

HIPERESTIMULACIÓN OVÁRICA CONTROLADA EN REPRODUCCIÓN ASISTIDA

Iván Valencia Madera

INTRODUCCIÓN

El nacimiento exitoso del primer ser humano consecuencia de la fusión extracorpórea de gametos reportado en Julio de 1978⁽¹⁾, marcó el inicio de una era de rápida expansión de la gama de alternativas terapéuticas disponibles para favorecer la consecución de un embarazo en las parejas infértiles, así como el objetivo de alcanzar resultados cada vez más exitosos. El primer nacimiento reportado fue consecuencia de la fecundación de un ovocito recuperado de un ciclo natural o espontáneo y, por ende, de la transferencia de un embrión único. Posteriores intentos de fertilización in vitro (FIV) se realizaron en ciclos naturales con resultados muy poco satisfactorios.

En el transcurso de un ciclo ovárico natural (sin estimulación hormonal) y entre los días 3 a 5 de su inicio se produce el fenómeno de dominancia folicular^(2,3) mediante el cual, a partir del grupo o cohorte de folículos previamente reclutados, solamente uno será destinado a completar su maduración y ovular. Este fenómeno se produce a consecuencia de la interacción entre el estradiol y la inhibina B secretados por el folículo que empieza a dominar sobre el resto, así como la disminución de la secreción de hormona folículo estimulante (FSH), Figura 1, por la hipófisis anterior que, en última instancia, impide la selección de otros folículos al disminuir sus niveles séricos. Se cree que el desarrollo folicular al inicio de cada ciclo sólo ocurre cuando las concentraciones séricas de FSH sobrepasan un cierto umbral; el número de folículos viables para la ovulación depende del tiempo o ventana que el nivel de FSH permanezca por encima de dicho umbral, el cual varía mucho de una mujer a otra e incluso en una misma paciente. De lo anterior se desprende que, para obtener el crecimiento y maduración de varios folículos, deben lograrse niveles séricos de FSH durante un período o ventana más prolongado que en el ciclo natural. Se trata, en definitiva, de un fenómeno de rescate de un grupo de folículos que de otra forma entrarían en un proceso de atresia⁽⁴⁾.

Por este motivo las investigaciones se orientaron al establecimiento de las tecnologías de reproducción asistida (TRA), una de cuyas situaciones o requerimientos fundamentales es la estimulación del crecimiento folicular múltiple y sincronizado, la producción de varios ovocitos maduros y viables que, lógicamente, incrementará el número de embriones disponibles para su transferencia intrauterina y/o intratubárica que se asocia a mayores posibilidades de gestaciones exitosas. Esta práctica o tipo de estimulación ovárica utilizada en las TRA ha recibido diferente terminología: superovulación, desarrollo folicular múltiple (DFM), inducción de superovulación, hiperestimulación ovárica, superovulación ovárica controlada y por último, hiperestimulación ovárica controlada (HOC) que es la más utilizada en la literatura médica.

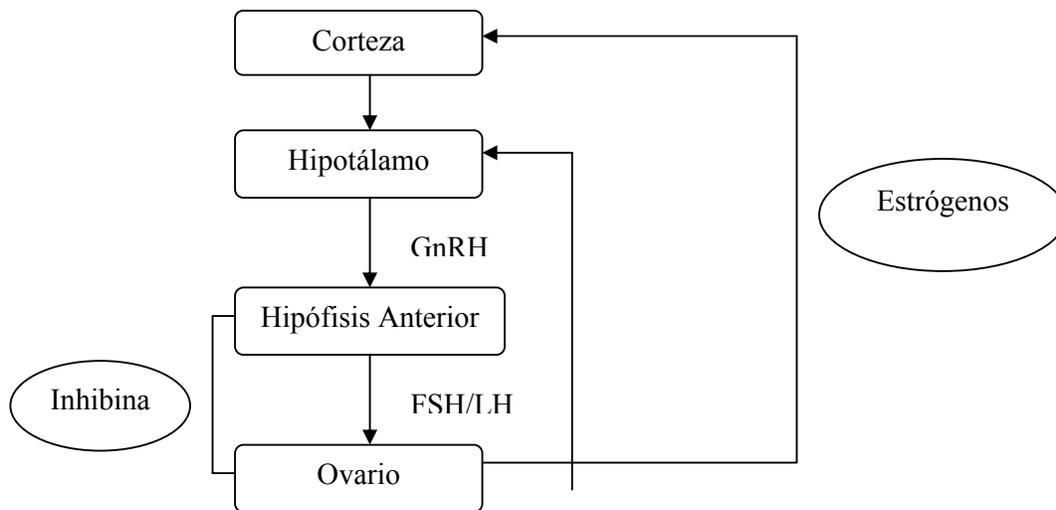


FIGURA 1.- Control hormonal de la función ovárica (GnRH: hormona liberadora de gonadotropinas; FSH: hormona folículo dominante; LH: hormona luteinizante)

Otra ventaja adicional de la HOC es que se puede determinar con bastante precisión el momento en que los ovocitos deben ser recuperados de los folículos ováricos, antiguamente por laparoscopia y actualmente por aspiración transvaginal guiada por ultrasonido.

Se han utilizado varias preparaciones o agentes farmacológicos así como distintos esquemas o protocolos de estimulación ovárica, cada uno de ellos con su peculiar metodología, dosificación, mecanismos de acción, ventajas y desventajas que serán objeto de análisis práctico en el presente capítulo. Debemos mencionar al respecto que, a pesar de todos los avances en el entendimiento endocrinológico del sistema reproductor femenino, el control de la función ovárica todavía representa un área bastante extensa a ser investigada y posee innumerables posibilidades terapéuticas potenciales. Muchos factores probablemente cambiarán radicalmente la inducción de la ovulación en el futuro, incluyendo la introducción de nuevas drogas que continuamente instauran protocolos innovadores e individualizados para cada caso en particular, y si bien esta fase clínica de las TRA se ha venido tornando cada más sofisticada y efectiva, existen conductas y particularidades que son adquiridas únicamente con la experiencia.

En términos generales, un tratamiento médico tiene como objetivo revertir un proceso de enfermedad en particular o aliviar la presencia de signos y/o síntomas incapacitantes, pero en el caso de la infertilidad su finalidad es el nacimiento de un niño saludable. Por otro lado, sabemos que ningún tratamiento médico es completamente seguro, por lo tanto, no existe droga exenta de desventaja o inseguridad cuando las usamos en el tratamiento de la infertilidad, así como no hay cirugía segura cuando se la aplica con el mismo fin. Durante la gestación siempre existe la preocupación por el uso de drogas, sin embargo, con las utilizadas en infertilidad la situación es diferente por varios aspectos. Primero, las drogas empleadas son casi exactas copias de las hormonas humanas que usualmente son producidas por el organismo humano y se encuentran circulando en el mismo; segundo, el objetivo de su aplicación es influir en el proceso de desarrollo y maduración de las células germinales por sí mismo y; tercero, existe una extensa

literatura sobre la seguridad de los tratamientos para infertilidad expresada en términos de mutagenicidad, teratogenicidad y sobre posibles efectos deletéreos sobre el embarazo y el nuevo ser. Sin embargo, varias publicaciones en la última década⁽⁵⁾ con relación a que ciertas drogas utilizadas en los tratamientos de infertilidad pueden causar cáncer en la mujer por un lado^(6,7,8,9) y los datos estadísticos sobre la aparición del síndrome de hiperestimulación ovárica^(10,11) (SHO) con el consiguiente riesgo mayor de embarazo múltiple, por otro, ha obligado tanto a pacientes como a los médicos especialistas a considerar seriamente el concepto de riesgo en este tipo de tratamientos, especialmente el concepto de riesgo epidemiológico.

El seguimiento de la HOC para las TRA tiene que ser estrechamente monitorizado a través del seguimiento seriado por ecografía transvaginal, Figura 2, y las frecuentes determinaciones séricas de estradiol y progesterona con la utilización del radioinmunoanálisis (RIA) y el inmunoensayo quimioluminiscente. Para este objeto el CEMEFES cuenta con los equipos GAMMA-C12 (Diagnostic Products Corp., DPC, USA), Figura 3, e IMMULITE (DPC, USA), Figura 4.



FIGURA 2. Ecógrafo SHIMADZU SDU-400 PLUS



FIGURA 3. Equipo GAMMA-C12



FIGURA 4. Equipo IMMULITE

FÁRMACOS UTILIZADOS EN LA HIPERESTIMULACIÓN OVÁRICA CONTROLADA

1. CITRATO DE CLOMIFENO

Existen pocas dudas acerca de que la introducción del citrato de clomifeno (CC) representa el mayor advenimiento terapéutico y que literalmente ha revolucionado la práctica de la endocrinología reproductiva. Así lo demuestra su amplia utilización clínica por más de 30 años como para considerarlo como un agente terapéutico bien establecido y caracterizado, a pesar de que existen ciertos aspectos aún no bien definidos acerca de varias situaciones: su mecanismo de acción, el relativo rol de varios componentes del eje reproductivo en su aplicación, así como la limitada información concerniente a su farmacodinamia circulatoria y la cuantificación de sus niveles séricos en el humano⁽¹²⁾.

Sintetizado en 1956 por Palopoli y cols.⁽¹³⁾ y utilizado en ensayos clínicos en humanos a partir de 1960 por Greenblatt, Kistner y Lamb^(14,15,16), fue aprobado su uso clínico por la Food and Drug Administration (FDA) en 1967 con la estipulación de que la dosis total por ciclo no exceda los 750 mg. Se trata de una droga no esteroide derivada del trifeniletileno, con cierta similitud estructural con el dietilestilbestrol y que consta de 2 isómeros: el biológicamente activo trans-isómero enclomifeno y el menos activo cis-isómero zuclomifeno, de fácil absorción oral y excretada mayoritariamente por las heces. Probablemente es la droga más socorrida para la inducción de la ovulación con más de 4951 reportes bibliográficos acerca de su utilización, de acuerdo a la última información publicada por Lunenfeld e Insler⁽¹⁷⁾. Posee cierta actividad estrogénica que le permite competir con el estrógeno a nivel de los receptores de la hipófisis y probablemente del hipotálamo y ovario, interrumpiendo el mecanismo de retroalimentación negativa de los niveles estrogénicos endógenos, lo cual ocasiona una mayor liberación de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) por parte del hipotálamo, que a su vez estimula la secreción de las hormonas folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH) del lóbulo anterior de la hipófisis que favorece el reclutamiento folicular y, consecuentemente, eleva los niveles de esteroideogénesis promoviendo la ovulación de más de un folículo maduro⁽¹⁸⁾.

Además posee efecto antiestrogénico que se manifiesta fundamentalmente a nivel de la vagina, cérvix, útero y trompas de Falopio, lo cual puede disminuir la cantidad y calidad del moco cervical, alterar la proliferación y maduración endometriales, probablemente modificar la función del cuerpo lúteo y, proporcional a la dosis, influir negativamente en los procesos de transporte espermático y embrionario a nivel del endosápinx. Estos efectos podrían explicar las bajas tasas de implantación y embarazos conseguidos por la droga en relación al elevado índice de ovulación que obtiene: 40% y 80% respectivamente⁽⁶⁴⁾.

Las indicaciones para su uso aislado y como primera opción son los casos de inducción de ovulación en mujeres con oligo-anovulación crónica, normo-gonadotrópicas y normo-estrogénicas (grupo II de la Organización Mundial de la Salud OMS), incluyendo casos de ovarios poliquísticos y anovulación crónica hiperandrogénica. Los esquemas más utilizados inician con dosis de 50 a 100 mg diarios durante 5 días y

empezando la estimulación entre los días 2 a 5 del ciclo menstrual espontáneo o provocado por progestágenos. El seguimiento del crecimiento folicular se realiza por ecosonografía transvaginal, la inducción de la ovulación se efectúa administrando 5.000 UI de hormona gonadotropina coriónica (HCG) cuando los folículos alcanzan un diámetro de 21 mm y, en todos los casos, la fase lútea deberá ser suplementada con progesterona parenteral o preferentemente micronizada: vías oral o vaginal.

El uso del CC se ve limitado por un escaso número de contraindicaciones: presencia de un quiste ovárico preexistente o de un agrandamiento ovárico residual sustancial post-tratamiento; embarazo, debiendo señalar al respecto que Asch y cols. en 1976⁽⁶³⁾ estudiando 2369 nacimientos para investigar una posible teratogenicidad del CC, apenas demostraron una incidencia de defectos al nacer del 2,4% comparado con el 2.7% en la población general; preexistencia de enfermedad hepática o historia de disfunción hepática y, por último, la aparición de síntomas visuales en el curso del tratamiento.

Entre sus principales efectos secundarios adversos tenemos la presencia de síndrome vasomotor (bochornos), raramente severo debido a un aparente estado de privación estrogénica a consecuencia del bloqueo al receptor estrogénico y que desaparece de inmediato al suprimir su administración; embarazos múltiples en un rango de 6.2% al 12.3%; síntomas visuales en el 2% referidos sobretudo a escotomas centellantes y muy ocasionalmente una disminución severa de la agudeza visual, cuyos mecanismos de acción permanecen desconocidos pero que tienen el carácter de reversibles al suspender la terapia; anomalías del moco cervical con aparición de características mucosas desfavorables u hostiles que inciden en la eficacia del fármaco disminuyendo las tasas de embarazo y, probablemente, debidas a una falla del órgano blanco o una sensibilidad tisular selectiva ante el potencial efecto antiestrogénico del CC, lo cual sería un argumento a favor de la administración de preparaciones estrogénicas para contrarrestar este efecto a nivel del moco cervical; etc.

Su utilidad individual es enorme y sus resultados satisfactorios en aquellos casos de relaciones programadas o inseminación intrauterina (IUI) por su bajo costo y facilidad de administración, pero debido al menor número de folículos obtenidos cuando se compara con los resultados logrados usando gonadotropinas solas⁽¹⁹⁾, su utilización no se recomienda para otras técnicas de reproducción asistida más sofisticadas como la fertilización in vitro (FIV) o la inyección intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI).

2. GONADOTROPINAS HUMANAS

Está bien documentado el hecho de que la administración de gonadotropinas exógenas incrementa el número de folículos reclutados y mantiene su crecimiento hasta el estadio de ovulación. Se conoce que su aplicación al inicio del ciclo menstrual incrementa transitoriamente las concentraciones séricas de FSH excediendo el valor umbral para el reclutamiento de una cohorte de folículos para su ulterior desarrollo, el número de folículos reclutados está determinado por el tiempo o ventana en el cual la FSH sérica se mantenga por encima del umbral mientras ocurre el reclutamiento. Figura 5. Luego descienden las concentraciones previniendo que más de un folículo tenga crecimiento preovulatorio.

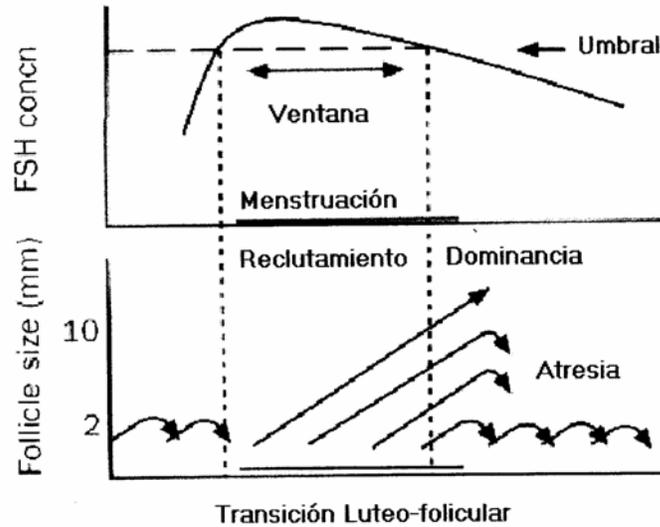


FIGURA 5.- Umbral de FSH y ventana de reclutamiento folicular (adaptado de Fauser y van Exuden)⁽⁶⁵⁾

Las investigaciones encaminadas a reconocer la participación fisiológica de las gonadotropinas en la función gonadal y en el proceso reproductivo, así como el desarrollo de preparaciones aplicables para el tratamiento de la infertilidad humana, han recorrido senderos largos, difíciles y llenos de desafíos intelectuales y obstáculos técnicos en un principio insalvables⁽²⁰⁾.

En 1926 Zondek⁽²¹⁾ por un lado y Smith⁽²²⁾ por otro, descubrieron que la función gonadal era controlada por la hipófisis. Clásicos son los trabajos de Zondek y Ascheim⁽²³⁾ que demostraron el rápido desarrollo de los órganos sexuales de animales inmaduros al implantarles hipófisis, y los de Smith⁽²⁴⁾ que indujo un fallo de la maduración sexual en animales inmaduros, así como una rápida regresión de los caracteres sexuales en animales adultos al practicarles la hipofisectomía. En 1930, Cole y Hart⁽²⁵⁾ reportaron sus intentos de inducir ovulación en animales de laboratorio utilizando extracto de suero de yeguas embarazadas (PMS). Posteriormente se obtuvieron extractos hipofisarios humanos para su aplicación en la especie humana y fueron Gemzell y cols. en 1958⁽²⁶⁾ los primeros en obtener una inducción de ovulación satisfactoria y el primer embarazo utilizando gonadotropina hipofisaria humana (HPG) pero, desafortunadamente, el rápido desarrollo de anticuerpos que neutralizaban su efecto terapéutico debido a una rápida respuesta inmune hizo que su aplicación fuera abandonada, inclusive debido al fallecimiento de varias mujeres por enfermedad de Creutzfeldt – Jakob con el consiguiente daño degenerativo neurológico severo.

La gonadotropina menopáusica humana (HMG) fue introducida por Lunenfeld y cols.⁽²⁷⁾ al extraer gonadotropinas de la orina de mujeres menopáusicas, conteniendo concentraciones similares de 75 UI de FSH y 75 UI de LH, con apenas el 5% de pureza, y publicaron los primeros casos exitosos de estimulación folicular, ovulación y embarazo. En los años subsiguientes se perfeccionaron las técnicas de purificación de los extractos urinarios, ya sea utilizando anticuerpos anti-HCG que absorben a la LH o técnicas de filtración en gel, obteniéndose preparaciones de FSH con alto grado de pureza (95%), con reducido o nulo contenido de LH que han sido introducidos en el

armamentarium terapéutico. Se basan especialmente en la hipótesis de que las concentraciones plasmáticas tónicamente elevadas de LH endógenas, encontradas sobretudo en mujeres portadoras del síndrome de ovarios poliquísticos, eran las responsables de una adecuada inducción de la ovulación. Se ha re-evaluado el papel de la FSH y la LH en el proceso de esteroidogénesis folicular que consideraba que la presencia de las dos gonadotropinas era indispensable para que se llevara a cabo la biosíntesis de estrógeno folicular, según la hipótesis de la denominada “teoría de las dos células, dos gonadotropinas”. Si bien no cabe duda de la importancia de la oleada en el ciclo medio de LH para inducir la ovulación, su importancia durante la fase de crecimiento folicular dependiente de esta hormona ha sido cuestionada. Probablemente se requiere sólo de la administración exógena de FSH, mientras que los niveles endógenos de LH serían suficientes para completar el desarrollo folicular. Jones y cols.⁽²⁸⁾ fueron los primeros en emplear HMG como método de estimulación ovárica en sus programas de fertilización in vitro.

Resumiendo: en el pasado las hipófisis humanas y actualmente la orina de mujeres postmenopáusicas han constituido la única fuente para la producción de preparaciones de gonadotropinas, pero debido al incremento en la demanda de estas hormonas para ser utilizadas en los centros especializados en TRA, ha hecho que en los momentos actuales se requieran de más de cuarenta millones de litros de orina al año para abastecer estas necesidades, situación cada día más insostenible. Cabe señalar, por añadidura, que estas preparaciones están contaminadas con cantidades variables de proteínas urinarias y otros componentes y existe una importante variabilidad de pureza entre los diferentes lotes, en relación al contenido y a la actividad biológica de la gonadotropinas.

La FSH, secretada por las células gonadotropas de la pituitaria es una hormona que no parece ser sintetizada “por demanda”, sino almacenada en gránulos intracelulares y liberada en presencia de GnRH. De manera estructural es una glucoproteína heterodinámica cuyo tamaño es de 35-45 kD y que está formada por dos subunidades que no presentan una relación covalente, llamadas alfa y beta. Contiene cuatro cadenas de carbohidratos ligadas a las asparagina, de las cuales dos se encuentran en la subunidad alfa y dos en la subunidad beta. La presencia de estas cadenas de carbohidratos proporciona a la FSH su perfil característico como iso-hormona, conocido como microheterogenicidad. En otros términos, la FSH no existe como estructura molecular sola, sino como una familia de isómeros cargados. Su papel biológico en los hombres es esencial para el proceso de espermatogénesis, mientras que en las mujeres su función principal es la regulación del crecimiento folicular.

Adelantos en la tecnología del ADN recombinante y mediante la transferencia de plásmidos que contienen las dos subunidades del gene que codifica la FSH utilizando cultivos en líneas celulares de ovarios de hembras de hámster chino, han logrado la disponibilidad de la FSH recombinante (r-hFSH)⁽²⁹⁾, molécula sumamente pura (mayor del 99%) similar a la FSH humana, virtualmente exenta de riesgos de contaminación de enfermedades a las pacientes, con total actividad específica (10.000 UI FSH/mg proteína) y con mayor seguridad y eficacia⁽³¹⁾. Figura 6. Desde los primeros reportes de embarazos y nacidos vivos luego del uso de esta preparación hechos por Devroey y cols.⁽³⁰⁾ en 1992, se han publicados múltiples estadísticas exitosas y actualmente la tenemos disponible para su utilización clínica en las TRA, pese a su elevado costo.

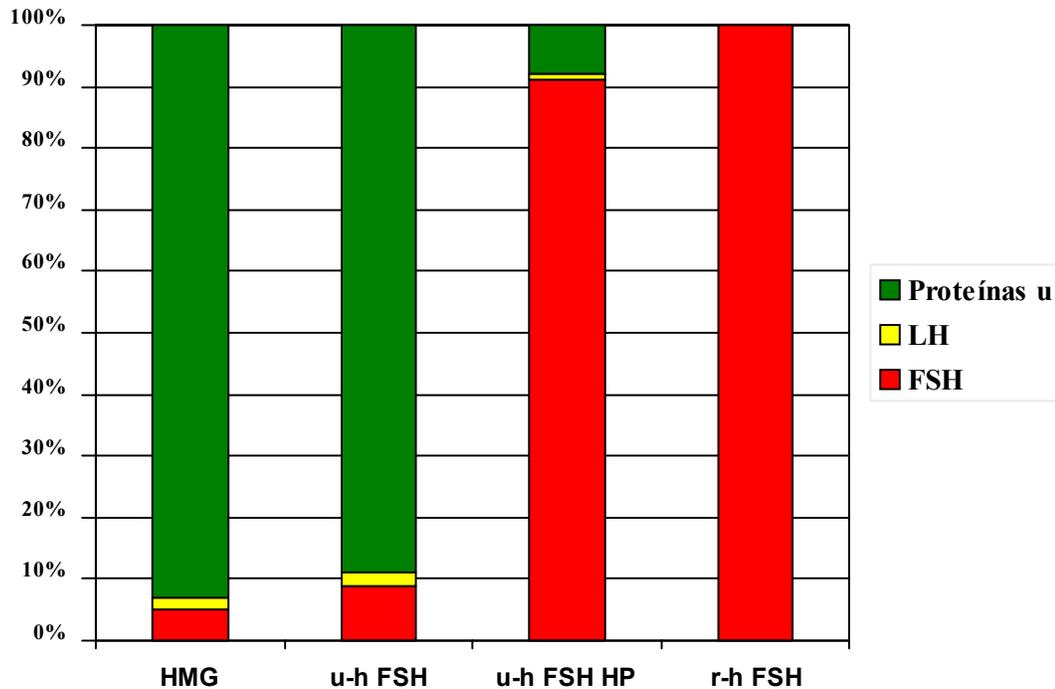


FIGURA 6.- Diferentes preparaciones de hormona foliculo estimulante (FSH) con sus respectivos grados de purificación.

3. HORMONA GONADOTROPINA CORIÓICA (HCG)

Extraída de la orina de la mujer embarazada posee una estructura y actividad biológica similares a la natural del embarazo⁽³²⁾, es decir con propiedades predominantemente luteinizantes. Es administrada intramuscularmente en dosis de 5.000 a 10.000 UI cuando el crecimiento folicular alcanza el diámetro requerido, con objeto de inducir la ruptura folicular aproximadamente 37 horas más tarde.

4. HORMONA LIBERADORA DE GONADOTROPINA (GnRH) Y SUS ANÁLOGOS: AGONISTAS Y ANTAGONISTAS

La GnRH es la reguladora hipotalámica primaria de la función reproductiva. En 1971 y de manera independiente, Schally y Guillemin aislaron y determinaron la característica estructural de la hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH)⁽³³⁾, sinónimo de GnRH: polipéptido de 10 aminoácidos de corta vida media que es sintetizada en las neuronas del hipotálamo a un ritmo de un pulso por hora⁽³⁴⁾ y posteriormente secretada de manera intermitente a la circulación portal, razón por la que rara vez provoca un crecimiento folicular múltiple y no es utilizada habitualmente para estimulación ovárica. En su forma natural actúa sobre los gonadotropos del lóbulo anterior de la hipófisis mediante sus receptores a nivel de la membrana celular, induciendo la biosíntesis y liberación de la FSH y LH acumuladas. Knobil y cols.⁽³⁵⁾ demostraron que mientras la administración de GnRH se hace de forma pulsátil e intermitente se produce liberación

de FSH y LH mientras que, paradójicamente, la infusión continua inhibe la secreción de gonadotropinas.

Posteriormente, con objeto de incrementar la vida media de la droga, fueron sintetizados los **análogos agonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas (a-GnRH)** gracias a la sustitución de moléculas de aminoácidos en el decapeptido original, por otros aminoácidos o moléculas más complejas, Tabla I, especialmente en los posiciones 6 y 10.

TABLA I.- GnRH natural y grupos sustituidos en los agonistas

Gn RH	pGlu 1	His 2	Trp 3	Ser 4	Tyr 5	Gly 6	Leu 7	Arg 8	Pro 9	Gly 10	NH2
Buserelina acetato (Suprefact, S.C.)						D-Ser (TBU)					
Goserelina (Zoladex, S.C.)						D-Ser (TBU)				Aza-Gly	
Leuprolide acetato (Lupron, S.C.)						D-Leu				Etilamida	
Nafarelina (Synarel, Nasal)						D(2Na)					
Triptolerina (Decapeptyl, I.M.)						D-Trp					

Las preparaciones de agonistas disponibles comercialmente poseen una gran afinidad por el receptor GnRH, son menos susceptibles a la degradación enzimática, poseen una larga vida media de aproximadamente 80 minutos y son de 50 a 100 veces más potentes que la GnRH original. Al contrario de la administración pulsátil de GnRH, cuando se utilizan agonistas inicialmente ocurre una liberación de FSH y LH acumuladas desde la hipófisis en niveles similares a los que se encuentran durante la fase media del ciclo y que se conoce como “efecto flare-up”; a esta liberación inicial le sigue una disminución y finalmente la virtual abolición de la secreción gonadotrópica o sea un bloqueo reversible de la hipófisis, haciendo que esta se torne insensible a una estimulación adicional. Este fenómeno, que usualmente aparece a partir del cuarto día de administración del agonista⁽³⁶⁾, causado por la disminución del número de internalización de los receptores de GnRH ocupados a nivel de la superficie de las células gonadotrópicas hipofisarias se denomina “down regulation”, que se acompaña de una falta de acoplamiento de los receptores para la señal secretora conocido como desensibilización y cuyo exacto mecanismo de acción permanece poco claro hasta la actualidad.

Usualmente se requiere de 7 a 14 días para alcanzar un estado de supresión hipofisaria o hipogonadotropismo. La secreción de FSH y LH por parte de la hipófisis no cesa completamente sino que mantiene niveles basales, a diferencia de la administración de agonistas de depósito que ocasionan una profunda depresión en la secreción de gonadotropinas. Finalmente, y al suprimirse la administración de a-GnRH, los patrones endógenos de secreción gonadotrópica retornan rápidamente a la normalidad.

El principal efecto farmacológico de los agonistas es el de evitar o prevenir la aparición del pico prematuro de la LH con la subsecuente luteinización folicular que, frecuentemente, ocurre en los ciclos de estimulación ovárica con gonadotropinas, casos de síndrome de ovarios poliquísticos o pacientes con elevados niveles séricos de LH y/o andrógenos que van a someterse a una TRA. La mayoría de clínicas especializadas han incorporado estas drogas en sus protocolos de HOC en todas sus pacientes⁽³⁷⁾, mientras que otras la utilizan en los grupos de pacientes ya señalados e inclusive en aquellas pacientes bajas respondedoras^(38,39).

Posteriormente se han introducido los **análogos antagonistas de GnRH** provistos de un potente y directo efecto inhibitorio sobre la producción de gonadotropinas. Sus moléculas ocupan los receptores hipofisarios de GnRH bloqueando competitivamente el acceso de la GnRH endógena, impidiendo una sustancial ocupación del receptor y su estimulación. La supresión hipofisaria atribuida al antagonista es inmediata, sin aparición del “efecto flare-up” y al no ocurrir la pérdida del receptor se requiere una administración constante del antagonista al gonadotropo, de tal manera que todos los receptores de GnRH son continuamente ocupados. Consecuentemente, comparados con los análogos agonistas, un rango de dosis superior es requerido para alcanzar una efectiva supresión hipofisaria: microgramos contra miligramos, respectivamente⁽⁴⁰⁾.

Las dos primeras generaciones de antagonistas de GnRH sintéticas tuvieron severos efectos secundarios en la fase de ensayo clínico, debido a una importante liberación de histamina; sin embargo, los dos agentes de tercera generación recientemente disponibles en la farmacopea (cetorelix y ganirelix) han conseguido resultados satisfactorios con mínimos efectos adversos.

Estas preparaciones de antagonistas de GnRH se han desarrollado fundamentalmente para lograr la prevención del pico prematuro de LH en mujeres sometidas a HOC. En comparación a la GnRH natural, tienen amino-ácidos sustituidos en las posiciones 1, 2, 3, 6, 8 y 10 que los ha convertido en potentes antagonistas con mínimas propiedades liberadoras de histamina⁽⁴¹⁾ y alta solubilidad acuosa.

En la práctica corriente los agonistas de la GnRH son utilizados con el principal objetivo de suprimir las gonadotropinas endógenas durante la estimulación ovárica, sin embargo, inicialmente estimulan su liberación y sólo alcanzan el estado de desensibilización hipofisaria luego de 1 a 2 semanas de tratamiento previo. La introducción de los antagonistas de GnRH permiten acortar y simplificar el régimen de tratamiento en la HOC dado que inmediatamente suprimen las gonadotropinas al bloquear directamente al receptor GnRH y, por lo tanto, su administración puede restringirse a aquellos días en que el pico de LH puede ocurrir. Se ha demostrado⁽⁴²⁾ en mujeres voluntarias sanas y en pacientes sometidas a la FIV, que el antagonista alcanza concentraciones séricas estables luego de 2 a 3 días de tratamiento y que la máxima supresión de LH endógena ocurre alrededor de las 4 horas de cada inyección subcutánea. Además, al discontinuar su administración se observa una rápida recuperación de la función hipofisaria dada su también corta vida media de eliminación (aproximadamente 13 horas)⁽⁴³⁾ y, por último, otras ventajas adicionales anticipadas del uso de antagonistas en los programas de HOC es la reducción de la dosis total de gonadotropinas, el bajo riesgo de aparición del síndrome de hiperestimulación ovárica y

la posibilidad de usar una inyección en bolo de agonista de GnRH para desencadenar el pico de LH en la mitad del ciclo y lograr la final maduración folicular.

Estos antagonistas indudablemente serán de utilidad, por lo menos en cierto grupo de pacientes en las cuales el pico inicial de gonadotropinas endógenas debe ser abolido. Su introducción significa un cambio fundamental en el manejo de los protocolos de HOC actuales y, por tanto, requieren de la adquisición de la experiencia necesaria.

ESQUEMAS DE HIPERESTIMULACIÓN OVÁRICA CONTROLADA

El uso de fármacos para estimular el crecimiento inicial de múltiples folículos, su posterior desarrollo y maduración adecuados y la inducción de la ovulación, es fundamental para alcanzar exitosas tasas de fertilización y embarazo en las TRA. Cada ovocito viable recuperado puede dar lugar a un embrión si la FIV ocurre o la ICSI la produce. La transferencia de más de un embrión aumenta la tasa de embarazo por paciente, tomando siempre en consideración la calidad embrionaria, la etiología de la infertilidad y la edad de la mujer. Los embriones supernumerarios o excedentes son criopreservados para ser transferidos en ciclos futuros.

El clínico experimentado deberá seleccionar el adecuado esquema de HOC de acuerdo a los siguientes parámetros: edad de la paciente, indicación o factor de infertilidad presente ya sea femenino, masculino o mixto, técnica de reproducción asistida a realizarse (IUI, GIFT, FIV convencional, ICSI), ciclos previos de estimulación ovárica, resultado de las pruebas de reserva ovárica y accesibilidad económica a los fármacos.

Se han propuesto varios protocolos para lograr una HOC exitosa, siendo los más ampliamente utilizados los siguientes:

1. Combinación de citrato de clomifeno y gonadotropinas.

Esta combinación de drogas fue propuesta a inicios de la década de los 80. Comprende la administración de 100 mg de CC durante 5 días iniciando los días 2, 3, 4 o 5 del ciclo, dependiendo del patrón menstrual de la paciente y de la experiencia del clínico. La administración de HMG puede iniciarse ya sea simultáneamente, en el intermedio del CC o bien al finalizar la administración del mismo, a dosis de 150 a 225 UI intramusculares diarias, hasta el primer control ecográfico y hormonal que habitualmente se realiza al noveno día de iniciado el estímulo. A continuación la dosis tiene que ser necesariamente individualizada, según la respuesta de la paciente y con objeto de evitar contratiempos como la aparición del pico endógeno de LH con luteinización prematura o la cancelación del ciclo de estimulación, ya sea por una baja respuesta ovárica o por un excesivo reclutamiento y crecimiento foliculares que pueden conducir al síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO).

La estimulación gonadotrópica continuará hasta cuando al menos 2 folículos alcanzan un diámetro de 18 mm y la inducción de la ovulación se logrará mediante la administración intramuscular de HCG luego de 36 a 48 horas después de la última dosis de HMG. La ovulación ocurre aproximadamente 36 a 38 horas después y permite la recuperación ovocitaria por aspiración folicular transvaginal, bajo guía ecográfica, entre

las 33 a 35 horas de la administración de la HCG. Esta última sirve en este caso, además, de soporte para la fase lútea.

Con este esquema los niveles de estradiol se elevan inicialmente por dos mecanismos: el efecto del CC sobre la hipófisis y la administración directa de FSH en forma de HMG⁽⁴⁴⁾, proporcionándole la ventaja de contrarrestar el efecto antiestrogénico del CC sólo sobre la mucosa endometrial y la fase lútea. Se asocia a un incremento de la tasa de embarazo por transferencia del 38% comparada con el 15% cuando se usa uno sólo de estos fármacos⁽⁴⁵⁾. A pesar de que se obtiene un mayor número de ovocitos recuperados y, por ende, mayor número de embriones viables para la transferencia, el método tiene sus inconvenientes: tasa de cancelación por ciclos del 25%⁽⁴⁶⁾ debida especialmente a picos prematuros de LH, niveles bajos de estradiol, mala respuesta ovárica e inadecuado desarrollo folicular. Sin embargo, alcanza tasas de embarazo que varían entre 18 a 20% que resultaron favorables comparados con otros esquemas de estimulación usadas en Norteamérica en 1989-90⁽⁴⁷⁾.

Los protocolos que combinan CC con FSH no se han popularizado debido a que alcanzan similares tasas de cancelación, fertilización y embarazo que las obtenidas con CC/HMG⁽⁴⁸⁾, de ahí que estos esquemas han dado paso a los que utilizan gonadotropinas solas o con a-GnRH y sólo por su ventaja o bajo costo aún es empleado en aquellas clínicas con economía limitada. Se tomará en consideración las contraindicaciones y los efectos secundarios que presentan cada fármaco de manera individual. Varios estudios recientes señalan que, actualmente, con el uso de antagonistas de GnRH ha resurgido el interés por la utilización del CC.

2. Uso de gonadotropinas solas

2.1 Gonadotropina Menopáusica Humana (HMG)

Esta hormona ocasiona elevación de los niveles de FSH en la fase folicular obteniendo un mayor reclutamiento y posterior desarrollo de los folículos, independientemente de que exista integridad funcional del eje hipotálamo-hipofisiario⁽⁴⁾. Su utilización en las TRA se inició en los primeros años de la década de los ochenta⁽²⁸⁾ y su principal indicación es la falla hipotálamo-hipofisiaria sobretodo refractaria al uso de CC. Debido al mayor riesgo de desarrollar un síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO) se encuentra relativamente contraindicada en mujeres con síndrome de ovarios poliquísticos (SOP), cuadros de hiperandrogenismo o incremento de los niveles séricos de LH, o en estas situaciones se la debe utilizar con las debidas precauciones.

La administración intramuscular diaria de 150 a 225 UI de HMG se inicia habitualmente el día 2 ó 3 de un ciclo menstrual espontáneo o provocado con progestágenos, ó sea previa a la selección del folículo dominante, se la mantiene durante 5 días y, según la respuesta individual de la paciente determinado por los controles ecográficos y hormonales, la dosis podrá ser mantenida, incrementada⁽⁴⁹⁾ (régimen ascendente) o disminuida⁽⁵⁸⁾ (régimen descendente) durante los restantes días de estimulación ovárica.

La HCG para inducir la ovulación se administra intramuscularmente a dosis de 10.000 UI cuando la mayoría de folículos han alcanzado ecográficamente un diámetro mayor a

20-21 mm o el estradiol sérico sea por lo menos de 300 pg/ml por cada folículo mayor de 18mm. Jones y cols.⁽⁵¹⁾ publicaron sus hallazgos entre la relación de los niveles o patrones de estradiol durante la estimulación folicular y los ciclos exitosos de tratamiento, reconociendo estos patrones como un valioso aporte para individualizar los protocolos para cada caso en particular. Este mismo grupo de investigadores⁽⁵²⁾ descubrió los efectos beneficiosos de suplementar la HMG con la administración de FSH en los primeros 2 primeros días de la estimulación ovárica en mujeres con una pobre respuesta ovárica en ciclos previos.

2.2 Hormona Folículo-estimulante (FSH)

Los avances de la industria farmacéutica en los últimos años se han orientado a la obtención de una molécula de FSH cada vez menos contaminada por proteínas urinarias no específicas y han logrado la comercialización de productos de FSH libre de LH (u-hFSH) primeramente en 1983, que aún presentaba una baja actividad específica de 100-150 UI FSH/mg de proteína y de FSH altamente purificada (u-hFSH HP) posteriormente en 1993, logrando un alto grado de pureza del fármaco al conseguir la remoción de la LH por métodos inmunocromatográficos y con una actividad específica de alrededor de 9000 UI FSH/mg de proteína.

El último avance, utilizando la tecnología de ADN recombinante, ha sido la introducción de la FSH recombinante (r-hFSH) con una molécula sumamente específica (10.000 UI FSH/mg proteína) y con mayor seguridad y eficiencia en relación a las dos preparaciones anteriores⁽³¹⁾. Disponibles en el mercado en sus dos variables: folitropina alfa y folitropina beta; cuyas moléculas son estructural y bioquímicamente casi indistinguibles, excepto por pequeñas diferencias de sus perfiles de isoformas; su administración optimiza la esteroidogénesis folicular obteniéndose una relación andrógeno-estrógeno más adecuada a nivel del líquido folicular. Con ellas es posible lograr un crecimiento folicular múltiple y homogéneo en aquellas pacientes en las que no se ha conseguido una HOC adecuada con otros fármacos ya señalados; evitan el posible efecto de las dosis altas de LH sobre el desarrollo folicular y, al eliminar las proteínas urinarias contaminantes, no presentan efectos colaterales como las reacciones alérgicas locales a la HMG, haciendo posible la repetición de ciclos de reproducción asistida⁽⁴⁾. Un primer reporte detallando el uso exitoso de la r-hFSH al establecer un embarazo clínico, sin efectos secundarios en una paciente que anteriormente presentó serias reacciones sistémicas a las gonadotropinas urinarias, fue realizado en 1996⁽⁵³⁾.

Parte del ímpetu para su actual utilización masiva en la mayoría de clínicas de reproducción asistida, además de su alto índice de pureza que permite la administración subcutánea (s.c.) y su elevada actividad específica, radica en la dificultad de disponer de enormes cantidades de orina post-menopáusica para satisfacer la elevada demanda de gonadotropinas. La principal desventaja es su mayor costo económico.

A partir de 1992⁽³⁰⁾ con las iniciales comunicaciones sobre su uso exitoso, en combinación con a-GnRH, para estimular el desarrollo folicular múltiple y la secreción de estradiol en pacientes sometidas a programas de FIV-TE, se han efectuado innumerables investigaciones clínicas para demostrar su eficacia en las HOC asociadas a un protocolo largo de a-GnRH^(54,55), por un lado, y para comparar sus resultados en relación con los protocolos que utilizan la u-hFSH, por otro. Los regímenes de

dosificación de la FSH pueden resumirse en dos protocolos bien establecidos y puestos en práctica:

a) Protocolo “Step-up” o Pauta Ascendente

En su forma convencional, comienza la administración i.m. o s.c. de FSH a dosis iniciales de 150-225 UI diarias desde el 2do o 3er día del ciclo, que se mantiene durante 4 a 5 días y que podría ser incrementado en caso de falta de respuesta ovárica o que ésta fuese insuficiente. Este protocolo se puede asociar a una elevada tasa de complicaciones: embarazo múltiple en el 36% o más de los casos y SHO superior al 14%⁽⁶⁶⁾, motivos por el que muchas clínicas han abandonado este protocolo para optar por una variante: “step-up” o pauta ascendente a dosis bajas^(67,68), diseñado para permitir que el umbral de FSH se alcance paulatinamente minimizando la excesiva estimulación folicular y disminuyendo el riesgo de desarrollo de múltiples folículos pre-ovulatorios, Figura 7.

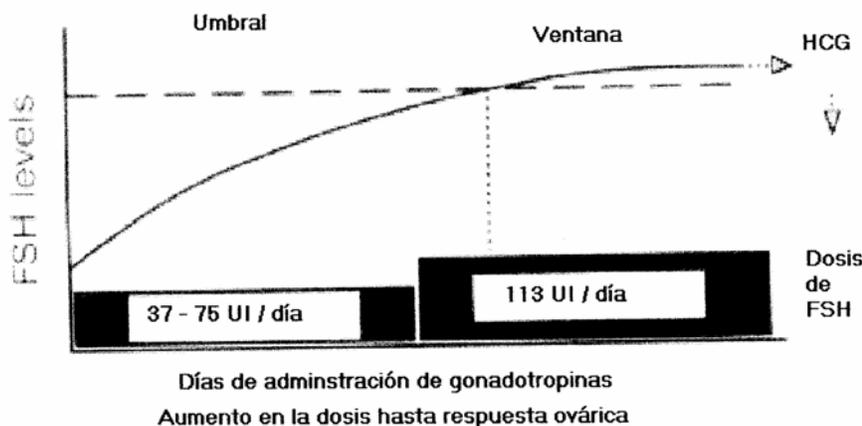


FIGURA 7.- Protocolo “step-up” o pauta ascendente a dosis bajas

En este protocolo se inicia la dosis i.m. o s.c. de 75 UI de FSH diarios que se mantiene por 14 días y, si no se obtiene una respuesta adecuada documentada ecográfica y hormonalmente, la dosis se incrementa en 37.5 UI de FSH diarias con intervalos semanales hasta alcanzar una máxima de 225 UI al día. La detección de una adecuada respuesta ovárica es una indicación para continuar la dosis corriente hasta que la HCG pueda administrarse para inducir la ovulación. Usando este régimen en pacientes con síndrome de ovarios poliquísticos (SOP) durante 10 años se han conseguido⁽⁶⁷⁾ tasas de ovulación y embarazo del 72% y 45%, respectivamente. Cabe mencionar que los resultados de esta variante terapéutica son negativamente influenciados por la edad, obesidad y la persistente elevación de las concentraciones séricas de LH.

b) Protocolo “Step-down” o Pauta Descendente

Este tipo de protocolo trata de mimetizar lo más cerca posible la fisiología del ciclo natural⁽⁶⁵⁾ y es conocido como el protocolo de Rotterdam. La administración de FSH a dosis de 150 UI/día I.M o S.C. se inicia inmediatamente (día 2 ó 3) de comenzado un ciclo menstrual espontáneo ó inducido con progestágenos y continúa hasta la aparición ecográfica de un folículo dominante de ≥ 10 mm de diámetro; la dosis entonces es disminuida a 112.5 UI/día durante 3 días y una segunda disminución se logra

administrando 75 UI/día que se la mantiene hasta el uso de la HCG para inducir la ovulación, Figura 8.

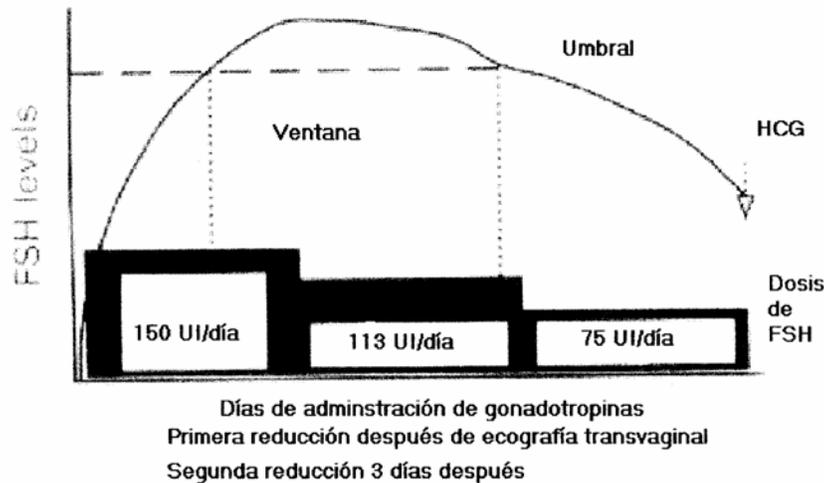


Figura 8.- Protocolo “step-down” pauta descendente

Es de enorme utilidad en los casos que se requiera lograr un desarrollo monofolicular, ya que la teoría fundamentada en la ventana de FSH enfatiza el significado de decrecientes niveles séricos de FSH para lograr este objetivo. La dosis apropiada de inicio puede ser determinada utilizando el protocolo “step-up” a dosis bajas, en el primer ciclo de tratamiento. Las experiencias iniciales⁽⁶⁸⁾ con este esquema demostraron que la duración del tratamiento y la dosis total de gonadotropinas eran menores a los otros esquemas y el desarrollo monofolicular se alcanza con mayor frecuencia, disminuyendo los riesgos de hiperestimulación y embarazos múltiples. Su seguridad e eficacia en la práctica clínica, sin embargo, aún debe confirmarse a través de estudios multicéntricos extensos.

Uno de los estudios clínicos realizados en 1995⁽⁵⁶⁾ con suficiente validez estadística y de carácter multicéntrico, prospectivo y randomizado que compara los resultados obtenidos con la administración intramuscular de r-hFSH y u-hFSH en programas de FIV-TE con la participación de 981 pacientes que utilizaron busserelina intranasal como droga a-GnRH para lograr la “down regulation”, reportó que aquellas mujeres que recibieron el producto recombinante (n=585) tuvieron un significativo mayor número de ovocitos (10.8 vs 8.9, $p < 0.0001$) que fueron recuperados con una menor dosis total de FSH (2138 vs. 2385 UI, $p < 0.0001$) en un período de tratamiento más corto (10.7 vs. 11.3 días, $p < 0.0001$) en relación con el grupo que recibió u-hFSH. El número de embriones de mejor calidad fue también significativamente mayor (3.1 vs. 2.6, $p=0.03$), pero no se demostraron diferencias entre los dos grupos en tasas de implantación y de embarazo clínico por ciclo y por transferencia. Sin embargo, un mayor número de embriones fueron criopreservados en el grupo que recibió la r-hFSH (2.53 vs 1.18) reflejando el elevado número de ovocitos maduros y embriones de alta calidad obtenidos en estas pacientes. Cuando se incluyeron en el análisis estadístico los ciclos utilizando embriones congelados, la tasa de embarazo fue significativamente superior en el grupo de r-hFSH (25.5% vs. 20.4%). La incidencia de SHO fue similar en los dos grupos de

tratamiento y no se detectaron anticuerpos anti-FSH en aquellas mujeres que recibieron el producto recombinante.

Al respecto vale mencionar recientes datos⁽⁵⁷⁾ que han demostrado una situación que se sospechaba desde años atrás: el número de embriones en cultivo es el mejor determinante para predecir la presencia futura de embarazo. Una base de datos del Human Embryology and Fertilization Authority (HEFA) reveló que una mujer que tiene más de cuatro embriones en cultivo tiene una oportunidad significativamente mayor de lograr embarazo que aquella con cuatro o menos embriones, siendo válido para todos los grupos de edades tratados. Más aún, reportaron que en las pacientes del primer grupo a las cuales se les transfiere 2 ó 3 embriones, la incidencia de embarazo (24.4% vs. 23.4%) es similar independientemente del número de embriones transferidos; sin embargo, la aparición de embarazo múltiple aumenta desde 6.6% cuando se transfieren 2 embriones al 9.2% cuando son 3 los transferidos

Contrariamente, el grupo de investigadores del Guy's and St Thomas' Hospitals de Londres⁽⁵⁸⁾ estudiaron prospectivamente 352 ciclos consecutivos de FIV-TE en pacientes seleccionadas que fueron sometidas a un protocolo largo de "down regulation" con acetato de buserelina vía nasal a dosis de 200 ug cuatro veces al día y la HOC utilizó u-hFSH en 250 ciclos y r-FSH en 102, con dosis iniciales de 2 a 4 ampollas de FSH determinadas de acuerdo a la edad, niveles basales de FSH y estradiol, respuestas previas a la estimulación y morfología ovárica, reportando el análisis de varios parámetros que se señalan en la Tabla II.

TABLA II.- Perfil de estimulación ovárica y comparación de resultados. Tomado de Khalaf Y y cols.⁽⁵⁸⁾

Parámetro	u-hFSH	r-hFSH	Valor p
Resultados el día 9			
Número de folículos	15.3 +/- 7.2	18.2 +/- 7.1	< 0.5
Estradiol pg/ml (+/-SD)	1119 +/- 63	1496 +/- 124	< 0.01
Ciclos Cancelados	34 (14)	11 (11)	
Dosis de FSH (ciclos terminados)			
Dosis total (ampollas)	34.7 +/- 10.2	28.6 +/- 10.4	< 0.001
Duración (días)	11.9 +/- 2.9	10.4 +/- 2.3	< 0.05
Número ovocitos aspirados	9.9 +/- 4.8 (0-28)	11.2 +/- 4.1 (1-23)	< 0.05
Fertilización			
Total de embriones	1152 (61)	547 (68)	
Embriones transferidos	205	82	
Embriones Transferidos			
Total	484	188	
Por paciente	2.4 +/- 0.6 (1-3)	2.3 +/- 0.7 (1-3)	NS
Embarazo por ciclo iniciado	48 (22)	32 (31)	< 0.05
Tasa de implantación (saco) (%embriones)	65 (14)	38 (20)	NS
Embarazo clínico /Transferencia (%)	50/205 (24)	29/82 (35)	< 0.05

Las mayores concentraciones de estradiol luego de 8 días de estimulación con gonadotropinas obtenidas en el grupo de r-hFSH ($p < 0.01$) se refleja en un mayor número de folículos preovulatorios ($p < 0.5$), superior número de ovocitos recuperados ($p < 0.05$) al administrar una menor cantidad de ampollas de FSH ($p < 0.001$) durante un menor número de días de estimulación ($p < 0.001$); el porcentaje de ciclos cancelados en ambos grupos no fue significativo estadísticamente al igual que la tasa de fertilización, el promedio de embriones transferidos y la tasa de implantación. Tanto la tasa de embarazo por ciclo iniciado como la de embarazos clínicos por transferencia fueron superiores en el grupo de r-hFSH ($p < 0.05$ en ambos parámetros).

Estos resultados controversiales y contradictorios, como los de otros múltiples estudios que han comparado las diferencias al aplicar en los protocolos de HOC tanto r-hFSH como u-hFSH HP, pueden atribuirse ya sea al distinto tamaño de la muestra así como a los criterios de inclusión y/o exclusión de las pacientes participantes, especialmente en relación a los grupos de edad y al número de embriones transferidos. A pesar de lo señalado y las diferencias encontradas en los diversos parámetros investigados, muchos estudios^(59,60) concuerdan que el producto recombinante es más efectivo para la estimulación ovárica que la u-hFSH, dado que se obtiene mayor número de embriones viables para la transferencia y para la criopreservación de los supernumerarios para futuros ciclos sin HOC.

Varias hipótesis^(56,61,62) tratan de explicar la mayor efectividad de la r-hFSH en la estimulación del desarrollo folicular: diferencias en la formulación farmacéutica, presencia de sustancias inhibidoras de FSH en los preparados urinarios, influencias de ciertas isoformas en la bioactividad in vivo de la preparación FSH al analizar la afinidad al receptor y la actividad intrínseca de las iso-hormonas ácidas y básicas, al alto grado de consistencia entre los lotes, al menor porcentaje de formas de FSH degradadas/oxidadas, etc. La supuesta mayor eficacia de la r-hFSH sugiere que el uso de preparaciones farmacológicamente impuras necesita ser revisado a la luz de los avances de la industria farmacéutica, y a la creciente experiencia obtenida con las nuevas preparaciones. Serios y extensos ensayos clínicos, así como verificaciones clínicas regulares se necesitarán para confirmar los estudios disponibles y evaluar el uso de fármacos recombinantes en la práctica clínica rutinaria.

En definitiva, las indicaciones de la u-hFSH HP y la r-hFSH son: estimulación ovárica para TRA, pacientes portadoras de síndrome de ovarios poliquísticos, mujeres con niveles elevados de LH, y en aquellos casos en que los tratamientos de estimulación con CC solo o combinado con HMG no han sido exitosos.

2.3.- Análogos Agonistas de la Hormona Liberadora de Gonadotropina (α -GnRH)

Las TRA, especialmente la FIV y la ICSI, son procedimientos exitosos cuyos resultados se comparan favorablemente con aquellas gestaciones espontáneas obtenidas en el ciclo menstrual natural en mujeres fértiles y han ayudado a concebir a miles de pacientes infértiles. La inclusión de los α -GnRH en los protocolos de HOC que utilizan gonadotropinas, fue descrita por primera vez en 1984⁽⁶⁹⁾ y, fundamentalmente, está indicada para prevenir la oleada hipofisiaria de gonadotropinas en respuesta a niveles séricos ascendentes de estradiol por parte de múltiples folículos ováricos, por tanto, reduciendo la posibilidad de ovulación espontánea y de cancelación del ciclo al permitir la continuidad de la estimulación, en casos de crecimiento folicular asincrónico. La

supresión de la LH es responsable de la prevención de su pico prematuro que, de producirse, tiene efecto desfavorable sobre la calidad ovocitaria y embrionaria así como sobre las tasas de fertilización y embarazo. Desde el uso de los a-GnRH en las TRA, el porcentaje de luteinización prematura ha descendido de 18% a 2% y en la actualidad los ciclos que usan protocolos de estimulación combinando el agonista con gonadotropinas en la mayoría de clínicas alrededor del mundo es del 85% al 90%⁽⁷⁰⁾. Esto ha mejorado la tasa de embarazo en comparación a los ciclos sin agonistas y, además, tiene la ventaja de mejorar la decisión del momento y conveniencia de programar la recuperación ovocitaria y la transferencia embrionaria, así como lograr una mejor planificación a la paciente, al clínico y al personal de laboratorio.⁽⁷¹⁾

La supresión hipofisiaria con agonistas se tiende a utilizarla en los últimos años casi sistemáticamente en los ciclos de HOC para las técnicas de reproducción asistida, pero algunas de las indicaciones precisas para su administración serían:

- Picos prematuros de LH en ciclos previos de estimulación ovárica.
- Pacientes con incrementados niveles basales de LH y/o concentraciones de andrógenos.
- Síndrome de ovarios poliquísticos.
- Pacientes con baja respuesta ovárica con otros protocolos. Los casos de falla ovárica incipiente no se benefician con esta estrategia terapéutica y deben ser identificados adecuadamente para ofrecerles opciones alternativas de manejo⁽⁷²⁾.
- Endometriosis moderada o severa.

En relación al momento del ciclo en que comienza la administración y a la duración de la misma, se han descrito tres protocolos de utilización de a-GnRH que son los comúnmente difundidos:

- a) Protocolo Largo.-** Fue el primeramente descrito⁽⁶⁹⁾ y el más utilizado en los actuales momentos. La administración del agonista comienza en la fase lútea media del ciclo previo preferentemente o en la fase folicular temprana (día 1 o 2) del mismo ciclo de tratamiento, a una dosis habitual de 1mg/día (0.2ml, s.c.) hasta confirmar la supresión hipofisiaria y se continúa a mitad de dosis (0.5mg/día o 0.1ml s.c.) durante todo el período de estimulación ovárica hasta el día de la administración de HCG. La supresión hipofisiaria se logra al menos a los 10 a 14 días del uso del agonista y en ese momento se inicia la administración de gonadotropinas, según los esquemas señalados en este capítulo. Se ha demostrado⁽⁷³⁾ en un análisis de 2900 ciclos, que es mucho más efectivo comparando con la HOC sin el uso de agonistas y también superior a los otros protocolos (corto y ultracorto). Figura 9.

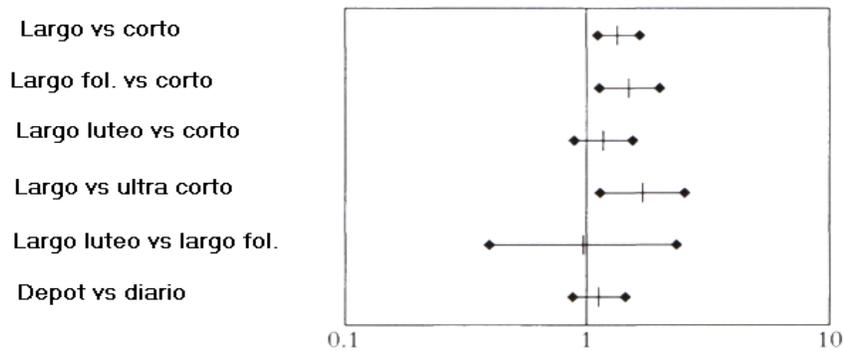


FIGURA 9- Meta-análisis de protocolos que usan a-GnRH para la estimulación ovárica. Modificado de Daya S.⁽⁷⁴⁾

Sin embargo, el protocolo largo no está desprovisto de desventajas, tales como un incremento en los niveles de gonadotropinas necesarios para alcanzar una maduración folicular satisfactoria, prolongación del tiempo de tratamiento, síntomas típicos de la privación estrogénica y un riesgo mayor de síndrome de hiperestimulación ovárica⁽⁷⁰⁾.

b) Protocolo corto.- Aprovecha el efecto inicial de estimulación del agonista sobre la hipófisis, que se mantiene por 48 horas, y puede ser beneficioso para el reclutamiento folicular. Inicia la administración del a-GnRH en los 3 primeros días del ciclo en tratamiento, se añaden gonadotropinas luego de 1 ó 2 días y ambos se continúan hasta el día de la administración de la HCG para inducir la ovulación.

c) Protocolo ultracorto.- Difiere del anterior básicamente en que el agonista se administra únicamente los 3 días primeros del ciclo en tratamiento y las gonadotropinas a partir del segundo o tercer día hasta la inducción de la ovulación.

Una esquematización de estos protocolos pueden observarse claramente en las Figuras 10 y 11.

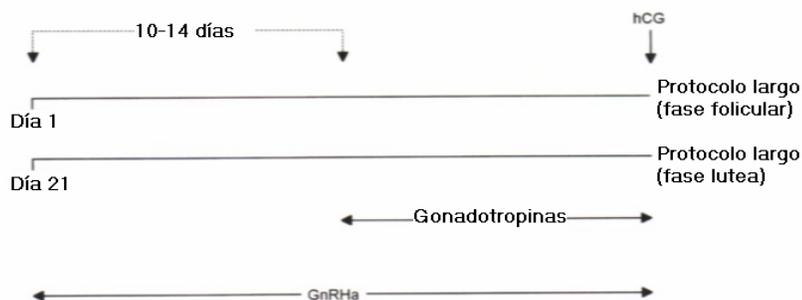


FIGURA 10. Protocolo largo de administración de agonistas

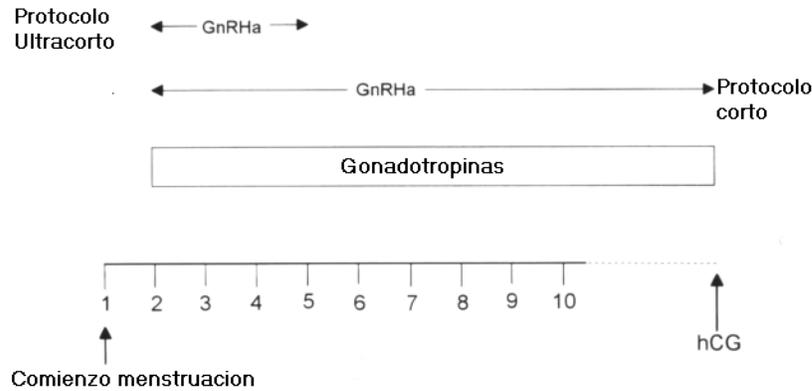


FIGURA 11. Protocolo corto y ultracorto de administración de agonistas

Los méritos relativos de estos esquemas terapéuticos han constituido una fuente de múltiples controversias⁽⁷⁵⁾. Mientras los protocolos largos logran la supresión de la actividad ovárica antes de comenzar la administración de las gonadotropinas, la descarga inicial de gonadotropinas endógenas por parte de la hipófisis o efecto “flare-up”, es utilizado en los otros dos protocolos para facilitar el reclutamiento folicular y disminuir la cantidad total de gonadotropinas exógenas a administrarse, con la consiguiente disminución de costos.

Los protocolos cortos han sido criticados en varios campos. El efecto “flare-up” puede permitir el rescate del cuerpo lúteo del ciclo previo con una inconveniente secreción de progesterona y producción tecal de andrógenos en la fase folicular del ciclo en tratamiento, además de que es posible la luteinización de folículos antrales en desarrollo, dado los niveles elevados de LH en el periodo de “flare-up”. Estos fenómenos pueden determinarse por la persistencia del cuerpo lúteo ecográficamente o con bioensayos de los niveles de progesterona. La administración de a-GnRH, en estos casos, deberá continuarse hasta lograr la quiescencia ovárica antes de iniciar la administración de gonadotropinas. Una alternativa para alcanzar la quiescencia ovárica es el uso de norestisterona oral desde el día 2 del ciclo previo y continuar por 7-25 días antes de iniciar el protocolo corto⁽⁷⁶⁾.

Otro inconveniente del uso de los protocolos cortos, es que los niveles endógenos de gonadotropinas pueden no disminuir a los niveles bajos esperados durante el período de estimulación folicular, especialmente en aquellas pacientes con niveles tónicamente elevados de LH y a quienes toma mayor tiempo alcanzar una adecuada supresión hipofisiaria. Esto podía obviarse, en buena medida, mediante la administración de anticonceptivos orales en el ciclo previo al tratamiento.

La mayor ventaja del protocolo largo radica en que no requiere necesariamente de un seguimiento folicular estricto, y en el hecho de que permite una flexibilidad en el momento de iniciar la administración de gonadotropinas y en la programación de la recuperación ovocitaria. Además, en aquellas situaciones de crecimiento folicular asincrónico durante la HOC, dado que el protocolo largo previene el pico espontáneo de LH, permite la prolongación del período de estimulación hasta lograr que un mayor número de folículos alcance el diámetro deseado, antes de la administración HCG. Los costos incrementados dados por una mayor cantidad de agonistas y, posiblemente,

mayores requerimientos de gonadotropinas exógenas, aparecen inicialmente como sus principales desventajas. Sin embargo, si se toman en consideración la menor tasa de cancelación y las altas tasas de embarazos por ciclo iniciado y por ciclo transferido conseguidos⁽⁷⁰⁾, las desventajas señaladas se tornan poco persuasivas.

Finalmente, no se han descrito efectos deletéreos de los agonistas sobre la calidad ovocitaria ni efectos teratógenos en la especie humana ni en otros mamíferos⁽⁷⁵⁾. Los embriones descongelados cuando han sido criopreservados en estadio pronuclear denotan similares patrones de desarrollo, en relación a los obtenidos en ciclos de estimulación gonadotrópica sin usar agonistas. La tasa de abortos utilizando busarelina es del 20.3%, en comparación con el 47.2% encontrada cuando se utiliza CC en mujeres con síndrome de ovarios poliquísticos⁽⁷⁸⁾.

2.4. Análogos Antagonistas de la Hormona Liberadora de Gonadotropinas

Mientras los a-GnRH actúan durante su administración prolongada a través de la baja regulación de receptores y desensibilización de las células gonadotrópicas, las drogas antagonistas compiten directamente a nivel de receptores, previniendo que la GnRH endógena ejerza sus efectos estimulatorios sobre las células hipofisarias, eliminando cualquier fenómeno “flare-up” inicial de gonadotropinas y esteroides sexuales. Luego de escasas horas de su administración logran la reducción de la secreción de gonadotropinas. Dado su específico mecanismo de acción farmacológico, es posible la administración de antagonistas de GnRH en la HOC únicamente el momento en que el pico prematuro de LH y la luteinización son inminentes.

Los dos protocolos terapéuticos de antagonistas utilizados en los esquemas de HOC en la actualidad son:

a) Protocolo de Dosis Múltiples.- Llamado protocolo Lübeck, consiste en la administración del antagonista de GnRH (ganirelix), a dosis de 0,25 mg s.c. diarios a partir del sexto día de la estimulación con gonadotropina hasta la inducción de la ovulación, Figura 12.

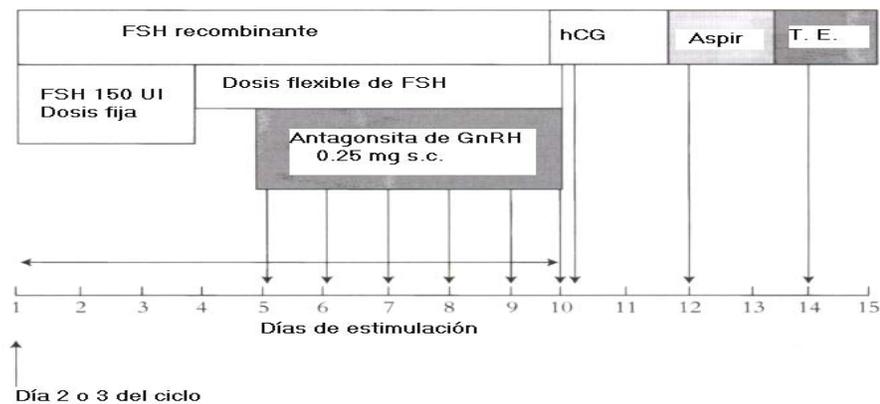


FIGURA 12. Régimen de estimulación con dosis múltiples de antagonista de GnRH. Modificado de Felberbaum RE y cols.⁽⁷⁰⁾

b) Protocolo de Dosis Única.- Desarrollado por el grupo francés de Olivennes F. y cols⁽⁷⁹⁾, inyecta (> 90%) el antagonista de GnRH (cetorelix) a dosis única de 3 mg s.c. cuando los niveles de estradiol alcanzan 150-200 pg/ml y el tamaño folicular es >14mm, que usualmente se observan en los días 8 ó 9 del ciclo estimulado con gonadotropinas. Figura 13.

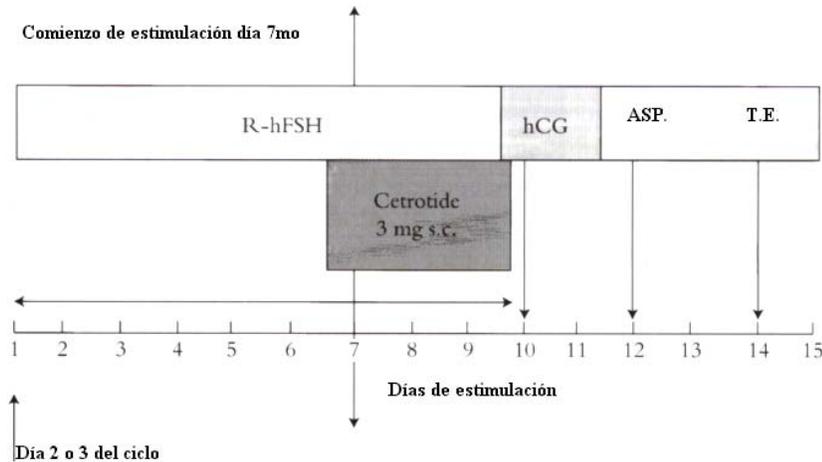


FIGURA 13. Régimen de estimulación con dosis única de antagonista de GnRH. Modificado de Felberbaum RE y cols.⁽⁷⁰⁾

En algunos casos pocos frecuentes de respuesta ovárica lenta al protocolo de estimulación, puede requerirse la administración adicional de 0.25 mg de cetorelix si los criterios para el uso de la HCG no se han alcanzado luego de 4 días de la primera inyección.

Dado que con ninguno de los mencionados protocolos se alcanza una completa supresión hipofisiaria antes de iniciar la estimulación con gonadotropinas, están abolidos los típicos síntomas de la disminución del estradiol como los bochornos, lo mismo que la formación de quistes ováricos. Existe consenso en que la calidad ovocitaria, tasa de fertilización y calidad embrionaria luego del uso de las drogas antagonistas, no difieren de los resultados obtenidos con agonistas en protocolo largo. Se ha mencionado que las discretamente disminuidas tasas de embarazo obtenidas con los antagonistas, estadísticamente no significativas, podrían deberse a posibles efectos negativos directos de los antagonistas a nivel extrapituitario⁽⁸⁰⁾, especialmente en las células de la granulosa, ovocitos, embriones e incluso endometrio. Hasta el momento no existe evidencia cierta de un efecto directo de los antagonistas sobre la actividad de las células ováricas, secreción de esteroides sexuales ni desarrollo folicular.

Se ha reportado que su aplicación en las TRA permite una reducción en el tiempo de tratamiento, una significativa menor incidencia del síndrome de hiperestimulación ovárica⁽⁸¹⁾ y una nula cancelación del ciclo debido a reacciones alérgicas. Este mismo estudio, prospectivo y randomizado, utilizando estimulación con HMG y protocolo con dosis múltiple de cetorelix en 188 pacientes y 85 pacientes con protocolo largo de buserelina, demostró similares resultados en los dos grupos en relación a tasas de fertilización, clivaje y embarazo, como se señala en la Tabla III. Sin embargo, el porcentaje de excelentes embriones de todos los clivados, de acuerdo a un criterio

morfológico-microscópico, fue claramente superior en el grupo con antagonistas: 35% vs. 27.2 %.

**TABLA III.- Comparación de la estimulación ovárica con gonadotropina menopáusica humana usando cetorelix o buserelina.
Resumida de Albano C. y cols.⁽⁸¹⁾**

	Grupo de Cetorelix	Grupode Buserelina	p
Número de ciclos iniciados	188	85	
Número de pacientes con aspiración	178	77	
Embriones Excelente (%)	35	27.2	
Embriones Buenos (%)	47.8	44.6	
Embriones Regulares (%)	17.1	28.1	
Número de transferencias (% ciclos iniciados)	83.5	78.8	NS
Promedio de embriones transferidos por pacientes	2.2	2.2	
Embarazo clínico por ciclo Iniciado	22.3	25.9	NS
Nacimientos por ciclos Iniciados	18.1	22.4	NS
Niños nacidos por embrión transferido	12.2	14.3	

En pacientes malas respondedoras, la desensibilización hipofisiaria alcanzada por los a-GnRH antes del inicio de la estimulación con gonadotropinas puede provocar una hipersupresión, conduciendo a una prolongación del ciclo de tratamiento y a un incremento de costos, sin lograr resultados beneficiosos. Debido a esto, existe una tendencia actual a eliminar al a-GnRH mientras se aumenta la dosis de gonadotropinas en la estimulación ovárica de pacientes malas respondedoras. Los antagonistas pueden ser de utilidad en estas mujeres, dado que evitan cualquier hipersecreción y previenen eficazmente la posibilidad de un pico prematuro de LH. Akman MA y cols.⁽⁸²⁾ han logrado tasas de embarazo en el grupo con antagonistas francamente superior que en el grupo tratado sin ningún análogo (20% vs. 13.3%) en pacientes malas respondedoras, al igual que Dor y Shulman⁽⁸³⁾ que, luego de 37 ciclos de tratamiento en este mismo tipo de pacientes, reportaron una tasa de embarazo clínico del 29.4% luego de la HOC con gonadotropinas y la administración a medio ciclo de cetorelix a múltiples dosis, en comparación a una tasa histórica en un grupo control en esa misma clínica del 3.2%.

Finalmente, se han mencionado nuevas perspectivas para el protocolo Lübeck. Por un lado, ya se mencionó el resurgimiento de la estimulación ovárica con CC solo o combinado con HMG, esquema simple y ampliamente aplicado como procedimiento estándar para la FIV pero que hace poco había sido abandonado por su baja eficiencia; por otro lado, la FIV aparece en la actualidad más fácil de lograr desde el advenimiento de la ICSI inclusive cuando sólo uno o dos ovocitos son recuperados. Se ha reportado⁽⁸⁹⁾ embarazos con la ICSI de un solo ovocito durante ciclos sin estimulación ovárica. Por el contrario, el uso rutinario de HOC con los denominados protocolos largos parece estar

asociado con elevados costos y riesgos para la paciente, tal como el SHO que inclusive puede poner en peligro su vida.

Se ha sugerido que más modestas y baratas formas de estimulación ovárica pueden estar garantizadas últimamente ya que un limitado número de folículos maduros puede ser suficiente. La factibilidad de estimulación ovárica con CC para la ICSI ha sido demostrada recientemente⁽⁸⁵⁾. Felberbaum y Diedrich⁽⁸⁶⁾ han realizado el primer estudio de factibilidad combinando la administración en medio ciclo de antagonistas de GnRH según el protocolo de Lübeck con CC y HMG o r-hFSH; este último, llamado protocolo “suave” de estimulación ovárica, Figura 14, emplea 100mg diarios de CC del 2 al 8 del ciclo, tres ampollas de HMG ó 225 UI de r-hFSH se aplican a partir del día 6 en adelante, la mínima dosis efectiva de 0,25mg diarios de cetorelix es administrada también a partir del día 6 en adelante, simultáneamente con las gonadotropinas, hasta la inducción de la ovulación con 10.000 UI de HCG. Hasta su publicación en 1998, doce pacientes se han sometido a este protocolo “suave” logrando una tasa de embarazo del 25% por ciclo de tratamiento.

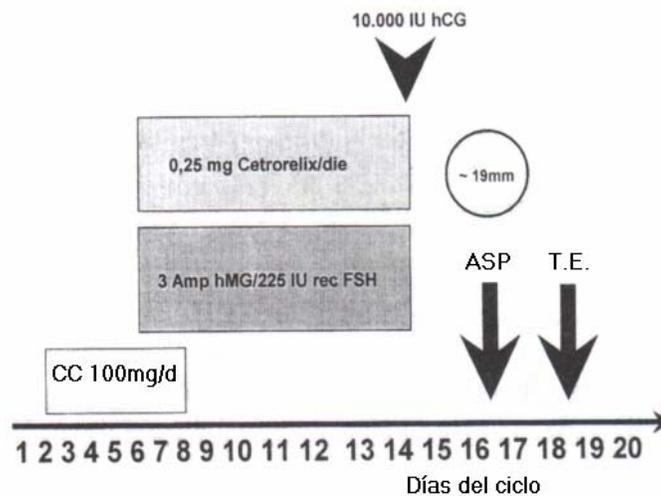


FIGURA 14.- Estimulación ovárica “suave” de acuerdo al protocolo Lübeck⁽⁸⁶⁾

Será necesario esperar los resultados completos de otros estudios similares que determinen si este tipo de protocolo puede resultar en un método de estimulación ovárica barato, seguro y eficiente, disminuyendo los riesgos para nuestras pacientes.

En nuestra región geográfica disponemos desde 1990 del Registro Latinoamericano de Reproducción Asistida (RLA), como portavoz de la Red Latinoamericana de Reproducción Asistida, en lo relacionado a datos estadísticos sobre procedimientos de TRA y sus resultados. Su último reporte fue presentado en la X Reunión Anual de la Red efectuada en Huatulco, México, en septiembre del 2001 y consta de la información obtenida durante 1999⁽⁸⁷⁾ de 93 centros especializados en 11 países de Norte, Centro y Sudamérica. Nuestra clínica (Centro Médico de Fertilidad y Esterilidad, CEMEFES) forma parte de la Red desde su constitución en 1990 y actualmente, es la única en el país acreditada por la misma. Creemos conveniente en este capítulo difundir lo que sucede en Latinoamérica en relación a los 14,872 ciclos realizados en cuanto a tasas de embarazo por procedimiento (Tabla IV) excluyendo los casos de criopreservación y

ovodonación, así como de procedimientos de variables de la micromanipulación como la transferencia a la trompa de ovocitos microinyectados y “hatching asistido”

TABLA IV.- Ciclos de Tratamiento y Embarazo Clínico según Tipo de Procedimiento. (1999). Resumen de referencia⁽⁸⁷⁾

	Procedimientos				
	FIV	GIFT	OTROS	ICSI	ICSI+FIV
Ciclos iniciados	4212	84	52	6623	351
Ciclos discontinuados	526	12	1	524	18
Aspiraciones	3686	72	51	6099	336
Transferencias	3166	71	42	5568	319
Embarazos clínicos	996	26	14	1615	96
Partos con ≥ 1 RN	754	20	13	1211	71
% Ciclos Discontinuados	12.5	14.3	1.9	7.9	5.0
% De transferencia por: Aspiración	85.9	98.6	82.4	91.3	95.1
% De embarazo clínico por: Aspiración	27	36.1	27.5	26.5	28.8
Transferencia	31.5	36.6	33.3	29	30.3
% De parto con ≥ 1 RN por :					
Aspiración	20.5	27.8	25.5	19.9	20.3
Transferencia	23.8	28.2	31.0	21.7	21.4
Embarazo clínico	75.7	76.9	92.9	75.0	70.7

Asimismo, el análisis de los protocolos de estimulación ovárica empleados se observa en la Tabla V.

TABLA V. Distribución de las aspiraciones de acuerdo al esquema terapéutico (1999)⁽⁸⁷⁾

	Número de Aspiraciones	Porcentaje del Total
GnRH (AG) + rFSH	5127	44.5%
GnRH (AG) + HMG + rFSH	2382	20.7%
GnRH (AG) + HMG + uFSH	1497	13.0%
GnRH (AG) + HMG	950	8.2%
Clomifeno + HMG	418	3.6%
GnRH (AG) + uFSH	401	3.5%
GnRH (ANTAG) + rFSH	240	2.1%
CICLOS NATURALES	139	1.2%
GnRH (ANTAG) + HMG + rFSH	124	1.1%
rFSH + HMG	107	0.9%
GnRH (ANTAG) +HMG	48	0.4%
rFSH	30	0.3%
uFSH + HMG	25	0.2%
RLH + rFSH	8	0.1%
Clomifeno + uFSH	6	0.1%
HMG	7	0.1%
GnRH (AG) +u FSH + rFSH	2	0.0%
Clomifeno	1	0.0%
Clomifeno + rFSH	4	0.0 %
UFSH	4	0.0 %
Total	11520	100.0%

3. Drogas Coadyuvantes en el Tratamiento de la HOC

Algunas pacientes infértiles que van a ser sometidas a una HOC, pueden presentar patología subyacente que requerirá una evaluación clínica y endocrina exhaustiva y la administración de ciertos medicamentos, con objeto de corregir cualquier alteración metabólica y/o endocrina presentes. Los fármacos más frecuentemente utilizados son:

- Dexametasona. En aquellos casos que una supresión androgénica adrenal sea necesaria para controlar los niveles endógenos de andrógenos.
- Agonistas Dopaminérgicos. Tipo bromocriptina y cabergolina, en mujeres que presentan niveles elevados de prolactina.
- Metformina. El manejo de la infertilidad anovulatoria en mujeres con síndrome de ovarios poliquísticos (SOP) requiere, en primer lugar, optimizar el estado general de salud antes de iniciar la terapia de estimulación ovárica, para lograr en lo posible una ovulación oligo o monofolicular y disminuir el riesgo del SHO y embarazo múltiple. A pesar de ser uno de los más comunes trastornos endocrinos, su verdadera etiología aún permanece desconocida. Se trata de un desorden heterogéneo de amplio espectro que, en ciertos casos, puede presentarse como un simple hallazgo morfológico de poliquistosis ovárica detectado por ultrasonido pélvico transvaginal y, en otros, con múltiple signo-sintomatología como obesidad, hiperandrogenismo, trastornos del ciclo menstrual e

infertilidad, ya sea solos o combinados. Se lo define, habitualmente, como la detección ecográfica de más de 10 quistes de 2 a 8 mm de diámetro ubicados en la periferia del tejido ovárico que se encuentra aumentado de volumen o con un estroma central ecodenso y ⁽⁸⁸⁾ asociado a oligo-amenorrea, obesidad e hiperandrogenismo (acné, hirsutismo)⁽⁸⁹⁾. Las pacientes portadoras de SOP obesas (Índice de Masa Corporal BMI > 30 kg/m²) o incluso moderadamente obesas (BMI > 27 kg/m²), deben necesariamente tratar de perder peso a base de dieta y ejercicio, para mejorar sus perfiles endocrinos, responder adecuadamente a la estimulación ovárica indicada en estos casos y sobrellevar un embarazo saludable. Sin embargo, en estas pacientes, su particular estado metabólico hace que sea extremadamente difícil la pérdida de peso. Consideraciones más detalladas del SOP se analizan en el capítulo correspondiente.

En las últimas dos décadas, múltiples investigadores han reconocido que el SOP e hiperinsulinemia se encuentran íntimamente relacionados^(90,91) con respecto a su patogénesis, trastornos endocrinos y genética molecular.

La metformina inhibe la producción de glucosa hepática e incrementa la sensibilidad de los tejidos periféricos hacia la insulina, consiguiendo consecuentemente disminuir la secreción insulínica. Se ha demostrado que este fármaco desciende los niveles de hiperandrogenismo y corrige las anomalías en la secreción de gonadotropinas en mujeres con SOP, logrando restaurar el ciclo menstrual y la fertilidad⁽⁹²⁾. Por supuesto que mejores logros se obtienen si, además, se consigue una pérdida de peso. La troglotazona, agente sensibilizador de insulina, también parece ocasionar una significativa mejoría en las anomalías metabólicas y reproductivas en mujeres con SOP⁽⁹³⁾, pero su utilización se ha restringido casi en su totalidad dada su hepatotoxicidad, aunque ninguno de estos agentes ha sido evaluado en estudios de fase III.

- Hormona del Crecimiento (GH). En los últimos años se ha evidenciado que la administración de GH, en ciertos grupos de pacientes sometidas a HOC, optimiza la respuesta ovárica. Se ha hipotetizado que su efecto beneficioso sería a través de una interacción de la GH con los receptores ováricos de GH y/o por estimulación del gene que expresa el factor de crecimiento insulínico en el ovario. De ser así, la GH ampliaría la actividad gonadotrópica endógena y exógena a nivel del ovario. Los resultados obtenidos en cuanto a una reducción significativa en la duración del tratamiento, mayor número de ovocitos recuperados y mejoría en las tasas de fertilización por varios autores, desgraciadamente no ha sido posible reproducirlos en otras investigaciones, y el reto en el futuro será determinar su preciso mecanismo de acción a nivel ovárico así como su dosificación ideal, con la esperanza de lograr beneficios en seleccionados grupos de pacientes.

SOPORTE O SUPLEMENTACIÓN DE LA FASE LÚTEA EN LAS TRA

Posterior a la ovulación, la fase lútea en un ciclo natural se caracteriza por la formación del cuerpo lúteo que secreta hormonas esteroides, incluyendo la progesterona. A medida de que son luteinizadas por el pico de LH, las células de la granulosa y de la teca modifican su función y es cuando el cuerpo lúteo comienza a funcionar. Al terminar su actividad mitótica, las células de la granulosa luteinizadas inician la producción de progesterona que es secretada por aproximadamente 10 días; estas células no responden

posteriormente al estímulo de la HCG del embarazo. Por su parte, las células luteinizadas de la teca continúan respondiendo a los pulsos de LH, secretando estradiol y progesterona⁽⁹⁴⁾. Luego de la fertilización e implantación, el blastocisto en desarrollo secreta HCG cuya función es mantener la actividad del cuerpo lúteo y sus secreciones. Serán las células luteinizadas de la teca las que respondan a la estimulación de la HCG y las que fundamentalmente constituyen el cuerpo lúteo del embarazo y aseguran una secreción adecuada de progesterona para permitir la implantación embrionaria y su mantenimiento, hasta que se instaure completamente el proceso de esteroidogénesis placentaria, hecho que se estima ocurre tempranamente entre la 8ª y 10ª semanas de gestación.

Una normal función del cuerpo lúteo es esencial para el mantenimiento del embarazo temprano, tal como ha sido demostrado en varios estudios⁽⁹⁵⁾ al remover el cuerpo lúteo en embarazos tempranos ocasionando su completo aborto.

Es conocido que la disminución en la cantidad y duración de la secreción de progesterona por el cuerpo lúteo o la falta de una respuesta adecuada del endometrio, resultan por una fase lútea deficiente. Después de la introducción del uso de los agonistas de GnRH se ha demostrado claramente que la fase lútea es defectuosa cuando se utiliza este fármaco en los protocolos de HOC y que ésta debe ser suplementada.⁽⁹⁶⁾

Hay dos formas de realizar la suplementación lútea: a) terapia de reemplazo con progesterona exógena y, b) administración de HCG. La mayor utilidad o superioridad de cada una de estas drogas ha sido objeto de múltiples análisis desde el inicio de las TRA. Hay en la literatura varios estudios que comparan la HCG con la progesterona, y así como hay estudios que prefieren la HCG sobre la progesterona, otros demuestran lo contrario. En lo que si hay consenso, es que la utilización de la HCG está asociado con un incrementado riesgo de desarrollar el síndrome de hiperestimulación ovárica, por lo que la tendencia actual es abandonar este tipo de suplementación. Por otro lado, aparte de las vías típicas de administración de progesterona (i.m. que ocasiona intenso dolor local a nivel del sitio de la inyección por su carácter de solución oleosa, además de reacciones alérgicas, y la oral), se han investigado otras formas de administración como: nasal, subdérmica, sublingual, rectal y vaginal. Otro gran adelanto es la formulación micronizada de la progesterona que ha mejorado mucho su farmacodinámica y farmacocinética. Es así como en la actualidad, la administración vía vaginal de progesterona micronizada se ha convertido en la vía preferida por la mayoría de clínicas especializadas en TRA, ya que tiene la ventaja de evitar el primer mecanismo metabólico de paso hepático que ocasiona la degradación de la progesterona en sus metabolitos reducidos 5 alfa y 5 beta y por ejercer una acción más directa a nivel endometrial, en comparación con las vías intramuscular y oral, a pesar de alcanzar menores concentraciones séricas.⁽⁹⁷⁾ Existe consenso en que la administración oral de progesterona es menos efectiva que las vías i.m. o vaginal.

Aunque existe cierta controversia sobre el uso de la suplementación lútea en pacientes que se someten a TRA sin el uso de agonistas de la GnRH, su utilización está demostrada que es de gran utilidad cuando se utilizan protocolos de estimulación ovárica con agonistas de GnRH. Con el uso de antagonistas también hay ciertas dudas, pero los estudios clínicos hasta la fecha recomiendan la suplementación con progesterona al utilizar estos protocolos.⁽⁹⁸⁾

La administración de la progesterona para la suplementación lútea en pacientes sometidas a la FIV o a la ICSI, puede comenzar el día de la aspiración de los óvulos, el día posterior a la misma o el día de la transferencia embrionaria. Sin embargo, varios estudios recomiendan comenzar la suplementación el día de la aspiración o el día siguiente, ya que esto disminuye de forma importante la contractibilidad uterina el momento de la transferencia embrionaria.

COMPLICACIONES DE LA HIPERESTIMULACIÓN OVÁRICA

Existe una gran cantidad de datos relativos a diferentes aspectos de las TRA, pero pocos informan sobre las situaciones negativas así como de las complicaciones de la reproducción médicamente asistida. Los riesgos de la HOC incluyen los riesgos generales descritos para la FIV. Se trata de un tratamiento clínico intenso que expone a la paciente a un sustancial estrés emocional, ya que deben someterse a múltiples inyecciones tanto para la administración de las drogas estimuladoras de la ovulación, como para obtener muestras de sangre para repetidas determinaciones hormonales; además deben realizarse frecuentes ultrasonidos transvaginales para el control de la respuesta ovárica. Esto conlleva cierto grado de alteración en sus hábitos normales a nivel social, familiar y laboral, al tener que asistir varias veces a la clínica durante el período de tratamiento. A pesar de todo el sacrificio personal y económico que soportan, la gran mayoría de parejas ven sus expectativas frustradas en cada ciclo de tratamiento, dado que actualmente el éxito no supera el 30% de embarazo por ciclo, en promedio.

Las principales complicaciones médicas se refieren a:

1. Formación de quistes ováricos. Usualmente aparecen en la fase inicial del tratamiento con a-GnRH⁽⁹⁹⁻¹⁰⁰⁾ y cuya incidencia oscila entre 14% y 29%, siendo más frecuentes con los protocolos cortos que con el largo. Esto es sugestivo de que estos quistes se forman a consecuencia del fenómeno “flare-up”, pero no aumentan de tamaño durante el resto del tratamiento, ni al parecer influyen en los resultados de la FIV.

2. Síndrome de Hiperestimulación Ovárica (SHO). En vista de su importancia y en ocasiones graves implicaciones, es considerado en un capítulo aparte.

3.- Embarazos Múltiples.- Se ha confirmado un creciente riesgo de complicaciones obstétricas y neonatales en los embarazos resultantes de las TRA, no sólo en los embarazos múltiples sino también en los únicos⁽¹⁰¹⁾. Estos estudios han demostrado altas tasas de prematuridad (13% en comparación con el 6% de la población general), bajo peso al nacer (15% versus 10%) y mortalidad en estos bebés. Ciertas características de las pacientes infértiles pueden influir en el resultado obstétrico; normalmente se trata de mujeres con una edad media superior a la de aquellas con embarazos espontáneos y, además, elevada incidencia de primiparidad.

Los embarazos triples o de mayor orden gestacional son raros que se produzcan de manera espontánea. Las estimaciones tradicionales de la incidencia natural de embarazos triples y cuádruples son 1:7.925 y 1:600.000 partos respectivamente⁽¹⁰²⁾, sin embargo, el efecto de los esquemas de la HOC y los avances en las TRA han producido un marcado incremento de embarazos multifetales. Los riesgos y complicaciones

maternas están bien documentados e incluyen: anemia, hiperemesis gravídica, preeclampsia, diabetes gestacional, venas varicosas, edema de miembros inferiores, tromboflebitis, aborto, polihidramnios, hemorragia anteparto, dolor y parto pretérmino, retardo en crecimiento intrauterino, ruptura prematura de membranas, accidentes del cordón, presentaciones y posiciones fetales anómalas, hemorragia post-parto, operación cesárea, anormalidades fetales, óbitos fetales, etc, que incrementan la mortalidad fetal, morbilidad materna, morbilidad y mortalidad perinatales, en comparación con los embarazos únicos⁽¹⁰³⁾.

Los bebés de bajo peso al nacer (BPN < 2500g) tienen casi 40 veces más probabilidades de morir en el período neonatal, en comparación con los bebés de peso normal⁽¹⁰⁷⁾. Debido a esta situación y a las complicaciones descritas, algunas clínicas y sociedades consideran la opción de la reducción fetal intrauterina, con todas las implicaciones de orden moral, ético, religioso, legal y psicológico que ella implica. La prematuridad es particularmente importante en embarazos con 3 o más fetos, y su manejo incluye prolongado estadía en unidades de terapia intensiva neonatal que ocasiona elevadísimos costos al estado, aseguradoras o a la propia pareja. Los niños sobrevivientes, además, habitualmente requieren cuidados posteriores y de rehabilitación en la sociedad y muchas familias padecen de alteraciones de tipo emocional, social, económico y de estrés físico que esta situación les impone.

La prevención del embarazo múltiple se constituye, entonces, en un objetivo fundamental en la práctica de la HOC y las TRA y se basan sobremanera en: aplicación de protocolos de estimulación poco agresivos que conduzcan a ovulaciones oligo o monofoliculares; cancelaciones de ciclos con riesgo de SHO; suspender la embriotransferencia múltiple y criopreservar los embriones para futuras transferencias, etc.

4.- Embarazo Ectópico.- La utilización de fármacos estimulantes de la ovulación al igual que la microcirugía tubárica reconstructiva han resultado, de modo independiente, estar asociados a una incidencia mayor de embarazos ectópicos en las pacientes infértiles, en comparación a la población general. Su incidencia con las TRA varía entre 4% a 11% siendo significativamente mayor que el 0.8% de la concepción natural⁽¹⁰⁴⁾. Por supuesto que la presencia de patología tubárica no detectada en la aplicación de ciertas TRA como la GIFT (Transferencia intratubárica de gametos) o la ZIFT (Transferencia intratubárica de cigotos), constituye el factor de mayor riesgo para su aparición.

La visualización ecográfica de un saco gestacional intrauterino, usualmente es considerada como importante evidencia para sostener la exclusión de embarazo ectópico en una gestación espontánea. Esto es debido a que el riesgo de coexistencia con un embarazo ectópico es rara: entre 1:5.000 a 1:15.000 de embarazos naturales, mientras que esta coexistencia es significativamente superior en las TRA, con tasas que varían entre 1:83 a 1:200⁽¹⁰⁵⁾.

5.- Pérdida Gestacional.- Cifras de aborto entre el 20% a 30% se manejan en la literatura⁽¹⁰⁶⁾ como resultantes de los tratamientos con TRA. Su verdadera etiología permanece poco clara, pero se la ha relacionado con la relativa mayor edad de las mujeres sometidas a estos tipos de tratamientos para lograr un embarazo. La edad avanzada se asocia con una incidencia mayor de anomalías cromosómicas en el ovocito y por ende, del embrión resultante. La existencia de una significativa pérdida

gestacional temprana, común ordinariamente en los embarazos múltiples, se refleja en las tasas de aborto luego de las TRA. Por otro lado, mientras la exacta tasa de aborto en la población general permanece desconocida, las altas tasas encontradas en las concepciones médicamente asistidas se explican, en buena medida, por el minucioso seguimiento a que son sometidas estas pacientes.

6.- Posible Asociación con Cáncer.- Varias publicaciones en la última década, relacionadas a que ciertas drogas utilizadas en los tratamientos de infertilidad y en la HOC serían capaces de causar cáncer en las mujeres que las han recibido^(5,6,7,8,9), han conducido a los investigadores a discutir tres hipótesis relacionadas a la etiología del cáncer de ovario en dichas circunstancias: a) el efecto de la ovulación múltiple provoca alteraciones en el epitelio ovárico que, en última instancia, conduce a una transformación maligna; b) la estimulación ovárica persistente con gonadotropinas, puede actuar por sí sola ó en combinación con los estrógenos y, c) las gonadotropinas y esteroides sexuales inducen el metabolismo de carcinógenos químicos o xenobióticos en el ovario; reacciones intermedias de estos componentes pueden causar destrucción de las células foliculares e inducir su transformación maligna.

Desde su publicación en 1989 por parte de Fishel y Jackson, han aparecido varios reportes adicionales, incluyendo el de 12 casos por parte de Willemsen y cols.⁽¹⁰⁷⁾ en 1993, que discuten a su vez tres posibilidades: a) presencia en el ovario de un tumor de células de la granulosa, cuyas manifestaciones clínicas son aceleradas por la estimulación hormonal; b) incrementada concentración de FSH que puede ser oncogénica a nivel de células de la granulosa y, c) aparición coincidental de un tumor de células de la granulosa durante la estimulación ovárica.

Muchos estudios se han llevado a cabo hasta la fecha sin que puedan establecer una relación causal entre cáncer de ovario y una superovulación, lo cual no ha disipado el temor de esta probable asociación. Wittemore y cols.⁽¹⁰⁸⁾ puntualizaron en un estudio colaborativo, que la actitud correcta que debe asumir el médico y la comunidad científica, en los actuales momentos, es perseverar en las investigaciones para conocer más acerca de esta dudosa asociación, antes que desacreditar la presente evidencia en los campos de una fallida metodología investigativa. Por lo tanto, la idea que la estimulación ovárica puede ocasionar cáncer está lejos de desilusionarnos y no debemos concebirla como tal.

El cáncer es una enfermedad multifactorial compleja y sería ingenuo de nuestra parte creer o ver una simple relación entre la infertilidad y su tratamiento, por un lado, y la génesis de la malignidad, por el otro. Si en el futuro se prueba que los fármacos estimuladores de la ovulación juegan un papel en el desarrollo de malignidad en la mujer, seguramente será a través de un mecanismo de acción muy complejo, que involucre varias vías intermedias así como moduladores, incluyendo factores genéticos y ambientales.

7.- Riesgo de Menopausia Prematura.- Tal como se anota en el capítulo de Fisiología de la Reproducción Humana, la mujer posee una reserva ovárica folicular no renovable, que declina aceleradamente desde el nacimiento (1 a 2 millones de folículos primordiales) hasta la pubertad (< 250.000), a la edad de 35 años (< 25.000) y al llegar a la menopausia (< 1.000)⁽¹⁰⁹⁾. El ovario humano tiene la capacidad de mantener un número y frecuencia constantes de ovulación, a pesar de la reducción continua de su

reserva folicular debido a la atresia, fenómeno que afecta tanto a los folículos que crecen como a las que no lo hacen. La FSH puede jugar un papel importante en el proceso de rescate a los ovocitos de la muerte. No obstante, más del 99.9% de ellos degenerarán y morirán antes de finalizar su división mitótica.

Rotszjen y Asch⁽¹¹⁰⁾, en su trabajo sobre los efectos del envejecimiento en las TRA, reportaron una reducción estadísticamente significativa en el número y calidad de los ovocitos recuperados en pacientes mayores de 36 años. Este y otros estudios más, permiten suponer que si se considera que el número folículos ovulatorios que se reclutan en un solo ciclo de HOC puede equivaler al producto de dos años de ciclos ovulatorios espontáneos; es obvio, entonces, que estas tecnologías pueden tener un impacto importante sobre la reserva ovárica. Podría ocurrir, por tanto, un efecto potencialmente nocivo sobre la reserva folicular con la utilización repetitiva de esquemas de estimulación ovárica y su consiguiente recuperación folicular múltiple.

CONCLUSIONES

Considerando la definición de SALUD emitida por la Organización Mundial de la Salud (OMS), como un “estado de completo bienestar físico, mental y social”, podríamos afirmar que la infertilidad no es una enfermedad, en oposición a criterios contrarios. De hecho, en muchos casos de infertilidad no es posible evidenciar ningún tipo de enfermedad o patología, pero la angustia y desesperación que aquejan a las parejas imposibilitadas para concebir es una situación real, a tal punto que se le ha llegado a considerar como un problema de salud pública.

En nuestra sociedad, las parejas infértiles se enfrentan no sólo a situaciones de tensión emocional sino también, debido a la presión a que están sometidas, se traduce en un estado de sufrimiento personal y alteración de su entorno familiar. El hecho que su problema sea en muchas ocasiones socialmente inaceptable es un continuo recordatorio de su situación, que conduce a la aparición de sentimientos de culpa, celos y frustración. La falta de descendencia se asocia a problemas maritales, sexuales e, inclusive, mentales en estas parejas. Tales manifestaciones deben ser consideradas muy en serio en el manejo integral de la pareja infértil, tanto en su etapa inicial de estudio diagnóstico, cuánto en la aplicación de las diversas alternativas terapéuticas capaces de solucionar su incapacidad para lograr un embarazo.

Desde el nacimiento de Louise Brown en 1978 en Inglaterra, consecuencia de la fusión extracorpórea de gametos, se ha conseguido un mayor entendimiento de la biología de la reproducción humana y los tratamientos han alcanzado éxitos importantes, basados en hechos científicos comprobados, y dejando a un lado cierto grado de empirismo e inclusive supercherías. El advenimiento de la FIV ha dado lugar a un vertiginoso desarrollo de tecnologías de reproducción médicamente asistida, permitiendo a las parejas y a los médicos especialistas decidir entre una amplia gama de opciones terapéuticas. De este modo, es importante establecer el procedimiento más adecuado, inocuo y de mejor pronóstico, para aconsejar a las parejas infértiles a que se integren en los programas diseñados por las clínicas, haciendo más fácil para ellas entender su problemática, controlar sus emociones y sentirse satisfechas con sus decisiones.

Está bien establecido que, en la actualidad, el potencial de la concepción a través de las TRA ha mejorado considerablemente; sin embargo, la amplia variedad de complejos procedimientos y técnicas traen consigo la aparición de una creciente proporción de problemas, complicaciones y/o riesgos para la paciente y el producto de la concepción. Los adelantos científicos se han dado en todas las fases ó aspectos de la TRA: estimulación ovárica con su riguroso seguimiento hormonal y ecográfico, recuperación ovocitaria, medios de cultivo y condiciones ambientales de laboratorio, técnicas de transferencias embrionaria bajo guía del ultrasonido, suplementación de la fase lútea, criopreservación de gametos y embriones, programas de ovodonación, técnicas de microinyección del espermatozoide, diagnóstico genético pre-implantacional, etc, haciendo posible poner a disposición de las parejas infértiles estos avances espectaculares que ha logrado la medicina reproductiva.

Una de estas fases de las TRA es la HOC, que permite obtener el desarrollo de un mayor número de folículos aptos para la aspiración, una cantidad superior de ovocitos maduros y, por ende, más embriones viables para la transferencia. Muchas drogas o fármacos se han experimentado y posteriormente utilizado para conseguir este objetivo, empezando por el ampliamente difundido uso del citrato de clomifeno, hasta las modernas presentaciones de la FSH y la LH recombinantes, pasando por la administración de las gonadotropinas urinarias obtenidas de la mujer menopaúsica en sus diversas modalidades farmacológicas que han tratado, cada día, de lograr productos con un mayor grado de pureza. Todas ellas poseen ciertas ventajas y desventajas comparándolas entre sí, no están exentas de efectos adversos o reacciones de tipo alérgico o doloroso en el sitio de la inyección y, en mayor o menor proporción, también son responsables de la presencia de riesgos y complicaciones.

Las gonadotropinas humanas se han convertido en las últimas dos décadas en parte integral del tratamiento de la infertilidad de tipo funcional y sus indicaciones han ido gradualmente ampliándose a otros tipos de alteraciones de la fertilidad, para finalmente utilizarlas para producir superovulación mediante la HOC en mujeres con ovulación espontánea, en combinación con las técnicas de reproducción médicamente asistida. La demanda ha sido de tal cuantía que ha comenzado a escasear su disponibilidad, y ha obligado a la industria farmacéutica a intensificar las investigaciones tendientes a conseguir nuevos productos o formulaciones, por técnicas de ingeniería genética, similares a la FSH y LH naturales y que tratan de cubrir las necesidades de la creciente demanda mundial.

El advenimiento de estos potentes y eficaces agentes para la superovulación y su capacidad para prevenir el pico prematuro de LH, ha constituido una de las principales razones para los actuales incrementos de las tasas de éxito en los tratamientos de reproducción asistida. Se requiere disponer de más agentes y métodos sutiles para un control más afinado de la estimulación ovárica, con objeto de disminuir la incidencia de complicaciones, tales como el SHO y los posibles efectos deletéreos de los medicamentos sobre la calidad ovocitaria y el subsecuente bienestar de estas pacientes. La disponibilidad de productos recombinantes tanto de FSH como LH, permite una mayor precisión en el control de los requerimientos de la dosis adecuada, así como vías e intervalos de administración que reduzcan la tensión emocional y, probablemente, los costos de estos procedimientos.

El desarrollo de potentes agonistas y antagonistas de GnRH ha sido lento y problemático, hoy en día estos análogos forman parte integral de la HOC en las TRA, ya que su principal beneficio es la supresión del pico prematuro de LH, disminuyendo la tasa de cancelaciones de ciclos y la prevención del SHO, especialmente en ciertos grupos seleccionados de pacientes infértiles. Su introducción ha supuesto cambios fundamentales en los anteriores protocolos de estimulación ovárica y, por tanto, es indispensable la adquisición de la necesaria experiencia para su manejo.

La obtención de un mayor número de embriones con los actuales regímenes de HOC debe, necesariamente, asociarse al desarrollo y avances científicos en otras áreas de la reproducción humana asistida, tales como los sistemas de criopreservación de embriones y óvulos excedentes, la posibilidad de cultivo exitoso in vitro de ovocitos inmaduros e incluso su criopreservación, el optimizar las condiciones ideales para la implantación embrionaria y su sobrevida, así como maximizar los resultados de la infertilidad masculina, entre otros.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Steptoe PC, Edwards RG. Birth after the implantation of a human embryo. *Lancet* 1978; 2:8079-8092.
2. Hodgen GD. The dominant ovarian follicle. *Fertil Steril* 1982; 28:281-300.
3. Baird DT. A model for follicle selection and ovulation: lessons from superovulation. *J Steroid Biochem* 1987;27:15-23.
4. Requena A, Martínez-Salazar J, Vidal C, Simón C, Pellicer A, Remohi J. La estimulación ovárica en reproducción asistida. En: *Manual Práctico de Esterilidad y Reproducción Humana*. Ed: Requena A, Martínez-Salazar J, Vidal C, Simón C, Pellicer A, Remohi J. MacGraw-Hill-Interamericana. Madrid 2001;65-79.
5. Healy DL, Trounson AO, Andersen AN. Female Infertility: pathogenesis and management. *Lancet* 1994;343:1539-1544.
6. Brinton LA, Melton J, Malkasian GD, et al. Cancer risk after evaluation for infertility. *Am J Epidemiol* 1989;129:712-22.
7. Venn A, Watson L, Lumley J, et al. Breast and ovarian cancer incidence after infertility and in vitro fertilization. *Lancet* 1995;346:995-1000.
8. Rossing MA, Daling JR, Weiss NS, et al. In situ and invasive cervical carcinoma in a cohort of infertile women. *Fertil Steril* 1996;65:19-22.
9. Shushan A, Paltiel O, Oiscovich J, et al. Human menopausal gonadotrophin and the risk of epithelial ovarian cancer. *Fertil Steril* 1996;65:13-18.
10. Golan A, Ron-El R, Herman A, et al. Ovarian hyperstimulation syndrome: an update review. *Obstet Gynecol Surr* 1989;44:430-440.
11. Navot D, Bergh PA, Laufer N. Ovarian hyperstimulation syndrome in novel reproductive technologies prevention and treatment. *Fertil Steril* 1992;58:249-61.
12. Adashi EY. Ovulation Induction: Clomiphene Citrate. In: *Reproductive Endocrinology, Surgery and Technology*. Ed: Adashi E, Roch J, Rosenwaks Z. Lippincott Raven Publishers. Philadelphia 1996;1182-1206.
13. Palopoli FP, Feil VJ, Allen RE, et al. Substituted aminoalboxytriarylhaethilenes. *J Med Chem* 1967;10:84.
14. Greenblatt RB, Barfield WE, Jungck EC, Ray AW. Induction of Ovulation with MRL/41. *JAMA* 1961;178:101.
15. Kistner R. Further observations on the effects of clomiphene citrate in anovulatory females. *Am J Obstet Gynecol* 1965;92:380-420.
16. Lamb EJ, Guderian AM. Clinical effects of clomiphene in anovulation. *Obstet Gynecol* 1966;28:505-512.
17. Lunenfeld B, Insler V: Induction of ovulation: historical aspects. *Baillieris Clin Obstet Gynecol* 1990;4:473-489.
18. Adashi EY: Clomiphene citrate: mechanism and site of actino. A hypothesis revisited. *Fertil Steril* 1984;42:331-44.

19. Lopata A. Concepts in human in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril* 1983;40:289-301.
20. Lunenfeld B, Lunenfeld E, Insler V: Gonadotropinas Humanas. En: Reproducción humana. Ed: Remohi J, Simón C, Pellicer A, Bonilla-Musoles F. MacGraw-Hill Interamericana Madrid 1996; 249-277.
21. Zondek B. Veber Die Funktion des Ovariums. *Zeitschrift fuer Geburtshilfe und Gynaekologie* 1926; 90:327.
22. Smith PE. Hastening of development of female genital system by daily hemoplastic pituitary transplants. *Proceeding of the Society of Experimental Biology and Medicine* 1926; 24:131.
23. Zondek B, Ascheim S. Das Hormon des Hypophysenvordelappens: Testobject zum Nachweiss des Hormons. *Klinische Wochenschrift* 1927; 6:248.
24. Smith PE, Engle ET. Experimental evidence of the role of anterior pituitary in development and regulation of gonads. *Am J Anat* 1927; 40:159.
25. Chen SH, Wallach EE. Five decades of progress in management of the infertile couple. *Fertil Steril* 1994; 62:665-685.
26. Gemzell CA, Diezfalusy E, Tillinger G. Clinical effect of human pituitary follicle stimulating hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 1958; 18:138-148.
27. Lunenfeld B, Menzi A, Volet B. Clinical effects of human post menopausal gonadotropins. *Acta Endocrinol Supl* 1960; 51:587.
28. Jones HW, Jones GS, Andrews FP, et al. The program of in vitro fertilization in Norfolk. *Fertil Steril* 1982; 38:14-21.
29. Mannaerts B, de Leeuw R, Geelen J, et al. Comparative in vitro and in vivo studies on the biological characteristics of recombinant human follicle-stimulating hormone. *Endocrinology* 1991; 129:2623-2630.
30. Devroey P, Van Steirtegehm A, Mannaersts B, Bennink HC. First singleton term birth after ovarian superovulation with rhFSH. *Lancet* 1992; 340:1108-1109.
31. Meniru GI, Craft IL. Ovarian stimulation for the assisted reproduction technologies. In: *Handbook of Intrauterine Insemination*. Ed: Meniru GI, Brinsden PR, Craft IL. Cambridge University Press 1997; 56-76.
32. Walker G: Profasi. In: *ABPI Data Sheet Compendium*. William Clowes Ltd, London 1993; 1521.
33. Howles C. GnRH analogues, past, present and future uses in superovulation regimens. In: *Clinical IVF Forum*. Ed. Matson PL, Lieberman BA. Manchester University Press 1990; 41-62.
34. Knobil E. Neuroendocrine control of the menstrual cycle. *Recent Progress in Hormone Research* 1980; 36:53-88.
35. Belchetz PE, Plant TM, Nabai Y, et al. E. Hypophysial responses to continuous and intermittent delivery of hypothalamic gonadotroph-releasing hormone. *Science* 1978; 202:631-633.
36. Fleming R, Jamieson ME, Coutts JR. The use of GnRH-analogs in assisted reproduction. In: *Clinical IVF Forum*. Ed: Matson PL, Lieberman BA. Manchester University Press 1990;1-19.
37. Tan SL. Luteinizing hormone-releasing hormone agonist for ovarian stimulation in assisted reproduction. *Current Opinion in Obstet Gynec* 1994; 6:166-172.
38. Cummins JM, Yovick JM, Edinsinghe WR, et al. Pituitary down-regulation using leuprolide for the intensive ovulation management of poor prognosis patients having in vitro fertilization related treatments. *Journal of In Vitro Fertilization and Embryo Transfer* 1989; 6:345-352.
39. Navarro J, Díaz I, Landazábal A, Pellicer A, Crespo C, Remohi J. Mujer con baja respuesta a los protocolos de inducción de la ovulación. En: *Manual Práctico de Esterilidad y Reproducción Humana*. Ed: Remohi J, Romero JI, Pellicer A, Simón C, Navarro J. MacGraw-Hill-Interamericana, Madrid 2000; 39-50.
40. Weissman A, Shoham Z. GnRH and its agonistic analogues: basic knowledge. In: *Female Infertility Therapy*. Ed: Shoham Z, Howles CM, Jacobs HS. Martin Dunitz. London 1999; 157-166.
41. Rabinovici J, Rothman P, Monroe SE, et al. Endocrine effects and pharmacokinetic characteristics of a potent new gonadotrophing-releasing hormone antagonist (ganirelix) with minimal histamine-releasing properties: studies in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;75:1220-1225.
42. Oberyé JL, Mannaerts BM, Huisman JA, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics of ganirelix (Orgalutran): Part II. Dose-proportionality and gonadotropin suppression after multiple dose of ganirelix in healthy female volunteers. *Fertil Steril* 1996;72:1006-1012.

43. Gordon H, Danforth DR, Williams RF, et al. A novel regimen of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) antagonist plus pulsatile GnRH: controlled restoration of gonadotrophin secretion and ovulation induction. *Fertil Steril* 1990;54:1140-1145.
44. Messinis IE, Templeton AA, Baird DT. Comparison between clomiphene plus pulsatile human menopausal gonadotrophin and clomiphene plus pulsatile follicle stimulating hormone in induction of multiple follicular development in women. *Hum Reprod* 1986;1:223-226.
45. Lopata A. Concepts in human in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril* 1983;40:289-301.
46. Taymor ML, Seibel MM, Oskowitz SP, et al. In vitro fertilization and embryo transfer: an individualized approach to ovulation induction. *Journal of In Vitro Fertilization and Embryo Transfer*. 1985;2:162.
47. Medical Research International Society For Assisted Reproductive Technology. The American Fertility Society. In vitro fertilization and embryo transfer (IVF-TE) in the United States: 1990 results from IVF-ET registry. *Fertil Steril* 1992; 57:15-24.
48. Quigley MM, Collins RL, Blankstein J. Pure follicle stimulating hormone does not enhance follicular recruitment in clomiphene citrate/gonadotrophin combinations. *Fertil Steril* 1998;50:562-566.
49. Laufer N, De Cherney AH, Haseltine FP, et al. The use of high dose human menopausal gonadotrophin in an in vitro fertilization programme. *Fertil Steril* 1983;40:732-741.
50. Homburg R, Levy T, Ben.Rafael Z. A comparative prospective study of conventional regimen with chronic low-dose administration of follicle stimulating hormone for anovulation associated with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 1995;63:729-733.
51. Jones HW, Acosta AA, Andrews MC, García JE, et al. The importance of the follicular phase to success and failures in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1983;40:317-321.
52. Bernardus RE, Jones GS, Acosta AA, García JE, et al. The significance of the ratio in follicle stimulating hormone and luteinizing hormone in induction of multiple follicular growth. *Fertil Steril* 1985;43:373-378.
53. Philipps WR, Holden D, Sheehan RD. Use of recombinant human FSH for IVF/ET after severe systemic immunization E-mediated reaction to urofollitropin. *Fertil Steril* 1996;66:148-150.
54. Devroey P, Mannaerts B, Smits J, et al. Clinical outcome of a pilot efficacy study on recombinant human follicle-stimulating hormone (Org 32489) combined with various gonadotrophins releasing hormone agonist regimen. *Hum Reprod* 1994;9:1064-1069.
55. Reddy R, Al-Oum M, Ledger W, et al. An alternative day step-down regimen using Gonal -F (r-hFSH) in IVF: a UK multicentre study. *Human Reprod* 1996;11:130-131.
56. Out HJ, Mannaerts B, Driessen SGAJ, et al. A prospective, randomised, assessor-blind, multicenter study comparing recombinant and urinary follicle-stimulating hormone (Puregon versus Metrodin) in in vitro fertilization. *Human Reprod* 1995;10:2534-2540.
57. Templeton AA. The UK Registry of IVF treatment cycles. What can we learn from the indications, techniques and results? Presented at the Symposium on current opinions in the treatment of the infertile couple. XV FIGO World Congress, Copenhagen, 1997.
58. Khalaf Y, Anderson H, Taylor A, et al. Comparative Clinical Evaluation of Recombinant and Urinary Human Follicle Stimulating Hormone in Assisted Reproduction. *Reproductive Technologies*. 1999;10:2-8.
59. Out HJ, Lindenberg S, Mikkelsen AL, et al. A prospective, randomised, double-blind clinical trial to study the efficacy and efficiency of a fixed dose of recombinant follicle stimulating hormone (Puregon) in women undergoing ovarian stimulation. *Hum Reprod* 1999;14:622-627.
60. Howles CM, Wikland M. The use of recombinant human FSH in in vitro fertilization. In: *Female Infertility Therapy Current Practice*. Ed. Shoham Z, Howles CM, Jacobs HS. Martin Dunitz, London, 1999;10:103-114.
61. de Leeuw R, Mulders J, Voortman G, et al. Structure-function relationship of recombinant follicle stimulating hormone (Puregon). *Mol Hum Reprod* 1996;2:361-369.
62. Mannaerts B, de Leeuw R, Geelen J, et al. Comparative in vitro and in vivo studies on the biological characteristics of recombinant human follicle stimulating hormone. *Endocrinology* 1991;129:2623-2630.
63. Asch RH, Greenblatt RB. Update on the safety and efficacy of clomiphene citrate as a therapeutic agent. *J Reprod Med* 1976;17:175.
64. Whitelaw ML, Kalman CG, Grams LR. The significance of the high ovulation rate versus the low pregnancy rate with Clomid. *Am J Obstet Gynecol* 1970;107:865.
65. Fauser BCJM, van Heusden AM. Manipulation of human ovarian function: Physiological concepts and clinical consequences. *Endocrine Rev* 1997;18:71-106.

66. Fauser BCJM, Donderwinkel P, Schoot DC. The step-down principle in gonadotrophin treatment and the role of GnRH analogues. *Baillières Clin Obstet Gynecol* 1993;7:309-330.
67. Strowitzki T, Seehaus D, Korell M, et al. Low dose follicle stimulating hormone for ovulation induction in polycystic ovary syndrome. *J Reprod Med* 1994;39:499-503.
68. Schipper I, Hop WCJ, Fauser BCJM. The Follicle-Stimulating Hormone (FSH) threshold/window concept examined by differential interventions with exogenous FSH during the follicular phase on the normal menstrual cycle: duration rather than the magnitude of FSH increase affects follicle development. *J Clin Endocrin Metab* 1998;6:221-225.
69. Porter RN, Smith W, Craft I, et al. Induction of ovulation for in vitro fertilization using buserelin and gonadotrophin. *Lancet* ii 1984;1284-1285.
70. Felberbaum RE, Ludwig M, Lunenfeld B, et al. GnRH antagonists in assisted reproduction. In: *GnRH Analogues. The State of the Art 2001*. Ed. Lunenfeld B. The Parthenon Publishing Group INC 2002;4:71-86.
71. Tan SL, Balen A, Hussein EE, et al. A prospective randomised study of the optimum timing of human chorionic gonadotrophin administration after pituitary desensitization in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1992;57:1259-1264.
72. Ron-El R, Golan A, Raziell A, et al. Assisted reproductive technologies. In: *Infertility: Male and Female*. E. Insler V, Lunenfeld B, second edition. Churchill Livingstone, London. 1993:525:562.
73. Tan SL, Maconochie N, Doye E, et al. Cumulative Conception and Livebirth Rates after in Vitro Fertilisation With, and Without, the Use of the Long, Short and Ultrashort Regimen of the Luteinizing Hormone-Releasing-Hormone Agonist, Buserelin. *Am J Obstet Gynecol* 1993;6:84-89.
74. Daya S. The role of meta-analysis in determining which gonadotrophin to use for ovarian stimulation. In: *Female Infertility Therapy. Current Practice*. Ed. Shoham Z, Howles CM, Jacobs HS. Martin Dunitz, London. 1999:177-188.
75. Howles C. GnRH analogues, past, present and future uses in superovulation regimens. In: *Clinical IVF Forum*. Ed. Matson PL, Lieberman BA. Manchester University Press. Manchester 1990:41-62.
76. Zorn JR, Boyer P, Guiehard A. Never on Sunday: programming for IVF-ET and GIFT. *Lancet* 1987;1:385-386.
77. Tan SL. Luteinizing hormone-releasing hormone agonists for ovarian stimulation in assisted reproduction. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology* 1994;6:166-172.
78. Balen A, Tan SL, MacDougall MJ, et al. Miscarriage rates following in vitro fertilization are increased in women with polycystic ovaries and reduced by pituitary desensitisation with buserelin. *Hum Reprod* 1992;8:959-964.
79. Olivennes F, Fanchin R, Bouchard P, et al. The single or dual administration of the gonadotrophin-releasing hormone antagonists Cetrorelix in an in vitro fertilization-embryo transfer programme. *Fertil Steril* 1994;62:468-476.
80. Hernández ER. Embryo implantation: the rubicon for GnRH antagonists. *Hum Reprod* 2000;15:1211-1216.
81. Albano C, Felberbaum RE, Smitz J, et al. Controlled ovarian stimulation with HMG: results of a prospective randomised phase III European study comparing the GnRH antagonist cetrorelix (Cetrotide) and the GnRH agonist buserelin. *Hum Reprod* 2000;15:526-531.
82. Akman MA, Erden HF, Tosun SB, et al. Addition of GnRH antagonist in cycles of poor responders undergoing IVF. *Hum Reprod* 2000;15:2145-2147.
83. Dor J, Shulman A. GnRH antagonist improved IVF treatment results in poor responders patients. Abstracts of the 6th International Symposium on GnRH Analogues in Cancer and Human Reproduction. 2000;21.
84. Norman RJ, Payne D, Mathews CD. Pregnancy following intracytoplasmic injection (ICSI) of a single oocyte during a natural cycle. *Hum Reprod* 1995;10:1626-1627.
85. Felberbaum R, Montzka P, Kupher W, et al. High fertilization rate after ovarian stimulation with clomiphene citrate for ICSI. *Hum Reprod* 1997;12;Abstract book 1:150.
86. Felberbaum R, Diedrich K. Use of GnRH Antagonist in Ovulation Induction. In: *Treatment of Infertility: The New Frontiers*. Ed. Filicori M, Flamigni C. Communications Media for Education. New Jersey 1998;139:151.
87. *Registro Latinoamericano de Reproducción Asistida*. Ed. Zegers-Hochschild F, Galdames V, Balmaceda J, Santiago de Chile, 1999.
88. Adams J, Franks S, Polson DW, et al. Multifollicular ovaries: clinical and endocrine features and response to pulsatile gonadotrophin-releasing hormone. *Lancet* 1985;ii:1375-1378.

89. Balen AH, Conway GS, Kaltsas G, et al. Polycystic ovary syndrome: The spectrum of the disorder in 1741 patients. *Hum Reprod* 1995;8:2107-2111.
90. Burghen GA, Givens JR, Kitabchi AE. Correlation of hyperandrogenism with hyperinsulinism in polycystic ovarian disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1980;50:113-116.
91. Rajkhowa M, Bicknell J, Jones M, et al. Insulin sensitivity in women with polycystic ovarian syndrome: relationship to hyperandrogenaemia. *Fertil Steril* 1994;61:605-612.
92. Velazquez EM, Acosta A, Mendoza SG. Menstrual cyclicity after metformin therapy in PCOS. *Obstet Gynecol* 1997;90:392-395.
93. Dunaif A, Scott D, Finegood D, et al. The insulin-sensitizing agent troglitazone improves metabolic and reproductive abnormalities in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:3299-3306.
94. Borrero C, Montoya JM, Aparicio A. Fase lútea. Importancia y necesidad de sustituirla en reproducción asistida. En: *Reproducción Humana*. Ed. Remohi J, Simón C, Pellicer A, Bonilla-Musoles F. McGraw-Hill-Interamericana. Madrid 1996;26:290-305.
95. Csapo AI, Pulkkinen MO, Kaihala HL. The relationship between the timing of luteectomy and the incidence of complete abortion. *Am J Obstet Gynecol* 1974;118:985-989.
96. Smith EM, Anthony FW, Gadd SC, et al. Trial of support treatment with human chorionic gonadotrophin in the luteal phase after treatment with busarelin and human menopausal gonadotrophin in women taking part in an in vitro fertilisation programme. *Br Med J* 1989;298:1483-1486.
97. De Ziegler D. Hormonal control of endometrial receptivity. *Hum Reprod* 1995;10:4-7.
98. Smitz J, Devroey P, Camus M, et al. The luteal phase and early pregnancy after combined GnRH-agonist/HMG treatment for superovulation in IVF or GIFT. *Hum Reprod* 1988;3:585-590.
99. Remohi J, Pellicer A. Use of GnRH analogs in IVF. In: *Annual Progress in Reproductive Medicine*. Ed. Asch R, Studd JW. Parthenon Publishing Group, Canforth. 1993;107-125.
100. Sampaio M, Serra V, Miro F, et al. Development of ovarian cysts during gonadotrophin-releasing hormone agonist (GnRH) administration. *Hum Reprod* 1991;6:738-740.
101. French collaborative study. Obstetrical and pediatric outcome after assisted reproductive technologies. Dehan M. 7th World Congress on IVF and ET, Paris. 1991:30-June-3 July.
102. Petrikovsky BM, Vintzileos AM. Management and outcome of multiples pregnancy of high fetal order: literature review. *Obstet Gynecol Surv* 1989;44:578.
103. Shapiro S, Mc Cormick MC, Starfield BH, et al. Relevances of correlates of infant deaths for significant morbidity at one year of age. *Am J Obstet Gynecol* 1980;136:363-373.
104. Dubuisson JB, Aubriot FX, Mathieu L, et al. Risk factors for ectopic pregnancy in 556 pregnancies after in vitro fertilization: implications for preventive management. *Fertil Steril* 1991;56:686-690.
105. Schenker JG, Ezra Y. Complications of assisted reproductive technologies. *Fertil Steril* 1994;61:411-422.
106. Fishel S, Jackson P. Follicular stimulation for high tech pregnancies: are we playing in safe? *Brit Med J* 1989;299:309-311.
107. Willensen W, Kruitwagen R, Bastiaans B, et al. Ovarian Stimulation and Granulosa-cell tumour. *Lancet* 1993;341:986-988.
108. Whittemore AS. Fertility drugs and the risk of ovarian cancer. *Hum Reprod* 1993;8:999-1000.
109. Faddy MJ, Gosden RG, Gougen A, et al. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid life: implications for forecasting menopause. *Hum Reprod* 1992;7:1342-1346.
110. Rotsztjen D, Ash RH. Effect of aging on assisted reproduction technologies (ART): Experience from egg donation. *Sem Repr Endocrinol* 1991;9:2272-2279.