

65. INDUCCIÓN DE LA OVULACIÓN EN PACIENTES CON SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO

Dr. Antonio Requena Miranda

ENFOQUE PREVIO

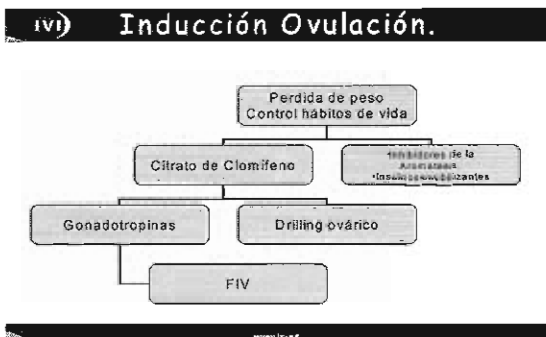
Anamnesis completa:

- Valorar alteraciones metabolismo glúcidos.
- Valorar alteraciones metabolismo lípidos.
- Control del IMC: Pérdida de peso:
 - o Hábitos alimenticios
 - o Ejercicio.
- Control de tabaquismo y otros hábitos tóxicos.
- Control del varón.

INDUCCIÓN DE OVULACIÓN

Individualizar cada caso atendiendo a los factores pronósticos:

- Edad
- Tiempo de esterilidad
- Obesidad e insulino-resistencia
- Grado de hiperandrogenismo
- Oligomenorrea o amenorrea.



PERDIDA DE PESO

- Obesidad aparece en 30-40% de mujeres.
- IMC>30 estaría relacionado con una tendencia a la baja en las tasas de gestación e implantación.
- Mayor requerimiento de gonadotropinas; Más días de estimulación; Dificultad en la punción; menor número de ovocitos recuperados.
- Elevados niveles de leptina en suero y líquido folicular relacionado con una disminución de calidad ovocitaria a través de mecanismos aún desconocidos que pueden ser autocrinos o paracrinos.
- Reducción de un 5-10% mejora resultados.
- Establecer estrategias para facilitar y mantener la pérdida de peso.

CITRATO DE CLOMIFENO

- Inicio: entre el 2º-5º la menstruación (espontánea o tras privación).
- Dosis: entre 50-150mg /día.
- Duración del tratamiento: Máximo seis meses

- Monitorización:
 - No es precisa.
 - Puede ser útil el control ecográfico en el primer ciclo entre el 13-15º días del ciclo para evaluar número de folículos y grosor endometrial.
- 75-80% de las pacientes ovularán.
- 22% de las pacientes que ovulan gestarán
- Máximo de 6 ciclos.
- Tasa acumulada de gestación en 6 ciclos entre 50-60% de las pacientes.
- En caso de no gestación planificar nuevas pautas de tratamiento:
 - Drilling ovárico.
 - Inducción con gonadotropinas.

INDUCCIÓN DE OVULACIÓN Insulinosensibilizantes.

- Indicación: En casos de resistencia a la insulina
- Nombre comercial: DianbenR,
- Dosis: 850mg/12 horas.
- Administración: después de las comidas y de forma fraccionada para una mejor tolerancia.

INSULINOSENSIBILIZANTES

- Mejoría en las tasas de insulina en sangre. No normaliza los niveles de LH. Mejoría en los niveles androgénicos. No existen estudios concluyentes sobre el beneficio del uso de Metformina en TRA.

GONADOTROPINAS

- Día de inicio: entre el 2-5º día de ciclo menstrual (espontánea o tras privación).
- Dosis inicial: de 37,5, 50 o 75 UI de FSH según características específicas.
- Ajuste de dosis: según la respuesta folicular obtenida (diámetro folicular y E2).
 - Controles cada 7 días si no hay respuesta.
 - En caso de no respuesta después de 14 días de estimulación, se incrementa la dosis cada 7 días.
 - Se mantiene la misma dosis cuando foliculo >11mm. Ø y/o E2 >80pg/ml. y se repite control cada 1-3 días.
 - Se reduce la dosis si se observa crecimiento folicular excesivo y/o E2 no acorde con el crecimiento folicular.
 - La dosis diaria máxima recomendada es de 225 UI.
- Descarga ovulatoria:
 - 1-2 folículos k≥ 18mm. de diámetro
 - 250µg hCG-r (OvitrelleR) o 5000 UI hCG-u (HCG-Lepori 2500uR) 24 horas después de la última dosis de FSH
- Cancelación del ciclo:
 - Hiperrespuesta: valorar la cancelación en función de la edad, del número de folículos y del E2.

(Aconsejable cancelar si > 3 folículos \geq 14mm. \emptyset).

- Mala respuesta: ausencia de respuesta después de 42 días de estimulación.
- Duración del tratamiento:
 - Máximo seis meses (valorar según factores pronóstico)

Definen 16 grupos pronóstico dentro de pacientes SOPQ acorde a:

- Edad > 30 años; Amenorrea; Niveles de andrógenos elevados; Obesidad
- CC+FSH+IVF comparada con FSH+IVF: Más gestaciones y más bajo costo.
- CC+FSH+IVF vs CC+IVF: Más gestaciones con mayores costes.
- CC+FSH+FIV: Para mujeres menores de 30 años con andrógenos normales.
- Mujeres mayores 30 años + elevados andrógenos: FSH puede ser evitada.

MULTIPUNCIÓN OVÁRICA LAPAROSCÓPICA

- Indicación: En casos seleccionados, mujeres jóvenes, no obesas, poco tiempo de esterilidad.
- Técnica: Electrocoagulación bipolar o Láser
- Número de punciones: entre 5-10 punciones según el tamaño del ovario
- Resultados: Tasas de embarazo aceptables, sin riesgos de embarazo múltiple, pero posibles complicaciones relacionadas con el procedimiento quirúrgico.
- Es necesario evaluar: factores pronósticos, riesgo-beneficio-coste, disponibilidad técnica de cada centro.

66. ESTADO ACTUAL DEL DRILLING OVÁRICO

Dr. Antonio Requena Miranda

El PCO es la causa más común de infertilidad anovulatoria (75%). Los métodos para solucionar este problema tiene a su vez algunas reacciones propias del método y de la paciente, así la resección quirúrgica en cuña de ovarios puede crear adherencias; la inducción ovárica puede causar sobreproducción de folículos o la llamada síndrome de hiperestimulación ovárica.

Al practicar la resección en cuña de ovarios en pacientes resistentes al clomifeno se ha encontrado que de estas pacientes el 80% ovulan y llegan a gestar el 60%.

ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS PARA INDUCCIÓN DE OVULACIÓN

Dieta y ejercicio

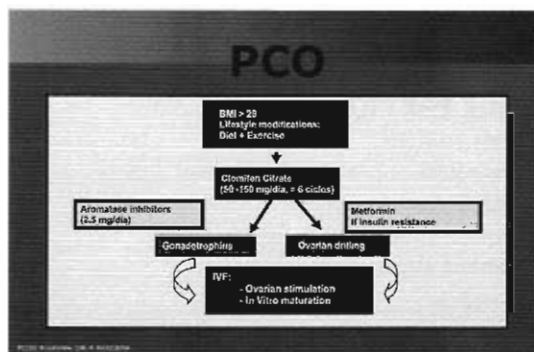
Clomifeno

Gonadotrofinas

Inhibidores de la aromatasa

Sensibilizadores a la Insulina (metformin)

Drilling ovárico por laparoscopia IVON



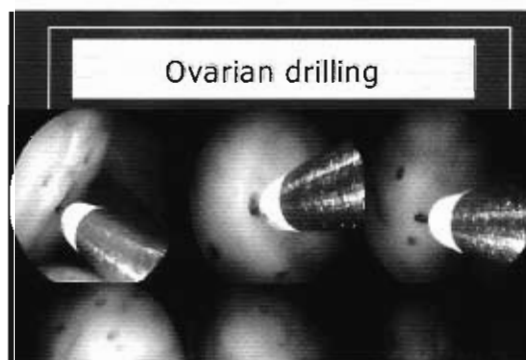
DRILLING OVÁRICO

¿Cuántas punciones?

n= 63 mujeres con PCO resistente al clomifeno
26 tuvieron 5 punciones

37 tuvieron 10 punciones por ovario

Resultado similar: en disminución de andrógenos y LH, tasa de ovulación, tasa de gestación



¿CÓMO FUNCIONA?

Destrucción del tejido estromal

Incremento de la sensibilidad a la FSH endógena

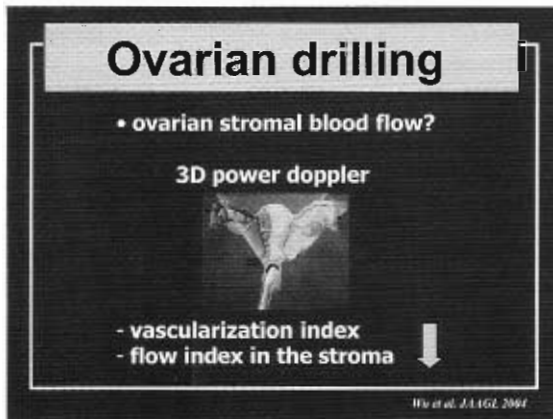
No es claro

Ovarian drilling		
• hormone profiles?		
	preLOD	postLOD
serum T	0.93	0.67
serum LH	12.7	7.3
homocysteine	9.7	7.1
LH/FSH	2.16	1.29

Kucuk et al. 2005

Perfiles hormonales en DRILLING OVÁRICO
Radio FSH/LH

LH sérica
T sérico
FAI
Volumen ovárico medio



Pobre respuesta al Drilling ovárico:

Se encontró pobre respuesta en los casos de Obesidad marcada (BMI >35) - Marcado hiperandrogenismo (T>4.5nmol/l - Larga duración de la infertilidad (>de 3 años)

DRILLING OVÁRICO PREDICTORES DE SUCESO

1990 - 2002

250 mujeres anovulatorias con PCO, fueron seguidas hasta 12 meses después de la cirugía

Se usó drilling ovárico laparoscópico vs. rFSH para inducir ovulación en PCOs resistentes a la terapia con clomifeno

168 PCO resistentes al clomifeno: 83 Drilling ovárico laparoscópico vs 85 rFSH

Tasa de gestaciones⁽¹⁾:

Solo rFSH:	67%	(en 6 ciclos)
Solo DLO:	34%	
+CC:	49%	
+rFSH:	67%	1.01 (0.81-1.24)
MPR:	0.11	(0.01-0.86)

Drilling laparoscópico por diaterma o laser para la inducción de ovulación en pacientes anovulatorias con PCO (2)

- 15 estudios, se incluyen solo 6
- Nacidos vivos 1.04 (0.74-1.99)
- Embarazadas actualmente 1.16 (0.72-1.86)
- MPR 1% vs 16%
- Pérdidas espontaneas 0.81 (0.36-1.86)

Palomba y col. en el año 2004 publica en el J Clin Endocrinol Metab, un trabajo en el que compara ia Merformin y LOD encontrando similares tasas de ovulación usando ambos compuestos, mayores tasas de embarazo y nacidos

vivos, usando Metformin y mayores tasas de abortos con LOD.

Usando el drilling ovárico se requiere:

- Menor dosis total de FSH
- Menor número de días de estimulación
- Menores niveles de E2
- Menores tasas de cancelación por el riesgo de hiperestimulación ovárica

¿RIESGOS CON EL DRILLING OVÁRICO?

Destrucción de tejido ovárico sano

En 60 mujeres con drilling ovárico laparoscópico unilateral o bilateral

Inhibin B	53.8 vs 46.3 pg/mL
AFC	16.5 vs 14.9
Ovarian volumen	11.2 vs 10.2 mm ³

- POF?
- Efectos de la función ovárica a largo termino

COMPLICACIONES QUIRÚRGICAS

Sangrado, lesiones intestinales, infecciones, adherencias perianexiales

VENTAJAS ECONÓMICAS DEL DRILLING vs Rfsh

67% PREGNANCY RATE EN BOTH GROUPS A LOS 12 MESES

Electrocauterización	E 5308
rFSH	E 5925

El costo del tratamiento es comparable

CONCLUSIONES

80% DE OVULACIÓN

Resultados similares al uso de

- Metformina (en casos indicados)
- Gonadotrofina
- En ocasiones buen coadyuvantes con estimulación ovárica para FIV

REFERENCIAS

1. Bayram et al. BMJ 2004; 328: 192-6
2. Farquhar et al. Cochrane Database Syst Rev 2005; CD001122

67. FALLA OVÁRICA OCULTA: MANEJO REPRODUCTIVO

Dr. Antonio Requena Miranda

DEFINICIONES

Fallo Ovárico Precoz:

- Cese de la menstruación antes de los 40 años.
- Cursa con amenorrea, hipoestrogenismo y elevación gonadotropinas.
- Depleción de la reserva ovárica.

- Afecta 1% de la población. 0.1% < 30 años.
- 90% de las causas son idiopáticas.
- 4% hay una historia familiar previa de FOP.

Fallo Ovárico Oculto:

- Etapa inicial del FOP.
- Menstruación regular, ciclos cortos, infertilidad.
- Niveles elevados de FSH.
- Disminución de la reserva ovárica que precede al FOP.

ETIOLOGÍA

Causa genética:

- Defectos del cromosoma X:
 - Defectos numéricos: Síndrome de Turner (45XO).
 - Delecciones del cromosoma X:
 - Síndrome de X frágil.
- Polimorfismos de los receptores de gonadotropinas:
 - Mutaciones en gen de los receptores de FSH y LH.
- Galactosemia:
- Factores genéticos:
 - Déficit enzimático: déficit 17 α hidroxilasa o 17 20 desmolasa.

Causas no genéticas:

- Iatrogénicas: Radioterapia, quimioterapia y cirugía.
- Enf. Autoinmunes:
 - La hipótesis supone que se produce un daño ovárico autoinmune a través de anticuerpos antiovario.
 - Síndrome pluriglandular autoinmune.
 - APECED (poliendocrinopatía autoinmune-candidiasis- distrofia ectodérmica).

En ambos se asocia la presencia de acantitiroideos y de ac anti21hidroxilasa.

- Factores ambientales: Infecciones, toxinas.

DIAGNOSTICO

- Detallada Historia Familiar.
- Determinaciones hormonales:
 - FSH, LH y E2 básicas.
 - TSH y PRL: en caso de estar alteradas podrían ser la causa de amenorrea.
 - Inhibina B y AMH.

Test de progestágenos. En desuso.

FSH 3^o-4^o día del ciclo:

- FSH >15UI puede predecir un FO y mal pronóstico reproductivo.
- FSH > 10-15 U probable baja respuesta a la estimulación

Estradiol 3er día.

- E2 basal > 60-65: indica una foliculogénesis acelerada y probable baja respuesta.

Inhibina B y A.

- No se ha considerado un marcador útil de reserva ovárica

Hormona Antimülleriana.

- IVI-MADRID < 1,2 ng/ml.

DIAGNOSTICO

PARÁMETROS ECOGRÁFICOS

- Recuento de folículos antrales (RFA), folículos entre 2 y 10 mms: El parámetro que mejor establece el diagnóstico de FOP y que se correlaciona con la respuesta ovárica en ciclos de FIV.

Un bajo recuento sería < de 6FPAs entre ambos ovarios.

- Volumen ovárico: Un volumen <3mms predice baja respuesta.
- Flujo del estroma ovárico: No se utiliza en la práctica clínica.

TESTS DINÁMICOS

- Test del clomifeno.-Administrar 100 mgrs clomifeno del 3 al 7 día del ciclo, determinando niveles de FSH antes y después del tratamiento. La mayoría de autores suman los resultados y si es superior a 25 UI se considera alterado.
- Test EFFORT (EXOGENOUS OVARIAN RESERVE TEST).-Se administra 300 UI de FSH al 3er día, y se determina antes y después FSH y estradiol. Si la FSH es < 11 y el estradiol no aumenta más de 30 pgs/ml se puede predecir una respuesta normal.
- GAST (Gonadotropin Agonist Stimulation Test).

Se estimula la secreción de estradiol en respuesta al efecto flare-up del agonista sobre la hipófisis. El aumento precoz del estradiol en sangre se ha asociado con un mejor pronóstico reproductivo.

CARIOTIPO

- FOP + amenorrea primaria: el 50% de los casos tienen cariotipo alterado.
- FOP + amenorrea secundarias: el cariotipo suele ser normal.

ESTUDIOS GENÉTICOS

- Screening del X Frágil.
 - Estudio FMRI.
 - 14% de las mujeres con FOP familiar tiene permutación del FMRI
 - Las mujeres portadoras de la mutación tienen riesgo de tener recién nacidos con retraso mental. Ofrecer PGD.

ANTICUERPOS

- Hipotiroidismo (25%).
- Enfermedad de Addison (3%).
- Diabetes Mellitus (2,5%).
- Anticuerpos antisuprarrenales por el riesgo de desarrollar una insuficiencia suprarrenal durante un posible embarazo.

MANEJO REPRODUCTIVO

- 5-10% embarazo espontáneo.

- Portadoras del FMR-1:
 - 14% de mujeres con antecedentes de FOP familiar tendrán la mutación.
 - 2% sin dicha historia familiar.

Las mujeres portadoras de la mutación tendrán riesgo de tener un hijo con síndrome de X Frágil, y se debe insistir en la protección frente a embarazo espontáneo

MANEJO GINECOLÓGICO

- Disminución de los estrógenos:
 - Produce una disminución prematura de la masa ósea
 - Cambios vasomotores
 - Aumento del proceso aterogénico y aumento de la morbilidad cardiovascular
 - Posible deterioro cognitivo y depresión.

Aconsejable tratar con terapia hormonal sustitutiva a estas mujeres hasta la edad en que se produjera de forma natural la menopausia que son sobre los 50 años.

FOP IATROGÉNICO

FOP tras quimio/radioterapia.

- Transposición ovárica previa a RT
- Vitrificación de ovocitos
- Criopreservación de embriones
- Criopreservación de tejido ovárico
- Quimioprofilaxis (con análogos de la GnRH y otras líneas en estudio)

MANEJO DEL FOP

Fallo Ovárico Precoz:

- Ovodonación.

Fallo Ovárico Oculto (Baja Respuesta).

- Valorar resto de factores:
 - Edad paciente.
 - Tiempo de esterilidad.
- FIV como mejor tratamiento:
 - Diagnóstico de calidad ovocitaria/embrionaria.
 - Mejores tasas de gestación frente al resto de tratamientos.

ELECCIÓN DEL TRATAMIENTO

- Análogos de la GnRH
 - Agonistas
 - Antagonistas
- Uso de Gonadotropinas:
 - Tipo de Gonadotropina:
 - Recombinante ?
 - Uso de LH/HMG?
 - Dosis de Gonadotropina
- Tratamiento de androgenización.
- Ciclo natural/Maduración In Vitro
- Vitrificación de ovocitos
- Efecto negativo de los agonistas sobre la respuesta ovárica en estas pacientes.

- Efecto beneficioso del flare-up:
 - Flare-up: Corto y ultracorto.
 - Protocolos largos con mitad de dosis.
 - Protocolo STOP
 - No estudios prospectivos y randomizados con muestra suficiente para obtener resultados significativos.
- No diferencias entre los distintos análogos de la GnRH.
- For poor responders, no differences in clinical outcomes were found, except a significantly higher number of cumulus-oocyte complexes in GnRH-antagonist multiple dose protocol as compared to GnRH-agonist long protocol.
- Beneficio de la fase inicial sin efecto de análogos.
- Manejo cuidadoso por la fuerte supresión de LH endógena que producen los antagonistas.

DOSIS

Altas dosis: 300 UI – 450 UI

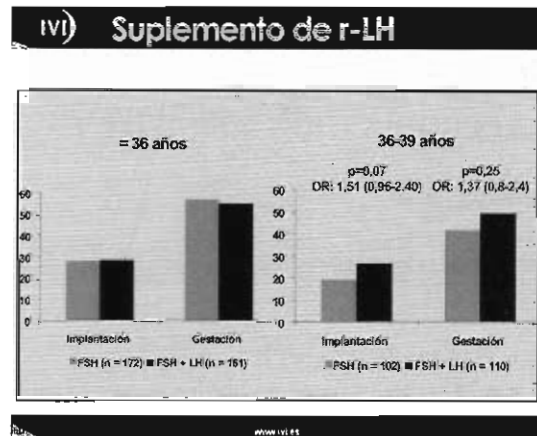
- No mejores resultados.
- Beneficios con el incremento de dosis.

FSH recombinante vs urinaria.

- Mejores resultados con FSHr. Raga, 1999; De Placido, 2000

LH/HMG

- Suplemento con LH mejora la respuesta en baja respuesta.



CICLO NATURAL

- Menos agresiva y costosa para la paciente.
 - Prospectivo comparado con controles históricos.
 - Mejora en gestación (18.8% vs 0%)
 - Menor tasa cancelación (18.8% vs 48%).
 - Prospectivo comparado con controles históricos.
 - No diferencia entre ambos grupos.

IVI) Maduración in vitro

	Control	Baja Respuesta	p
Nº pacientes	10	6	
% Obtención	66.2%	57.7%	NS
% Maduración	47.7%	46.7%	NS
% Fecund	68%	57.1%	NS
% Blastocist	47.1%	50%	NS

- No obtención ovocitos en pacientes con < 5 FAP
 - Pacientes con > 5 FAP: Mejores resultados.
 "Posible tratamiento para pacientes con Baja Respuesta pero buena dotación de FAP"

CONCLUSIONES

- Es necesario un correcto diagnóstico del FOP tratando de excluir problemas colaterales:
 - Enfermedades autoinmunes
 - Alteraciones genéticas.
- En un FOP ya instaurado:
 - Tratamiento hormonal sustitutivo.
 - Ovodonación como tratamiento más recomendado.
- En FOP previo a FOP:
 - Dx precoz.
 - FIV como primera elección como TRA.
- Preservación fertilidad tras cáncer:
 - Pensar en esta opción en toda mujer joven sin deseo reproductivo cumplido.

68. ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES DE LA REPRODUCCIÓN ASISTIDA EN ESPAÑA

Dr. Antonio Requena Miranda

El trabajo ha sido preparado por la asesoría jurídica del equipo del IVI.

ASPECTOS IMPORTANTES

En el año 1978: Nacimiento de Louise Brown la primera bebé probeta, en 1981 nace la primera niña probeta española., en 1988 la Ley de reproducción humana asistida y sobre donación y utilización de pre-embiones humanos. En 1989, el diagnóstico pre-implantación se realiza por primera vez para detectar enfermedades hereditarias. En 1990 nace el IVI en Valencia. En el año 2003 la reforma de la LRHA sobre el destino de los pre-embiones criopreservados. En el año 2006 nueva Ley 14/2006; en el año 2007, la Ley de Investigación biomédica 14/2007.

Tres normas principales han regulado la REPRODUCCIÓN ASISTIDA en España:

La Ley 35/1988. Una reforma en 2003. La vigente Ley de RA 14/2006.

OBJETO DE LA LEY DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA 14/2006

El objeto de la Ley es regular:

- La aplicación de TRA acreditadas científicamente y clínicamente indicadas.
- La aplicación de las TRA para la prevención y tratamiento de enfermedades de origen genético.
- Los supuestos y requisitos de utilización de gametos y preembriones humanos criopreservados.

La esterilidad humana ya no se contempla como finalidad fundamental de los TRA.

EVOLUCIÓN DE LOS USOS

Se ha producido una evolución en la utilización y aplicación de las TRA al extender su ámbito de actuación a evitar, en ciertos casos, la aparición de enfermedades.

El DPI abre nuevas vías a la posibilidad de seleccionar preembriones para que, en determinados casos y bajo el debido control y autorización administrativos, puedan servir de ayuda para:

- No transmitir enfermedad a la descendencia, y;
- Salvar la vida de un familiar enfermo.

TÉCNICAS AUTORIZADAS

- Inseminación artificial -IA-.
- FIV e inyección intracitoplásmica de espermatozoides con gametos propios o de donante, y con transferencia de preembriones.
- Transferencia intratubárica de gametos.

DEBE OBTENERSE UN CONSENTIMIENTO INFORMADO PREVIA INFORMACIÓN EN CONDICIONES ADECUADAS A:

DONACIÓN

- Se exige el estudio del estado psicofísico de los donantes mediante un protocolo obligatorio de características fenotípicas y psicológicas, aunque las muestras provengan de donantes de otros países.
- Se limita a seis el número máximo de hijos nacidos en España generados con gametos de un mismo donante. Cuentan los hijos propios.
- No se puede alentar la donación de células o tejidos humanos mediante la oferta de compensaciones o beneficios económicos. El Ministerio de Sanidad, previo informe de la CNRHA, fijará periódicamente las condiciones que garanticen el respeto al carácter gratuito de la donación.
- Es un contrato GRATUITO, FORMAL Y CONFIDENCIAL concertado entre el donante y el centro autorizado.
- Es revocable sólo si el donante necesita los gametos o preembriones para sí mismo.
- La donación será anónima y deberá garantizarse la

confidencialidad de los datos de identidad de los donantes por los bancos de gametos, así como, en su caso, por los registros de donantes y de actividad de los centros que se constituyan.

- Los hijos nacidos tienen derecho a obtener información general de los donantes que no incluya su identidad. Igual derecho corresponde a las receptoras de los gametos y de los preembriones.
- La mujer no puede escoger donante, sino que escoge el equipo médico la muestra más compatible fenotípicamente de las disponibles.

LÍMITES FECUNDACIÓN

- Se eliminan los límites para la fecundación de ovocitos en cada ciclo reproductivo.
- Se limita a tres el número máximo de preembriones a transferir.
- Se amplían los diferentes destinos que pueden darse a los preembriones, gametos y tejido ovárico criopreservado.

NO DISCRIMINACIÓN

- Menciona expresamente el acceso a los TRA con independencia de la orientación sexual.
- Garantiza la accesibilidad de las personas con discapacidad.
- Los centros de RA serán sometidos a auditorías externas que evalúan requisitos técnicos, legales, el reporte de información a las autoridades a efectos registrales y de resultados.

DESTINOS DE GAMETOS, PREEMBRIONES Y TEJIDO OVÁRICO CRIOPRESERVADOS

	UTILIZACIÓN PROPIA	DONACIÓN REPRODUCTIVA	INVESTIGACIÓN
SEMEN	OK	OK	OK
OVOCITOS	OK	OK	OK
TEJIDO OVÁRICO	OK	OK	OK
PREEMBRIONES	OK	OK	OK

PREEMBRIONES

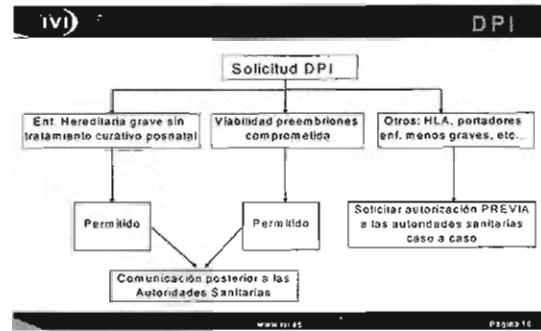
- Cada dos años se solicitará de la mujer o de la pareja progenitora la renovación o modificación del CI.
- La conservación de preembriones y ovocitos se podrá prolongar hasta que se considere por los responsables médicos, con el dictamen favorable de especialistas independientes y ajenos al centro, que la receptora no reúne los requisitos clínicamente adecuados para la práctica de la TRA.

- Cada dos años se solicitará de la mujer o de la pareja progenitora la renovación o modificación del CI.
- La conservación de preembriones y ovocitos se podrá prolongar hasta que se considere por los responsables médicos, con el dictamen favorable de especialistas independientes y ajenos al centro, que la receptora no reúne los requisitos clínicamente adecuados para la práctica de la TRA.

DPI

- Se pueden aplicar las técnicas de DPI para
- Evitar la transmisión a la descendencia de enfermedades hereditarias graves, de aparición precoz y no susceptibles de tratamiento curativo postnatal.
 - Se deben cumplir los tres requisitos.
 - Cuando existan alteraciones que puedan comprometer la viabilidad del preembrión.

Hay que comunicar los casos posteriormente a la Administración.



HISTOCOMPATIBILIDAD. HLA

Es la posibilidad de aplicar las técnicas de DPI –anteriormente comentadas– en combinación con la determinación de los antígenos de histocompatibilidad para seleccionar preembriones no afectados de la enfermedad hereditaria y que además sean histocompatibles con otro hijo gravemente enfermo. Debe ser la única y mejor opción terapéutica para el hijo y para ello requerirá de la autorización expresa caso por caso de la Administración autonómica, previo informe favorable de la CNRHA.

CRIOPRESERVACIÓN OVOCITOS

- Es una novedad de la ley 14/2006.
- anteriormente existían experiencias controladas.
- el IVI fue pionero en la vitrificación –técnica de criopreservación ultrarrápida, que evita el daño en los ovocitos.
- es necesaria autorización expresa de la administración autonómica.
- el grupo IVI tiene esa autorización en todas sus clínicas.
- la vitrificación permite salvaguardar y preservar la capacidad reproductiva de las mujeres para casos de:

- retraso voluntario de la maternidad.
- situaciones de enfermedades oncológicas.

PREMORIENCIA DEL VARÓN

- Posibilidad del hombre de prestar su consentimiento, en un CI, en escritura pública, en testamento o documento de instrucciones previas, para que su material reproductor pueda ser utilizado en los 12 meses siguientes a su fallecimiento para fecundar a su mujer.
- Los tratamientos post mortem producirán los efectos legales que se derivan de la filiación matrimonial.
- El consentimiento para la aplicación de las técnicas en dichas circunstancias podrá ser revocado en cualquier momento anterior a la realización de aquéllas.

El varón no casado podrá hacer uso de la posibilidad.

GESTACIÓN POR SUSTITUCIÓN

- La Ley indica que será nulo de pleno derecho el contrato por el que se convenga la gestación, con o sin precio, a cargo de una mujer que renuncia a la filiación materna a favor de un tercero.
- La filiación de los hijos nacidos por gestación de sustitución será determinada por el parto.
- Problemas de fraude de ley en parejas homosexuales cuando pretenden inscribir o traer a España su hijo.
- En la actualidad existe gran debate sobre la conveniencia de realizar modificaciones en la Ley española en este punto.

SELECCIÓN DE SEXO

- La Ley permite la selección de sexo para evitar la transmisión de una enfermedad grave ligada al género.
- La selección de sexo si no es para evitar una enfermedad es una práctica calificada como una infracción MUY GRAVE en la nueva LRHA:

“La selección del sexo o la manipulación genética con fines no terapéuticos o terapéuticos no autorizados.”

COMISIÓN NACIONAL RHA

- Órgano colegiado, de carácter permanente y consultivo.
- Funciones de asesoramiento sobre utilización de TRA.
- Es preceptivo el informe de la CNRHA:
 - Autorizar una técnica de RA experimental.
 - Autorizar casos de DPI no previstos en la Ley y HLA.
 - Para la autorización de proyectos de investigación.
 - Determinar la compensación económica a donantes.
 - Normas sobre la Ley de RA.
- Pueden constituirse en las CCAA comisiones homólogas.

INVESTIGACIÓN PREEMBRIONES

- La Ley define preembrión como “el embrión in Vitro constituido por el grupo de células resultantes de la di-

visión progresiva del ovocito desde que es fecundado hasta 14 días más tarde”

- Desde un punto de vista jurídico esta definición determina que no tiene la consideración de ser humano, entre otras cosas porque para que pueda tener la opción de llegar a serlo se necesita una mujer dispuesta a que le sea implantado y a gestarlo.
- A los preembriones generados que no forman parte de ningún proyecto reproductivo se les denomina sobrantes y pueden ser destinados por sus progenitores a otras parejas o con fines de investigación.
- Por tanto, la investigación con preembriones humanos, desde un punto de vista jurídico, es aceptable si:
 - Los donantes de los preembriones han dado su CI;
 - Si el protocolo es científicamente correcto y;
 - Si la finalidad de la investigación es aceptable.

REGISTROS NACIONALES

REGISTRO NACIONAL DE DONANTES

- Adscrito al Ministerio de Sanidad y Consumo.
- Se inscribirán los donantes de gametos y preembriones con fines reproductivos, y los hijos nacidos, la identidad de las parejas o mujeres receptoras y la localización de todos ellos en el momento de la donación y de la recepción.

REGISTRO NACIONAL DE ACTIVIDAD Y RESULTADOS DE LOS CENTROS Y SERVICIOS DE RA

- Recogerá los datos de actividad de los centros relativos al número de técnicas y procedimientos llevados a cabo, los resultados y tasas de éxito en términos reproductivos, y el número de preembriones crioconservados en el centro. Hará públicos los datos al menos anualmente.

APORTACIONES DE LA LEY

- Posibilidad para las mujeres de conservar sus ovocitos y retrasar su maternidad, así como para casos oncológicos.
- Posibilidad de seleccionar preembriones compatibles HLA con un hijo enfermo.
- Ampliación del plazo a 12 meses, y consentimientos para casos post mortem.
- Se exige que los donantes cumplan con un protocolo de características psicológicas.
- Posibilidad de actualizar el Anexo de técnicas autorizadas mediante RD del Gobierno previo informe de la CNRHA.

LAGUNAS

- Destino ovocitos crioconservados.
- Concepto de enfermedad grave y aparición precoz (DPI).
- Registros de Donantes y de Actividad de los Centros

- no creados-
- CNRHA: periodicidad reuniones, obligaciones, funciones, medios.
- Se permite la donación reproductiva de tejido ovárico, cuando científicamente es algo no viable por el rechazo en los tejidos, pero nada en la Ley lo impide.

69. PROTOCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA Y CALIDAD EMBRIONARIA

Dr. Luis Noriega Portella

El avance de las técnicas de reproducción asistidas (TRA) ha traído consigo el uso de gonadotrofinas para la hiperestimulación ovárica controlada (HOC) y así lograr obtener ovocitos para ser utilizados en los laboratorios de reproducción.

El objetivo de la estimulación ovárica debe ser incrementar el número de ovocitos de buena calidad, minimizando los riesgos potenciales asociados (síndrome de hiperestimulación ovárica y multigestación). La estimulación básicamente induce el desarrollo multifolicular, previniendo la atresia folicular, trayendo consigo el aumento suprafisiológico de estradiol.

La estimulación ovárica debido a las altas dosis de gonadotrofinas exógenas conlleva a niveles suprafisiológicos de esteroides sexuales, factores paracrinos y autocrinos foliculares lo que representa exposición del ovocito a altas concentraciones de dichas hormonas y factores de crecimiento. Así mismo los altos niveles hormonales tienen influencia directa sobre receptores endometriales y marcadores de implantación.

Al obtener un ovocito, luego de una punción folicular, existen indicadores visibles de mala calidad ovocitaria como son la granulación central, polocito fragmentado, inclusiones, vacuolas, espacio perivitelino anormal, etc. Pero existen características no visibles de calidad ovocitaria.

La mayoría de ovocitos metafase II (MII) se “ven” normales, ovocitos de apariencia “normal” pueden ser anormales; por lo tanto no es fácil evaluar calidad ovocitaria. El factor más importante que afecta la calidad ovocitaria es la edad. Battaglia 1997 encontró que el 17% de los husos meioticos eran anormales a los 20 años, mientras que entre los 40-45 años el 79% eran anormales, lo cual explica el gran número de embriones aneuploides después de los 40 años.

El crecimiento y maduración del ovocito depende del desarrollo folicular a través de las células de la granulosa. El microambiente hormonal influencia el crecimiento y

maduración del ovocito. Existen factores somáticos y derivados del ovulo esenciales para el desarrollo folicular. Actualmente se desconoce como la estimulación y el desarrollo multifolicular interfiere con los factores intraovarios.

La Calidad embrionaria depende de la calidad del ovocito y del espermatozoide, por lo que la estimulación ovárica puede alterar la calidad embrionaria solo a través del ovocito.

La morfología embrionaria es un indicador “subjetivo” que utilizan los embriólogos para definir embriones de “buena calidad” y estos a su vez se asocian a altas tasas de implantación y de embarazo. Aun no es posible predecir cual embrión implantara y tendrá el potencial de convertirse en un niño sano. Autores como Munne 2006 y Magli 2000 afirman que la morfología embrionaria no es indicador confiable de constitución cromosómica. En la actualidad el Screening genético preimplantatorio en los embriones tanto el FISH (hibridización florescente in situ) o CGH (genómica humana comparada) podrían ser marcadores adicionales de calidad embrionaria.

Los protocolos de estimulación ovárica pueden diferir mucho de acuerdo al médico o al centro de reproducción que esté realizando la estimulación. Tenemos protocolos con uso previo de anticonceptivos orales (ACO), uso de análogos agonistas o antagonistas de GnRH, uso de gonadotrofinas urinarias versus recombinantes, protocolos de dosis altas versus estimulación “suave”, uso de gonadotrofina corionica urinaria vs recombinantes para gatillar la ovulación y actualmente el uso de una dosis de agonista de GnRH para gatillar la ovulación.

Bart y cols 2007 (figura 1) comparo protocolos de estimulación con dosis altas (convencional) vs estimulación suave, encontrando que en el grupo de dosis altas obtenía mayor número de ovocitos y de embriones; pero cuando realizaba el estudio cromosómico encontraba igual número de embriones cromosómicamente normales en ambos grupos de estudio.

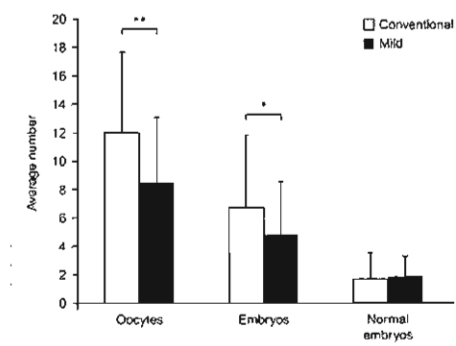


Figura 1.

Recientemente Rubio y cols 2010 comparaba dosis altas vs dosis bajas asociados a agonistas de GnRH, encontrando que las dosis altas obtenía mayor número de ovocitos, embriones y embriones biopsiables; pero no se encontraron diferencias en el número total de embriones cromosómicamente normales.

Weghofer 2008 comparo el uso de hMG versus FSH recombinante asociados a agonista de GnRH y encontró que en el grupo de FSHr se obtenían mayor número de ovocitos, pero se encontraron igual número de embriones euploides para transferir en ambos grupos.

Yan Wen XU y cols 2010 evaluó la relación entre dosis de FSH y aneuploidias ovocitarias, usando 5 grupos de dosis ascendentes de FSH en ovocitos madurados in vitro. Se estudió en todos los ovocitos el Huso meiótico (microscopio polarizado), FISH de polocito (cromosomas 13, 16, 18, 21,22) e inmunocitología para tubulina y cromatina. Se encontró relación directa entre la exposición de FSH y aneuploidias de ovocitos madurados in vitro; a mayor dosis de FSH mayor número de aneuploidias.

Las tasas de implantación y de embarazo son marcadores indirectos de calidad ovocitaria y embrionaria. Debido a que la literatura que existe acerca de calidad embrionaria y protocolos de estimulación es escasa, usaremos los trabajos que comparan los diversos protocolos y tienen como variables a evaluar tasas de embarazo e implantación.

Kolibianakis y cols 2010 encontró en un metanálisis que el uso de ACO previo al ciclo con antagonistas aumentaba los requerimientos de gonadotrofinas y los días de estimulación; por el contrario el no usar ACO previo al ciclo de fertilización in vitro tenía mejores tasas de embarazo.

La experiencia de nuestro grupo de reproducción (grupo PRANOR) no encontramos diferencia en tasas de embarazo entre gonadotrofinas urinarias (hMG), recombinantes (FSHr) o una asociación de ambas (FSHr+hMG) en protocolos de agonistas ni antagonistas.

Así mismo Al-Inany 2010 en un metanálisis de más de 3500 pacientes no encontró diferencias en tasas de embarazo cuando se comparaba gonadotrofinas urinarias versus recombinantes en ciclos de agonistas.

Con respecto a la dosis de gonadotrofina utilizada la experiencia de nuestro centro (PRANOR) entre los años 2009-2010 cuando las donantes de óvulos recibían dosis iguales o mayores de 225 UI diarias se obtenían mayor número de ovocitos que las donantes que recibían menos de 200 UI; pero cuando comparamos tasas de embarazo estas eran más altas en las pacientes que recibían ovoci-

tos de dosis menores a 200UI (70.83 vs. 46.8%)

Pal y cols. 2008 mostraron en un estudio prospectivo que el uso de gonadotrofinas de manera agresiva (>450 UI/día) disminuía las tasas de embarazo y nacidos vivos y, además aumentaba las tasas de aborto cuando se comparaba con dosis menores de 300 UI/día.

Con respecto al uso de hCG para gatillar la ovulación Al-Inany 2005 mostro en un metanálisis que no había diferencias en usar hCG urinaria versus recombinantes cuando se comparaba tasas de embarazo. Así mismo Bodri 2009 y Erb 2010 tampoco encontraron diferencias cuando se comparaba hCG recombinante y hCG urinaria respectivamente versus agonista GnRH para gatillar ovulación.

Actualmente se vienen desarrollando nuevas técnicas para evaluar calidad ovocitaria y embrionaria. Evaluación por PCR en tiempo real de las células del cumulus los cual nos muestra la expresión génica del ovocito. Así mismo evaluación del perfil hormonal y de factores de crecimiento, citoquinas, etc. del líquido folicular nos puede dar un panorama de la calidad ovocitaria.

Con respecto al embrión la metabolómica o estudio del metabolismo del embrión a través de los medios de cultivo embrionario; Citogenética o estudio de los cromosomas a través del FISH y CGH (estudio de cromosomas y genes); Genómica o estudio de la expresión génica a través de los "microarrays"

EN CONCLUSIÓN

- La calidad ovocitaria depende de la edad de la paciente.
- Es difícil evaluar prospectivamente la calidad del ovocito.
- La morfología embrionaria es un método limitado para evaluar calidad embrionaria.
- El Screening genético preimplantatorio (FISH y CGH) son marcadores cromosómicos de calidad embrionaria, son invasivos y requieren mayor investigación.
- La estimulación suave (dosis bajas) genera menor proporción de embriones aneuploides, sin embargo los resultados de FIV son iguales que la estimulación convencional (dosis altas)
- Por ser más fisiológica, generar menos aneuploidias y costo beneficio la estimulación suave debería ser considerado el protocolo de elección.
- El uso de anticonceptivos orales previos al ciclo de estimulación tendría impacto negativo en los resultados de FIV
- A la actualidad no hay diferencias en los resultados de FIV cuando se compara gonadotrofinas urinarias vs. Recombinantes.
- No hay diferencias en utilizar hCG urinaria o recombinantes o agonista GnRH para inducir o gatillar la ovulación.

70. FERTILIZACIÓN ASISTIDA DE BAJA COMPLEJIDAD

Dr. Adolfo Rechkemmer Prieto

La inseminación artificial terapéutica con semen del esposo o pareja (IAE) y la inseminación artificial con semen de donante (IAD) son modalidades muy empleadas en el tratamiento moderno de la pareja infértil. La inseminación puede denominarse intravaginal, intracervical o intrauterina, dependiendo del lugar donde se inyectan los espermatozoides. En los últimos años, la hiperestimulación ovárica controlada (HOC) combinada con la inseminación intrauterina (IIU) se ha empleado para mejorar las tasas de embarazo en algunos tipos de infertilidad en los que el manejo convencional ha sido inefectivo.

INDICACIONES

A. En casos de IAE:

- Impotencia.
- Hipospadias.
- Factor cervical severo.
- Eyaculación retrógrada.
- Hipospermia (menos de 1 ml. de semen).
- Semen congelado antes de quimioterapia o radioterapia.
- Oligozoospermia, astenozoospermia, teratozoospermia.
- Infertilidad inexplicada.
- Endometriosis leve.
- Anticuerpos antiespermatozoide.

B. En casos de IAD:

- Azoospermia.
- Oligozoospermia severa, astenozoospermia severa, teratozoospermia severa.
- Incompatibilidad Rh severa.
- Enfermedad transmitida genéticamente (enfermedad de Tay-Sachs, enfermedad de Huntington, etc.).
- Mujer soltera.

EVALUACIÓN PREVIA A LA INSEMINACIÓN

La inseminación es un procedimiento que demanda una gran inversión de tiempo y es potencialmente costosa ⁽¹⁾. Por lo tanto, aún en situaciones donde existe un factor masculino evidente, es importante realizar una evaluación integral de la mujer, que incluya lo siguiente: biopsia de endometrio, perfil hormonal, ecografía transvaginal, examen de moco cervical, histerosalpingografía e idealmente laparoscopia e histeroscopia diagnósticas. La evaluación del varón deberá incluir espermogramas seriales.

INSEMINACIÓN INTRAUTERINA VERSUS RELACIONES SEXUALES DIRIGIDAS

Se han realizado varios ensayos clínicos controlados ran-

domizados con la finalidad de establecer si la IIU con o sin HOC mejora las posibilidades de embarazo respecto a las relaciones sexuales programadas. Cohlen y col. ⁽²⁾ realizaron una revisión sistemática incluyendo 17 estudios controlados randomizados. Se encontró que en casos de factor masculino, la IIU en ciclos naturales incrementa significativamente la posibilidad de embarazo respecto a las relaciones sexuales programadas (OR=2.5, con IC de 1.6-3.9). De igual manera, en ciclos con HOC, la IIU incrementa significativamente la posibilidad de embarazo (ORA=2.2 con IC de 1.4-3.6).

En casos de infertilidad sin causa aparente un meta-análisis ⁽³⁾ de 980 ciclos en estudios prospectivos randomizados mostró que la posibilidad de embarazo se incrementa significativamente con IIU respecto a RS dirigidas en ciclos estimulados con gonadotropinas (OR= 1.84). Similares resultados fueron reportados por Hughes ⁽⁴⁾ en otro meta-análisis en donde se incluyó solamente pacientes estimuladas con hormona estimulante de los folículos (FSH).

En casos de endometriosis mínima o leve el tratamiento con HOC e IIU se asocia a una mayor tasa de embarazos comparado a las RS sin tratamiento, según se desprende de un estudio controlado randomizado realizado por Tummon y col ⁽⁵⁾.

INSEMINACIÓN INTRAUTERINA VERSUS INSEMINACIÓN INTRACERVICAL

En casos de inseminación con semen congelado, diversos estudios han intentado evaluar la eficacia de la inseminación intracervical (IIC) respecto a la IIU. En un meta-análisis realizado por Goldberg y col. ⁽⁶⁾ en el que se incluyeron 7 estudios prospectivos randomizados, se encontró que la IIU tenía mayores tasas de embarazo que la IIC (OR=2.4 con IC de 1.5-3.8). Resultados similares fueron obtenidos en otra revisión sistemática ⁽⁷⁾.

En caso de inseminación con donante (IAD) con semen fresco, la IIU no ofrecería beneficios adicionales respecto a la IIC ⁽⁷⁾.

ESTIMULACIÓN CON CLOMIFENO VERSUS GONADOTROPINAS EN IIU

En un estudio observacional realizado por Manganiello y col ⁽⁸⁾ 83 parejas infértiles fueron asignadas secuencialmente para recibir ya sea clomifeno o gonadotropina menopáusica humana (hMG). Se encontró que la tasa de embarazos en el primer grupo fue de 7.3% por ciclo y en el grupo que recibió hMG fue de 14.8% por ciclo (p=0.08).

En un meta-análisis ⁽⁹⁾ se incluyeron 30 estudios tanto prospectivos como retrospectivos. Se encontró mejores resultados con hMG comparado con clomifeno o con ciclos sin estimulación. Sin embargo los autores enfatizan

que debido a la heterogeneidad de los estudios incluidos, se requiere un estudio controlado randomizado con adecuado poder estadístico.

Estos mismos autores publicaron recientemente un estudio prospectivo randomizado⁽¹⁰⁾ en 174 ciclos estimulados, no encontrando diferencias significativas en la tasa de embarazos entre pacientes que recibieron clomifeno o hMG previo a la IIU.

IIU VERSUS FERTILIZACIÓN IN VITRO (FIV)

En los casos de infertilidad sin causa aparente y factor masculino (no severo) la IIU ha mostrado ser tan efectiva como la FIV^(11,12). Diversos estudios de costo-efectividad demuestran que en ausencia de obstrucción tubaria y factor masculino severo, la IIU es más costo-efectiva que la FIV, y este último procedimiento debe reservarse para aquellos casos de falla al tratamiento inicial con procedimientos de baja complejidad⁽¹³⁻¹⁵⁾.

Aboulghar y col⁽¹⁶⁾ en un estudio prospectivo observacional de 594 parejas con infertilidad inexplicada, encontraron que la tasa de embarazo por ciclo en los primeros tres ciclos de HOC + IIU fue de 16.4%, mientras que esta tasa disminuyó a 5.6% en los ciclos cuarto a sexto (diferencia significativa), por lo que concluyen que debería ofrecerse la alternativa de FIV o ICSI en los casos de falla luego de tres ciclos de HOC e IIU. Por otro lado, Sahakyan y col⁽¹⁷⁾ realizan un análisis retrospectivo de 613 ciclos de tratamiento con HOC con gonadotropinas e IIU en 274 parejas infértiles; encontraron una clara declinación en la fecundidad con la edad de la paciente, y concluyen que en pacientes mayores de 40 años, con factor masculino o factor tubario, deberían pasar a FIV si no hay embarazo luego de tres ciclos de HOC + IIU; en casos de mujeres menores de 40 años con infertilidad sin causa aparente o desórdenes ovulatorios se podría intentar durante seis ciclos antes de proceder a FIV.

CÓMO DETERMINAR EL MOMENTO MÁS ADECUADO PARA LA IIU

En estudios prospectivos⁽¹⁸⁾ y retrospectivos⁽¹⁹⁾ se ha demostrado que tanto el monitoreo de LH urinaria empleando kits cualitativos a partir del día 10 del ciclo, como el seguimiento ecográfico y la colocación de gonadotropina coriónica (HCG) cuando el foliculo dominante mide 18 mm o más, son métodos igualmente eficaces para determinar el momento adecuado para realizar la IIU.

La IIU puede realizarse 36 horas post aplicación de HCG o realizarse dos inseminaciones: a las 12 hrs. y a las 36 horas post HCG. Al parecer este último esquema sería más costo-efectivo⁽²⁰⁾.

REFERENCIAS

1. Hammond MG, Talbert LM. Therapeutic insemination. En: Seibel M (editor), *Infertility, a comprehensive text*. 2ª ed. 1997; Appleton and Lange Ed., U.S.A., p. 309-20.
2. Cohlen BJ, Vandekerckhove P, Velde ER, Habbema JDF. Timed intercourse versus intra-uterine insemination with or without ovarian hyperstimulation for subfertility in men (Cochrane Review). In: *The Cochrane Library*, Issue 1, 2001. Oxford.
3. Zeyneloglu HB, Arici A, Olive DL, Duleba AJ. Comparison of intrauterine insemination with timed intercourse in superovulated cycles with gonadotropins: a meta-analysis. *Fertil Steril* 1998; 69: 486-91.
4. Hughes EG. The effectiveness of ovulation induction and intrauterine insemination in the treatment of persistent infertility: a meta-analysis. *Hum Reprod* 1997; 12: 1865-72.
5. Tummon IS, Asher LJ, Martin JSB, Tulandi T. Randomized controlled trial of superovulation and insemination for infertility associated with minimal or mild endometriosis. *Fertil Steril* 1997; 68: 8-12.
6. Goldberg JM, Masha E, Falcone T, Attaran M. Comparison of intrauterine and intracervical insemination with frozen donor sperm: a meta-analysis. *Fertil Steril* 1999; 72: 792-5.
7. O'Brien P, Vandekerckhove P. Intrauterine versus cervical insemination of donor sperm for subfertility (Cochrane Review). In: *The Cochrane Library*, Issue 1, 2001. Oxford.
8. Manganiello PD, Stern JE, Stukel JE, et al. A comparison of clomiphene citrate and human menopausal gonadotropin for use in conjunction with intrauterine insemination. *Fertil Steril* 1997; 68: 405-12.
9. Gallot-Lavallee P, Ecochard R, Mathieu C, et al. Citrate de clomifene ou hMG: quelle stimulation ovarienne choisir avant inseminations intra-uterines? Les apportes d'une meta-analyse. *Contraception Fertilité Sexualité* 1995; 23: 115-21.
10. Ecochard R, Mathieu C, Royere D, et al. A randomized prospective study comparing pregnancy rates after clomiphene citrate and human menopausal gonadotropin before intrauterine insemination. *Fertil Steril* 2000; 73: 90-3.
11. Goverde AJ, McDonnell J, Vermeiden JP, et al. Intrauterine insemination or in-vitro fertilisation in idiopathic subfertility and male subfertility: a randomised trial and cost-effectiveness analysis. *Lancet* 1999; 355: 13-18.
12. Zayed F, Lenton EA, Cooke ID. Comparison between stimulated in-vitro fertilization and stimulated intrauterine insemination for the treatment of unexplained and mild factor infertility. *Hum Reprod* 1997; 12: 2408-13.
13. Guzik DS, Sullivan MW, Adamson GD, et al. Efficacy of treatment for unexplained infertility. *Fertil Steril* 1998; 70: 207-13.
14. Van Voorhis BJ, Stovall DW, Allen BD, Syrop CH. Cost-effective treatment of the infertile couple. *Fertil Steril* 1998; 70: 995-1005.
15. Van Voorhis BJ, Sparks AET, Allen BD, et al. Cost-effectiveness of infertility treatments: a cohort study. *Fertil Steril* 1997; 67: 830-6.
16. Aboulghar M, Mansour R, Serour G, et al. Controlled ovarian hyperstimulation and intrauterine insemination for treatment of unexplained infertility should be limited to a maximum of three trials. *Fertil Steril* 2001; 75: 88-91.
17. Sahakyan M, Harlow BL, Hornstein MD. Influence of age, diagnosis, and cycle number on pregnancy rates with gonadotropin-induced controlled ovarian hyperstimulation and intrauterine insemination. *Fertil Steril* 1999; 72: 500-4.
18. Zreik TG, Garcia-Velasco JA, Habboosh MS, et al. Prospective, randomized, crossover study to evaluate the benefit of human chorionic gonadotropin-timed versus urinary luteinizing hormone-timed intrauterine inseminations in clomiphene citrate-stimulated cycles. *Fertil Steril* 1999; 71: 1070-4.
19. Deaton JL, Clark RR, Pittaway DE, et al. Clomiphene citrate ovulation induction in combination with timed intrauterine insemination: the value of urinary luteinizing hormone versus human chorionic gonadotropin timing. *Fertil Steril* 1997; 68: 43-7.
20. Ragni G, Maggioni P, Guermandi E, et al. Efficacy of double intrauterine insemination in controlled ovarian hyperstimulation cycles. *Fertil Steril* 1999; 72: 619-22.