

## Reproducción asistida: a 30 años del primer nacimiento de fertilización *in vitro*

Alberto Kably Ambe,\* Sergio Estévez González\*

### RESUMEN

La hiperestimulación ovárica controlada se creó para obtener una mayor cantidad de ovocitos y un número adecuado de embriones de buena calidad para transferir. En un principio hubo estimulaciones exageradas en las que se capturaban más de 20 óvulos, ya que las técnicas de micromanipulación como la inyección intracitoplasmática y la eclosión asistida eran deficientes; por tanto, se ha buscado la estimulación óptima que incluye: el estudio clínico de la mujer y pruebas de laboratorio y gabinete. Es importante descartar enfermedades que interfieran en el desarrollo de la estimulación ovárica, como el hipogonadismo hipogonadotrófico, hiperprolactinemia, hipotiroidismo y trastornos de la alimentación como la obesidad y la anorexia. La tendencia es buscar medicamentos de depósito que permitan disminuir el número de aplicaciones a la paciente y hacer un protocolo más accesible, por lo que se encuentra en desarrollo una hormona denominada coriofolitropina. La tendencia será regresar a la no estimulación, en cuanto sea más eficaz la selección del embrión a transferir y se incremente la tasa de embarazo. La captura de ovocitos por vía transvaginal, con guía ultrasonográfica, ha demostrado ser altamente efectiva, rápida e inocua. Gracias a la técnica PICSi se han logrado mejores índices de fertilización en parejas con falla en la fertilización o bloqueo de embriones o para aquellas con un factor masculino severamente dañado. En la actualidad se busca reducir el número de embriones a transferir sin afectar la tasa de embarazo, sobre todo si la transferencia se realiza entre los días 3 y 5. Durante estos 30 años se ha demostrado la necesidad del soporte de la fase lútea. Actualmente se encuentran en estudio métodos de depósito para hacer más sencilla su aplicación.

**Palabras clave:** reproducción asistida, hiperestimulación ovárica controlada.

### ABSTRACT

Controlled ovarian hyper-stimulation was created to obtain a higher quantity of ovocytes and an adequate number of embryos of good quality to transfer. At the beginning there were exaggerated stimulations in which more than 20 ovules were captured, because micro-manipulation techniques such as intracytoplasmic injection and assisted hatching were deficient; thus, optimal stimulation has been searched including: the clinical study of women and lab tests. It is important to underline diseases interfering in the developing of ovarian stimulation, such as hypogonadotrophic hypogonadism, hyperprolactinemia, hypothyroidism and eating disorders, such as obesity and anorexia. The trend is to look for depot drugs leading to diminish the number of applications to the patient and to do a more accessible protocol, thus a hormone denominated corifolotropin is under development. The trend will be to return to no-stimulation, when the selection of embryo to transfer is more efficient and pregnancy rate increases. Ovocytes capture by vaginal way, with ultrasonographic guide, has been demonstrated to be highly effective, quick and safe. Due to the technique PICSi, better fertilization rates have been reached in couples with fertilization failure or embryo blocking or for those couples with a severely damaged male factor. Nowadays the purpose is to reduce the number of embryos to transfer without affecting pregnancy rate, especially if transfer is done between days 3 and 5. During these 30 years it has been demonstrated the need of luteal phase support. Currently depot methods to do simpler its application are under study.

**Key words:** assisted reproduction, controlled ovarian hyper-stimulation.

\* Centro Especializado para la Atención de la Mujer, Unidad de Reproducción Asistida, Hospital Ángeles de las Lomas.

Correspondencia: Dr. Alberto Kably A. Hospital Ángeles de las Lomas. Avenida Vialidad de la Barranca s/n, colonia Valle de las Palmas, Huixquilucan, Estado de México, 52763.  
Recibido: septiembre, 2008. Aceptado: diciembre, 2008.

Este artículo debe citarse como: Kably AA, Estévez GS. Reproducción asistida: a 30 años del primer nacimiento de fertilización *in vitro*. Rev Mex Reprod 2009;1(3):89-95.  
La versión completa de este artículo también está disponible en: [www.revistasmedicasmexicanas.com.mx](http://www.revistasmedicasmexicanas.com.mx)

### HIPERESTIMULACIÓN OVÁRICA CONTROLADA

Hace tres décadas nació Luis Brown, producto de un ciclo natural sin estimulación, cuando sólo existía experiencia para la inducción de ovulación técnica destinada a pacientes con anovulación. Sin embargo, al poco tiempo se creó la hiperestimulación ovárica controlada para obtener una mayor cantidad de ovocitos y un número adecuado de embriones de buena calidad para

transferir. En un principio hubo estimulaciones exageradas en las que se capturaban más de 20 óvulos, ya que las técnicas de micromanipulación como la inyección intracitoplasmática y la eclosión asistida se encontraban en etapas tempranas de desarrollo, eran poco efectivas y causaba daño a los óvulos, lo que provocaba bajas tasas de fertilización. Esto llevaba, a su vez, a la cancelación de un número importante de transferencias por falta de embriones para este fin.

Desde hace varios años se demostró que la estimulación exagerada generaba concentraciones de estradiol muy elevadas e interferían en la implantación del embrión, por lo que se busca realizar una estimulación óptima. En general, se reporta que es suficiente la captura de 10 a 14 ovocitos; de éstos, generalmente se encuentran maduros 80% (metafase II).<sup>1,2</sup>

El primer paso para tener una estimulación óptima es el estudio clínico de la mujer, principalmente el patrón menstrual y el antecedente de cirugías ováricas dentro de la historia clínica; deben realizarse pruebas de laboratorio y gabinete para evaluar cualitativamente la reserva ovárica, número de folículos antrales, tamaño y volumen de los ovarios, las hormonas denominadas basales (folículo estimulante, luteinizante y estradiol); las cuales se realizan los primeros días del ciclo menstrual (días 2 a 4). Todo lo anterior será suficiente para predecir una falla ovárica, una baja respuesta o una respuesta exagerada, como sucede con las pacientes que padecen síndrome de ovarios poliquísticos.<sup>3-5</sup>

Si bien existen hormonas ligeramente más específicas para una hiperrespuesta, como la hormona antimülleriana, es importante considerar que a diferencia del conteo de folículos antrales, su determinación tiene un costo elevado y es difícil de reproducir,<sup>6</sup> por lo que se le descarta como estudio de tamizaje.<sup>7</sup>

También es importante descartar otras enfermedades que interfieran en el desarrollo de la estimulación ovárica, como el hipogonadismo hipogonadotrófico, hiperprolactinemia, hipotiroidismo y trastornos de la alimentación como la obesidad y la anorexia.<sup>8</sup>

Para lograr este objetivo fue necesario un mayor reclutamiento y desarrollo de folículos antrales, por lo que se creó la extracción de gonadotropinas urinarias de mujeres menopáusicas, de ahí el nombre de menotropinas, se purifican en laboratorio, logrando al inicio la obten-

ción de más ovocitos maduros. Al poco tiempo surgió la duda de probables contaminantes y la relación de los mismos en la variación de la respuesta a la estimulación, aun en la misma paciente con los mismos medicamentos, creando las gonadotropinas altamente purificadas que inclusive separan la FSH de la LH, aunque en la mayoría de los casos se administraban a la paciente incluso con la misma jeringa y al mismo tiempo.<sup>9</sup>

Sin embargo, el incremento masivo de estos procedimientos generó una demanda que con el tiempo se volvería imposible cubrir, además de que se creyó que existía una variación entre los lotes de producción. Como respuesta, se crearon nuevas gonadotropinas con tecnología recombinante que han demostrado más grado de inocuidad, estar libres de reacciones alérgicas e incluso dar mejores resultados en pacientes con mala respuesta, como las mujeres mayores o quienes no respondieron adecuadamente con las menotropinas. No obstante, con el tiempo, en diversos metanálisis acerca de la administración de menotropinas, menotropinas altamente purificadas o gonadotropinas, e inclusive en la LH recombinante,<sup>10,11</sup> la tasa de embarazo no se ha modificado.

Durante todos estos años, la tendencia es buscar medicamentos de depósito que permitan disminuir el número de aplicaciones a la paciente y hacer un protocolo más accesible, por lo que se encuentra en desarrollo una hormona denominada coriofolitropina con una vida media hasta de siete días, que sustituya al menos cinco días de inyecciones de FSHr y demuestre la misma tasa de embarazo en relación con los protocolos con FSHr.<sup>12</sup>

Durante años de estudio se ha confirmado que la respuesta a la estimulación ovárica no es dosis-dependiente, sino que se relaciona con el tipo de paciente y, específicamente, con el tipo de receptores que tiene para las gonadotropinas. Éstos son estudios caros y muy específicos, que sólo serán importantes en las bajas o en las hiperrespondedoras, en el resto de las pacientes existe un consenso mundial a no superar la dosis diaria de 300 unidades, ya que no existe diferencia al respecto y sólo incrementa de manera notable el riesgo de padecer síndrome de hiperestimulación ovárica.<sup>13,14</sup>

La tendencia será regresar a la no estimulación, en cuanto sea más eficaz la selección del embrión a transferir y se incremente la tasa de embarazo. Este hecho se ha estudiado por diversos autores para las mujeres de más

edad con baja respuesta a la estimulación, y otros con la idea de capturar ovocitos y llevar a cabo la maduración *in vitro*, que ha mostrado muy buenos resultados.<sup>15</sup>

### Captura de ovocitos

Al inicio fue uno de los principales problemas de las técnicas de alta complejidad, ya que este paso necesitaba una cirugía mayor, incluso por medio de una laparotomía generaba el subsecuente riesgo anestésico y un tiempo largo de recuperación posquirúrgico. Con la invención de la laparoscopia, se acortó el tiempo de recuperación y el procedimiento fue menos doloroso, pero se agregaron nuevos riesgos generados por el proceso endoscópico como el enfisema o las lesiones vasculares en órganos adyacentes. La creación de la captura transvaginal con guía ultrasonográfica fue uno de los mayores avances en la reproducción asistida, hecho que también permitió saber que la probabilidad de capturar un ovocito metafase II es mayor cuando el diámetro del mismo es igual o mayor a 18 mm. Difícilmente se considera una nueva forma de capturar los ovocitos, puesto que en la actualidad la vía transvaginal, con guía ultrasonográfica, ha demostrado ser altamente efectiva, rápida e inocua, prácticamente sin complicaciones en manos experimentadas. Los últimos avances se encuentran en el material y la forma de las agujas transvaginales para este procedimiento, cada vez más refringentes al ultrasonido y más delgadas, lo que facilita capturar ovocitos para maduración *in vitro*, donde los folículos son más pequeños.<sup>16</sup>

La adición de nuevas tecnologías al ultrasonido, como el uso de Doppler a color para valorar la vascularidad perifolicular, únicamente ha demostrado una mayor probabilidad de capturar un ovocito en un folículo mejor irrigado, pero no influye en la calidad, grado de madurez o potencial reproductivo.<sup>17</sup> El Doppler de poder con medición de los flujos vasculares, como el índice de resistencia, aún se encuentra en experimentación y desafortunadamente con resultados poco alentadores.<sup>18</sup> Por lo anterior, la captura ovocitaria es uno de los procesos que ha experimentado más cambios durante estos años pero que difícilmente mostrará mayor evolución.

### Micromanipulación

La inyección intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI) fue el inicio de la micromanipulación de gameto

y durante todo este tiempo la evolución se encuentra destinada a nuevas técnicas para la selección adecuada del espermatozoide a inyectar; se ha demostrado que a pesar de tener una clasificación de criterio estricto (Kruger), dentro de parámetros normales, existen parejas con falla en la fertilización o bloqueo de embriones.<sup>19</sup> Para este tipo de parejas o para aquellas con un factor masculino severamente dañado, es necesario otro tipo de selección en relación con el grado de fragmentación del ADN.<sup>20</sup> Con este objetivo existe una propuesta para utilizar una nueva técnica denominada PICS, que consiste en nuevas cajas de Petri que contienen gotas de hialuron, en las que se selecciona el espermatozoide a inyectar de la siguiente manera: se vierte la muestra seminal capacitada en estos discos en donde los espermatozoides con menor fragmentación del ADN se adhieren al hialuron y son los que se seleccionan para realizar la inyección intracitoplásmica de un espermatozoide. Gracias a esta tecnología se han logrado mejores índices de fertilización en este tipo de pacientes.

La eclosión asistida (denominada *assisted hatching* en inglés) fue el siguiente paso importante en la micromanipulación. Al inicio se realizaba de manera mecánica, con el tiempo se sustituyó con la química; sin embargo, el procedimiento requiere un gran adiestramiento para poder llevarlo a cabo. En esta técnica suele emplearse tecnología nueva como el láser, el cual sólo necesita programarse con una computadora, por lo que es más fácil y nítido el corte. Gracias a esto ya no es necesaria la curva de aprendizaje que normalmente existía en un embriólogo. Seguramente en un futuro cercano demostrará su utilidad incrementando la tasa de embarazo.

Otra avance de gran importancia fue el desarrollo del diagnóstico de preimplantación. Se pensó que sería la solución al problema de las parejas no sólo con padecimientos genéticos hereditarios o con riesgo incrementado durante el embarazo (como las mujeres mayores de 37 años), sino también algunas con otros padecimientos como la pérdida gestacional recurrente (tres o más abortos) o falla en la implantación (transferencia de seis o más embriones de buena calidad sin lograr implantación). Pero el estudio genético de una o dos células al embrión previo a su implantación es un proceso difícil de realizar, por lo que es necesario un

número adecuado de embriones, algo sumamente difícil debido a que, como ya se mencionó, este procedimiento se realiza en mujeres mayores de 37 años y bajas respondedoras, por lo que se emplea únicamente en parejas con sospecha o alto riesgo de daño cromosómico.<sup>21</sup> No obstante, es necesario desarrollar técnicas específicas con tecnologías como el FISH para la detección de alteraciones genéticas.<sup>22</sup>

Para el tratamiento de la azoospermia obstructiva, gracias a la inyección intracitoplasmática de un espermatozoide, se realiza una biopsia testicular en lugar de aspiración directa del epidídimo, ya que la primera es más fácil de hacer y pueden criopreservarse muestras de tejido testicular para nuevos intentos, u otro embarazo, sin necesidad de repetir el procedimiento.

Finalmente, otro cambio importante en los últimos años se dirigió a disminuir el probable daño ocasionado por las diferentes técnicas, por lo cual los micromanipuladores se equiparon con nuevas agujas anguladas para facilitar la inyección del espermatozoide (recordemos que el microscopio cuenta de dos dimensiones). También se han desarrollado nuevas tecnologías como el Oosight o el poloscope unido al microscopio, un sistema computado con el que puede observarse el huso acromático, con el fin de no dañarlo al momento de la inyección intracitoplasmática del espermatozoide.

### **Transferencia embrionaria**

En este procedimiento cae mucha responsabilidad porque todo el esfuerzo logrado hasta este momento puede ser desperdiciado si la transferencia no es adecuada, por lo que una enseñanza importante durante este tiempo de evolución es realizar un ensayo denominado prueba de transferencia durante la programación del procedimiento. Este paso quedó en desuso por la creación de nuevos catéteres, que incluyen camisas de diferentes formas y calibres que permiten no exponer a los embriones a hipoxia o a hipotermia durante los intentos por pasar el catéter en transferencias difíciles. La importancia de este paso previo radica en que tiene una alta capacidad para identificar las transferencias con alto grado de dificultad. Lo anterior se comprobó después de hacer un protocolo de estudio que demostró que si bien las pruebas de transferencia fáciles no siempre lo son, las de dificultad elevada prácticamente siempre serán complicadas y son

las importantes de detectar, para tener la precaución de contar con diferentes instrumentos como catéteres más refringentes ultrasonográficamente, delgados, curvos o semirrígidos, que faciliten el procedimiento. Además, toda paciente con una transferencia difícil debe tener sedación anestésica para reducir la complejidad y evitar el dolor a la paciente.

En relación con el tipo de catéteres, no existe duda que los flexibles son menos agresivos con el endometrio y, por tanto, cuentan con las mejores tasas de embarazo. Cada vez los catéteres flexibles tienen menor calibre para ser aun menos invasores con el endometrio. De los múltiples diseños existentes, ninguno ha demostrado ser mejor y el éxito dependerá de la experiencia de la persona que lo utilice.

El cambio constante entre los múltiples catéteres para realizar este proceso se enfoca al material con el que se producen y al tipo, forma y longitud de las guías o camisas que evitan el daño a los embriones.

La nueva tendencia mundial al cambio radica en el número de embriones a transferir, con la finalidad de reducir una de las principales complicaciones de las técnicas de reproducción asistida de alta complejidad, que es el embarazo de alto orden fetal.<sup>23,24</sup> Históricamente se ha demostrado que la transferencia de más de tres embriones no disminuye la tasa de embarazo por transferencia, pero incrementa en forma importante el porcentaje de gestaciones triples o mayores.

En la actualidad se concentran esfuerzos para reducir el número de embriones a transferir sin afectar la tasa de embarazo, sobre todo si la transferencia se realiza entre los días 3 y 5. En algunos países europeos, en donde por razones de legislación sólo se permite transferir uno o dos embriones, se ha visto que el porcentaje de embarazos se afecta en forma insensible. En Latinoamérica y México es difícil que esto ocurra a largo plazo; sin embargo, la postura de transferencia máxima de tres embriones tiene una posibilidad menor de 1% de embarazos triples. Esta tendencia es sumamente importante porque ha permitido conocer características embriológicas como factores de buen pronóstico de implantación; además, junto con las técnicas de reproducción asistida de alta complejidad, surgieron nuevos procedimientos como la micromanipulación de gametos o embriones, así como nuevas opciones de embarazo en mujeres mayores,

como las que ingresan a los protocolos de donación de óvulos. Junto con esto se observó un incremento en la incidencia de complicaciones perinatales, como la enfermedad hipertensiva inducida por el embarazo, rotura prematura de membranas, diabetes gestacional, retardo de crecimiento intrauterino y placentación anómala.<sup>25</sup> Recientemente se demostró que todas estas complicaciones se encuentran ligadas de manera estrecha con el incremento en la incidencia de embarazo múltiple (más evidente en los de alto orden fetal) y no con la edad de la paciente o con la incompatibilidad genética, como se pensaba en las receptoras de óvulos donados. Por lo anterior, el objetivo mundial se encuentra encaminado a reducir estos embarazos y la forma más fácil de lograrlo es transferir un menor número de embriones.

Con la reducción de la cantidad de embriones a transferir, disminuyó la tasa de embarazo clínico y de recién nacido vivo, por lo que surgió una nueva estrategia que fue mejorar la selección de embriones a transferir. Para ello, se comenzó a transferir en el día 5 de poscaptura, en etapa de blastocisto, en lugar de hacerlo en el día 2 o 3. Esto es una prueba de sobrevivencia preembrionaria, en la cual, obviamente, un embrión que llega a la etapa de blastocisto en un medio artificial es un embrión de buena calidad y, por tanto, mejora la posibilidad de implantación y de un embarazo a término. Desafortunadamente, es más difícil mantener un embrión fuera de su hábitat natural, por lo que las pacientes en estos protocolos tienen un alto riesgo de quedar sin embriones a transferir. Debido a esto, si no se considera la tasa de embarazo por transferencia sino la tasa de embarazo por ciclo, los resultados no son nada alentadores. Por este motivo aún son pocas las clínicas que realizan transferencia en etapa de blastocisto, pero sin duda es otra tendencia primordial en relación con la transferencia embrionaria.

No obstante lo anterior, no todos los autores están de acuerdo con que la transferencia en el día 5 sea superior a la del día 3, por lo que no hay consenso.

### **Soporte de la fase lútea**

Esta etapa es la menos estudiada en los procedimientos de reproducción asistida de alta complejidad y un terreno donde hay más preguntas que respuestas.

Al inicio, el soporte de la fase lútea fue altamente criticado, primero se pensó que durante la captura de los

ovocitos, la punción de los folículos originaría un mal funcionamiento del cuerpo lúteo y éste era el motivo de iniciar un soporte. Sin embargo, hace 20 años estudios prospectivos metanalíticos descartaron esta hipótesis.<sup>26</sup> No hay que olvidar que al inicio el procedimiento se realizaba con un ciclo natural, pero con el transcurrir de los años surgió la hiperestimulación ovárica controlada y para este fin era necesario evitar una luteinización prematura de los folículos, por lo que se agregaron agonistas y antagonistas de la GnRH para suspender la función de la hipófisis o inhibir la producción de la hormona luteinizante. También era necesario el desarrollo de múltiples folículos, por lo que se inició la administración de gonadotropinas exógenas, ocasionando una elevación de estradiol a concentraciones suprafisiológicas. Además, algunos fármacos como los agonistas de la GnRH mantienen suprimida la hipófisis hasta dos o tres semanas después de la suspensión de los mismos, por lo cual se retomó el estudio del soporte de la fase lútea, ya que no existe una elevación de hormona luteinizante necesaria para mantener la producción de progesterona a través de los cuerpos lúteos. Estudios en donadoras de ovocitos, en quienes se evaluó la calidad endometrial, demostraron la importancia del soporte de la fase lútea en los nuevos protocolos de estimulación.<sup>27</sup>

Actualmente existen tres tipos de progestágenos administrados con este fin: progesterona, didrogesterona y crinona, aunque se cuestiona la efectividad de los mismos, la vía de administración y la bioequivalencia. Al inicio se administró oralmente; sin embargo, el paso por el hígado disminuye su biodisponibilidad a tan sólo 10%, por lo que para las técnicas de alta complejidad se encuentra completamente descartada. La controversia está entre la vía intramuscular y la vaginal. Después de diversos estudios clínicos controlados, se demostró que no existe diferencia en la efectividad siempre y cuando se administre la dosis adecuada (intramuscular 50 mg cada 12 horas y para la vaginal 200 mg cada 8 h). En relación con las ventajas entre estas dos vías, la intramuscular cuenta con concentraciones séricas mayores, pero como desventaja es necesario que sea administrada de manera profunda. Desafortunadamente, y por lo general, la inyección la aplica la pareja de la paciente, quien no tiene experiencia en hacerlo, por lo que existe riesgo de infección; también puede desencadenarse una reacción

alérgica al medicamento. La vía vaginal tiene la ventaja de ser más cómoda, menos dolorosa y puede ser aplicada por la misma paciente; incluso algunos autores han demostrado una mayor concentración del fármaco en el endometrio a pesar de ser menor la concentración sérica en relación con la intramuscular, pero como desventaja causa una irritación importante al epitelio vaginal, lo que puede causar un ligero sangrado transvaginal.

Durante estos 30 años se ha demostrado la necesidad del soporte de la fase lútea. Actualmente se encuentran en estudio métodos de depósito para hacer más sencilla su aplicación: anillos vaginales, geles o soluciones acuosas para la aplicación de microesferas de liberación prolongada, lo que hace menos dolorosa su aplicación cada cinco a siete días en lugar de cada 12 a 24 horas. Sin embargo, aún se encuentran en experimentación.

Otra controversia es la dosis administrada, se concluyó, después de una búsqueda extensiva en la bibliografía, que está en función de la vía de administración, las más aceptadas son de 50 mg cada 24 horas para la progesterona intramuscular y de 20 mg cada 8 h para la vía vaginal.<sup>28</sup>

Finalmente, la última controversia es la adición de otras sustancias diferentes a la progesterona. En primer lugar tenemos a la gonadotropina coriónica humana urinaria, altamente efectiva; sin embargo, ya no se administra debido al riesgo elevado de desencadenar un síndrome de hiperestimulación ovárica porque está demostrado que inicia la producción del factor de crecimiento vascular, lo que provoca porosidad vascular y, por tanto, fuga al espacio intersticial, hecho que finalmente ocasiona desde ascitis hasta anasarca.

Otro gran debate durante estos años, a partir de la creación de las técnicas de reproducción asistida de alta complejidad, es el momento de inicio del soporte de la fase lútea: hay que recordar que el embrión se implanta en el útero después de cinco o seis días de haber completado la fertilización; por otro lado, la mayor parte de los centros dedicados a estas técnicas de reproducción asistida realizan la transferencia tres a cinco días después de la captura de ovocitos, ya sean propios o donados. Por lo anterior, es indispensable el inicio del soporte de la fase lútea el día de la captura en las pacientes receptoras de ovocitos que carecen de cuerpos lúteos porque será más tardado el cambio por parte del endometrio a una

fase secretora. Un estudio realizado en Holanda comprobó que el inicio del soporte de la fase lútea no tiene importancia, siempre y cuando se lleve a cabo antes del día de la transferencia. Este estudio comparó tres grupos según el tiempo de inicio, uno el día de la aplicación de la hCG, otro el día de la captura y un tercer grupo que inició el día de la transferencia embrionaria.<sup>29</sup>

## REFERENCIAS

1. Kably A, Estévez S, Carballo E, Monterrosas L. Análisis comparativo de la tasa de embarazo-ovocitos capturados en un programa de fertilización *in vitro*. Ginecol Obstet Mex 2008;76:256-60.
2. Holzer H, Casper R, Tulandi T. A new era in ovulation induction. Fertil Steril 2006;85(2):277-84.
3. Bowen SN, Norian J, Skorupski JC, Akoma UN, et al. Single ovarian measurements (length and width) are independent predictors of ovarian reserve. Fertil Steril 2005;84:S114.
4. Barreto MA, Garrido N, Alvarez C, Bellver J, et al. Antral follicle count (AFC) can be used in the prediction of ovarian response but cannot predict the oocyte/embryo quality or the *in vitro* fertilization outcome in an egg donation program. Fertil Steril 2009;91:148-56.
5. Said TH, Sibai EI, Rocca M, Kholif A, et al. Ovarian reserve after surgical treatment of unilateral benign ovarian cyst. Fertil Steril 2009;91:S20.
6. Said TH, Damarawy H, Warda A. Ovarian reserve markers update. Fertil Steril 2008;89:S27.
7. Broer S, Wilem B, Hendiks D, Broekmans JM. The role of antimüllerian hormone in prediction of outcome after IVF: comparison with the antral follicle count. Fertil Steril 2009;91:705-14.
8. Chen X, Qiao J, Li H, Wang L, et al. Clinical features and ovulation induction in women with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism or Kallmann syndrome. Fertil Steril 2007;88:S177.
9. Marshall DC, Raike EA, Desilva M, Nardi RV. The bioactivities of FSH and LH are unaltered by mixing highly purified human-derived FSH (Bravelle) and HMG (HP-Repronex) together in the same diluent and in the same syringe. Fertil Steril 2002;77:S19.
10. Chen XN, Lu GX, Yan JM, Chen ZJ, Chen XG. An open prospective, randomized, multicenter study to compare recombinant human follicle stimulating hormone (rec-FSH; follitropin  $\beta$ ; Puregon® solution) with highly purified urinary FSH (uFSH, urofollitropin (highly purified), Metrodin® HP) in Chinese women undergoing in vitro fertilization (IVF). Fertil Steril 2004;82:S228.
11. Dahan MH, Agdi M, Shehata F, Dean N, Tan S. A comparison of *in-vitro* fertilization cycles using recombinant and menopausal luteinizing hormone (LH). Fertil Steril 2008;90:S407.
12. Koper N, Boostanfar R, Devroey P, Fauser B, et al. Cori-follitropin alfa demonstrates similar pregnancy rates as

- compared to daily recombinant FSH treatment in a controlled ovarian stimulation regimen for IVF/ICSI. *Fertil Steril* 2008;90:S75.
13. Cai J, Lou H, Dong M, Lu X, et al. Poor ovarian response to gonadotropin stimulation is associated with low expression of follicle-stimulating hormone receptor in granulosa cells. *Fertil Steril* 2007;87:1350-6.
  14. Waffa Y, Roshdy A, Gindy E, Hamshary E, et al. The role of the follicle stimulating hormone receptors genotype in the response to FSH in women undergoing controlled ovarian stimulation. *Fertil Steril* 2008;90:S203.
  15. Cheng Chian R, Buckett W, Abdul A, Son W, et al. Natural cycle *in vitro* fertilization combined with *in vitro* maturation of immature oocytes is a potential approach in infertility treatment. *Fertil Steril* 2004;82:1675-8.
  16. Jurema M, Nogueira D. *In vitro* maturation of human oocytes for assisted reproduction. *Fertil Steril* 2006;86:1277-91.
  17. Chui DK, Pugh ND, Walker SM, Gregory L, Shaw RW. Follicular vascularity-the predictive value of transvaginal power Doppler ultrasonography in an *in vitro* programme. *Hum Reprod* 1997;12:191-6.
  18. Kan A, Ng EH, Yeung WS, Ho PC. Perifollicular vascularity in poor ovarian responders during IVF. *Hum Reprod* 2006;21:1539-44.
  19. Check JH, Bollendorf A, Wilson C, Summers-Chase D, et al. A retrospective comparison of pregnancy outcome following conventional oocyte insemination vs intracytoplasmic sperm injection for isolated abnormalities in sperm morphology using strict criteria. *J Androl* 2007;4.
  20. Kably A, Carballo E, Estévez S. Impacto de las anomalías de la cabeza del espermatozoide como factor pronóstico en la infertilidad de causa no determinada. *Ginecol Obstet Mex* 2008;76:151-5.
  21. Thum M, Abdalla HI, Taylor D. Relationship between women's age and basal follicle-stimulating hormone levels with aneuploidy risk in *in vitro* fertilization treatment. *Fertil Steril* 2008;90:315-21.
  22. Catherine M, DeUgarte, Man Li, Mark Surrey, et al. Accuracy of fish analysis in predicting chromosomal status in patients undergoing preimplantation genetic diagnosis. *Fertil Steril* 2008;90:1049-54.
  23. Serour G, Aboulghar M, Mansour R, et al. Complications of medically assisted conception in 3,500 cycles. *Fertil Steril* 1998;70:638-42.
  24. Shevell T, Malone FD, Vidaver J, Porter TF, et al. Assisted reproductive technology and pregnancy outcome. *Obstet Gynecol* 2005;106:1039-45.
  25. Krieg SA, Henne MB, Westphal LM. Obstetric outcomes in donor oocyte pregnancies compared with advanced maternal age in *in vitro* fertilization pregnancies. *Fertil Steril* 2008;90:65-70.
  26. Daya S. Efficacy of progesterone support in the luteal phase following *in vitro* fertilization and embryo transfer: meta-analysis of clinical trials. *Hum Reprod* 1988;3:731-4.
  27. Kolibianis EM, Bourgain C, Platteau P, Albano C, et al. Abnormal endometrial development occurs during the luteal phase of nonsupplemental donor cycles treated with recombinant follicle-stimulating hormone and gonadotropin-releasing hormone antagonist. *Fertil Steril* 2003;80:464-6.
  28. Hubayter Z, Muasher S. Luteal supplementation in *in vitro* fertilization: more questions than answers. *Fertil Steril* 2008;89:749-56.
  29. Mochtar M, Van Wely M, van der Veen F. Timing luteal phase support in GnRH agonist down-regulated IVF/embryo transfer cycles. *Hum Reprod* 2006;21:905-8.