir del momento en que fueron visibles en la ecografía folículos de 14 o más milímetros de diámetro. Se practicaron controles intermedios en función de la evolución del estímulo.

La determinación de estradiol se llevó a cabo por RIA (Bio Mérieux España S.A., Madrid) en una muestra de sangre tomada entre las 08:00 y las 09:00 horas. A continuación fue practicada la ecografía, en la que se registró localización, número y diámetro de todos los folículos de diámetro igual o superior a 10 mm y el aspecto y espesor endometriales.

La administración de FSH se mantuvo hasta que existieron criterios de madurez folicular, es decir, hasta que existió al menos un folículo con un diámetro igual o mayor a 19 mm y niveles séricos de estradiol de al menos 150 pg/ml en los casos de desarrollo monofolicular, de 120 pg/ml por folículo cuando eran visibles 2 folículos de 16 o más mm de diámetro y 100 pg/ml por folículo cuando se trataba de tres folículos.

Para desencadenamiento de la ovulación se utilizaron indistintamente y sin criterios prefijados de selección, dos tipos de protocolo: en 419 ciclos (58,77%) una inyección intramuscular de 10000 UI de hCG (Profasi HP 10000, Lab. Serono, Madrid) y en 294 ciclos (41,23%) dos dosis subcutáneas de 1,5 mg de acetato de leuprolide (AL) (Procrín subcutáneo Lab. Abbot, Madrid) con un intervalo de 12 horas, entre ambas.

Cabe señalar que los ciclos cancelados antes de la inseminación no han sido tenidos en cuenta en el presente trabajo, no obstante creemos conveniente comentar que las causas de cancelación de estos ciclos fueron fundamentalmente: la ausencia de respuesta tras 21 días de estímulo alcanzando una dosis de FSH de 150 UI/día, la caída del nivel de estradiol superior al 30% del nivel antes de la administración de hCG (o

AL) o al día siguiente a la misma, el riesgo de hiperestimulación por niveles de estradiol superiores a 1500 g/ml antes de hCG, el riesgo de embarazo múltiple y causas accidentales. En total la tasa de cancelación fue del 10,91%.

La muestra de semen fue obtenida por masturbación, en nuestro centro, tras lavado de manos y genitales, entre las 08:00 y las 09:30 horas del día previsto para la inseminación y entregada en el laboratorio. En aquellos casos en que el traslado de la muestra al centro pudo hacerse en un tiempo inferior a 30 minutos la muestra se recogió en el domicilio de la pareja si así lo deseaban.

Las muestras de semen fueron valoradas en fresco (volumen, recuento y motilidad) y posteriormente capacitadas mediante técnica de swim-up, utilizándose medio de cultivo IVF (Medicult, Cat: 10315060) para resuspender finalmente los espermatozoides en 0,5 ml de este medio.

En los casos de semen criopreservado de donante, éste se descongeló previamente a temperatura ambiente para luego ser capacitado de igual forma que el semen en fresco.

La inseminación intrauterina se llevó a cabo 36 horas tras la administración de hCG o de la primera dosis de acetato de leuprolide. Para ello el medio de cultivo conteniendo los espermatozoides capacitados fue depositado en el fondo de la cavidad uterina con una cánula de inseminación intrauterina (IUI, Gynetics, Belgica).

Después de la inseminación, las pacientes permanecieron 30 minutos en reposo en la consulta.

Durante la fase lútea se realizaron controles de estradiol y progesterona, los días +2, +5 y +8 (considerando como día 0 el día de la inseminación).

Como soporte de fase lútea se utilizó, progesterona micronizada por vía vaginal, a dosis de 200 mg diarios a partir del día de la inseminación en los casos en que la ovulación había sido desencadenada con hCG o bien tres dosis de 2500 UI de hCG los días 0, +2 y +5, cuando la ovulación había sido provocada con acetato de leuprolide.

Con el fin de valorar la presencia del fenómeno LUF se practicó una ecografía transvaginal a las 24 horas de la inseminación, es decir, 60 horas después de la inyección de hCG.

El control ecográfico valoró el tamaño folicular o su ausencia, y la presencia de ecos en el interior del folículo, la irregularidad y el grosor de la pared folicular y la existencia de líquido libre en el fondo de saco de Douglas. Asimismo se valoró el aspecto y grosor del endometrio.

A los 15 días de la inseminación se tomó una

muestra de sangre para la determinación de β -hCG sérica, considerando como positivos valores superiores a 20 mUI/ml. En estos casos se citó a la paciente para una ecografía transvaginal dos semanas más tarde y únicamente se diagnosticó la existencia de un embarazo cuando fue visible al menos un saco gestacional, independientemente de su localización, es decir, no fueron tenidas en cuenta las gestaciones bioquímicas.

Métodos estadísticos

Se practicó análisis de varianza y covarianza así como prueba de t de Student para muestras apareadas y no apareadas en el caso de variables cuantitativas paramétricas y la prueba de U de Mann-Whitney para variables cuantitativas no paramétricas. Con las variables cualitativas se han empleado tablas de contingencia y prueba de Chi-cuadrado.

RESULTADOS

Las características más importantes que resumen la estimulación con gonadotrofinas de los 713 ciclos estimulados a las 358 pacientes incluidas en el estudio se muestran en la tabla 2.

En 472 de estos ciclos (66,19%) se utilizó FSH-HP y en los restantes (33,81%) se utilizó FSHr. El número de ampollas de FSH necesario para alcanzar el desarrollo folicular en los ciclos estimulados con FSHr fue significativamente menor ($p=0,03$) que el correspondiente a los ciclos en que se utilizó FSH-HP.

Sin embargo, el número de días de estímulo necesarios para alcanzar el desarrollo folicular considerado necesario para desencadenar la ovulación no al-

canzó diferencias estadísticamente significativas entre los dos preparados de FSH.

Los niveles hormonales de estradiol y progesterona durante el periodo peliovulatorio y la fase lútea se encuentran reflejados en la tabla 3.

El número de espermatozoides móviles totales (REMT) utilizados para la inseminación en los 713 ciclos fue de $27,79 \pm 21,66$.

A juzgar por los niveles circulantes de progesterona y considerando los criterios clínicos habituales, puede aceptarse que la ovulación se produjo en el 100% de los 713 ciclos, puesto que en todos ellos se observaron valores de dicha hormona superiores a 5 ng/ml, compatibles con la ovulación, aunque, en realidad, sólo evidencia que se produjo la luteinización folicular.

En el total de 713 ciclos se produjeron 144 gestaciones, una de las cuales fue ectópica, lo que corresponde a un 20,19% por ciclo y un 40,22% por paciente. De las 144 se produjo un aborto en 24 casos (16,66%), con lo que el porcentaje de nacimientos fue de 16,69%, por ciclo.

Si establecemos comparaciones en función del tipo de FSH utilizada, no encontramos diferencias significativas en cuanto a tasa de gestación siendo ésta del 20% en los ciclos con FSH-HP frente al 20,55% en los de FSHr. Tampoco existen diferencias con los distintos protocolos de desencadenamiento de la ovulación (19,42% con hCG versus 21,95% con acetato de leuprolide).

En los casos en que no se produjo gestación, la duración media de la fase lútea fue de $14,39 \pm 1,97$ días.

En 68 de los 713 ciclos (9,54%) no se observaron signos ecográficos de ruptura folicular, diagnosticándose la existencia de LUF. No obstante, en tres de es-

Tabla 2

Características del ciclo de estímulo del total de la muestra. N=713 ciclos y comparaciones en función del tipo de FSH utilizada

	Global	FSH-HP	FSHr	P
Días de estimulación	8,88 \pm 2,83	8,93 \pm 2,81	8,78 \pm 2,89	NS
Nº ampollas de FSH	9,46 \pm 4,6	9,72 \pm 4,43	8,94 \pm 4,88	0,03
Nº defolículos \geq 16 mm	1,94 \pm 1,08	2,1 \pm 1,18	1,62 \pm 0,78	0,0001
Diámetro folículo mayor (mm)	19,75 \pm 1,53	19,74 \pm 1,52	19,75 \pm 1,55	NS
Grosor endometrial (mm)	10,53 \pm 1,75	10,49 \pm 1,71	10,62 \pm 1,83	NS
Endometrio trilaminar	703 (98,59%)	98,51%	99,58%	NS

Tabla 3

Niveles de estradiol y progesterona séricos en el periodo periovulatorio y la fase lútea.

Días del ciclo	Estradiol, pg/ml (media±DS)	Progesterona, ng/ml (media±DS)
Día -1	389,6±224,05	0,84±0,71
Día 0 (día inseminación)	198,28±130,86	1,59±1,95
Día +2	127,80±114,87	14,27±8,43
Día +5	217,95±167,96	26,18±12,41
Día +8	226,00±186,42	24,65±17,9

tos se produjo una gestación, lo que corresponde a un 4,4% de falsos positivos.

De las 56 pacientes con diagnóstico de LUF, 7 lo presentaron en dos ciclos consecutivos y una de ellas en tres ciclos consecutivos, lo que supone un 14,2% de pacientes con LUF recidivante y quizá en este pequeño grupo si que se puede hablar de síndrome LUF.

Fue valorada la incidencia de LUF en relación con los diferentes diagnósticos de esterilidad y se pudo comprobar una mayor incidencia en los ciclos en que la paciente había sido diagnosticada de endometriosis, encontrándose diferencias estadísticamente significativas respecto a los restantes diagnósticos de la mujer.

Fue valorado el porcentaje de LUF en función del tipo de preparado de FSH utilizado para el estímulo, encontrándose que la incidencia de LUF fue mayor en los ciclos estimulados con FSH recombinante (13,28% frente a 7,63%) cuando se utilizó FSH-HP y esta diferencia alcanzó significación estadística ($p=0,02$).

Analizada la incidencia de LUF en función del fármaco utilizado para desencadenar la ovulación, pero en este caso no hubo diferencias estadísticamente

significativas (12,03% de LUF con acetato de leuprolide y 7,88% con hCG).

En función de la presencia o no de síndrome LUF, se ha dividido la muestra en dos grupos, uno formado por 65 ciclos (9,11%) estimulados en 56 pacientes y que corresponden a los ciclos en que se produjo el LUF (ciclos-LUF) y otro formado por 648 ciclos (90,89%) estimulados a 302 pacientes que corresponden a los ciclos en los que ecográficamente se estableció la ruptura folicular o se produjo una gestación.

Ambos grupos mostraron características clínicas semejantes en cuanto a la edad, el índice de masa corporal, la duración del ciclo espontáneo, años de esterilidad y el tipo de esterilidad, primaria o secundaria.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$) comparando ambos grupos cuando el diagnóstico fue endometriosis (Ciclos LUF=14,71% y Ciclos noLUF=4,6%) y cuando la paciente presentaba una función reproductora normal (Ciclos LUF=16,18% y Ciclos no-LUF=28,1%).

Tras comparar ambos grupos por las características del ciclo de estímulo, se observaron diferencias que alcanzaron significación estadística en cuanto a días de estímulo y número de folículos de diámetro ≥ 16 mm, no así en el resto de parámetros (tabla 4).

Al día siguiente de la inseminación, 24 horas después de la supuesta ruptura folicular fueron valoradas algunas características del cuerpo lúteo inicial que se muestran en la tabla 5, junto con la significación que alcanzaron las comparaciones entre los dos grupos.

Se compararon los niveles de estradiol a lo largo de la fase folicular y lútea en ambos grupos, siendo estos menores en el grupo de ciclos LUF y alcanzando las diferencias significación estadística en los días -3 y -5. También los niveles de progesterona periovulatorios y de fase lútea fueron inferiores en el grupo de ciclos en que se diagnosticó el LUF que en el grupo de ciclos en que se produjo la ruptura folicular, al-

Tabla 4

Comparación de los distintos parámetros del ciclo de estímulo en ambos grupos

	Grupo ciclos LUF	Grupo ciclos no LUF	p
Días de estimulación	8,16±2,28	8,96±2,88	0,02
Nº ampollas de FSH	9,11±4,94	9,49±4,56	NS
Nº de folículos ≥ 16 mm	1,68±0,94	1,96±1,09	0,03
Diámetro folículo mayor (mm)	19,94±1,55	19,72±1,53	NS
Grosor endometrial (mm)	10,57±2,11	10,53±1,71	NS
Endometrio trilaminar	98,53%	98,91%	NS

Tabla 5

Comparación de las características del cuerpo lúteo inicial en ambos grupos.

Grupo ciclos LUF	Grupo ciclos no LUF	P	
Diámetro cuerpo lúteo	23,0,9±4,06	11,47±4,56	0,0001
Pared irregular	11,6%	89,81%	0,0001
Ecos internos	60,47%	9,58%	0,0001
Pared gruesa	63,64%	69,29%	NS
Líquido en Douglas	22,73%	82,71%	0,0001

canzando estas diferencias significación estadística en los días +5 y +8 del ciclo estimulado (figuras 1 y 2).

En 48 pacientes de las que se diagnosticó un LUF, se practicó un segundo ciclo de estimulación en el ciclo inmediato posterior y se observó ruptura folicular.

Al analizar comparativamente el primer ciclo con el segundo, no se observaron diferencias significativas entre el porcentaje de ciclos estimulados con FSH-HP (47,92% en el primero y 56,25% en el segundo) o FSHr (50,08% en el primero y 43,75% en el segundo), ni en cuanto al preparado utilizado para el desencadenamiento de la ovulación, hCG (45,83% en el primero y 54,17% en el segundo) o AL (54,17% en el primero y 45,83% en el segundo).

Tampoco existieron diferencias entre el número de

ampollas de FSH empleadas (8,56±3,06 frente a 9,34± 2,98), el número de folículos mayores de 16 mm (1,63± 0,98 en el primero y 1,59±0,79 en el segundo ciclo) ni el diámetro del folículo mayor que fue de 19,89± 1,43 en el ciclo de LUF frente al 20,10 ± 1,50 en el ciclo no LUF.

Sin embargo, si que alcanzaron significación estadística las diferencias entre los días de estímulo en el primer ciclo (8,21± 2,44) y en el segundo (9,12 ± 2,27).

Los niveles séricos de estradiol y progesterona en el periodo periovulatorio y durante la fase lútea en ambos ciclos de estímulo no mostraron diferencias significativas.

En cinco de estas pacientes se produjo una gesta-

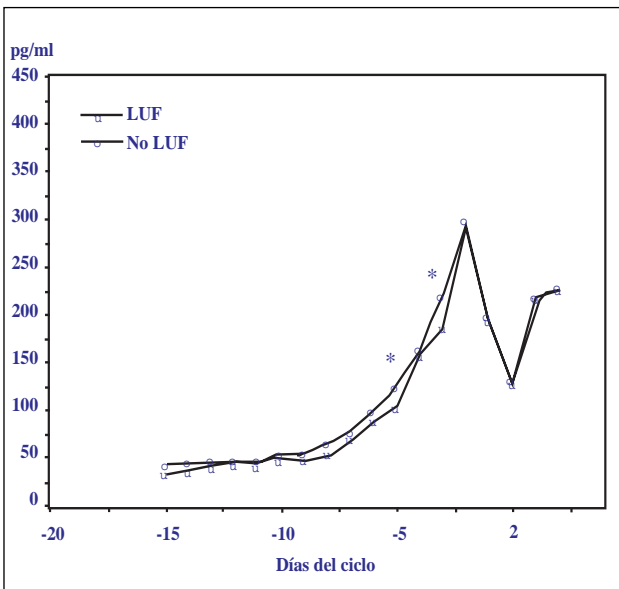


Figura 1

Comparación de los niveles de estradiol (pg/ml) entre el grupo de ciclos LUF y el grupo de ciclos no LUF. () p<0,05*

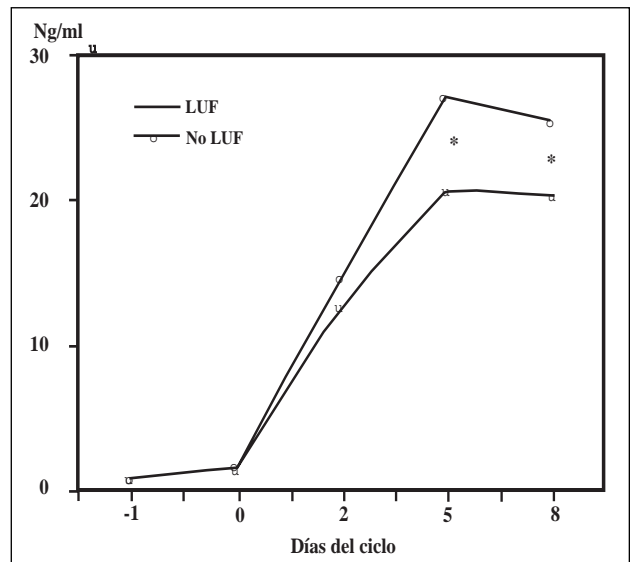


Figura 2

Comparación de los niveles de progesterona (ng/ml) en ambos grupos () P<0,05*

ción en el ciclo inmediatamente posterior al ciclo de estimulación en que se diagnosticó LUF, lo que corresponde a un 10,41%.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

No existen muchas publicaciones en las que se cite la prevalencia de LUF en ciclos estimulados, y puede que ésta sea la más amplia serie recogida tras un protocolo prospectivo de diagnóstico de LUF mediante ecografía vaginal en ciclos estimulados con FSH, confirmándose la presencia de LUF en el 9,11% de los ciclos.

Resulta difícil establecer comparaciones con los resultados de la literatura ya que existen diferencias de protocolo y de metodología diagnóstica, pero si que ha sido señalado que la prevalencia de LUF es mayor en ciclos estimulados que en ciclos espontáneos (17, 18) y se ha sugerido que esta elevada incidencia podría ser una de las razones del fracaso del tratamiento en inducción de ovulación (9).

Algunos de los resultados de la literatura dan incidencias en ciclos no estimulados, y mediante laparoscopia como método diagnóstico, de un 25% de LUF en una serie de 16 mujeres normales y un 43% en una serie de 23 mujeres estériles (19); sin embargo otros cifran esta incidencia en tan sólo un 11% en mujeres estériles utilizando la ecografía como método diagnóstico (20), pudiendo deberse estas diferencias a que se trata de pocos casos.

Los resultados aquí obtenidos son concordantes con los observados en la amplia serie de Check y cols.(21) cuando valoraron mediante laparoscopia 160 ciclos. Sin embargo, otros autores (17) observaron la presencia de LUF en el 4% de los ciclos estimulados con clomifeno y en el 5% de los estimulados con hMG, lo que resulta ligeramente inferior a lo observado en esta serie y muy por debajo de la incidencia de Randall y cols.(18), que informaron acerca de un 25% de LUF en una serie de 24 pacientes con esterilidad idiopática y estimuladas con clomifeno, cifras que fueron corroboradas por Ying y cols.(22) al valorar también una serie de ciclos estimulados con clomifeno y encontrar una incidencia de LUF del 38%.

En otra serie de 220 pacientes estériles y diagnosticadas de anovulación, estimuladas con hMG/hCG se concluyó que podía haberse producido un LUF, sin duda, en el 7% de los ciclos, mientras que, en un 25% adicional, el diagnóstico de LUF era dudoso (23). De los comentarios de estos autores se deduce que la incidencia de LUF en estos ciclos pudo ser sensible-

mente mayor y que la incidencia de LUF detectada resulta concordante con la presentada en nuestro estudio.

Tras revisión bibliográfica no ha podido hallarse publicación alguna que estudiara la incidencia del LUF en ciclos estimulados con FSH pura o recombinante, quizá debido a su reciente introducción en la clínica habitual y al mayor manejo, en general, de la hMG para inducción de ovulación. No existiendo otros estudios al respecto, la mayor incidencia de LUF en los ciclos estimulados con FSH recombinante en comparación con aquellos estimulados con FSH altamente purificada, encontrada en este estudio, debería ser confirmada.

Distintos autores han relacionado el fenómeno LUF con formas etiológicas específicas de esterilidad. En este sentido, autores como Mio y cols.(24) relacionaron la presencia de LUF con la endometriosis, aunque esta relación no pudo ser confirmada por otros autores (25). Hamilton y cols.(11) lo relacionaron con las pacientes que presentaron antecedentes de enfermedad inflamatoria pélvica.

En nuestra serie, la mayor incidencia de LUF se observó entre las pacientes diagnosticadas de endometriosis, apreciándose en el 25% de los 40 ciclos estimulados a este tipo de pacientes y como ya hemos señalado, la diferencia con respecto a otros diagnósticos alcanzó significación estadística. Sin embargo, nuestros resultados no coinciden con los de Hamilton y cols, ya que no existe incremento de LUF en las pacientes estériles por patología tubárica, que presentaron un 7%, cifra muy similar al 5% presentado por las mujeres diagnosticadas de función reproductora normal.

Tras valorar la función ovárica a través de determinaciones hormonales de estradiol y progesterona, se corroboraron los resultados previos de otros muchos autores (13, 26-29), en cuanto a que los ciclos en los que se observa un LUF muestran niveles de progesterona significativamente inferiores que los ciclos normales. Sin embargo, no existió concordancia en cuanto a los resultados de estradiol en fase folicular, observándose que los niveles de estradiol de los días -5 y -3 de los ciclos sin LUF fueron significativamente mayores que los correspondientes de los ciclos con LUF, lo cual no se corresponde con lo observado por otros autores (19, 20, 28), ni por nuestro mismo grupo en una serie anterior (29), si bien en aquella ocasión el estradiol no fue valorado los mismos días.

Esta discrepancia podría deberse al volumen de la muestra que en este caso fue mayor y de confirmarse el hallazgo en series amplias, podría traducir una alte-

ración funcional de las células granulosas que implicaría la falta de ruptura folicular.

Con respecto al LUF recidivante cabe comentar que aquellas pacientes que lo presentaron estaban diagnosticadas de anovulación en 4 de los casos, de lesión tubárica no obstructiva en 3 casos y de endometriosis en un caso, por lo que tampoco puede afirmarse que la esterilidad de estas pacientes dependa de la existencia del síndrome LUF.

En conclusión, la ausencia de ruptura folicular puede justificar que no se consiga la gestación en un relativamente bajo número de casos y puede ser corregida modificando la estimulación. Por otra parte la baja incidencia de LUF recidivante difícilmente justifica que este fenómeno sea incluido entre las causas de esterilidad.

BIBLIOGRAFIA

1. **Yen S.:** The human menstrual cycle: neuroendocrine regulation. In: Yen S, Jaffe R, eds. Reproductive endocrinology. Philadelphia: WB Saunders Co, 1991, 273 - 308.
2. **Sirois I, Doé M.:** The late induction of prostaglandin GIH synthase-2 in equine preovulatory follicles supports its role as a determinant of the preovulatory process. *Endocrinology*, 1997, 138:4427-4434.
3. **Testart J, Flydman R, Nahoul K, et al.:** Steroids and gonadotropins during the late pre-ovulatory phase of the menstrual cycle: time relationships between plasma hormone levels and luteinizing hormone surge onset. *J Steroid Biochem*, 1982, 17:675 - 682.
4. **Schally A, Kastin A, Arimura A.:** Hypothalamic follicle-stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH) regulating hormone: structure, physiology, and clinical studies. *Fertil Steril*, 1971, 22:703 - 721.
5. **Carmel P, Araki S, Ferin M.:** Pituitary stalk portal blood collection in rhesus monkeys: evidence for pulsatile release of gonadotropin releasing hormone. *Endocrinology*, 1976, 99:243 - 248.
6. **Knobil E.:** The neuroendocrine control of the menstrual cycle. *Rec Prog Horm Res*, 1980, 36:53 - 88.
7. **Koninckx P, Heyns W, Corvelin P, et al.:** Delayed onset of luteinization as a cause of infertility. *Fertil Steril*, 1978, 29:266 - 269.
8. **Marik J, Hulka J.:** Luteinized unruptured follicle syndrome: a subtle cause of infertility. *Fertil Steril*, 1978, 29:270.
9. **Evers J.:** The luteinized unruptured follicle syndrome. *Bailliere's Clinical Obstetrics and Gynaecology*, 1993, 7(2):363 - 387.
10. **Wetzels L, Hoogland H.:** Relation between ultrasonographic evidence of ovulation and hormonal parameters: luteinizing hormone surge and initial progesterone rise. *Fertil Steril*, 1982, 37:336.
11. **Hamilton C, Wetzels L, Evers J, et al.:** Follicle growth curves and hormonal patterns in patients with the luteinized unruptured follicle syndrome. *Fertil Steril*, 1985, 43:541 - 548.
12. **Donnez J, Langercock S, Thomas K.:** Peritoneal fluid volume, 17 beta-oestradiol and progesterone concentrations in women with endometriosis and/or luteinized unruptured follicle syndrome. *Gynecologic and Obstetric Investigation*, 1983, 16:210.
13. **Hamilton C, Evers J, Hoogland H.:** Ovulatory disorders and inflammatory adnexal damage: a neglected cause of the failure of fertility microsurgery. *Blit. J. Obstet. Gynaecol*, 1986, 93:282.
14. **Plas-Roser S, Kauffman M, Aron C.:** Do luteinized unruptured follicles secrete progesterone in mature female rats? *Experientia*, 1984, 40:500 - 501.
15. **Hamilton C, Evers J, Haan Jd.:** Ovulatory disturbances in patients with luteal insufficiency. *Clinical Endocrinology*, 1987, 26: 129 - 136.
16. **Koskimies A, Liukkonen S, Tenhunen A, et al.:** Low LH receptor content in corpora lutea in luteinized unruptured follicle (LUF) syndrome. *Hum Reprod*, 1987, 2:367 - 369.
17. **Martinez A, Bernardus R, Kucharska D, et al.:** Urinary luteinizing hormone testing and prediction of ovulation in spontaneous, clomiphene citrate and human menopausal gonadotropins-stimulated cycles. A clinical evaluation. *Acta Endocrinologica*, 1991, 124:357 - 363.
18. **Randall J, Templeton A.:** The effects of clomiphene citrate upon ovulation and endocrinology when administered to patients with unexplained infertility. *Human Reproduction*, 1991, 6:659 - 664.
19. **Bateman B, Kolp L, Nunley WJ, et al.:** Oocyte retention after follicle luteinization. *Fertil Steril*, 1990, 54:793 - 798.
20. **Hamilton M, Fleming R, Coutts J, et al.:** Luteal cysts and unexplained infertility: biochemical and ultrasonic evaluation. *Fertil Steril*, 1990, 54:32 - 37.
21. **Check J, Chase J, Adelson H, et al.:** New approaches to the diagnosis and therapy of the luteinized unruptured follicle syndrome. *Int J Fertil*, 1986, 30:29 - 32.
22. **Ying Y-K, Daly D, Randolph J.:** Ultrasonographic monitoring of follicular growth for luteal phase defects. *Fertil Steril*, 1987, 48:433 - 436.
23. **Check J, Adelson H, Dietterich C, et al.:** Pelvic sonography can predict ovum release in gonadotropin-treated patients as determined by pregnancy rate. *Human Reproduction*, 1990, 5:234 - 236.
24. **Mio Y, Toda T, Harada T, et al.:** Luteinized unruptured follicle in the early stages of endometriosis as a cause of unexplained infertility. *Am J Obstet Gynecol*, 1992, 167:271 - 273.
25. **Mahmood T, Templeton A.:** Folliculogenesis and

- ovulation in infertile women with mild endometriosis. Hum Reprod, 1991, 6:227 - 231.
26. **Koninckx P, De Moor P, Brosens I.:** Diagnosis of the luteinized unruptured follicle syndrome by steroid hormone assays in peritoneal fluid. Bri. J. Obstet. Gynaecol, 1980, 87:929.
27. **Schenken R, Werlin R, Williams R.:** Histologic and hormonal documentation of the luteinized unruptured follicle syndrome. Am. J. Obstet. Gynecol, 1986, 154:839 - 847.
28. **Coetsier T, Dhont M.:** Complete and partial luteinized unruptured follicle syndrome after ovarian stimulation with clomiphene citrate/human menopausal gonadotrophin/human chorionic gonadotrophin. Hum Reprod, 1996, 11:583 - 587.
29. **Peiró T, Quintero L, Monzó A, et al.:** Luteinización y ausencia de ruptura folicular (LUF) en ciclos estimulados con FSH altamente purificada para inseminación intrauterina (IIU). Revista Iberoamericana de Fertilidad, 1998, 15: 57 - 64.