



Universidad
Francisco de Vitoria
UFV Madrid

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

**DOCTORADO EN BIOTECNOLOGÍA, MEDICINA Y
CIENCIAS BIOSANITARIAS**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR EN
MEDICINA**

“PROTOSCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN
INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SEGÚN EL PATRÓN DE
GLICOSILACIÓN DE LA HORMONA FOLICULO
ESTIMULANTE”

Irene Perelson del Pozo

Licenciada en Medicina y Cirugía

Director de tesis:

Ignacio Cristóbal García

Doctor en Medicina y Cirugía

MADRID. 2018

PROTOCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN
INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SEGÚN EL PATRÓN DE
GLICOSILACIÓN DE LA HORMONA FOLÍCULO
ESTIMULANTE

Irene Perelson del Pozo

Lugar de presentación: Facultad de Medicina UNIVERSIDAD
FRANCISCO DE VITORIA

Lugar de Investigación: Unidad de Reproducción del Hospital
Sanitas La Zarzuela

Directores:

Ignacio Cristóbal García

Madrid 2018



**INFORME ADMISIÓN A TRÁMITE TESIS DOCTORAL
- COMISIÓN DE DOCTORADO -**

La Escuela Internacional de Doctorado de la Universidad Francisco de Vitoria, que ha de juzgar la tesis presentada por **Dña. Irene Perelson del Pozo** titulada **“Protocolos de Estimulación Ovárica en Inseminación Artificial según el patrón de Glicosilación de la Hormona Foliculo Estimulante”** en las Facultades de Ciencias de la Salud y Ciencias Experimentales, considera que dicha tesis está en condiciones de ser admitida a trámite.

De acuerdo a la normativa referente a tribunal, defensa y evaluación de la tesis implantada a partir del mes de febrero de 2012 por el R.D. 99/2011, la Comisión de Doctorado solicita que presente, junto con los ejemplares definitivos de la tesis (7 ejemplares impresos y 2 copias en versión electrónica), CV completo con especial referencia y definición de las actividades de formación llevadas a cabo durante el período de realización de su tesis doctoral (6 copias) así como acreditación documental de las mismas (1 copia).

Pozuelo de Alarcón, 12 de diciembre de 2018

DIRECTOR DE LA ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Fdo. Dr. D. Cruz Santos Tejedor

Dña. Irene Perelson del Pozo
Ccp al Dr. D. Ignacio Cristóbal García (Director)



- Biblioteca
- Administración y Servicios Generales
- Calidad Formación e Innovación Docente
- Colegio Mayor

Ctra. Pozuelo - Majadahonda, Km. 1,800 • 28223 Pozuelo de Alarcón (Madrid)
Tels.: 91 351 03 03 / 91 709 14 00 • Fax: 91 351 17 16 • info@ufv.es • www.ufv.es



AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Ignacio Cristóbal García: Doctor en Medicina y Cirugía y Coordinador de la asignatura de Ginecología y Obstetricia de la Universidad Francisco de Vitoria, con NIE 50814304J,

CERTIFICA: Que Doña. Irene Perelson del Pozo, licenciada en Medicina y Cirugía, ha realizado, bajo su dirección y tutela, el trabajo correspondiente a la tesis doctoral titulada:

“Protocolos de estimulación ovárica en inseminación artificial según el patrón de glicosilación de la hormona folículo estimulante”

Revisado el presente trabajo, estima que puede ser presentado al tribunal que ha de juzgarlo. Y para que conste a efecto de lo establecido en la normativa reguladora del tercer ciclo de la Universidad Francisco de Vitoria, autoriza su presentación.

Madrid, Diciembre 2018.

Fdo. Dr. Ignacio Cristóbal García

Irene Perelson del Pozo
PROTOCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SEGÚN EL
PATRÓN DE GLICOSILACIÓN DE LA HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE

A mi MADRE

Agradecimientos:

Al Dr. Cristóbal, gracias por aceptar la dirección de esta tesis, por animarme a hacerla, y por contar conmigo y confiar en mí desde el principio de mi residencia. Gracias por toda la ayuda.

A las doctoras Sánchez y Ruesta, por su colaboración en la consulta de reproducción de la Zarzuela, gracias por hacer el trabajo con vosotras tan fácil. A la Dra. Gaitero por iniciar este proyecto conmigo.

A la doctora Artola, por lo que me ha enseñado ella a mí, porque sin sus ánimos y conocimientos no habría empezado a hacer esta tesis.

A todos los amigos, que me han aguantado, ayudado y apoyado en todo este largo proceso. Gracias por todo.

A mi padre y mi hermana, mi marido y mis tres hijos por ser una familia maravillosa y que estén tan orgullosos de mí.

Índice de contenidos:

1.- INTRODUCCIÓN	15
2.- ESTADO ACTUAL DEL TEMA	16
2.1. Situación actual de la esterilidad y técnicas de reproducción asistida	16
Definición	16
Epidemiología:.....	17
Causas de esterilidad:.....	20
1. Alteraciones en la producción de gametos:.....	20
2. Alteraciones que impiden o dificultan el contacto entre los gametos:	20
3. Alteraciones de la implantación:	20
3.- ESTUDIO DE LA PAREJA ESTÉRIL	23
3.1. Bases del diagnóstico de esterilidad (2)	24
3.2. Determinación de la función ovárica:	24
3.3. Conformación integridad anatómica:	25
3.4. Análisis de la calidad seminal:	26
4.- TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA (TRA)	28
4.1.- Inseminación artificial (IA)	28
4.2.- Evaluación de la eficacia de las TRA	31
4.3.- Evaluación de los efectos adversos en TRA	32
5.- FOLICULOGENESIS Y CICLO OVARICO	33
5.1.- Oogénesis: (Figura 7) (25)	34
5.2.- Foliculogénesis	34
6.- BIOSINTESIS DE LAS HORMONAS SEXUALES EN EL OVARIO	38
7.- GONADOTROPINAS. FSH Y LH	43
7.1.- Estructura y biología de las gonadotropinas FSH/LH:	45
7.2.- Mecanismos de obtención de las gonadotropinas:	49
7.3.- Mecanismos de acción y efectos sobre la foliculogénesis.	52
.....	58
7.4.- Hormona FSH de origen humano altamente purificada: glicosilación de	58
la FSH.	58
7.5.- Isoformas de FSH	63
1. Isoformas de la FSH y ciclo ovárico.....	64
2. Isoformas de la FSH y estimulación ovárica	67
8.- PROTOCOLO DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN REPRODUCCIÓN ASISTIDA	71
8.1.- Pautas de administración de gonadotropinas:	72
• Pauta inicial fija.	72
• Pauta descendente.....	73
8.2.- Tipos de gonadotropinas para estimulación ovárica:	73
8.3.- Gonadotropinas: Inductores de la ovulación	75
8.4.- Gonadotropinas: supresión hipofisaria:	76

Irene Perelson del Pozo
PROTOSCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SEGÚN EL
PATRÓN DE GLICOSILACIÓN DE LA HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE

9.- JUSTIFICACIÓN	78
10.- HIPÓTESIS.....	81
11.- OBJETIVOS.....	82
Objetivo primario:	82
Objetivos secundarios:	82
12.- MATERIAL Y MÉTODOS.....	83
12.1.- Diseño y ámbito de estudio.....	83
12.2.- Pacientes de estudio:	83
12.3.- Diagnóstico de infertilidad:	84
12.4.- Criterios de inclusión:	84
12.5.- Criterios de exclusión:.....	86
12.6.- Fármacos considerados en el estudio:	87
12.7.- Tratamiento de la información.....	88
12.8.- Tratamiento y protocolo de estimulación ovárica en Inseminación Artificial intrauterina en nuestro hospital:	89
12.9.- Variables de estudio	92
1. Variables respuesta primarias.....	92
3. Variables para el análisis coste-efectividad:.....	94
4. Recogida de datos:	95
12.10.- Tamaño de la muestra.	95
12.11.- Análisis estadístico:.....	95
13.- RESULTADOS	98
13.1.- Descripción de la muestra:.....	98
13.2.- Datos de la estimulación	109
13.3.- Resultados tras la inseminación	113
13.4.- Resultados: coste - efectividad de los tratamientos:.....	121
13.5.- Análisis según número de ciclo de inseminación	123
COMPARACIÓN SERIE CON Y SIN INTETNOS PREVIOS	125
DIFERENCIAS POR ESQUEMA	127
14.- DISCUSIÓN	139
15.- LIMITACIONES DEL ESTUDIO	148
16.- CONSIDERACIONES ÉTICAS	149
17.- CONCLUSIONES	154
Bibliografía.....	155

Lista de figuras:

FIGURA 1: Datos demográficos natalidad en España (5).....	18
FIGURA 2: Causas de esterilidad general (7)	22
FIGURA 3: causas de esterilidad femenina (10)	22
FIGURA 4: Causas esterilidad masculina (10).....	23
FIGURA 5: Seminograma. Criterios de normalidad de la OMS (94)	27
FIGURA 6: Desarrollo folicular (27)	36
FIGURA 7: Oogenesis (25)	37
FIGURA 8: Ciclo menstrual. Evolución del folículo y endometrio en respuesta a los cambios hormonales. (30).....	41
FIGURA 9: Fisiología de las hormonas sexuales femeninas (95).....	42
FIGURA 10: Glicoproteínas.....	44
FIGURA 11: estructura de la FSH (53)	47
FIGURA 12: Cadenas alfa y beta de la FSH (53).....	47
FIGURA 13: Patrón de glicosilación de la FSH, LH y la Hcg. (35)	48
FIGURA 13: Eje hipotálamo - hipofisario – ovario	53
FIGURA 15: Ciclo ovárico normal (96).....	58
FIGURA 16: Síntesis de gonadotropinas (50).....	59
FIGURA 17: Residuo glucídico N-like (53).....	60
FIGURA 18: Estructura cadena oligosacáridos.....	61
FIGURA 19: Isoformas	62
FIGURA 20: Diferentes isoformas de la FSH según su pI (62)	63
FIGURA 21: Isoformas de la FSH durante el ciclo ovárico (61)	66
FIGURA 22: Estudio IBSA, número Z de Puregon, Fostipur, Gonal. (62).....	68
FIGURA 23: Diferencia entre patrones de salinización en las formas de FSH recombinante y urinaria (63).....	69
FIGURA 24: Esquema de protocolo estimulación ovárica con gonadotropinas	90
FIGURA 25: Distribución de la muestra del estudio.....	99
FIGURA 26: Causas de esterilidad en global	102
FIGURA 27: Distribución causas esterilidad conocidas en los 3 grupos de tratamiento	104
FIGURA 28: Distribución antecedentes obstétricos.....	105
FIGURA 29: Porcentaje de pacientes con embarazo previo	106
FIGURA 30: Antecedentes de aborto previo.....	106
FIGURA 31: Distribución del número de inseminación en todos los ciclos de estudio.....	107
FIGURA 32: Resultados de la inseminación total y por ciclos	116
FIGURA 33: Coste efectividad de los tratamientos	122
FIGURA 34: Resultado de inseminación según protocolo en serie sin intento previo	130
FIGURA 35: Resultados en serie con intentos previos	136

Lista de Tablas:

Tabla 1: Datos demográficos: edad y tiempo esterilidad.	100
Tabla 2 : Datos demográficos: Causas de esterilidad	101
Tabla 3: Causas de esterilidad por ciclo	103
Tabla 4: Antecedentes gineco-obstetricos	105
Tabla 5 : Número de ciclo de estimulación que realiza cada paciente.	108
Tabla 6 : Parámetros basales pre inseminación	108
Tabla 7: Datos de la estimulación ovárica: Días de estimulación y dosis total utilizada por ciclo.	110
Tabla 8 : Número de folículos reclutados tras estimulación	111
Tabla 9: Nivel de estradiol plasmático el día de la HCG.	111
Tabla 10 : Resultados días de estimulación. Índice de Riesgo Relativo	112
Tabla 11 : Resultados dosis total utilizada por grupos, comparativa cambio medio	112
Tabla 12: Tasa de gestación total.	113
Tabla 13: Resultados por ciclos, excluyendo las cancelaciones.	114
Tabla 14: Resultados tras gestación positiva: aborto y recién nacido vivo.	115
Tabla 15 : Resultados tras gestación positiva en cuanto embarazos múltiples.	117
Tabla 16: Probabilidad de BHCG positiva entre los distintos protocolos. (OR)	118
Tabla 17: Probabilidad de gestación entre los distintos protocolos (OR).	118
Tabla 18: Probabilidad de Recién Nacido entre los protocolos (OR).	119
Tabla 19: Resultados según los protocolos ajustados con los factores de confusión.	119
Tabla 20: Comparativa coste efectividad según los protocolos.	121
Tabla 21: Causas de esterilidad por paciente.	123
Tabla 22: Resultados en función de intento previo o no.	124
Tabla 23: Distribución pacientes con intento previo y sin intento previo.	125
Tabla 24: Tiempo de esterilidad de la pareja	126
Tabla 25: Resultados en series con o sin intento previo.	126
Tabla 26: Resultados en series con o sin intento previo.	127
Tabla 27: Características basales en serie sin intento previo.	128
Tabla 28: Datos estimulación en serie sin intentos previos	129
Tabla 29: Resultados en serie sin intento previo.	131
Tabla 30: Probabilidad de gestación y recién nacido en modelos ajustados en serie sin intentos previos.	132
Tabla 31: Características basales en la serie con intento previo.	133
Tabla 32: Resultados en la serie con intentos previos.	135
Tabla 33: Probabilidad de Bhcg, gestación y recién nacido entre grupos en modelos ajustados en series con intento previo	137

Índice de abreviaturas:

AMH: Hormona antimülleriana

AR: Abortos repetición

BHCG: Beta- hormona gonadotrópica humana

E2: Estradiol

EOD: Esterilidad de origen desconocido

EOC: Estimulación ovárica controlada

ESHRE: European Society of Human Reproduction and Embryology

FIV: Fecundación in vitro

FSH: Follicule stimulating hormone/Hormona folículo estimulante

FSH u: Hormona folículo estimulante urinaria

FSH u HP: Hormona folículo estimulante urinaria altamente purificada

FSH r: Hormona folículo estimulante recombinante

GnRH: Gonadotrophine releasing hormone / hormona liberadora de gonadotropina

hCG: hormona gonado - coriónica

HMG: Gonadotropina menopaúsica humana

HSG: Histerosalpingografía

IA: Inseminación Artificial

IAC: Inseminación artificial conyugal

IAD: Inseminación artificial donante

IAIU: Inseminación Artificial intrauterina

LH: Hormona Luteínizante

OMS: Organización mundial de la Salud

OI: Inducción ovulación

OR: Odds ratio

PI: Punto isoeléctrico

REM: Recuento espermatozoides móviles

RFA: Recuento Folículos antrales

RN: Recién nacido

SEF: Sociedad Española de Fertilidad

SHO: Síndrome de hiperestimulación ovárica

SOP: Síndrome ovario Poliquístico

TRA: Técnica de reproducción asistida

UI: Unidades internacionales

Resumen:

Los estudios clínicos que comparan diferentes protocolos de estimulación ovárica, no son concluyentes. Este estudio compara tres protocolos según el patrón de glicosilación de la hormona Folículo estimulante (FHS) imitando el ciclo natural en inseminación artificial. Se propone un protocolo de estimulación ovárica Secuencial con FSH urinaria (isoforma acida) seguido de FSH recombinante (isoforma menos acida) y evaluamos su eficacia respecto a los esquemas tradicionales de estimulación con FSH recombinante (FSH r) y FSH urinarias (FSH u).

Se ha realizado un estudio de cohortes retrospectivo de un total de 178 parejas infértiles sometidas a inseminación artificial. Se realizaron 299 ciclos de estimulación ovárica-inseminación artificial que se dividieron en: 99 con FSH recombinante, 100 con FSH hp y 100 con estimulación secuencial: FSH hp + FSH r. Para el análisis estadístico se utilizaron test de la chi-cuadrado, ANOVA o test Mann-Whitney. Los resultados se presentaron con límite de significación $p < 0,05$.

Los resultados obtenidos en el estudio fueron los siguientes: número de gestaciones total mayores en el grupo FSH u y secuencial. En el análisis coste-efectividad, se observó menor ratio coste/efectividad en el esquema secuencial frente a los otros dos. Comparando los 3 protocolos según los intentos previos de inseminación, en la serie con intentos previos, encontramos diferencias estadísticamente significativas en Bhcg y gestación al comparar FSH r frente a secuencial, siendo el protocolo FSH r menos eficaz que los otros dos tratamientos.

Con estos resultados, parecería que el protocolo Secuencial en Inseminación Artificial, ofrece una alternativa con similares tasas de gestación, menos días de estimulación y menor dosis total de gonadotropinas. El coste medio del tratamiento es menor que con los otros dos tratamientos, y según nuestro estudio, en pacientes con tratamientos anteriores los resultados gestacionales son mayores, por lo que podría considerarse un protocolo de rescate en pacientes con ciclos previos de inseminación.

Abstract:

Earlier trials comparing different ovarian stimulating protocols found no significant difference in the results. This study aimed to evaluate the effect of three different stimulation protocol based on the glycosylation pattern of the Follicle stimulating hormone (FSH) in an intrauterine insemination (IUI) program.

The stimulating protocols are: human FSH (acidic isoform), recombinant FSH (less acidic isoform) and combined urinary and recombinant FSH.

The material and methods of this study is a retrospective study involving 178 infertile couples undergoing IUI treatment. A total of 299 patients with controlled ovarian stimulating cycles for IUI were studied and divided in 3 different groups: 99 received recombinant FSH, 100 human FSH and 100 combined sequential FSH h and recombinant FSH.

Statistical analysis was performed using chi-square test; ANOVA and Mann-Whitney test, setting the significance level at $p \leq 0.05$.

The results of the study were: Pregnancy rates were significantly higher in the combine sequential group than in the other ones. The cost-effectiveness rates were lower in the sequential group than the others and when comparing the three protocols depending the cycle number of IUI we found higher pregnancy and BHCG in the patients with previous cycles treated with sequential or FSH u protocols than with FSH r.

This study shows that using a combination of both urinary and recombinant FSH in a sequential protocol for ovarian stimulating in a IUI program, offers pregnancy rates similar or better than conventional protocols of stimulation, and results in less doses of gonadotropins and days of stimulation. A sequential combined protocol using both acidic and less-acidic FSH for ovarian stimulation improves the pregnancy rates in patients undergoing the second or more cycles of IUI.

1.- INTRODUCCIÓN

La infertilidad es una patología que afecta a 1 de cada 7 parejas a nivel mundial y a 1 de cada 6 en países occidentales. En la actualidad todos los expertos buscan encontrar un tratamiento que sea lo más seguro y efectivo posible para las parejas que se someten a técnicas de reproducción asistida (TRA). Para ello se han desarrollado múltiples guías y protocolos con el objetivo de encontrar la solución más eficaz a este problema.

La estimulación ovárica controlada es esencial en los tratamientos de reproducción asistida. Se realiza mediante la administración exógena de gonadotropinas para aumentar el reclutamiento folicular y maduración ovocitaria.

En el momento actual existen en el mercado varias presentaciones comerciales de gonadotropinas, esencialmente de hormona folículo estimulante (FSH) para la estimulación ovárica controlada. El primer objetivo es conseguir un número limitado de folículos maduros y alcanzar una tasa de gestación aceptable con los menores efectos indeseables del tratamiento.

2.- ESTADO ACTUAL DEL TEMA

2.1. Situación actual de la esterilidad y técnicas de reproducción asistida

Definición

La esterilidad se define como la ausencia de la consecución de embarazo tras 12 meses de relaciones sexuales sin empleo de métodos anticonceptivos.

La probabilidad de gestación espontánea es claramente dependiente del tiempo y, por esto, el 85% de las parejas logran espontáneamente una gestación en el transcurso del primer año, y un tercio de estos embarazos ocurre en los tres primeros meses de ese periodo. En los doce meses siguientes conseguirá la gestación espontáneamente solo un 5% adicional de parejas (1).

La esterilidad absoluta correspondería a las parejas en las que hay un impedimento total para la consecución del embarazo. Tal es el caso por ejemplo de las azoospermias y de las obstrucciones tubáricas completas. Frente a ello se encuentra la subfertilidad o esterilidad relativa, que se trata de parejas en las que está presente un impedimento parcial en su fecundidad, en las que existe algún problema que determina que su fecundidad sea más baja de lo normal, pero no nula. Esta es la situación más común entre las parejas que consultan en la actualidad por problemas reproductivos (2).

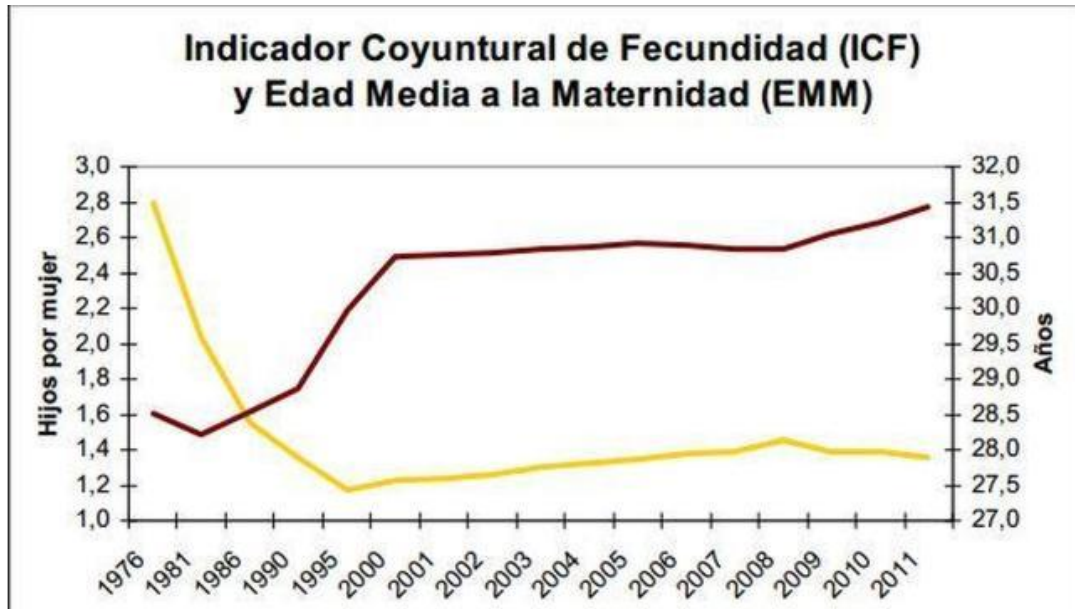
Epidemiología:

Según los estudios epidemiológicos más amplios, la esterilidad afecta al 15% de la población en edad reproductiva de los países occidentales, incluida España, es decir, a una de cada seis parejas en edad reproductiva van a presentar problemas para tener descendencia.

Por otro lado, esta incidencia parece que experimenta una evolución creciente debido a factores fisiológicos, ambientales y sociodemográficos, como ya se describirá más adelante.

Aunque el varón es responsable de entre el 25 al 35% de los casos, la edad avanzada de las mujeres con deseo reproductivo puede considerarse como la principal causa actual de incremento de la esterilidad en nuestro medio. Se sabe que la fertilidad de la especie humana varía con el tiempo, y está claramente limitada por la duración efectiva de la capacidad reproductiva de la mujer. Ésta presenta su máxima fecundidad entre los 20 y los 30 años. A partir de esta edad se inicia el declive fisiológico de la fecundidad, que es mucho más acusado desde los 35 años, y aún mayor a partir de los 38 años (3) (4)

La edad media de la mujer para tener el primer hijo en nuestro país ha ido aumentando progresivamente desde 1975 al 2010, en el que se sitúa en los 31,5 años. (Figura 1)



Edad media de la natalidad (rojo) y número de hijos por mujer (amarillo). Datos del instituto Nacional de Estadística Indicador Coyuntural de Fecundidad (ICF) y Edad Media a la Maternidad (EMM)

FIGURA 1: Datos demográficos natalidad en España (5)

Esta es una de las causas por la que durante los últimos años se ha registrado un creciente aumento de la demanda de servicios asistenciales en relación con este problema.

Podemos establecer como responsable de este aumento tres factores fundamentales:

- La población estéril tiende a consultar más frecuentemente, gracias a la mayor accesibilidad de servicios altamente especializados y a una creciente confianza en su eficacia.

- La perspectiva vital de las mujeres de las sociedades desarrolladas se ha transformado profundamente en los últimos años. Este cambio en las aspiraciones de la mujer se ha traducido en su incorporación masiva al mundo laboral, lo que ha generado retraso en el establecimiento de uniones personales estables, uso de anticonceptivos para retrasar las gestaciones e incremento de la denominada «edad reproductiva social».
- El incremento en la demanda de técnicas de reproducción asistida de mujeres sin pareja masculina, sea de parejas homosexuales o bien de mujeres que desean afrontar la maternidad de forma individual.

Estos factores se ven reflejados en los datos que tenemos sobre la tasa de fertilidad, que en Europa en los últimos 50 años ha descendido desde 2,58 hijos por mujer hasta 1,41 hijos por mujer. Según este registro en España el número de hijos por mujer es de 1.38 en el año 2006 (6).

En la actualidad, se considera que España es probablemente el tercer país europeo en volumen de tratamientos. Aunque la magnitud de la actividad investigadora de nuestro país es aún menor que la de otros de nuestro entorno, en los últimos años viene incrementándose la producción de un número creciente de grupos de investigación con calidad muy relevante. Además, cuenta con centros donde se desarrolla asistencia clínica de primer nivel. Se ha registrado que existen cerca de un millón de parejas demandantes de asistencia reproductiva en nuestro país (7).

Causas de esterilidad:

Es importante detallar cuales son los factores causales que pueden producir un problema reproductivo en una pareja: (8)

Podemos dividir las en:

1. Alteraciones en la producción de gametos:

- A nivel de gametos masculinos: ausencia de producción de espermatozoides, alteraciones del número, movilidad y morfología de los espermatozoides.
- A nivel de gametos femeninos: disfunciones ovulatorias: anovulación (Síndrome del ovario poliquístico, fallo ovárico prematuro...)

2. Alteraciones que impiden o dificultan el contacto entre los gametos:

- Alteraciones de la erección y la eyaculación.
- Alteraciones vaginales que impiden o dificultan el coito.
- Alteraciones del transporte espermático en el aparato genital masculino o femenino.
- Alteraciones de la captación del ovocito por la trompa de Falopio.
- Alteraciones de la fecundación.

3. Alteraciones de la implantación:

- Alteraciones del transporte del embrión hasta la cavidad uterina.
- Alteraciones de la implantación embrionaria

De una forma más global las causas de esterilidad suelen dividirse en 4 grandes grupos: (**Figura 2**)

1. Esterilidad de origen femenino:

Engloba todas las causas que tengan que ver con la mujer y sean las responsables de problema reproductivo de la pareja. Supone el 30% de las causas.

2. Esterilidad masculina:

Lo mismo, pero en el caso del varón. Supone también el 30% de total.

3. Esterilidad mixta:

Son los casos en los que participan a la vez, una vez causa masculina y otra o más femeninas. 15% del total.

4. Esterilidad de origen desconocido: (EOD):

Tras completar estudio básico de la pareja infértil no se encuentra causa alguna responsable de la esterilidad. Supone el otro 25% restante (9).

Irene Perelson del Pozo
PROTOCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SEGÚN EL
PATRÓN DE GLICOSILACIÓN DE LA HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE

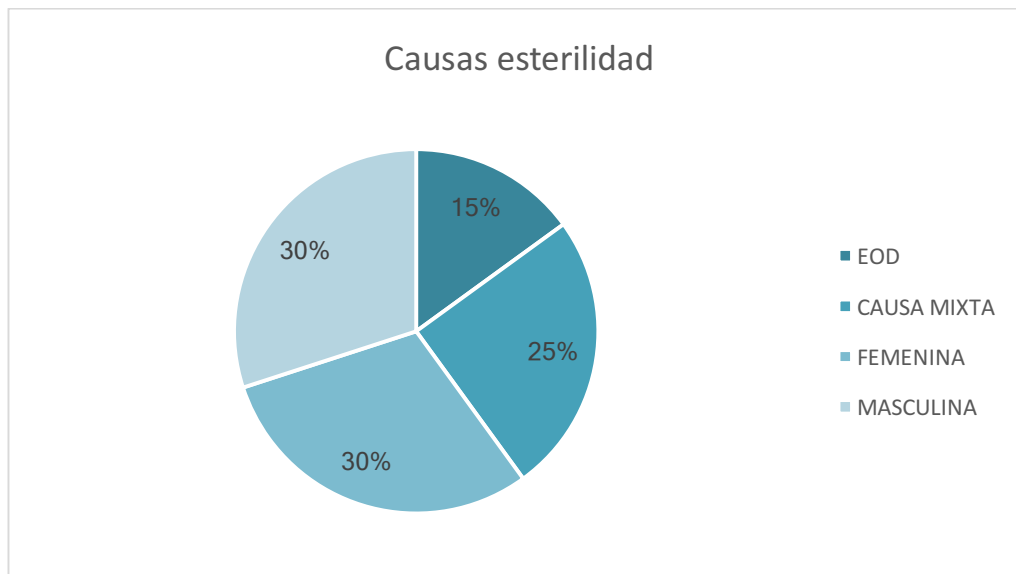


FIGURA 2: Causas de esterilidad general (7)

Dentro de las causas podemos diferenciar distintas alteraciones masculinas y femeninas como vemos a continuación. (Figura 3) (Figura 4) (10)

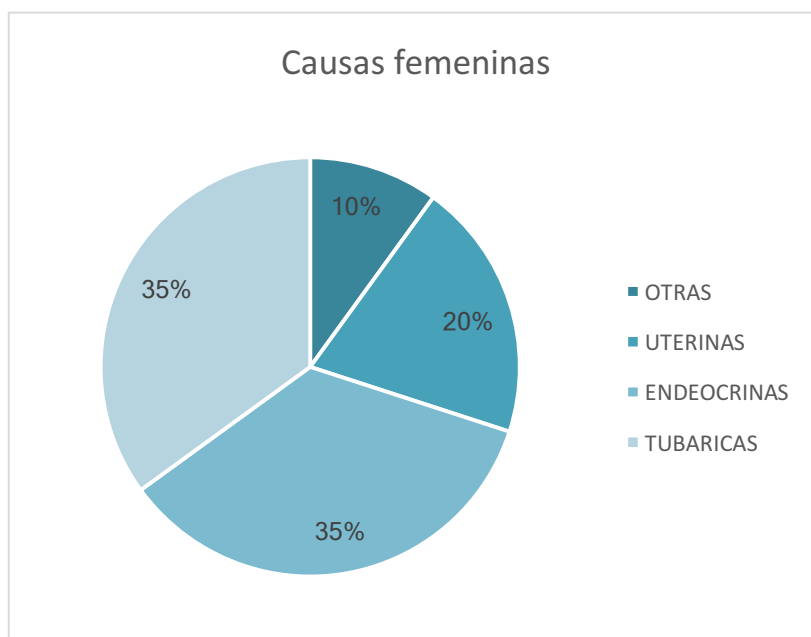


FIGURA 3: causas de esterilidad femenina (10)

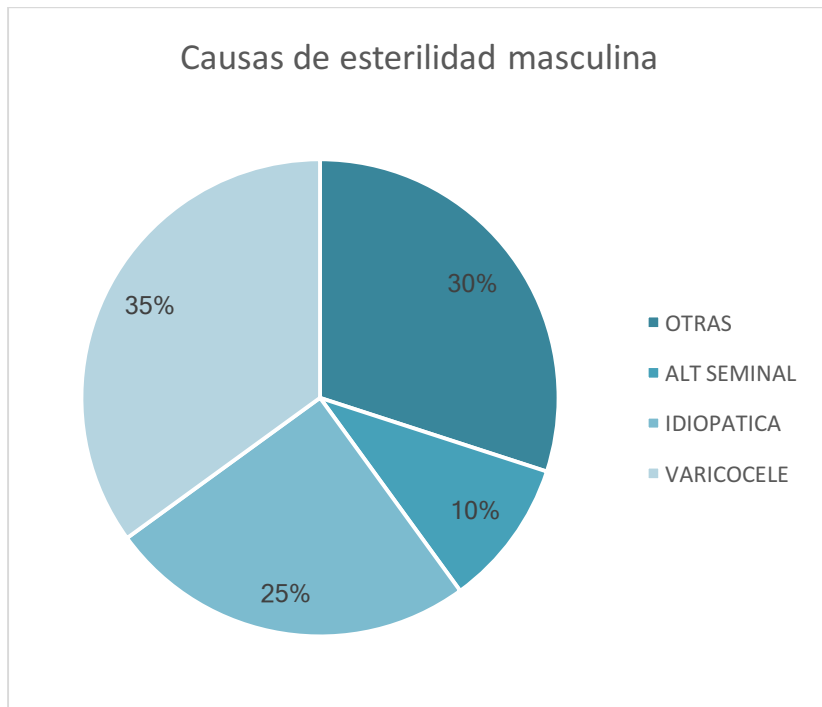


FIGURA 4: Causas esterilidad masculina (10)

3.- ESTUDIO DE LA PAREJA ESTÉRIL

Como ya hemos mencionado anteriormente el estudio de una pareja infértil se debe efectuar tras un año sin lograr un embarazo y debe ser simultáneo en ambos miembros de ella. Se debe lograr establecer la disponibilidad y adecuada funcionalidad de gametos femeninos, gametos masculinos y del tracto genital femenino (11).

En las parejas en las que la mujer sea mayor de 35 años se recomienda comenzar el estudio de fertilidad cuando no han conseguido concebir pasados 6 meses (12).

3.1. Bases del diagnóstico de esterilidad (2)

El estudio de la pareja estéril que acude a la consulta de infertilidad consiste en los siguientes puntos:

- Anamnesis y exploración física.
- Confirmar la existencia de ovulación (función ovárica)
- Confirmar la integridad anatómica y funcional del canal vagino-cervical, útero y trompas de Falopio.
- Análisis de calidad seminal: Confirmar la presencia de una proporción suficiente de espermatozoides morfológica y funcionalmente normales.

3.2. Determinación de la función ovárica:

Para determinar el correcto funcionamiento del ovario es necesario la medición de los niveles de la hormona folículo estimulante (FSH), estradiol (E2) y hormona luteinizante (LH). Esta determinación se realiza mediante análisis de sangre en los primeros días del ciclo. (analítica basal)

Estos valores determinan la reserva ovárica y pueden predecir la respuesta a los tratamientos de reproducción y en menor medida, la probabilidad de conseguir gestación.

Otros marcadores de reserva ovárica que en la actualidad son de gran importancia son el recuento de folículos antrales (RFA) por ecografía y la determinación de la hormona antimülleriana (AMH).

- A) El recuento de folículos antrales es una técnica sencilla, reproducible, independiente de la fase del ciclo menstrual y que se realiza de manera sistemática para predecir la respuesta ovárica a los tratamientos de reproducción (13)
- B) La hormona antimülleriana se sintetiza por las células de la granulosa de los folículos preantrales y antrales, y por esto los niveles de AMH parece que constituyen un reflejo más fiel de la cantidad de folículos antrales en el ovario, lo que constituye la reserva ovárica. Los estudios actuales orientan a que la AMH constituye el principal predictor de la respuesta ovárica ante los tratamientos de estimulación ovárica controlada (EOC) (14).

3.3. Conformación integridad anatómica:

Debemos comprobar la integridad anatómica y para ello existen diferentes técnicas:

1. **PRUEBA DE TRANSFER:** Para la valoración cervical: Introducción de la cánula de transferencia embrionaria. Nos permite valorar el paso transcervical a la cavidad uterina.
2. **ECOGRAFIA VAGINAL:** Para valorar la morfología uterina se debe realizar una ecografía transvaginal e histerosonografía: distensión de la cavidad endometrial con suero fisiológico, que nos va a permitir verificar con una alta fiabilidad cualquier anomalía subyacente.

3. **HISTEROSCOPIA:** Ante la sospecha de patología en la cavidad endometrial se indicada la realización de una histeroscopia: visión directa de la cavidad uterina para diagnóstico definitivo de: las masas uterinas y las malformaciones uterinas.

4. **HISTEROSALPINGOGRAFIA:** La permeabilidad tubárica se comprueba mediante la histerosalpingografía (HSG): demuestra el paso de contraste líquido desde la cavidad uterina hacia el exterior de la cavidad abdominal a través de las trompas de Falopio. La HSG tiene una sensibilidad alrededor de 65-80% y una especificidad de entre el 80-90% para el diagnóstico de obstrucción tubárica (15).

3.4. Análisis de la calidad seminal:

Se realiza mediante un seminograma. Estudio de morfología, movilidad, así como las características físicas y químicas según los criterios de la OMS. En la actualidad se consideran normales aquellas muestras que presentan una concentración >15 millones por ml, una movilidad A+B superior o igual al 39% y una morfología igual o superior a 4% (**Figura 5**)

Irene Perelson del Pozo
**PROTOCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SEGÚN EL
 PATRÓN DE GLICOSILACIÓN DE LA HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE**

(LRI) en espermiograma; entre paréntesis se muestra el intervalo de confianza del 95%	1999, 4ª edición ³	2010, 5ª edición ⁴
	Valor de referencia	Límite inferior de
Licuefacción	Total a los 60 min	Total a los 60 min
pH	7,2-7,8	≥ 7,2
Volumen	2,0 mL	1,5 mL (1,4-1,7)
Concentración espermática	20 x 10 ⁶ /mL	15 x 10 ⁶ /mL (12-15)
Concentración Total	40 x 10 ⁶	39 x 10 ⁶ (33-46)
Motilidad total (progresivos + No progresivos)	No detallada	40% (38-42)
Motilidad progresiva	50%	32% (31-34)
Viabilidad	75%	58% (55-63)
Formas normales	15%	4% (3-4)
Leucocitos	< 1 x 10 ⁶ /mL	< 1 x 10 ⁶ /mL
Mar test	< 50% esp. unidos a partículas	< 50% esp. unidos a partículas
“Immunobeads”	< 50% esp. unidos a partículas	< 50% esp. unidos a partículas

FIGURA 5: Seminograma. Criterios de normalidad de la OMS (96)

Si se detecta alguna anomalía en los parámetros mencionados, es mandatorio la realización de un segundo seminograma con la realización de un recuento de espermatozoides móviles. (REM).

En función de los parámetros obtenidos, se realizará un diagnóstico y se orientará el tratamiento de reproducción que mejores posibilidades ofrezca para poder conseguir una gestación (3) (16).

4.- TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA (TRA)

Las técnicas de reproducción asistida son un conjunto amplio de procedimientos caracterizados por la actuación directa sobre los gametos, para favorecer la fecundación y la transferencia o depósito de embriones en la cavidad uterina.

Los tratamientos de reproducción asistida (TRA) varían en su eficacia según la técnica elegida, y asimismo suelen hacerlos sus riesgos y costes, de forma directamente proporcional. La elección de una técnica u otra varía en función de la etiología de la esterilidad y del pronóstico reproductivo de la pareja (17).

4.1.- Inseminación artificial (IA)

Es la técnica de reproducción asistida mediante la cual se deposita el semen capacitado (REM) dentro de la cavidad uterina (aparato reproductor de la mujer) en el momento cercano a la ovulación.

Para poder realizar esta técnica es preciso tener las trompas permeables, canal genital normal, y el varón tener un seminograma con un recuento de espermatozoides móviles progresivos postcapitación (REM) > 3 millones/Ml (18).

Previamente a la realización de la inseminación, la mujer es sometida a un tratamiento de estimulación ovárica controlada (EOC) generalmente con gonadotropinas para obtener 1 folículo de adecuado tamaño que nos indique que está maduro para la posterior ovulación.

Posteriormente se realiza la inseminación mediante una cánula intrauterina blanda o rígida (en nuestro centro tipo GYNETICS R) que deposita el semen previamente capacitado, en el fondo uterino. Así introducimos directamente los espermatozoides en la cavidad uterina sin tener el obstáculo que presenta para ellos el Ph ácido del moco cervical y la vagina.

El momento óptimo para la realización de la IAIU es alrededor de las 32-36 horas desde la administración de la hCG (human chorionic gonadotrophin) que desencadena la ovulación (19).

El número de inseminaciones a realizar en cada ciclo suele ser de 1 o 2, dependiendo del centro, ya que existen estudios que no indican diferencias significativas entre hacer una o dos en cuanto a tasas de gestación (20). La tendencia actual es hacer una sola inseminación por cada ciclo de estimulación.

En cuanto al número total de inseminaciones a realizar en una pareja debemos tener en cuenta que existe una tasa de gestación acumulativa que aumenta con el número de ciclos + IAIU realizados, por eso el total de ciclos de inseminación que se suelen realizar es de 4 en el caso de IA con semen de su pareja y hasta 6, en el caso de que el semen sea de un banco de donantes.

Aunque en las últimas revisiones los autores sugieren que después de tres inseminaciones fallidas debe ofrecerse a la pareja pasar a un tratamiento de Fecundación in vitro, ya que la probabilidad total de gestación después de 3 inseminaciones fallidas es de **alrededor del 5%** (21).

La inseminación artificial intrauterina (IAIU) es una TRA ampliamente utilizada, y aunque sus tasas de embarazo en comparación con la FIV, son más bajas, no es una técnica nada descartable sobre todo para el coste que tiene y su sencillez, que permite poder realizarla en cualquier centro de ginecología con una alta accesibilidad por parte de los pacientes. Actualmente suponen globalmente un 12% en Europa, en el caso de los ciclos estimulados con gonadotropinas, y España es uno de los países que más ciclos de IA comunica al registro europeo de ESHRE, se encuentra en el tercer puesto de número de ciclos realizados.

Por otro lado, en el registro oficial de la Sociedad Española de Fertilidad (SEF) de 2013 el número total de ciclos recogidos fue de 9.550, siendo 22.025 (74,5%) de IAC y 7.525 (25,5%) de IAD. La tasa de embarazo por ciclo fue de 12,7% en mujeres menores de 40 años, y de 9,8% en mujeres de 40 años o mayores, en IAC siendo estas tasas en el caso de IAD de 22% y 13% en menores y mayores de 40, respectivamente (22)

Las indicaciones para la realización de IAIU son:

- Esterilidad de origen desconocido (EOD)
- Endometriosis leve
- Opción terapéutica alternativa mientras se espera a la realización de fecundación in vitro (FIV).

- Factor masculino leve REM:>4millones/mL (en los casos graves esta técnica está contraindicada)
- Síndrome de ovario poliquístico (SOP)

Existen distintas vías de inseminación, la vaginal y la intracavitaria, la más efectiva es la intracavitaria (2)

4.2.- Evaluación de la eficacia de las TRA

La esterilidad está considerada como un problema de carácter público que repercute sobre los servicios sociales y sanitarios del país. La gestión de la esterilidad supone para la medicina una labor considerable por las dificultades que entraña su diagnóstico y el tratamiento de los desórdenes reproductivos de cada miembro de la pareja; además, es importante que la pareja reciba información realista sobre las posibilidades que tienen de tener un hijo, así como de los riesgos y de sus posibles alternativas (4).

Por tanto, debemos establecer unos parámetros que nos permitan evaluar el resultado de las TRA y en este caso de la IAIU. Según el Comité Internacional de Monitorización de Tecnologías de Reproducción Asistida (ICMART) para evaluar la eficacia de las técnicas de reproducción se pueden utilizar los siguientes parámetros:

- Tasas de embarazo bioquímico: bHCG positiva en sangre u orina
- Tasa de embarazo clínico: se visualiza saco gestacional único o múltiple, intraútero o ectópico

- Tasa de embarazo en curso: saco gestacional intrauterino con embrión con latido, de 10 semanas o más
- Tasa de recién nacido vivo: feto único o múltiple nacido con signos de vida, por encima de 24 semanas.

Estos conceptos se presentan por cada 100 ciclos de tratamiento de reproducción asistida iniciados.

4.3.- Evaluación de los efectos adversos en TRA

También es necesario establecer unos parámetros que nos hablen de los efectos indeseables de la estimulación ovárica y técnicas de reproducción asistida. Los términos más frecuentemente utilizados para evaluar estos efectos adversos de las TRA y particularmente de la IAIU son:

- Tasa de aborto bioquímico: bHCG positiva que disminuye
- Tasa de aborto precoz: antes de las 12 semanas
- Tasa de aborto tardío: a partir de las 12 semanas hasta la 24 de edad gestacional
- Síndrome de hiperestimulación ovárica (23).
- Gestaciones múltiples

5.- FOLICULOGÉNESIS Y CICLO OVÁRICO

La fisiología de la reproducción humana es importante para comprender tanto los protocolos de estimulación como las técnicas de reproducción asistida.

El término reproducción etimológicamente significa “transmisión de vida”. La reproducción humana es básicamente el resultado de la interacción de dos células: una procedente de las gónadas femeninas, el ovocito o gameto femenino, y otra procedente de las gónadas masculinas, el espermatozoide o gameto masculino. Estas dos células destinadas a la reproducción surgen como consecuencia de dos procesos totalmente distintos e independientes que son el desarrollo folicular y la espermatogénesis.

La interacción natural entre los dos gametos se lleva a cabo en un contexto anatómico muy concreto y hasta hace pocos años imprescindible, el aparato genital interno femenino.

Tanto el desarrollo de los gametos como su interacción precisan de un ambiente hormonal específico. Por este motivo conviene recordar brevemente todos estos aspectos que intervienen de forma ineludible en la reproducción humana (24).

En este sentido, debemos considerar dos funciones diferenciadas de los ovarios humanos:

1. Secreción de las hormonas femeninas a partir de la pubertad
2. Proporcionar los gametos femeninos: ovocitos.

5.1.- Oogénesis: (Figura 7) (25)

La oogenesis u ovogénesis es la gametogénesis femenina, y consiste en el desarrollo y diferenciación del ovocito mediante una división meiótica. Embriológicamente hacia el 5º-6º mes de embarazo de un feto mujer, los ovarios contienen 6 millones de oogonios (células germinales primordiales).

Algunas de estas oogonias interrumpen su mitosis y entran en la profase de 1ª división meiótica dando los ovocitos primarios. Estos ovocitos primarios están en fase (MI) hasta la ovulación en la que reanudan la meiosis eliminando el primer corpúsculo polar y formándose el ovocito secundario.

Durante la ovulación el ovocito secundario surge del folículo y asciende por las trompas de Falopio. Solamente si es fecundado continua su maduración con la expulsión del 2º corpúsculo polar y formando un ovulo maduro: células haploides (26).

Es decir, a partir de una célula diploide se producen una célula haploide funcional, ovocito y otros 2 haploides no funcionales: corpúsculo polar.

5.2.- Foliculogénesis

La foliculogénesis es el proceso de maduración del folículo ovárico, es decir dentro del folículo se desarrolla la ovogénesis o división meiótica para dar lugar al ovocito maduro.

Esta maduración ovocitaria ocurre en el córtex ovárico en unas estructuras denominadas folículos, también encargadas de la producción hormonal. Existen varios tipos o estadios por los que pasa el folículo: (Figura 6) (27)

- **Folículo primordial:** complejo formado por el oocito y una capa de células de la granulosa y membrana basal.
- **Folículo primario:** es el folículo primordial cuyas células de la granulosa se transforman en cuboides y se dividen formando varias capas. Dan lugar a una membrana que rodea el ovocito: membrana pelúcida.
- **Folículo secundario:** proliferación de las células de la granulosa y del estroma por fuera de la lámina basal: células tecales, que se dividen y dan lugar a teca interna y teca externa.
- **Folículo terciario o preantral:** es el folículo secundario en el que los líquidos segregados por las células crean una cavidad de líquido o antro folicular.
- **Folículo de Graaf:** El folículo va aumentando de tamaño por la proliferación de células tecales y granulosa y se llena de líquido, dando lugar a una gran cavidad: antro que rodea el ovocito rodeado de 3 capas de granulosa.

NORMAL OVARY FOLLICULAR DEVELOPMENT OVULATION

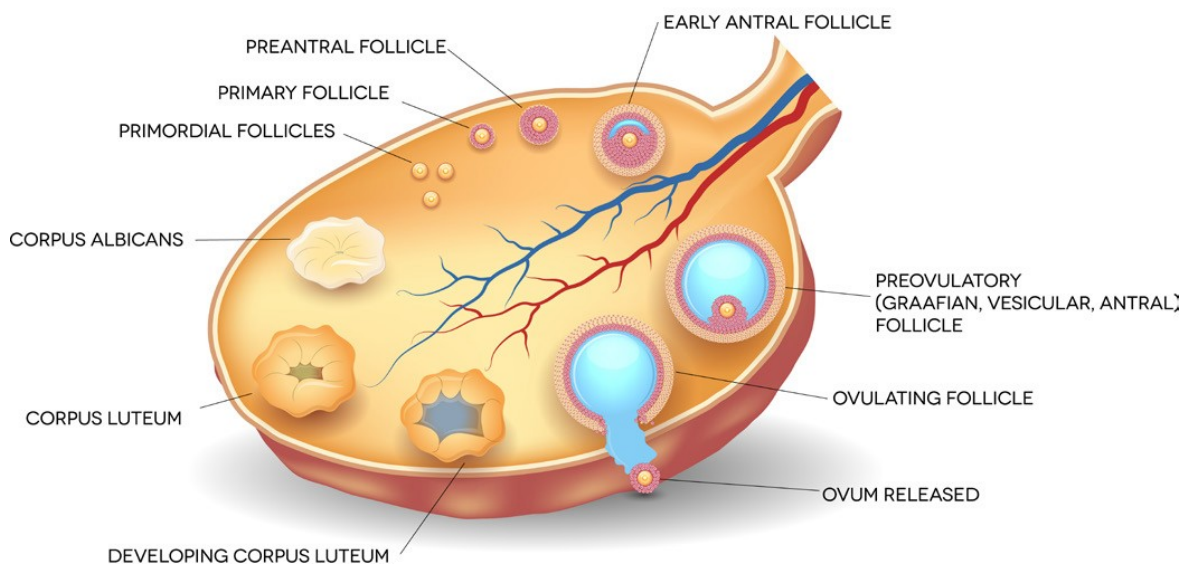


FIGURA 6: Desarrollo folicular (27)

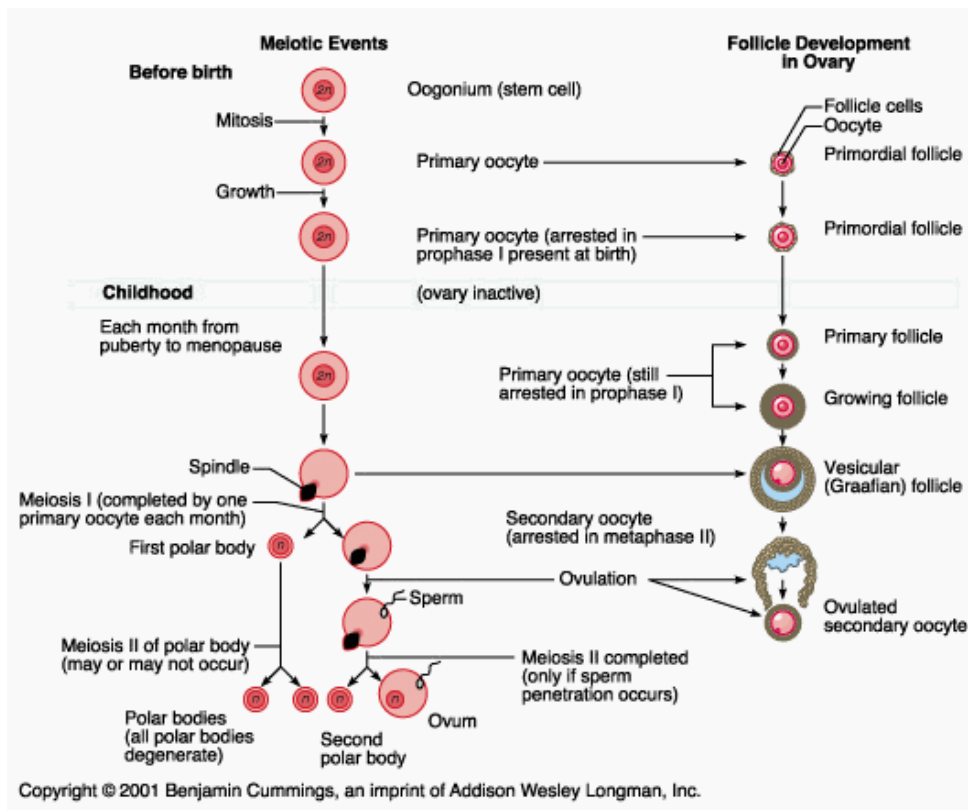


FIGURA 7: Oogenesis (25)

En el momento de nacer la mujer, en los ovarios hay millones de folículos primordiales, entre el nacimiento y la pubertad muchos de ellos se atrofian. En el momento de la pubertad, inicio de la vida fértil hay 400000 gametos presentes en el ovario de la mujer y de esos solo 400 van a tener la oportunidad de madurar completamente y tener la posibilidad de ser fecundados (28).

A partir de la pubertad, un número determinado de folículos inicia su desarrollo cada mes, aunque solamente uno, alcanza su desarrollo a Folículo de Graaf. Éste a su vez liberará el ovocito a la cavidad abdominal y de allí transportado por las fimbrias y las trompas a la cavidad uterina.

El folículo de Graff una vez ha madurado expulsa el ovocito y se transforma en cuerpo lúteo (29), (24).

El número de folículos que comienza el desarrollo en cada ciclo depende del pool residual de los folículos inactivos. En el proceso de reclutamiento folicular juegan un papel importante las gonadotropinas.

6.- BIOSÍNTESIS DE LAS HORMONAS SEXUALES EN EL OVARIO

La otra función de los ovarios humanos es la secreción hormonal. Las Hormonas sexuales femeninas producidas en el ovario son fundamentalmente el Estradiol y la Progesterona.

Todos los esteroides sexuales tanto los ováricos como los producidos en testículos, glándulas suprarrenales etc. Derivan del colesterol. Los lugares principales de producción esteroidea en el ovario son fundamentalmente la granulosa la teca y las células del cuerpo lúteo.

El colesterol necesario para sintetizar esteroides sexuales se obtiene de tres fuentes diferentes:

- Del que circula en la sangre en forma de lipoproteínas
- Del que sintetiza de Novo dentro del ovario a partir de la acetilcoenzima A
- Del que se libera de los esteres de colesterol almacenados en las gotas lipídicas.

El más importante de los estrógenos secretados por el ovario es el estradiol 17 B y su secreción al plasma es variable a lo largo del ciclo menstrual, al igual que el resto de hormonas que intervienen en el ciclo ovárico.

(Figura 8)

El más importante del progestágeno producido en el ovario es la progesterona. La progesterona es un esteroide que procede de la pregnenolona y está por tanto muy al principio de la cadena de biosíntesis esteroidea. A partir de la ovulación, el cuerpo lúteo es el principal productor de esta hormona.

En cuanto a las acciones biológicas de los estrógenos y progesterona se diferencian en que los estrógenos ejercen una diversidad de acciones sobre los distintos tejidos del organismo.

Algunas de estas acciones son:

- Estimulan desarrollo de los caracteres sexuales secundarios femeninos a partir de la pubertad.
- Estimulan la aparición de receptores para FSH
- Regulan el crecimiento de los huesos largos
- Acción en el sistema vascular y renina –angiotensina
- Distribución de la grasa corporal.

La progesterona en el ciclo ovárico actúa principalmente durante la 2ª fase del ciclo en el endometrio para preparación endometrial para la nidación y el embarazo (30)

Los estrógenos en el ciclo ovárico ejercen control de retroalimentación positiva y negativa en la liberación de LH y FSH a través del Hipotálamo.

Como hemos dicho anteriormente el control de la función ovárica está producido por las hormonas gonadotropinas hipofisarias que son: LH, FSH, Prolactina, hCG (**Figura 9**) (25) (30).

Irene Perelson del Pozo
 PROTOCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SEGÚN EL
 PATRÓN DE GLICOSILACIÓN DE LA HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE

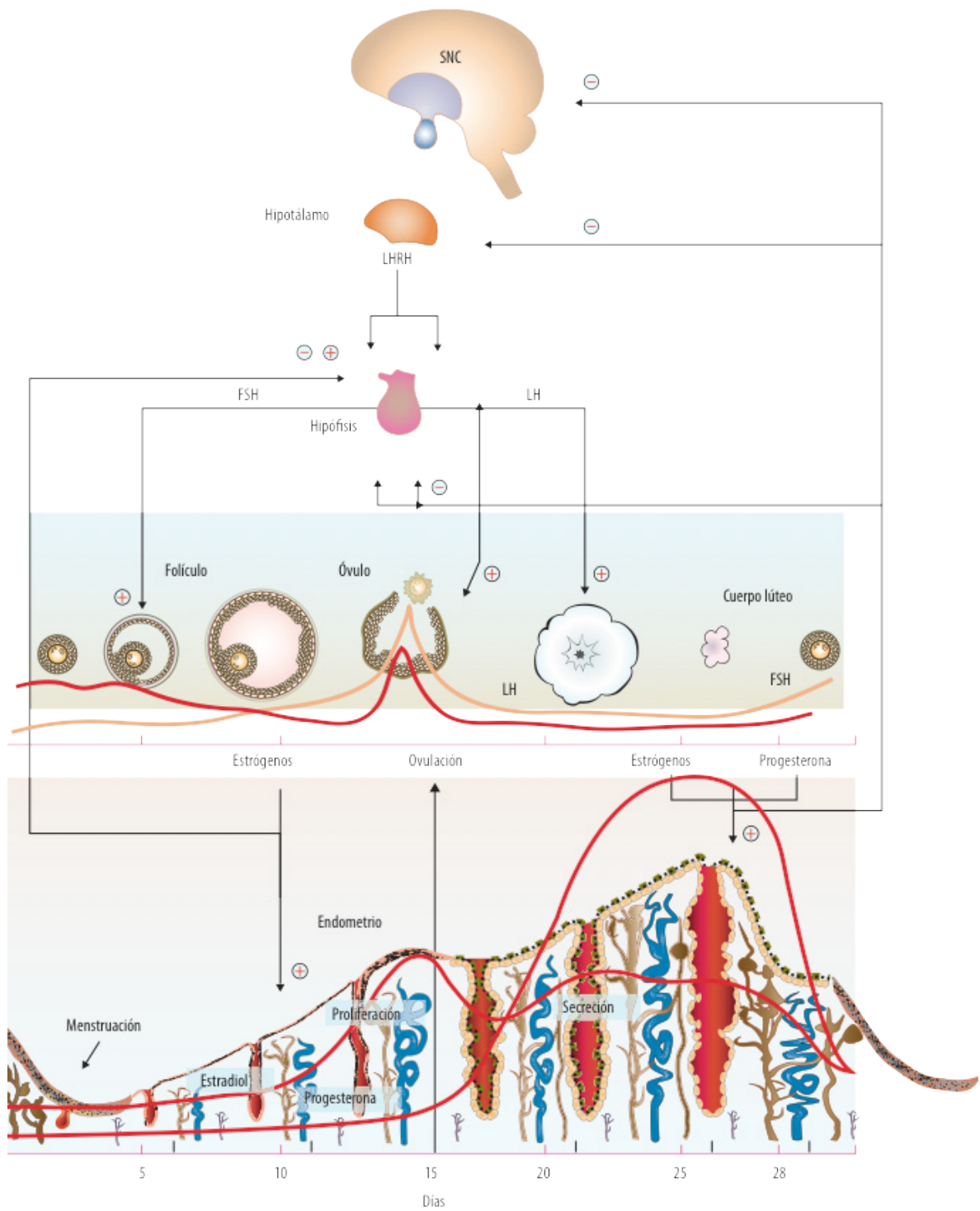


FIGURA 8: Ciclo menstrual. Evolución del folículo y endometrio en respuesta a los cambios hormonales. (30)

La FSH y la LH se producen en la misma célula y presentan una secreción pulsátil en la mujer. Además de la pulsatilidad presentan una secreción cíclica mensual.

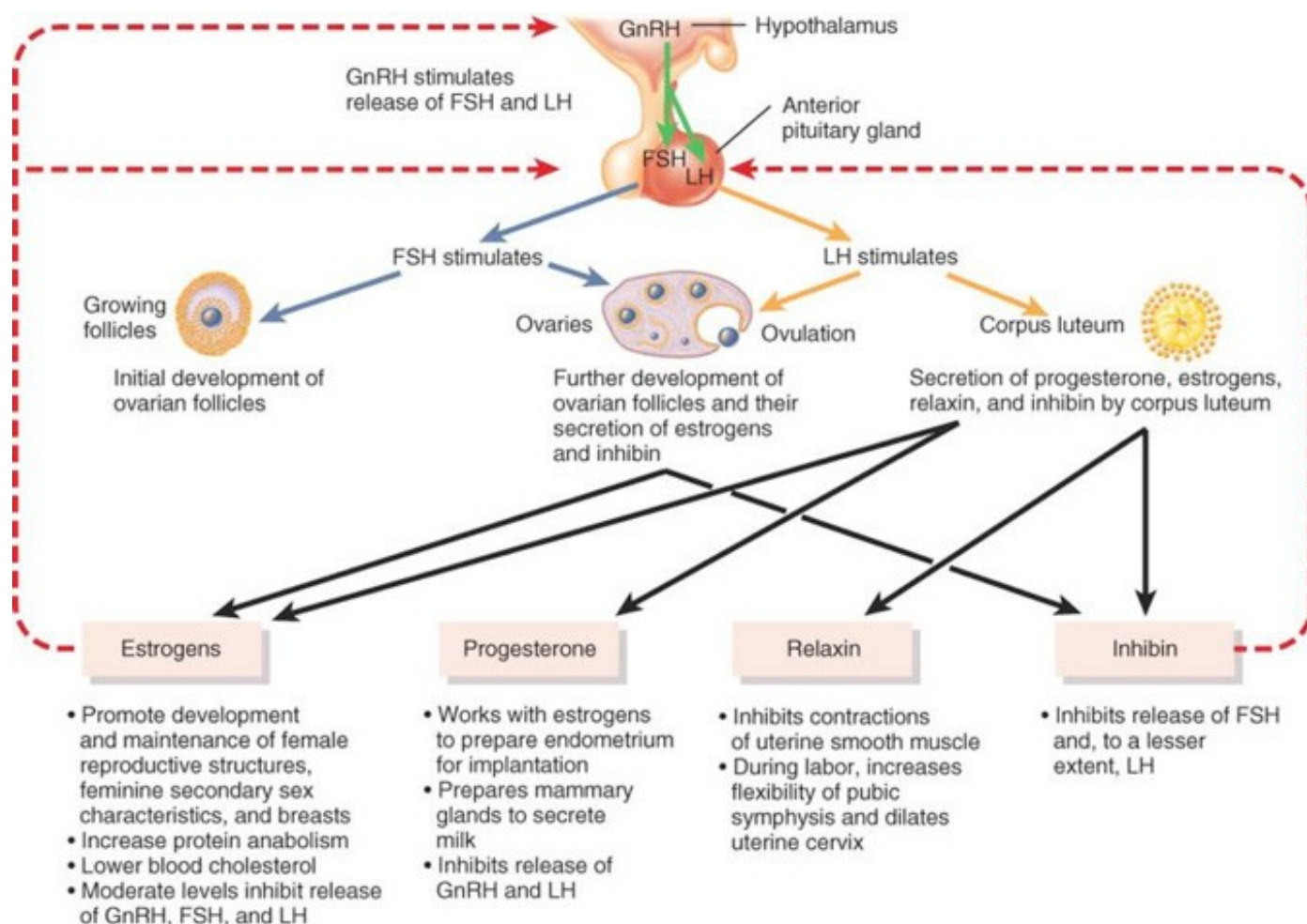


FIGURA 9: Fisiología de las hormonas sexuales femeninas (97)

7.- GONADOTROPINAS. FSH Y LH

Las gonadotropinas son un grupo de glicoproteínas heterodímeras, formadas por una parte proteica y una parte glucídica que se unen entre sí por un enlace denominado glucídico.

Existen tres tipos de gonadotropinas en la mujer:

- la folículoestimulante (FSH)
- la luteinizante (LH)
- la gonadotropina coriónica (hCG).

Estas tres gonadotropinas junto con la TSH (tirotopina o hormona estimulante de tiroides) conforman el grupo de hormonas glicoproteicas humanas. Cada glucoproteína está formada a su vez por dos subunidades, una cadena alfa y otra beta. La subunidad alfa es común para las cuatro hormonas glicoproteicas, mientras que la subunidad beta es diferente y específica de cada hormona. **(figura 10)**

Las subunidades alfa y beta están unidas por enlaces no covalentes, y mantienen una estructura terciaria en la que la subunidad beta envuelve a la alfa formando un heterodímero. (31)

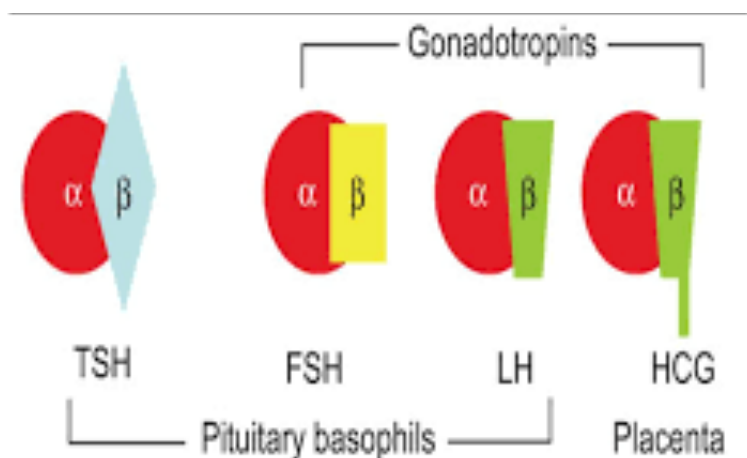


FIGURA 10: Glicoproteínas. (Imagen de "<https://slideplayer.com/slide/4280692/>" title="Chapter 2—Pituitary gland")

Las FSH y la LH son sintetizadas en la adenohipófisis y regulan la función ovárica de la mujer, tanto en la acción gametogénica como en la hormonogénica: producción de esteroides e inhibina gonadales

La FSH es la responsable del desarrollo folicular y formación de estrógenos (procedentes de la transformación de andrógenos).

La LH está relacionada con la ovulación y la luteinización de la granulosa y secreción de la progesterona.

La hCG es elaborada en la placenta de la mujer, como en la de los primates y algunos equinos. Esta gonadotropina está relacionada en estructura y actividad a la LH, su función principal es prolongar la vida del cuerpo lúteo. (32)

Las gonadotropinas se excretan por la orina y como se ha mencionado anteriormente son las hormonas responsables de la función ovárica, por lo que cuando se habla de estimulación ovárica controlada (EOC), hace referencia a la administración exógena de gonadotropinas, por lo que es muy importante para nuestro trabajo entender la estructura y función de estas hormonas hipofisarias que regulan el ciclo ovárico.

7.1.- Estructura y biología de las gonadotropinas FSH/LH:

La FSH y LH son hormonas glicoproteicas que se producen en las células basófilas de lóbulo anterior de la hipófisis.

La cadena alfa de las glicoproteínas FSH, LH, contiene un número de 92 aminoácidos, mientras que la cadena beta es específica de cada una de ellas. La subunidad beta de la FSH contiene 117 aminoácidos, y es la que le confiere su acción biológica específica y es responsable de la interacción con el receptor de FSH (**Figura 10,11**).

Las gonadotropinas, como todas las glicoproteínas están formadas por una parte proteica y otra glucídica, y la unión de estas dos partes es por un enlace glucosídico.

Pueden unirse a uno o varios carbohidratos de distintas maneras y esto es lo que les confiere una gran complejidad. Los azúcares más frecuentes son la glucosa, manosa, mucosa, N-acetilglucosamina y N- acetilgalactosamina.

Por tanto, se denomina glicosilación a la fijación enzimática de carbohidratos a las partes proteicas de las glicoproteínas, unidos a ambas cadenas lo que confiere a cada hormona, funciones y acciones biológicas diferentes, así como también diferencias en su aclaramiento plasmático y determinación de la vida media en la circulación.

El enlace glucosídico puede ser de dos tipos:

- N-glucosídico: a través del N del grupo amida de una asparagina (proteico) y el glúcido es Glucosamina.
- O-glucosídico: a través del O del grupo hidroxilo de una serina o treonina (proteico)

La mayoría de las glucoproteínas de células de mamíferos presentan una unión N- glucosídico. (33)

La FSH tiene como máximo 4 cadenas de oligosacáridos o azúcares residuales, unidas a las cadenas peptídicas, es decir tiene 4 sitios de glicosilación: 2 en posición 52 y 78 de alfa y 2 en posición 7 y 24 de beta. (34) (35)(**Figura 13**)

A su vez estas cadenas de oligosacáridos pueden contener diferente número de ácidos Siálicos, estas variaciones en la estructura de oligosacáridos es lo que nos permite obtener distintas isoformas de la FSH, que podemos encontrar a nivel hipofisario y posteriormente en la circulación y son la base de las variaciones en la vida media sérica y en la actividad biológica en la afinidad por el receptor. La vida media de la FSH es de 3-4 horas (**Figura 11,12**) (36) (35).

Irene Perelson del Pozo
PROTOCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SEGÚN EL
PATRÓN DE GLICOSILACIÓN DE LA HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE

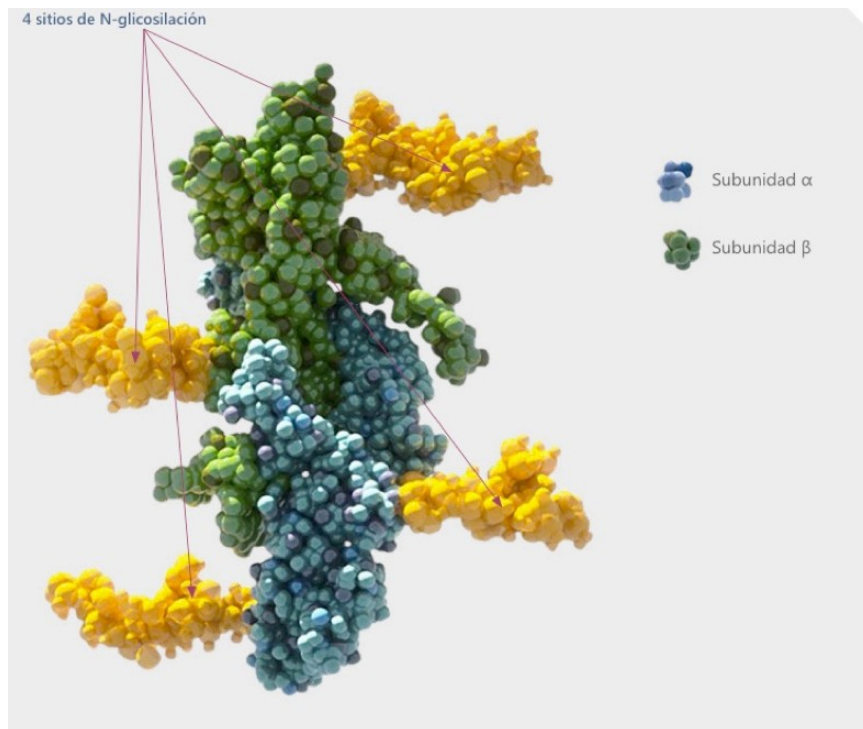


FIGURA 11: estructura de la FSH (53)

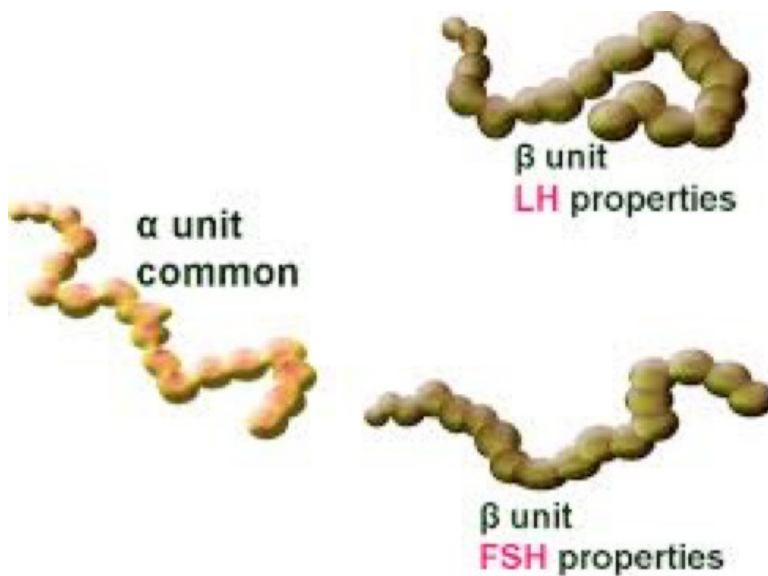


FIGURA 12: Cadenas alfa y beta de la FSH (53)

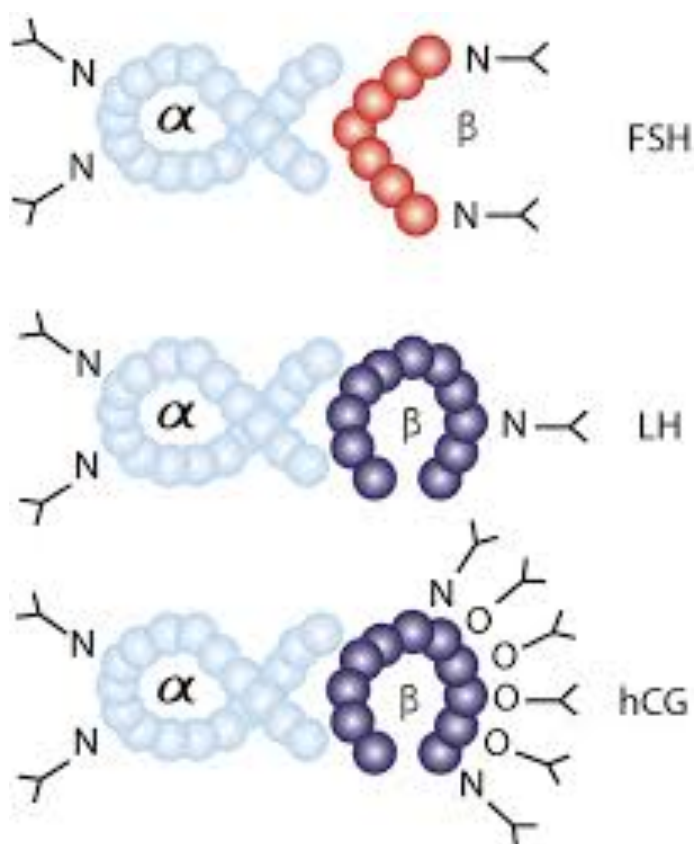


FIGURA 13: Patrón de glicosilación de la FSH, LH y la Hcg. (35)(imagen de www.scielo.br)

En cuanto a la codificación genética, las subunidades alfa y beta están codificadas por genes diferentes, localizados en cromosomas distintos. El gen que codifica la subunidad alfa común para las hormonas está en el cromosoma 6, (Cr 6p21), mientras que la familia de genes de la subunidad beta está en el Cr 11p13.

La investigación subyacente a la producción de las preparaciones gonadotrópicas más habituales engloba las últimas cinco décadas, y la industria de la producción de las gonadotropinas ha evolucionado desde los extractos

urinarios hasta la aplicación de técnicas recombinantes que revierten una amplia variedad de preparaciones de FSH para la estimulación ovárica y cuyo resultado es la ampliación de las opciones a la hora de elegir fármacos efectivos con similar eficacia clínica (37).

7.2.- Mecanismos de obtención de las gonadotropinas:

En los 85 años transcurridos desde el descubrimiento de las gonadotropinas (38), la FSH se ha convertido en el fármaco principal en las terapias contemporáneas frente a la infertilidad. Sus aplicaciones clínicas incluyen el tratamiento de la infertilidad anovulatoria y la estimulación ovárica de mujeres sometidas a un tratamiento de reproducción asistida. Además, la FSH también puede emplearse en el tratamiento de la infertilidad masculina con origen en el hipogonadismo hipogonadotrópico.

Las diferentes gonadotropinas que utilizamos en las técnicas de reproducción asistida podemos obtenerlas de diferentes formas u orígenes:

- **Extractos hipofisarios.** Las gonadotropinas se introdujeron por primera vez en las terapias de inducción de la ovulación en 1958, cuando Gemzell logró el primer embarazo con gonadotropinas extraídas de glándula hipofisaria humana (39). El uso de estos extractos continuó durante tres décadas hasta que el riesgo de infección por priones eliminó este tratamiento del conjunto de protocolos terapéuticos.

- **Extractos urinarios.** Los ovarios menopáusicos se caracterizan por un marcado descenso en la síntesis de estrógenos; como resultado, se elimina el feed back negativo de los mismos sobre el eje hipotálamo hipofisario e induce a la producción aumentada y la excreción urinaria de FSH y LH hipofisarias.

Donini describió un conjunto de técnicas para extraer estas hormonas a partir de la orina de mujeres menopáusicas para su posterior uso biológico en mujeres en edad reproductiva (40).

A) hMG:

Gonadotropina menopáusica humana. Las hormonas FSH y LH excretadas por la orina una vez procesadas en el laboratorio dan lugar a al origen de la gonadotropina menopáusica humana o menotropina.

Las primeras gonadotropinas clínicamente disponibles contenían una mezcla de FSH y LH en proporción 1:1 y una gran cantidad de proteínas urinarias. Las mejoras en las técnicas de purificación condujeron a una estandarización de la actividad FSH y LH en 75 UI para cada tipo de gonadotropina, aunque todavía persistían proteínas urinarias en las preparaciones de hMG disponibles comercialmente. La actividad LH en la hMG deriva originariamente del componente hCG, el cual se concentra durante el proceso de purificación y se añade para lograr el grado de actividad LH deseado (41).

B) FSH urinaria:

La eliminación de la LH mediante anticuerpos policlonales resultó en una preparación biológicamente pura de FSH urinaria (FSH u) que todavía contenía proteínas (42).

El uso de anticuerpos monoclonales específicos para la FSH supuso la introducción de cierto grado de refinamiento en los procesos de producción, eliminando proteínas contaminantes, lo que condujo a la síntesis de FSH urinaria altamente purificada (HP-FSH u) con menos de 0.1 UI de LH y del 5% de proteínas urinarias no identificadas. El mayor grado de pureza y el aumento en la actividad específica de la HP-FSH u permite la administración subcutánea en volúmenes muy pequeños, además de la eliminación virtual de la variación entre lotes.

- **Extractos recombinantes.** El desarrollo de la tecnología del DNA recombinante abrió la puerta a la síntesis de preparaciones de FSH recombinante (FSH r); este hecho garantizó una disponibilidad ilimitada del producto y mejoró la consistencia entre lotes en comparación con las gonadotropinas urinarias.

Estas gonadotropinas fueron obtenidas gracias al hecho de conocer y aislar los genes que codifican para cada cadena beta de FSH y LH, además de la cadena alfa. En general, la purificación de los preparados gonadotrópicos ha contribuido al diseño de protocolos de estimulación individualizados, ha facilitado el proceso de administración y ha permitido un tipo de administración subcutánea debido a la menor concentración proteica (43).

- A) FSH r:** Las dos preparaciones de FSH recombinante disponibles en el mercado son la folitropina alfa y la folitropina beta; recientemente, se ha incorporado a este grupo de fármacos la corifolitropina alfa con un sistema de liberación retardado de FSH recombinante (44).
- B) La gonadotropina coriónica** humana (hCG) se ha utilizado en los tratamientos de reproducción asistida para imitar el pico de LH endógeno, debido a las semejanzas estructurales entre la propia hCG y la LH y a que ambas hormonas estimulan el mismo receptor. Promueve los estadios finales de la maduración folicular y la progresión meiótica y puede derivar de la orina de mujeres gestantes (hCG) o bien producirse a nivel industrial como hCG recombinante (r-hCG), donde 250 µg de hormona equivalen a 5000-6000 UI de hCG.
- C) La LH recombinante** (LHr) refuerza el desarrollo folicular en combinación con la FSH en pacientes que presentan hipogonadismo hipogonadotrópico y que tienen un profundo déficit de LH (45).

7.3.- Mecanismos de acción y efectos sobre la foliculogénesis.

Aunque se ha descrito la participación de numerosos factores en el desarrollo folicular, la FSH y la LH desempeñan un papel central en los complejos y delicados mecanismos endocrinos que regulan la biología del ovario.

Comprender la estructura molecular de las gonadotropinas y de sus receptores, así como los mecanismos que gobiernan su función se ha convertido en un objetivo fundamental con el propósito de implementar sus aplicaciones en los tratamientos de reproducción asistida.

Como ya hemos mencionado anteriormente las gonadotropinas: LH y FSH tienen un papel fundamental en el ciclo ovárico. Se producen en la misma célula y presentan una secreción pulsátil en dependencia directa de la secreción de un decapeptido hipotalámico: LHRH (figura 13) (46)

La FSH y foliculogénesis



FIGURA 14: Eje hipotálamo - hipofisario – ovario (Imagen de: <https://es.slideshare.net/vespinozagomez/Feje-hipotalamo-hipofisis-ovario-71991837>)

La FSH desempeña un papel obligatorio en el mecanismo de selección y desarrollo del folículo dominante, y maduración folicular. En su mecanismo de acción incluye la unión a receptores de membrana de células ováricas y la subsecuente activación del sistema adenilciclasa. Ningún otro ligando por sí mismo posee esta actividad reguladora.

El control diferencial ejercido por la FSH a través de la ruta de señalización PKA/AMPC es el responsable del crecimiento del folículo dominante y del desarrollo durante el estadio preovulatorio.

Entre sus acciones: aumenta la conversión de andrógenos a estrógenos, controla la adquisición de la cavidad antral en folículo, inducción de aparición de receptores de LH en las células de la granulosa de los folículos preovulatorios y activación de las enzimas involucradas en la síntesis de progesterona.

Aunque todos los folículos tienen la capacidad potencial de madurar, sólo los folículos en estadios avanzados del desarrollo y más sensibles a la FSH ganan dependencia gonadotópica, experimentando un reclutamiento secundario en oposición a la fase previa independiente de gonadotropinas

En la posterior transición lúteo- folicular, los folículos seleccionados comienzan a crecer a mayor velocidad bajo la influencia de la elevación selectiva inicial de la FSH más allá de una concentración umbral crítica capaz de abrir la denominada “ventana de la FSH” y que permite la entrada de los folículos antrales más sensibles a la acción de la hormona (47).

Cuando los niveles de FSH comienzan a disminuir todos los folículos, excepto aquéllos con mayor sensibilidad a la actividad FSH, entran en atresia (48).

La FSH suministrada al comienzo del ciclo en la fase folicular temprana, actúa sobre la cohorte de folículos reclutados en los últimos días de la fase lútea del ciclo anterior, permitiendo la selección de un mayor número de folículos que puedan evolucionar a dominantes

El folículo que está madurando reduce su dependencia de la FSH mediante la adquisición de receptores y de sensibilidad a la LH (49).

La LH y foliculogénesis.

La LH ejerce un papel fundamental en la selección y dominancia monofolicular. Sirve de soporte del crecimiento folicular iniciado por la FSH proveyendo el sustrato androgénico para la aromatasa de las células de la granulosa que sintetizara el estradiol. Aunque las células de la granulosa de los folículos antrales tempranos sólo responden a la FSH, aquellos folículos maduros que expresan receptores para la LH también son capaces de responder a la hormona y son progresivamente menos dependientes del estímulo de la FSH.

La LH se une a su receptor con un elevado grado de afinidad iniciando una serie de fenómenos que culminan con la activación de un conjunto de rutas de señalización (PKA/AMPC) que conducen eventualmente a la síntesis de andrógenos (androstenediona); sin embargo, si las concentraciones de LH superan un nivel máximo, el desarrollo de los folículos preovulatorios se inhibe.

En el periodo periodo preovulatorio, con el pico de LH, se reasume la meiosis oocitaria, madura el cúmulo oóforo y se produce el estallido folicular con la expulsión del ovulo y la formación del cuerpo lúteo.

En lo que queda de ciclo la LH será el soporte de ese cuerpo lúteo.

A continuación, se describen las fases del ciclo ovárico y los cambios hormonales que ocurren en cada fase: **(figura 15)**

Hasta la menarquia, los folículos del ovario quedan detenidos en el estadio de folículo primordial o entran en atresia. A partir de la menarquia:

1. Fase folicular temprana:

Ocurre el sangrado menstrual y hay un pequeño pico de FSH en sangre que provoca el desarrollo de folículos primarios. (reclutamiento de folículos inmaduros) Niveles plasmáticos bajos de hormonas sexuales. Elevación de receptores de LH, en células de la granulosa y teca.

2. Fase folicular media:

Desarrollo folículo dominante, es el que presenta más receptores para la FSH. Este folículo comienza a secretar más estrógenos e inhibina, lo que produce una disminución de la producción de FSH en la hipófisis y atresia de folículos con menos receptores.

3. Fase folicular tardía:

Se forma el folículo antral y folículo de Graff y a nivel hormonal hay un incremento de los estrógenos por el folículo dominante.

4. Fase peri-ovulatoria:

El estradiol excretado por el folículo dominante alcanza el pico máximo y actúa sobre la hipófisis desatando picos de LH y FSH. El pico de la LH es mayor y produce un

aumento de la AMPc lo que da lugar a la rotura de la pared del folículo y la liberación del ovocito. Tras la ovulación disminuyen los estrógenos y la progesterona comienza a elevarse por la producción desde el cuerpo lúteo.

5. Fase luteínica inicial:

Formación del cuerpo lúteo por efecto de la LH. Incremento rápido de los niveles de PROGESTERONA. Los estrógenos vuelven de nuevo a elevarse. Y la LH y FSH disminuyen.

6. Fase luteínica media:

La progesterona alcanza concentraciones máximas, y los estrógenos un segundo pico (menor que el ovulatorio) Las gonadotropinas alcanzan los niveles más bajos del ciclo menstrual por el feed back negativo de los estrógenos y progesterona.

7. Fase luteínica tardía:

Si no se ha producido embarazo, declina la producción de estradiol y progesterona, y comienza el aumento de gonadotropinas, fundamentalmente FSH. El cuerpo lúteo va regresando por lo que los niveles de esteroides disminuyen (29).

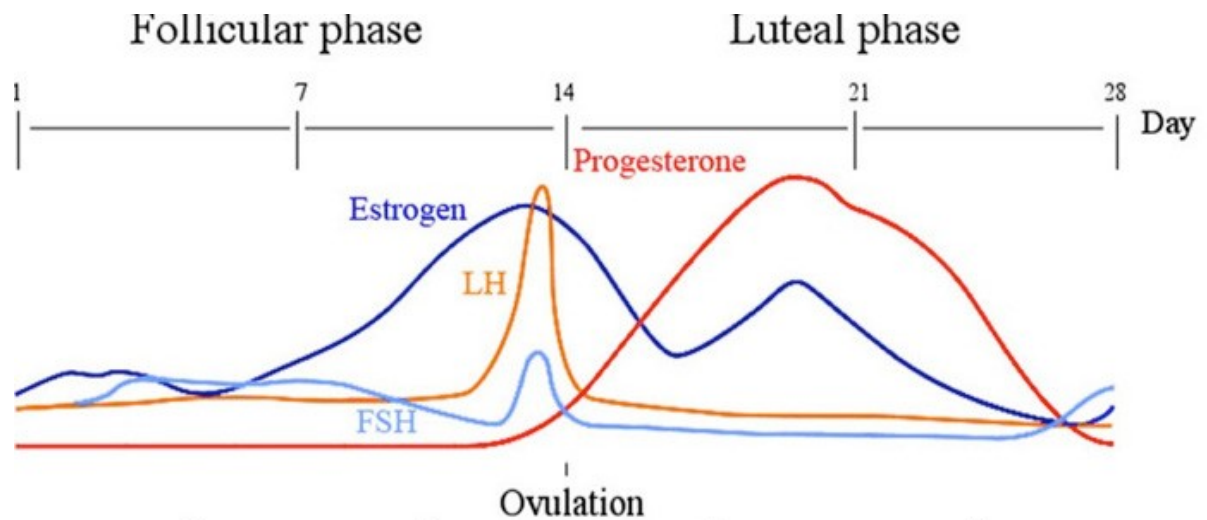


FIGURA 15: Ciclo ovárico normal (98)

7.4.- Hormona FSH de origen humano altamente purificada: glicosilación de la FSH.

Ya se ha explicado, que las gonadotropinas son un grupo de glicoproteínas heterodímeras que incluyen la hormona estimulante del folículo (FSH; del inglés, follicle stimulating hormone), la hormona luteinizante (LH; del inglés, luteinising hormone) y la gonadotropina coriónica (CG; del inglés, chorionic gonadotrophin). Estas hormonas regulan la función gonadal femenina. (Figura 16) (50).

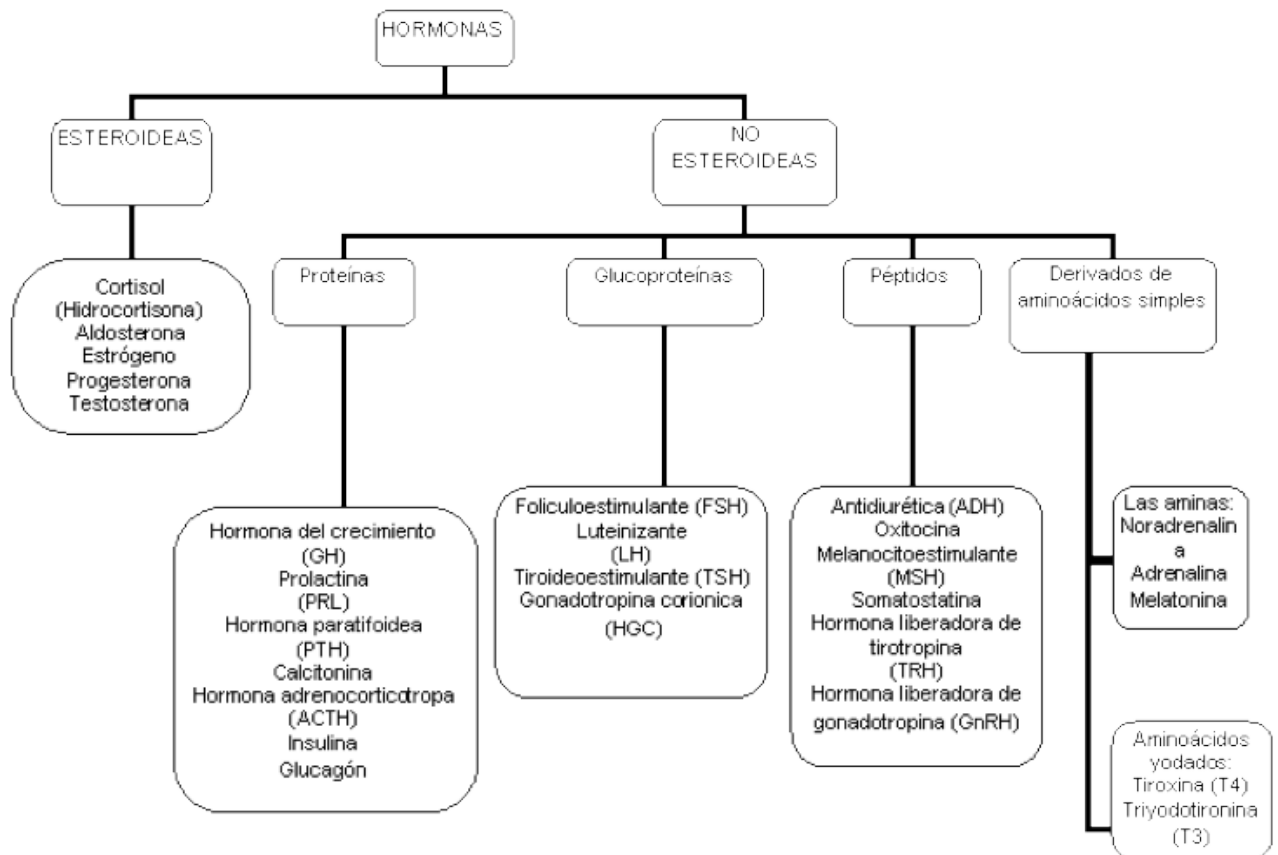


FIGURA 16: Síntesis de gonadotropinas (50)

La FSH humana es una glucoproteína con dos subunidades, la subunidad alfa de 99 aminoácidos y la subunidad beta de 111 aminoácidos. Sobre estas cadenas tienen unidos oligosacáridos, tiene como máximo 4 cadenas de carbohidratos, dos unidos a la subunidad proteica alfa y dos unidos a la subunidad beta.

Existen a su vez dos tipos de glicosilación: la primera la denominamos unión o glicosilación O-LINKED: implica un enlace a N-acetilgalactosamina (oligosacárido) a través del grupo hidroxil de una serina o Threonina del polipeptido. (figura 18).

La segunda la denominamos glicosilación N-LINKED: es la unión de la N acetilglucosamina (oligosacárido) a través del grupo amida de la aspargina (Asn) del polipéptido. (figura 17)

La FSH humana contiene únicamente enlaces o glicosilación tipo N-LINKED. (figura 13) (51). En la subunidad α , de la FSH la glicosilación es en las posiciones Asn 52 y Asn 78. Y en la subunidad β de la FSH en las posiciones Asn 7 y Asn 24.

Las otras glicoproteínas tienen enlaces N-linked en las posiciones 13 y 30 en la hCG. y en la LH humana, un oligosacárido está fijado en la posición 30 de la subunidad β .) La hCG tiene además cuatro cadenas laterales oligosacáridas unidas a Serina (O-unidas), presentes en la porción terminal (carboxílica) (52)

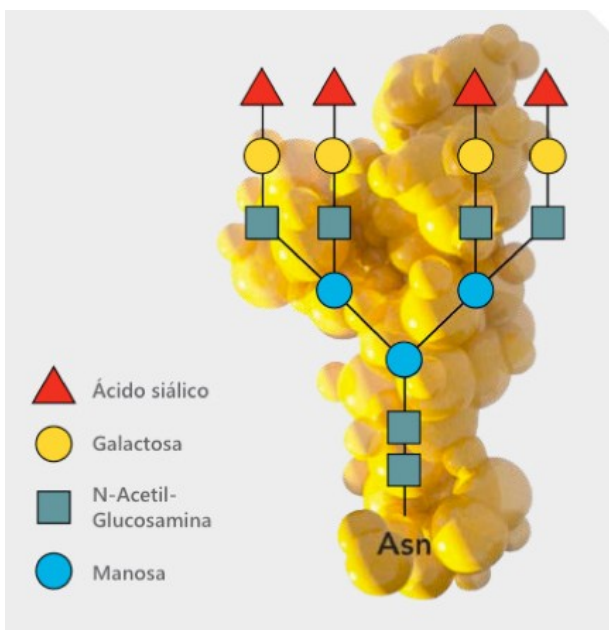


FIGURA 17: Residuo glucídico N-like (53)

PROTOCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SEGÚN EL PATRÓN DE GLICOSILACIÓN DE LA HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE

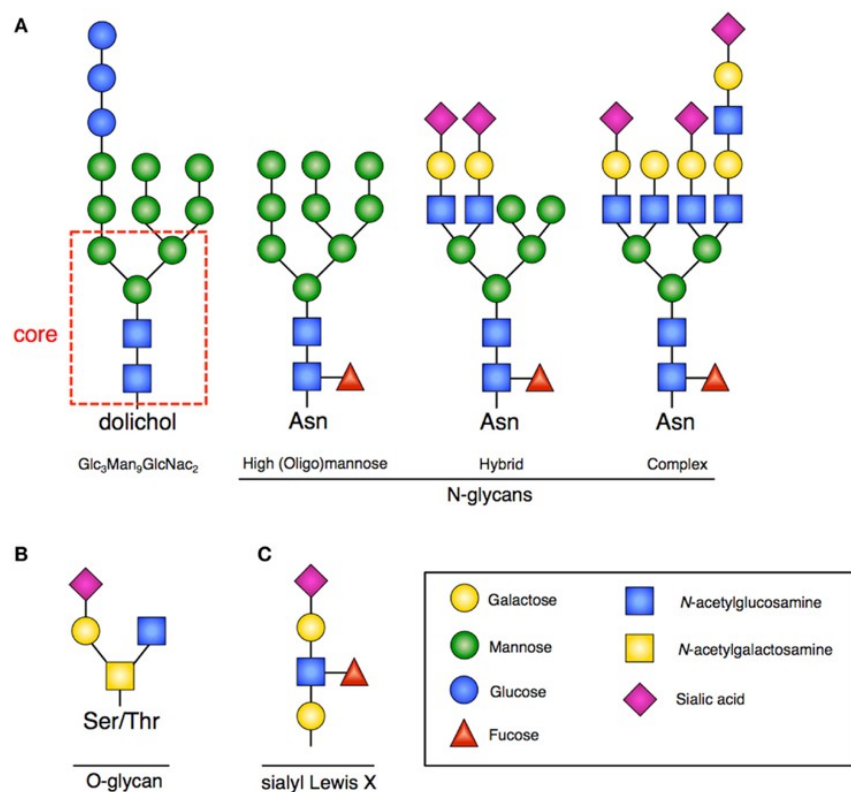


FIGURA 18: Estructura cadena oligosacáridos (Imagen de: Reserchgate.net)

Como con todas las glicoproteínas, en las gonadotropinas y en especial en la FSH se han encontrado más de 30 variaciones en la estructura oligosacárida, lo que da lugar a un conjunto de isoformas diferentes de la FSH, que se hallan en la glándula hipofisaria y en circulación.

Por otro lado, además de estas diferencias, en la cadena de oligosacáridos que nos dan las diferentes isoformas, hay diferencias en el grado terminal o de remate del hidrato de carbono, que pueden ser tanto residuos de ac siálico (-COOH) o residuos de ácido sulfónico. Es lo que se conoce como sialilación o sulfonación.

Estos residuos terminales van a conferir diferentes características a las moléculas y diferentes acciones y características moleculares. (54). En la hormona FSH los residuos de ac siálico son mucho más comunes que los residuos sulfonados. (Figura 19)

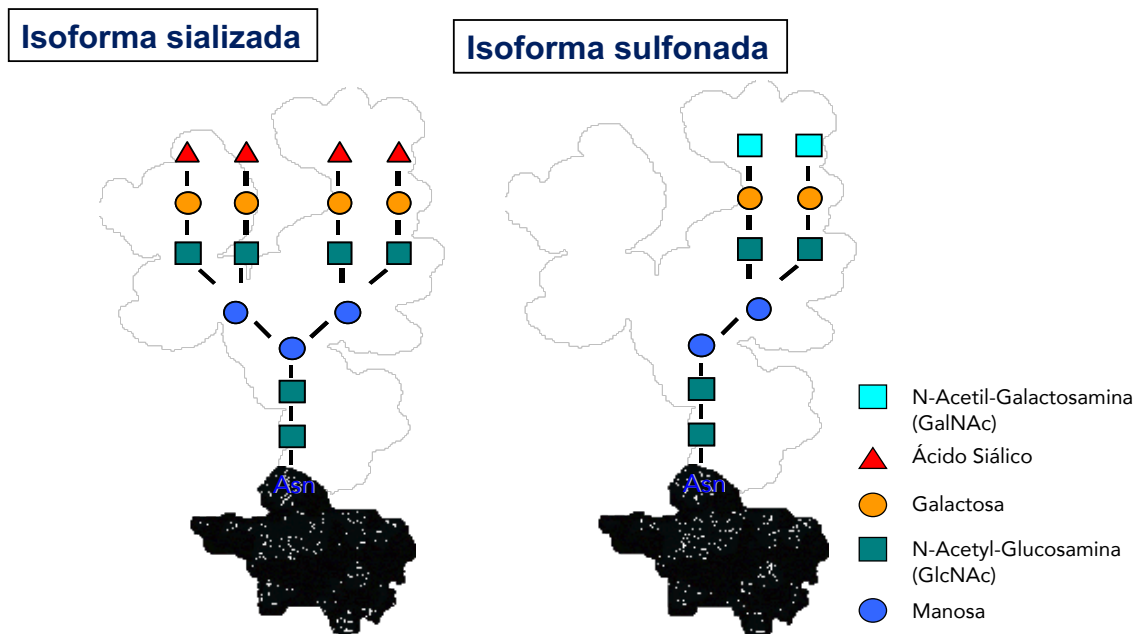


FIGURA 19: Isoformas

(Imagen presentación Manuel Muñoz "Fisiología e impacto clínico de las diferentes isoformas de la FSH. Campus SEF)

El ácido siálico corresponde a una molécula con un grupo $-COOH$, el cual confiere una carga negativa en la molécula. Cuanto mayor sea el número de cadenas de oligosacáridos y de ácidos siálicos, mayor será la acidez de la molécula y menor será el punto isoeléctrico. (pI) (figura 20) (55) (56).

El pI es el pH en el que las proteínas maduras son eléctricamente neutras.
(57)

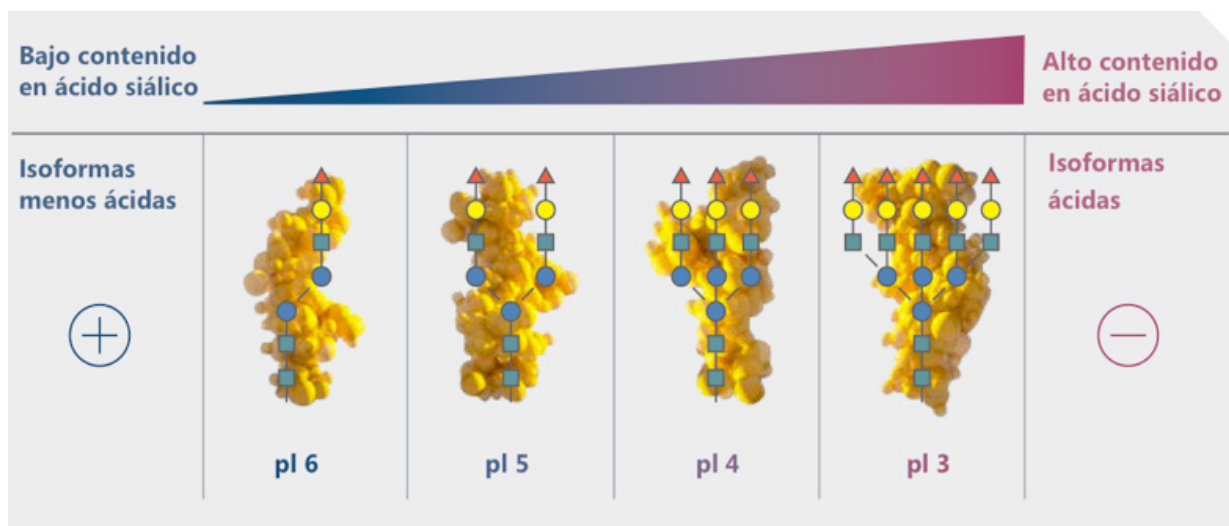


FIGURA 20: Diferentes isoformas de la FSH según su pI (62)

7.5.- Isoformas de FSH

La FSH no es una hormona de estructura única, sino que está constituida por un grupo de isoformas. La distribución de los oligosacáridos sializados construye la base bioquímica para la formación de las isoformas. La GnRH además de ser el factor más importante en la regulación y síntesis de gonadotropinas, también modula su glicosilación.

Las isoformas pueden ser separadas basándose en su carga, la cual viene determinada en gran medida por el número y la distribución de oligosacáridos N-unidos sialilados. Las formas muy sialiladas tendrán un punto isoeléctrico (pI) más bajo que la media y son denominadas “ácidas”. Las formas menos sialiladas tienen una pI comparativamente mayor y son denominadas “básicas” (**figura 20**) (54).

Como consecuencia de sus diferencias estructurales, las isoformas gonadotropínicas difieren en su capacidad para unirse a receptores de células diana. Es decir, cada isoforma ejerce señales diferentes a nivel del receptor de la FSH, y cuando distintas isoformas de la FSH actúan sobre el mismo receptor la respuesta de la célula no es la misma.

En realidad, estas isoformas actúan como agonistas sesgados provocando diferentes respuestas celulares y tienen diferencias en cuanto a la vida media plasmática y la bioactividad in vivo e in vitro.

1. Isoformas de la FSH y ciclo ovárico

Existen a nivel fisiológico cambios en las isoformas de FSH, se ha observado en extractos hipofisarios animales y humanos, que las variantes más ácidas, sializadas, presentan una vida media plasmática prolongada. Por ejemplo, un factor fisiológico puede ser el paso a la pubertad, donde se ha observado que hay un cambio de isoformas más ácidas a otras menos ácidas. Esto supone que en determinadas etapas de la vida de la mujer la hipófisis selecciona la secreción de un grupo de isoformas.

Esto también ocurre a lo largo del ciclo ovárico. Y es importante conocer que también el grado de acidez influye en la capacidad que tiene la FSH de sobrevivir en la circulación sanguínea, es decir en su semivida plasmática.

Las isoformas de FSH que poseen un mayor contenido de ácido siálico circulan durante periodos de tiempo más prolongados porque los restos de ácido siálico terminales “taponan” los restos de galactosa, lo que evita una interacción con receptores asialo-glicoproteínicos hepáticos y su eliminación de la circulación. El ácido siálico protege a las isoformas de FSH de su eliminación plasmática. Si los residuos sulfonados son menores, el aclaramiento hepático se reduce. **(figura 21)** (58).

Así, varios grupos de estudio han demostrado que isoformas muy ácidas/sialiladas tienen semividas plasmáticas considerablemente más largas en modelos animales, tales como el ratón y la rata (54). También se ha demostrado que el perfil de isoformas de la FSH endógena varía en los seres humanos.

Las isoformas ácidas con largas semividas in vivo y relativamente baja potencia biológica son predominantes en el suero de niños prepúberes, pacientes hipogonadales y en mujeres durante la fase folicular. Por contraste, las isoformas menos sialiladas, más básicas, con cortas semividas in vivo y relativamente elevada actividad biológica in vitro se encuentran durante la pubertad, y durante la mitad del ciclo en las mujeres (59), esto es esencial para la consiguiente ovulación.

Se observa que en la primera mitad de la fase folicular las isoformas de la FSH son predominantemente ácidas y solo a medida que se acerca la ovulación, la hipófisis libera isoformas de FSH menos ácidas.

El estradiol liberado por el folículo afecta a la hipófisis y ordena que libere isoformas menos ácidas. Durante la fase folicular temprana los niveles de estradiol no están elevados y se observan por tanto más isoformas ácidas.

Los tres días antes de la ovulación cuando el estradiol es elevado la hipófisis recibe la orden de producir isoformas menos ácidas (59) (60)

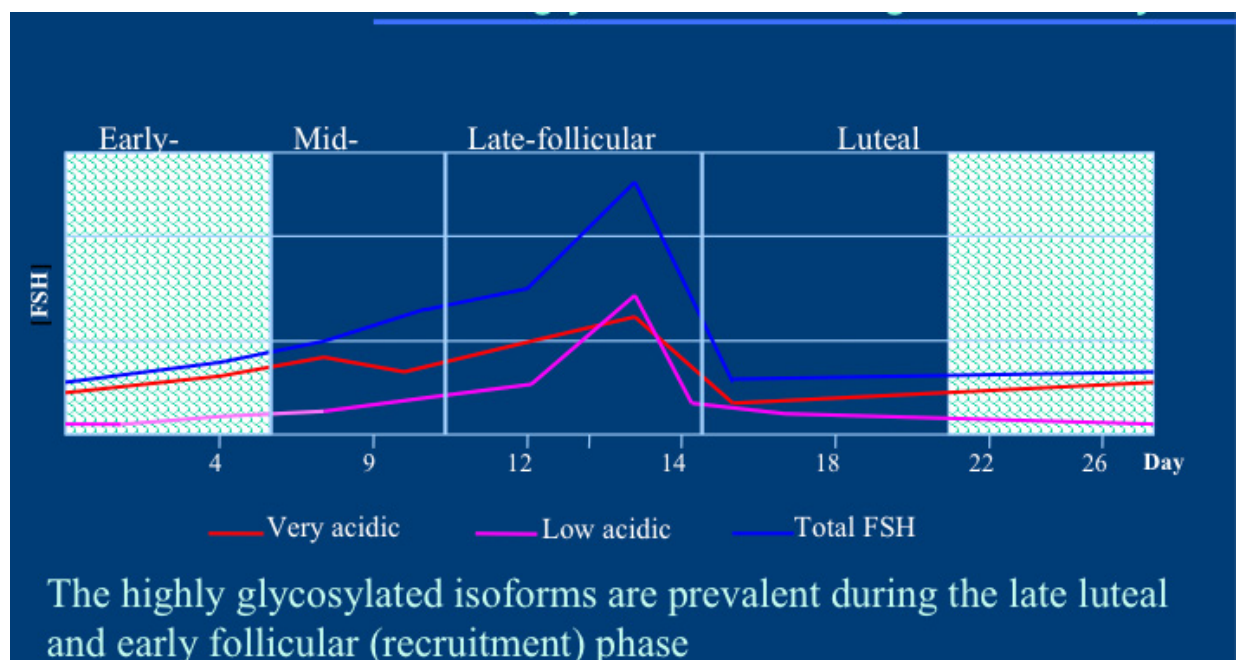


FIGURA 21: Isoformas de la FSH durante el ciclo ovárico (61)

La FSH estimulara en la fase folicular temprana la proliferación de las células de la granulosa, que estimularan la transformación de andrógenos en estradiol.

En la segunda mitad de la fase folicular, la LH es la que desempeña básicamente este papel. Aparecerán receptores de LH en las células de la granulosa y estas células transforman andrógenos en estradiol.

En los folículos antrales, los receptores de FSH se encuentran ampliamente expresados mientras que apenas se observan receptores de LH. (éstos últimos se localizan principalmente en las células de la teca).

En los pequeños folículos antrales, la expresión de receptores de FSH es extremadamente elevada, pero cuando alcanzan 9 mm de diámetro y llegan a fase preovulatoria, los niveles de expresión de los receptores de FSH caen y cuando aspiramos el folículo maduro los receptores de FSH prácticamente han desaparecido.

En cambio, los niveles de LH son bajos durante la mitad de la fase folicular y justo antes del pico ovulatorio se observan niveles muy altos de expresión. **(figura 21)** (59)

2. Isoformas de la FSH y estimulación ovárica.

Las diferencias y características de las isoformas de la FSH, implican también diferencias en los aspectos se aplican a la clínica y en las técnicas de

reproducción asistida en cuanto al tipo de isoformas de FSH que contienen los medicamentos.

Para determinar las diferentes isoformas, acidas o menso acidas de cada medicamento se utiliza el numero Z: índice cuantitativo del contenido de ácido sialico.

El parámetro “número Z” proporciona una medida de qué proporción de las antenas de los grupos hidrato de carbono de una glicoproteína llevan restos cargados. (ácido siálico). La FSH desialilada tiene un número Z de 0. La FSH totalmente sialilada tendría un número Z de entre aproximadamente 230 y 280. (figura 22) (62)

Relative amount (%)			
Glycan type	Fostimon	Gonal-F	Puregon
Asialoglycan	2.1	4.6	12.6
Mono-sialylated	5.1	23.3	43.3
Di-sialylated	41.6	45.1	33.4
Tri-sialylated	35.7	19.8	8.6
Tetra-sialylated	15.5	7.2	2.0
Estimated Z-number	257	202	144

The “Z number”: quantitative index for sialic acid content

FIGURA 22: Estudio IBSA, numero Z de Puregon, Fostipur, Gonal. (62)

PROTOCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SEGÚN EL PATRÓN DE GLICOSILACIÓN DE LA HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE






Oligosaccharides composition					
	0-sialic (%)	1-sialic (%)	2-sialic (%)	3-sialic (%)	4-sialic (%)
Fostimon (IBSA) <small>IBSA data on file</small>	2	5	36	41	16
Bravelle (Ferring) <small>Wolfenson 05</small>	<5	2	57	36	<5
Puregon (Organon) <small>De Leeuw 96</small>	13	43	33	9	2
Gonal F (Serono) <small>Driebergen 03</small>	8	30	47	12	3
					

FIGURA 23: Diferencia entre patrones de salinización en las formas de FSH recombinante y urinaria (63)

Así se pueden encontrar diferencias biológicas entre la FSHu y la FSHr tales como que las isoformas presentes en la FSHu son más ácidas que las de la FSHr y por tanto más estables y con más vida media. Las menos ácidas, es decir las presentes en FSHr son más potentes en su unión al receptor, pero tienen una vida media más corta. (**Figura 23**)

El desarrollo de preparaciones de FSH de eficacia aumentada permitiría que la administración diaria de FSH fuera disminuida y/o permitiría un acortamiento del período de tratamiento (es decir, menos inyecciones) y/o permitiría que las inyecciones se administraran menos frecuentemente. Esto haría que los regímenes de ART y OI fueran más convenientes y cómodos para el paciente (64).

Respecto a la comparación de los medicamentos de FSH u y FSH r existen múltiples estudios clínicos como el de Smitz et al 2011, Van Wely, revisión Cochrane 2011. En casi todos ellos no existen diferencias significativas.

Vitt et al. llevaron a cabo un estudio in vitro en el que cuatro preparaciones de FSH humana recombinante de diferentes pI eran comparadas en cuanto a su capacidad para causar un aumento de tamaño y de producción de estradiol (E2) en folículos aislados de ratón. Se halló que la FSH básica (pI de 5,0- 5,6) conducía a un crecimiento más rápido de los folículos y daba lugar al tamaño máximo de folículo, seguida de la FSH recombinante no fraccionada (65). La importancia de los patrones de glicosilación en el ciclo menstrual natural influirán en el éxito de los protocolos de estimulación (66) (67).

El objetivo es conocer el ciclo menstrual natural, para encontrar un protocolo que lo imite lo mejor posible en los tratamientos in vitro y así obtener el mejor de los resultados.

Se buscan nuevos protocolos de estimulación que ofrezcan una mejora a los ya existentes, ya que los regímenes típicos descritos para ART y OI requieren inyecciones diarias de gonadotropinas a lo largo de un período prolongado, una media de 10 días, y hasta 21 días en algunos pacientes (56).

Sería incluso cuestionable el plantearse realizar ciclos de inseminación artificial sin estimulación ovárica previa en las pacientes que tengan función ovárica conservada, aunque existe evidencia científica para justificar de forma rutinaria la EOC asociada a la IAC en la esterilidad femenina o en la esterilidad de origen desconocido, ya que mejora las tasas de embarazo con una evidencia grado A y grado C en las causas masculinas. (68)

8.- PROTOCOLO DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN REPRODUCCIÓN ASISTIDA

La estimulación ovárica controlada (EOC) es una parte esencial en el manejo de la mujer en las técnicas de reproducción asistida (TRA). En la actualidad existen múltiples medicamentos y protocolos de estimulación diferentes. La terapia con gonadotropinas es el elemento central de los tratamientos de infertilidad, y según la técnica de reproducción asistida indicada, y del protocolo se usan unas determinadas dosis de gonadotropinas. Desde principios de los años 60, las gonadotropinas son un componente esencial de la estimulación de la función gonadal (38). Así, el tratamiento con gonadotropinas para la inducción de la ovulación se inicia en los años 60, y para la estimulación del desarrollo multifolicular, en los años 80, (37) desde la consecución del primer tratamiento con FIV con éxito en el año 1978.

Existe evidencia científica para justificar de forma rutinaria la estimulación ovárica controlada asociada a la inseminación artificial (68). El objetivo ideal sería alcanzar el desarrollo de 2-4 folículos maduros, siempre que no estén acompañados de una cohorte de folículos pequeños (69). Las gonadotropinas son el tratamiento de elección en la inseminación artificial conyugal. Aunque todavía persiste en la literatura una cierta controversia sobre cuál de los dos regímenes alcanza mayores tasas de embarazo, actualmente en España, las Unidades de reproducción optan significativamente por el uso de gonadotropinas recombinantes (74% de los tratamientos de estimulación de ovulación; fuente: *IMS Health*).

Este criterio de elección está basado en su mayor pureza, homogeneidad entre lotes del fármaco, seguridad biológica, elevada actividad específica y eficiencia (70).

Las gonadotropinas de origen recombinante son tan eficaces como las de origen urinario (no muestran diferencias significativas en el número y/o la calidad de los ovocitos y embriones obtenidos ni en la tasa de implantación (71).

8.1.-Pautas de administración de gonadotropinas:

En general existen dos pautas de administración de gonadotropinas para la estimulación ovárica: pauta “step up” o pauta “step down”

- **Pauta inicial fija.**

Inicio día 2-3 de ciclo con una dosis fija de gonadotropinas, la cual se mantiene durante 5 días; tras el primer control ecográfico y hormonal, esta dosis puede modificarse en función de la respuesta de la paciente.

Una variante de este protocolo es la pauta ascendente con dosis bajas, caracterizada por dosis iniciales de 50-75 UI de FSH que van aumentando gradualmente en caso de no obtener una respuesta ovárica adecuada; esta alternativa suele estar indicada en paciente con ovario poliquístico.

- **Pauta descendente.**

Inicio día 2-3 de ciclo con dosis de reclutamiento (200-300 UI), que se mantienen 2-3 días y que se reduce en los días posteriores. Esta pauta es más utilizada para tratamientos de fecundación in vitro.

En el caso de Inseminación artificial las dosis suelen ser de 75 UI. Y se puede descender a dosis de 50 UI o DE 37,5 UI.

8.2.- Tipos de gonadotropinas para estimulación ovárica:

Existe un amplio catálogo de gonadotropinas disponibles para la EOC:

HMG (gonadotropina menopáusica humana). Se obtiene por purificación de la orina de mujeres post-menopáusicas.

El preparado estándar contiene 75 UI tanto de FSH como de LH en proporción 1:1. Indicada en tratamientos de inducción de la ovulación y/o de estimulación ovárica en mujeres que desean concebir afectadas de hipogonadismo hipogonadotrópico, anovulación de origen hipotalámico o hipofisario, oligo-ovulación, fracaso de tratamientos con citrato de clomifeno, síndrome de ovario poliquístico, esterilidad sin causa aparente y mujeres normo-ovuladoras con un solo ovario.

FSH (hormona foliculo-estimulante):

FSH urinaria o Urofolitropina y FSH recombinante: Folitropna Alfa, Beta y Corifolitropina.

A partir de la HMG se separaron ambas gonadotropinas con el objetivo de mejorar el control hormonal y los resultados clínicos.

El primer paso eliminar la LH y con el uso de anticuerpos monoclonales específicos para la FSH, obtener FSH altamente purificada (HP-FSH); estas preparaciones contienen menos de 0.1 UI de LH y menos de un 5% de proteínas. La mayor pureza de la HP-FSH y el aumento de la actividad específica permiten la administración vía subcutánea además de la eliminación virtual de la variabilidad entre lotes.

Por otro lado, los avances en la tecnología del DNA recombinante abren la puerta a la obtención de preparaciones de FSH recombinante (43).

Las diferencias entre estos preparados radican en la pureza de la hormona. En la mayoría de los estudios publicados no se han podido demostrar diferencias estadísticamente significativas entre la FSH r y las de origen urinario. Algunos estudios sí que hablan de ventajas de la FSH r sobre la urinaria (72).

LH (hormona luteinizante):

La LH recombinante se encuentra disponible para uso clínico desde 1993 en viales de 75 UI. Este producto refuerza el desarrollo folicular cuando se aplica en combinación con FSH en pacientes con hipogonadismo hipogonadotropo que presentan un déficit profundo de LH (45).

8.3.- Gonadotropinas: Inductores de la ovulación

El momento de inducir la ovulación viene indicado por los siguientes criterios:

1. Criterios ecográficos. Presencia de al menos 1 folículos de 17-18 mm de diámetro.
2. Criterios analíticos. Estradiol en suero de 300 pg/ml por cada folículo que alcance un diámetro medio de 17 mm.

En los ciclos de estimulación ovárica existen varias formas de inducir la ovulación:

- Inducción de la ovulación con Hcg exógena.
- Inducción de la ovulación con agonistas de la GnRH.
- Inducción de la ovulación con LH recombinante.

HCG (gonadotropina coriónica humana):

La hCG ha sido el método estándar de inducción de la ovulación durante décadas en los tratamientos de reproducción asistida debido a su parecido estructural y biológico con la LH, ya que ambas moléculas se unen al mismo receptor.

La ovulación ocurre 37 horas después de administrar la hCG, por lo que los folículos deben ser aspirados a las 32-36 horas en el tratamiento de FIV, mientras que si estamos realizando una IA este debe realizarse a las 24-36 horas tras la administración de la hCG (70) (73).

8.4.- Gonadotropinas: supresión hipofisaria:

Uno de los principales inconvenientes de la EOC es la luteinización precoz y la ovulación a raves del pico de LH endógeno, por eso las intervenciones farmacológicas que bloquean el pico de LH facilitan el control del ciclo, disminuyen las tasas de cancelación y aumentan los porcentajes de éxito.

Los análogos de la GnRH son modificaciones del decapeptido original, su principal indicación es evitar el pico prematuro de LH y la posterior luteinización del folículo que ocurre normalmente durante la estimulación con gonadotropinas

Los **agonistas** de la GnRH están indicados para evitar picos prematuros de LH en ciclos previos de estimulación ovárica, en pacientes con niveles basales de LH y/o de andrógenos elevados, que van a someterse a un tratamiento de estimulación y en pacientes con síndrome de ovarios poliquísticos.

La inhibición de un pico prematuro de LH por los agonistas de la GnRH requiere al menos 7 días, y está acompañado de una estimulación inicial de los receptores de GnRH antes de que se logre la desensibilización hipofisaria.

Por el contrario, los **antagonistas** compiten directamente con la GnRH endógena por unirse al receptor y son capaces de inhibir rápidamente la secreción de gonadotropinas y de hormonas esteroideas (52). Esta propiedad

confiere a los antagonistas una ventaja potencial sobre los agonistas en la gestión de la estimulación ovárica.

Por tanto, el protocolo de antagonistas presenta una serie de ventajas con respecto al protocolo largo con agonistas, es decir el uso de antagonistas en Inseminación artificial permite prevenir el pico prematuro de LH y es más fácil y más rápido.

Los antagonistas actúan en un margen de pocas horas después de su administración y, pueden ser administrados sólo cuando existe un riesgo evidente de pico de LH. Este hecho contrasta con los agonistas de la GnRH, que necesitan 7-10 días para desensibilizar la hipófisis.

El antagonista se administra 0.25 mg diarios de antagonista a partir del sexto día de estimulación, protocolo fijo y/o a partir de la detección ecográfica de al menos un folículo de 14 mm o más, protocolo flexible, hasta el día de la inducción de la ovulación (74). En inseminación artificial igualmente se puede añadir cuando la estimulación está en marcha para poder controlar el ciclo y programar el día de la IA.

9.- JUSTIFICACIÓN

La inseminación artificial no es sólo una alternativa válida en el tratamiento de la esterilidad, sino que en muchos casos es la primera opción terapéutica en muchas parejas. La inseminación artificial conyugal consigue tasas superiores de embarazo que el coito programado, tanto en ciclos naturales como estimulados, en la esterilidad de origen masculino de tipo leve-moderada, en la incapacidad de depositar semen en la vagina, en la esterilidad de origen femenino con al menos un trompa permeable y en la esterilidad idiopática (75).

Cuando se revisa la literatura reciente, parece haber una controversia entre aquellos que aún creen en el beneficio costo-efectividad de la inseminación intrauterina y los que creen lo contrario (76). La IIU es un procedimiento simple, no invasivo y relativamente poco costoso, pero con tasas de embarazo mucho menores, comparado con la FIV y el ICSI, que cada vez están mostrando tasas de éxito más altas y que hacen necesario que se establezca el rol de cada uno dentro de los tratamientos de fertilización asistida.

Mientras que las tasas de éxito con FIV parecen haberse incrementado en las últimas décadas, las tasas de embarazo después de IIU con ciclos estimulados han permanecido más o menos igual. Nyboe y col. (77), en el reporte de la ESHRE 2005, presentaron una tasa de embarazo de FIV por aspiración de 26,9% y una tasa de embarazo por intento de IIU de 12,6%. La tasa de embarazo múltiple aún difiere entre ambos tratamientos: 12,1% después de IIU y 21,8% después de FIV.

Teniendo en cuenta estos resultados y el hecho de que un ciclo de FIV/ICSI es aproximadamente tres veces más caro que un ciclo estimulado de IIU (en Europa), considerando los costos aún parece que la IIU con ciclo estimulado tiene un lugar dentro de los tratamientos por infertilidad.

La probabilidad de embarazo por ciclo y el número de ciclos en la cual la tasa de embarazos permanece constante, depende del diagnóstico, la edad, la calidad espermática y el número de folículos desarrollados.

Estas tasas están alrededor de un 15-18%, e incluso hasta un 25% dependiendo de gran cantidad de variables.

En España constituye el 40% de los tratamientos de reproducción asistida que se realizan.

La razón del uso de la inducción de ovulación con IIU aún en pacientes que ovulan normalmente es incrementar la eficiencia y probabilidad de la ovulación y así mejorar la chance de embarazo. Asimismo, la estimulación aumenta la producción esteroidea, lo cual puede mejorar la posibilidad de fertilización e implantación del embrión.

Existen numerosos estudios sobre el protocolo más adecuado de estimulación ovárica controlada para inseminación artificial, pero no existe ninguna evidencia científica clara sobre cuál es el que ofrece mejores resultados en cuanto a tasa de gestación y menos efectos secundarios.

Como se ha explicado anteriormente, las isoformas ácidas de FSH se producen durante la fase folicular temprana, cuando los niveles de estradiol son bajos, mientras que las isoformas menos ácidas se producen durante la segunda mitad del ciclo con niveles de estradiol altos. Este cambio de acidificación es importante en cuanto a la regulación de la intensidad del estímulo de FSH durante los últimos pasos de maduración folicular preovulatorio. Si extrapolamos esto, debería haber un balance apropiado de ambas isoformas para conseguir un desarrollo folicular óptimo.

Por otro lado, como todas las técnicas de reproducción asistida, a inseminación artificial tras estimulación ovárica no está exenta de cuestiones éticas relevantes que se analizaran especialmente en la discusión de nuestros resultados.

10.- HIPÓTESIS

En la práctica clínica rutinaria en consulta de reproducción, se emplean con frecuencia procedimientos de estimulación ovárica, sin que se disponga de información concluyente sobre que protocolos son los más adecuados por su sencillez y coste – efectividad.

Basándonos en este hecho, partimos de la hipótesis que los resultados de la estimulación ovárica según tres protocolos distintos con gonadotropinas para pacientes diagnosticadas de esterilidad femenina o masculina susceptibles de someterse a tratamiento de inseminación artificial son diferentes.

El propósito es generar conocimiento científico que ayude a ofrecer tratamientos a las pacientes lo más individualizados posibles, con menos efectos secundarios o complicaciones, principalmente el SHO, y la gestación múltiple

11.- OBJETIVOS

Los objetivos de este estudio son:

Objetivo primario:

- Determinar la eficacia en cuanto a tasas de gestación del protocolo secuencial con FSH u + FSH r en estimulación ovárica para inseminación artificial frente a los otros esquemas de estimulación ovárica con FSH r y FSH u

Objetivos secundarios:

- Evaluar la seguridad del protocolo secuencial en comparación con la estimulación con FSH r y FSH u en pacientes sometidas a EOC e IA en relación a la tasa de cancelación de ciclos por SHO, y en relación a la tasa de gestaciones múltiples.
- Evaluar si el protocolo secuencial se asocia a mayor número de folículos maduros y mayor elevación de niveles de estradiol en sangre en relación con los protocolos de FSH r y FSH u.
- Evaluar si la estimulación ovárica controlada con protocolo secuencial es diferente con respecto a los protocolos de FSH u y FSH r en cuanto a días de estimulación ovárica y dosis total de gonadotropinas.

- Evaluar el coste efectividad del protocolo secuencial con respecto a los protocolos convencionales con FSH u y FSH r en pacientes que van a someterse a IA.
- Evaluar si existe alguna variable de las estudiadas tiene una mayor influencia a la hora de conseguir gestación en el tratamiento de inseminación artificial.

12.- MATERIAL Y MÉTODOS

12.1.- Diseño y ámbito de estudio.

Estudio de cohortes histórico de parejas diagnosticadas de infertilidad que acudieron a la Unidad de Reproducción del Hospital Universitario La Zarzuela, Madrid, entre mayo de 2012 y mayo de 2015 y siguieron con un tratamiento de inseminación artificial intrauterina homologada basado en: FSH recombinante, FSH urinaria, y FSH urinaria-recombinante.

12.2.- Pacientes de estudio:

Se incluyeron un total de 178 pacientes a los que se les realizó 299 ciclos de estimulación ovárica-inseminación artificial.

12.3.- Diagnóstico de infertilidad:

El diagnóstico de infertilidad se realizó con una evaluación basal completa de ambos miembros de la pareja y que recoge las siguientes características:

- Datos demográficos: edad, estado civil, raza.
- Historia clínica: antecedentes personales, antecedentes familiares, quirúrgicos, alergias.
- Medicación actual
- Historia obstétrica: embarazos, abortos, ciclos previos de reproducción
- Examen ginecológico general con ecográfica ginecológica: recuento de folículos antrales (RFA), estudio hormonal, histerosalpingografía y serologías
- Análisis seminal (seminograma con REM: recuperación de espermatozoides móviles)

Los parámetros de seminograma normal se analizaron según los criterios de la OMS 2010. (figura 5)

12.4.- Criterios de inclusión:

- Mujeres entre 18 y 40 años en el momento del tratamiento que consultan por un problema de esterilidad y cuyo tratamiento indicado es la inseminación artificial.

- $IMC < 35 \text{ KG} / \text{m}^2$
- Parejas con Consentimiento informado para inseminación artificial firmado.
- Ausencia de evidencia de mala reserva ovárica (FSH < 10 U.I/ml determinada el tercer día del ciclo).
- Permeabilidad tubárica conservada (demostrada por HSG)
- Ausencia de factor masculino severo (más de 3 millones de espermatozoides móviles/0.3 ml después de capacitación mediante técnica de Swim-up). Si el primer seminograma está alterado, se solicita un segundo seminograma comparativo.
- Ausencia de contraindicación médica para el tratamiento y/o embarazo.
- Aceptación de riesgos y complicaciones de las técnicas de reproducción asistida por parte de la pareja.
- No más de 3 ciclos previos de Inseminación Artificial
- Tratamiento con gonadotropinas: FSH recombinante, FSH urinaria, o con FSH urinaria-recombinante para estimulación ovárica en inseminación artificial

12.5.- Criterios de exclusión:

- Enfermedad sistémica que endocrino-metabólica que afecte a hipófisis, tiroides, suprarrenales, páncreas, hígado o riñón.
- Medicación concomitante que pueda interferir con la medicación del estudio.
- Abuso de alcohol y drogas.
- Hemorragia vaginal no diagnosticada.
- Tumores de ovario, mama, suprarrenales o hipotálamo hipofisarios.
- Antecedentes de quimioterapia o radioterapia.
- Malformaciones de los órganos sexuales incompatibles con el embarazo.
- Factores relacionados con la técnica de inseminación artificial (obstrucción tubárica bilateral u otras patologías ginecológicas determinantes, factor masculino severo).
- Alergias conocidas a preparados de gonadotropinas
- Existencia de alguna de las contraindicaciones que constan en la ficha técnica de Gonal® Fostipu® Ovitrelle®, Progeffik®

- No aceptación del consentimiento informado para el tratamiento.
- No respuesta al tratamiento de estimulación tras 15 días de tratamiento.
- Presencia un acontecimiento adverso de toxicidad de grado 3 ó 4 según la escala de Toxicidad de la OMS.
- Presencia una respuesta ovárica excesiva, que indique un riesgo excesivo de OHSS.

12.6.- Fármacos considerados en el estudio:

Los medicamentos recibidos para la estimulación ovárica para la inseminación artificial fueron:

- FSH r : folitropina alfa: GONAL®,
- FSH altamente purificada: FOSTIPUR®
- r HCG: coriogonadotropina alfa humana de origen recombinante: Ovitrelle®
- Progesterona natural micronizada: Progeffik ®

Los tratamientos se estructuran en tres grupos diferentes según el protocolo de estimulación ovárica. Los brazos de tratamiento fueron: según el tipo de FSH utilizada en la estimulación o según su secuencia de utilización:

1. **GRUPO FSH r:** Se utilizó FSH recombinante (Gonal desde el 2º-3º día del ciclo hasta conseguir al menos un folículo de 18mm.
2. **GRUPO FSH hp:** Se utilizó FSH urinaria altamente purificada (Fostipur®) desde el 2º-3º día del ciclo hasta conseguir la madurez folicular.
3. **GRUPO SECUENCIAL:** Los 5 primeros días de estimulación se pautó FSH hp (Fostipur®) para continuar la estimulación con FSH r (Gonal®).

12.7.- Tratamiento de la información.

Para la realización de esta Tesis Doctoral se utilizó una base de datos completamente anonimizada. No se dispuso de ningún dato de carácter personal, por lo que no se solicitó consentimiento informado a los pacientes.

En este estudio, se cumplieron los principios éticos de la declaración de Helsinki y la LOPD 15/1999 y se llevó a cabo en conformidad con la Normas de Buena Práctica Clínica y contó, así mismo, con la aprobación del Comité de Ética e Investigación del Hospital Universitario Sanitas La Zarzuela (expediente nº 5/2010).

12.8.- Tratamiento y protocolo de estimulación ovárica en Inseminación

Artificial intrauterina en nuestro hospital:

Las pacientes de nuestra Unidad de reproducción asistida que se sometieron a Inseminación Artificial recogidas en la muestra, siguieron un protocolo de estimulación ovárica con gonadotropinas: FSH a dosis de 75 UI/d desde el segundo- tercer día de un ciclo espontáneo o inducido según edad de la paciente o recuento de folículos antrales. Se les realizó control ecográfico al 5º día de ciclo, dónde se individualiza la dosis a administrar, continuando con la misma dosis o se pauta reajuste de la misma tanto en aumento como descenso.

Los tres protocolos de estimulación fueron los siguientes:

- 1. Estimulación solamente con FSH r:** (Gonal ®) desde el 2º-3º día del ciclo hasta conseguir al menos un folículo de 18mm.
- 2. Estimulación solamente con FSH hp:** Se utilizó FSH urinaria altamente purificada (Fostipur®) desde el 2º- 3º día del ciclo hasta conseguir la madurez folicular.
- 3. Estimulación SECUENCIAL:** Los 5 primeros días de estimulación se utiliza FSH hp (Fostipur®) para continuar la estimulación con FSHr (Gonal®) hasta conseguir la madurez del folículo.

Se realizan reevaluaciones ecográficas cada 48-72h hasta conseguir al menos un folículo ovárico de al menos 18mm. de diámetro mayor y endometrio de características periovulatorias. En ese momento se solicita una determinación de estradiol en sangre periférica como marcador de madurez folicular y se induce la ovulación mediante la administración de 250 µg de hCGr, (gonadotropina coriónica humana recombinante) realizándose la inseminación artificial intrauterina con semen de pareja 36 horas después. (figura 24)

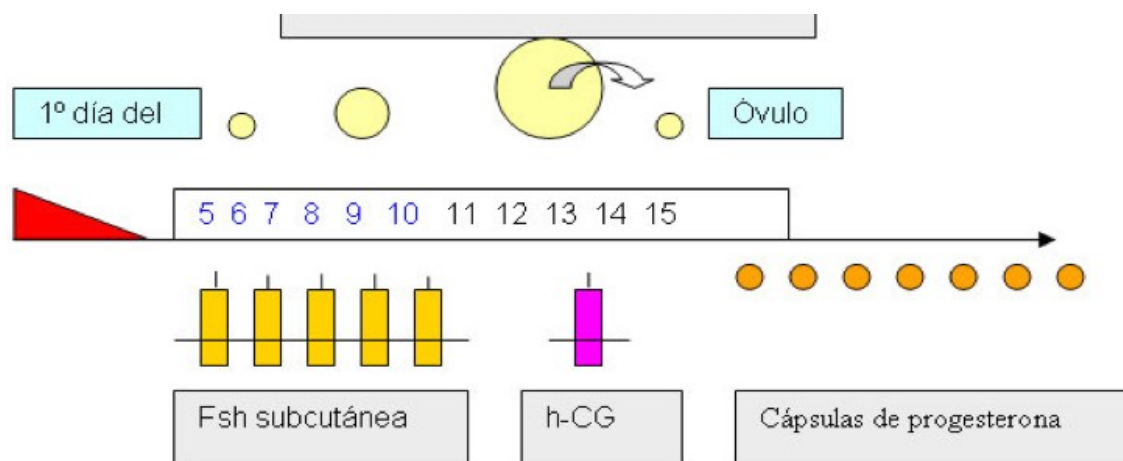


FIGURA 24: Esquema de protocolo estimulación ovárica con gonadotropinas

Para realizar la inseminación se precisa de una muestra de semen que previamente se somete a recapacitación mediante la técnica de swim up. Esta técnica consiste en centrifugar en un tubo durante 10 minutos todas las células eyaculadas para que los espermatozoides sedimenten en la parte inferior del tubo.

La muestra se decanta, eliminándose de esta forma el líquido sobrante (sobrenadante), y se conserva el botón celular o pellet. Se añaden entre 0,3 y 0,5 ml de medio de cultivo sin que se formen burbujas y se incuba durante 45-60 minutos a unos 39 °C. Durante este tiempo los espermatozoides con mejor movilidad ascienden en el medio de cultivo y son rescatados para su uso en las diferentes técnicas de reproducción asistida.

Generalmente, el swim-up se utiliza en semen normal o con patología seminal leve, en los que no existe sospecha de la existencia de radicales libres, de procesos infecciosos o inflamatorios en el varón.

Dentro del rango horario en el que se produce la ovulación se realiza la inseminación propiamente dicha. Se recogen los espermatozoides capacitados en una cánula de inseminación artificial y se realiza la inseminación inyectándolos a través del cérvix de la mujer, hasta la cavidad uterina.

Se puede realizar directamente o guiado por ecografía. Este procedimiento es indoloro y, tras un tiempo de 30 minutos puede hacer vida normal.

Las causas de cancelación y por las que no se llega a realizar la inseminación son: En caso de tener 3 o más folículos mayores de 16mm o estradiol en sangre periférica mayor de 400 pg/ml el día de la inducción de la ovulación, se cancela la inseminación por alta respuesta y alta probabilidad de gestación múltiple.

Si tras 20 días de administración de FSH no se objetiva selección folicular se cancela igualmente el ciclo por no respuesta.

En todos los casos se realiza apoyo de la fase lútea con progesterona micronizada 200 mg/12h. desde el día de la inseminación hasta la confirmación de gestación.

Se indica la determinación de β HCG en sangre periférica a los 15 días de la inseminación artificial. Para determinar si existe o no embarazo.

12.9.- Variables de estudio

La información de los pacientes recogida fue:

1. Edad (años)
2. Causas de esterilidad
3. Antecedentes obstétricos (aborto previo o parto previo)
4. FSH basal
5. Estradiol basal
6. Rem basal
7. Numero de ciclo de inseminación

1. Variables respuesta primarias

- Numero de folículos maduros (folículos de >17 mm bajo control ecográfico)
- Tamaño del folículo máximo
- Tasa de gestación química por ciclo iniciado (test de embarazo positivo a los 15 días post inseminación)

- Tasa de gestación química por ciclo inseminado
- Tasas de gestación clínica (embarazo evolutivo que llega a parto de recién nacido) .
Variable objetivo.

2. Variables Respuestas secundarias

- Días de estimulación (desde el primer día de administración de FSH hasta el día de inducción de ovulación)
- Dosis total de gonadotropinas (medidas en UI)
- Coste por ciclo (coste de cada UI por las UI usadas por cada ciclo)
- Nivel de estradiol el día de la administración de la HCGr
- Tasa de abortos
- Tasa de cancelación (estimulaciones que no se llegan a realizar la inseminación artificial)
- Tasa de embarazo múltiple
- Síndrome de hiperestimulación ovárica

3. Variables para el análisis coste-efectividad:

Para el análisis coste-efectividad, se realizó un estudio en el que calculamos los siguientes parámetros:

1. El número de unidades por ciclo: cantidad de gonadotropina, medida en UI que utilizamos en cada ciclo de estimulación
2. El coste por ciclo: precio de una unidad de gonadotropina multiplicada por el número de unidades utilizadas por ciclo
3. La ratio coste efectividad: es el coste por ciclo entre la tasa de gestación y entre la de recién nacido.

La media del coste por ciclo de los distintos protocolos es el siguiente:

1. Protocolo FOSTIPUR: 240,6€
2. Protocolo GONAL: 328,05€
3. Protocolo Secuencial: 259,68€

Para calcularlo, se divide la dosis media entre 75, lo que da el número de unidades de 75, que luego se multiplica por lo que cuesta cada vial de medicación de 75 UI.

El coste PVP de los medicamentos que se han utilizado son los siguientes:

- FOSTIPUR 1 VIAL 75: 28,71€
- FOSTIPUR 10 viales 238,99 E
- GONAL 1vial 38,71
- GONAL 10 viales 293,5€

4. Recogida de datos:

La información fue recogida en una base de datos de tablas relacionadas (Microsoft® Access, 2003), creada por la propia autora de la tesis. Los datos fueron depurados en busca de consistencia e integridad y preparados para su posterior explotación estadística.

12.10.- Tamaño de la muestra.

El estudio fue diseñado para detectar diferencias en la tasa de embarazo de un 15% entre los esquemas de estimulación ovárica con FSH r y FSH, de manera separada, frente al esquema de estimulación ovárica FSH u+FSH r. Por tanto, se necesitaron un total de 100 ciclos por tratamiento asumiendo que los esquemas de estimulación ovárica con FSH r y FSH tuvieron un 10% de tasa de embarazo frente a un 25% obtenida con la estimulación ovárica FSH u + FSH r, bajo un nivel de confianza del 95% y una potencia del 80%. (potencia del estudio)

El cálculo se realizó usando el programa estadístico Epidat v3.1.

12.11.- Análisis estadístico:

Las variables recogidas para los pacientes y los ciclos de estimulación ovárica fueron resumidas y presentadas de la siguiente manera, para aquellas variables cualitativas o no numéricas, mediante su distribución de frecuencia absoluta y porcentaje. Las variables numéricas o cuantitativas se describieron mediante sus medidas de tendencia central, media o mediana, acompañadas de las medidas de dispersión, desviación estándar o rango intercuartílico.

La información de los ciclos de estimulación ovárica fue presentada en función del tratamiento recibido.

Las diferencias en los datos demográficos, de estimulación, resultados de la inseminación y datos de coste efectividad tres grupos de tratamiento, entre los tres esquemas de estimulación ovárica, FSH r, FSH y FSH u + FSH r, fueron comparados mediante el test del chi cuadrado de Pearson o el test exact de Fisher, en el caso de que más de un 25% de los esperados fueran menores de 5 para las variables cualitativas y para las variables cuantitativas mediante el análisis de la varianza (ANOVA) en caso de cumplir la normalidad, test de Kolmogorov-Smirnov, y en caso contrario, el test no paramétrico de Kruskal-Wallis. Las comparaciones múltiples fueron realizadas bajo la corrección de Bonferroni. La información fue estudiada en función del haber recibido ciclos previos.

La magnitud del efecto en la tasa de gestación y embarazo según el esquema de estimulación ovárica fue cuantificada mediante el Odds Ratio (OR) usando un modelo de regresión logística. Posteriormente a la estimación del efecto bruta, relación entre esquema frente a variable dependiente (tasa de gestación y embarazo), se controló por diferentes variables de confusión obteniendo el OR ajustado. La estimación del OR fue provista con su intervalo de confianza al 95%.

La estimación del efecto del tratamiento sobre la variable de coste (dosis total) fue realizada a través de un modelo de regresión lineal. El grupo de referencia fue el esquema de estimulación ovárica combinado (FSH u + FSH r). Los días de estimulación fueron explicados según el esquema de estimulación ovárica mediante un modelo de regresión de Poisson.

Los coeficientes de cada uno de los esquemas mostraron la incidencia relativa del incremento o decremento del número de días según el tratamiento. Ambos modelos de regresión fueron estimados de manera bruta, esquema de estimulación ovárica en relación a la variable dependiente, y de ajustada por otras co-variables.

Todos los resultados fueron evaluados bajo un nivel de significación del 0.05.

El análisis estadístico se realiza con los paquetes estadísticos SPSS 20 y STATA 13.

13.- RESULTADOS

13.1.- Descripción de la muestra:

El estudio incluyó 178 parejas que acudieron a la Unidad de reproducción asistida con diagnóstico de infertilidad para someterse a un tratamiento de inseminación artificial intrauterina.

Se realizaron un total de 299 ciclos de estimulación ovárica controlada a las 178 pacientes.

La estimulación terminó en inseminación artificial en 282 casos, es decir se cancelaron durante la estimulación, antes de llegar a inseminarse 17 ciclos, que se traducen en 5 pacientes canceladas.

Esto lo que supone una tasa de cancelación del 5.7%, IC95%: 3.3%-8.9%. de los 299 ciclos. Si lo analizamos por grupos se cancelaron 7 ciclos en Fostipur, 4 en Gonal y 6 en secuencial, sin diferencias estadísticamente significativas $p=0.657$.
(figura 25)

Los ciclos fueron divididos en función del esquema de estimulación ovárica:

- 100 ciclos estimulados con FSH urinaria: Fostipur ®
- 100 ciclos con estimulación secuencial FSH urinaria y FSH recombinante: Fostipur® + Gonal ®
- 99 ciclos estimulación con FSH recombinante: Gonal®

Irene Perelson del Pozo
PROTOCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SEGÚN EL
PATRÓN DE GLICOSILACIÓN DE LA HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE

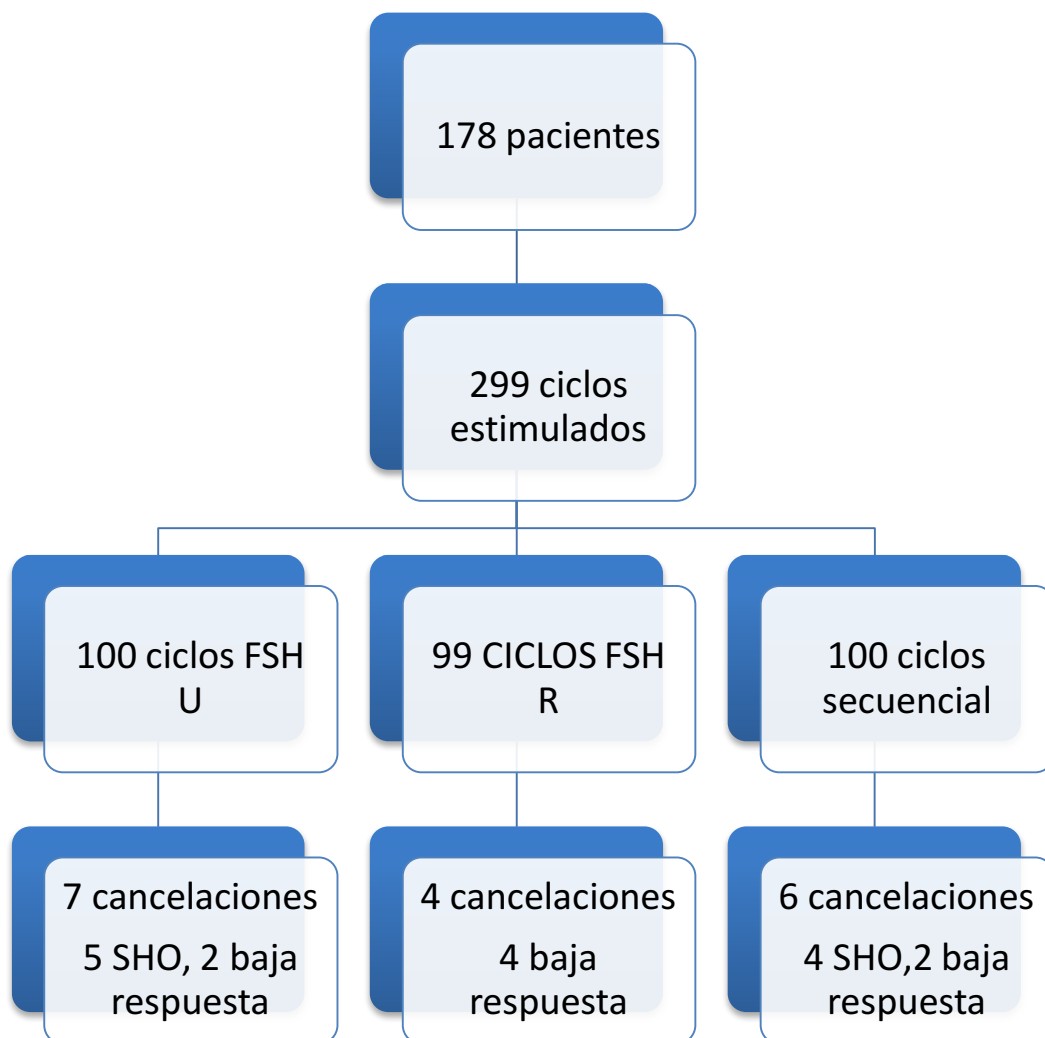


FIGURA 25: Distribución de la muestra del estudio

Las características demográficas y los datos previos a la estimulación ovárica se recogen en la tabla 1- 6 y en la figura 24- 28

Incluimos un descriptivo tanto por pacientes como una comparativa entre los grupos:

- La edad de las pacientes estudiadas fue de 35.2 (2.9) años, rango entre los 27 y 40 años.
- Por ciclos, el grupo de Fostipur® tuvo una edad media +/- desviación estándar de 34,7+/- 3,1 frente al grupo secuencial 35,6 +/- 2,9 y el grupo de Gonal® 35,4 +/- 2,7. No se encontró significación estadística (p-valor=0,099). **(Tabla 1)**
- El IMC presento una media de 24,4+/- 4,5 kg/m²
- El tiempo de esterilidad repartido entre los tres grupos se encontró entre uno o dos años, siendo 2 años en el 50% de todos los ciclos analizados, y de 1 año en el 48,2% de los ciclos. **Tabla 1**

Tabla 1: Datos demográficos: edad y tiempo esterilidad.

		Pacientes	Ciclos				p-valor
			Total	Fsh u (n=100)	Fsh r (n=99)	Secuencial (n=100)	
Edad Media(sd)		35.3 (3)	35.2 (2.9)	34.7(3.1)	35.4 (2.7)	35.6 (2.9)	0,099
Tiempo Años	0	1 (0.6%)	1 (0.3%)	1 (1%)			0,128
	1	82 (47.4%)	144 (48.2%)	41 (41%)	53 (53.5%)	50 (50%)	
	2	89 (51.4%)	151 (50.5%)	57 (57%)	44 (44.4%)	50 (50%)	
	3	1 (0.6%)	2 (0.7%)		2 (2%)		
	4		1 (0.3%)	1 (1%)			

Irene Perelson del Pozo
 PROTOCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SEGÚN EL
 PATRÓN DE GLICOSILACIÓN DE LA HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE

- En 72 (41%) de las pacientes la causa de infertilidad era conocida, siendo las más frecuentes las causas endocrinas y el factor masculino. Mientras que las otras 106 (59%) pacientes fueron esterilidades de origen desconocido. **Tabla2 (figura 26)**

Tabla 2 :Datos demográficos: Causas de esterilidad

CAUSA ESTERILIDAD	Conocido	72 (41%)
	Desconocido	106 (59%)
CAUSAS ENDOCRINAS (sop)	No	149 (85%)
	Sí	29 (15%)
FMASCULINO	No	155 (88.4%)
	Sí	23 (11.6%)
ENDOMETRIOSIS	No	162 (92.5%)
	Sí	16 (7.5%)
AÑOSAS	No	161 (91.9%)
	Sí	17 (8.1%)
FTUBARICO	No	171 (97.7%)
	Sí	7 (2.3%)
FCERVICAL	No	172 (98.3%)
	Sí	5(1.7%)

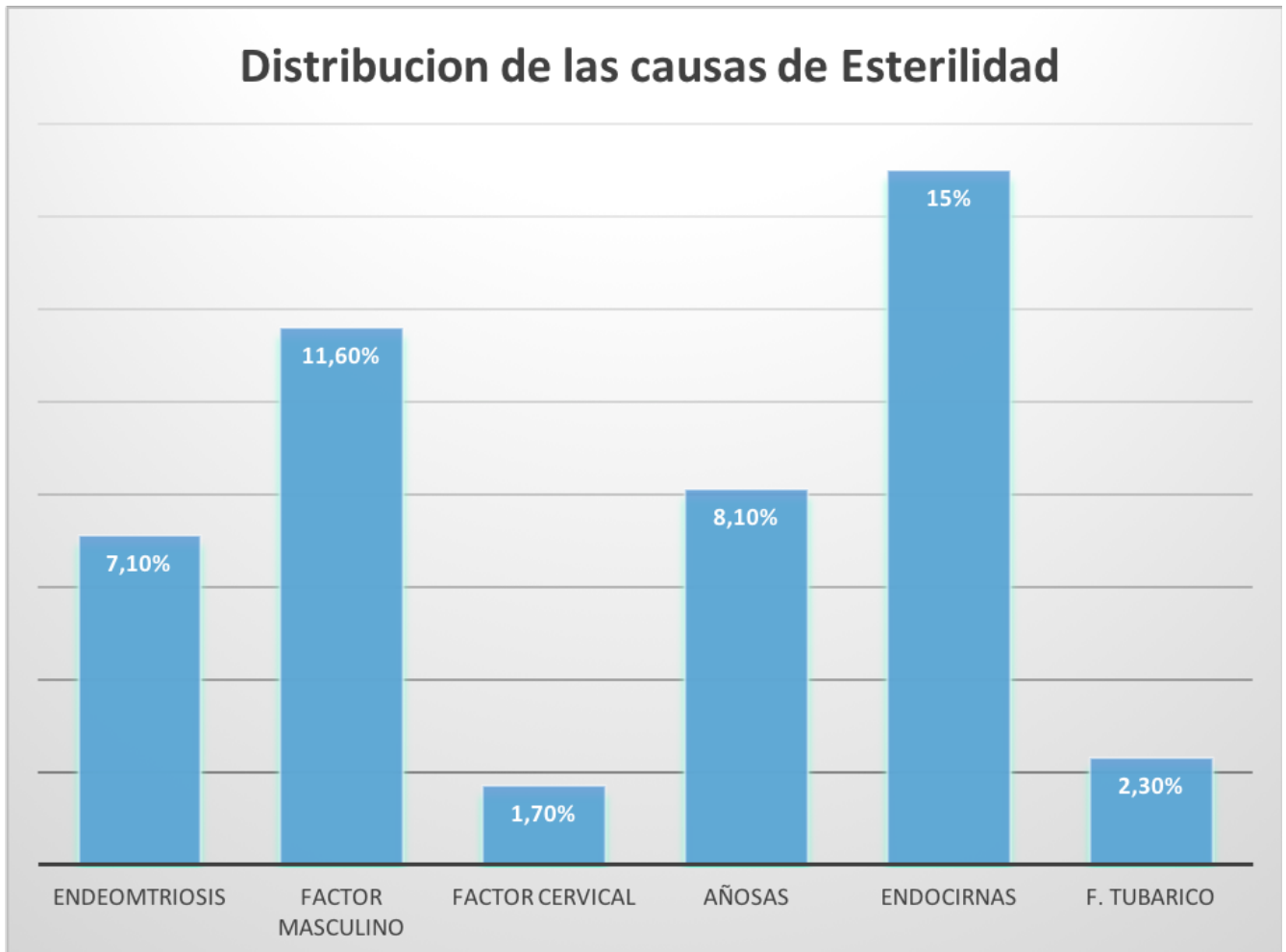


FIGURA 26: Causas de esterilidad en global

El factor masculino representó 23 casos del total de 178 problemas de esterilidad. En los 23 varones el resultado del seminograma realizado a los pacientes informó de un REM basal con una mediana de 5.5 mill /ml y rango intercuartílico de (4-9.5mill/ml), siendo el resultado obtenido más bajo de 4 mill/ml y el más alto de 26 mill/ml.

Cuando analizamos las causas de esterilidad por ciclos, observamos que la más frecuente que encontramos en todos los grupos es la Esterilidad de origen desconocido (EOD), siendo esta el 56.9%.

El resto corresponden a causas conocidas y con la siguiente distribución:
 17,1% causas endocrinas en las que incluimos el Síndrome de ovario poliquístico (SOP), un 12,4% de factor masculino como responsable de la esterilidad y un 9,4% atribuible a la endometriosis. **(figura 27) Tabla 3**

Tabla 3: Causas de esterilidad por ciclo

Causas Esterilidad		Pacientes	Ciclos				p-Valor
			Total (n=299)	Fsh u (n=100)	Fsh r (n=99)	Secuencial (n=100)	
EOD			170 (56.9%)	59 (59%)	58 (58.6%)	53 (53%)	
Causas Endocrinas	Si	29 (15%)	51 (17.1%)	17 (17%)	22 (22.2%)	12 (12%)	0,159
F. masculino (hasta rem 4 mill)		23 (11.6%)	37 (12.4%)	6 (6%)	12 (12.1%)	19 (19%)	0,02
Endometriosis	Si	16 (7.5%)	28 (9.4%)	8 (8%)	6 (6.1%)	14 (14%)	0,134
Añosas	Si	17 (8.1%)	22 (7.4%)	10 (10%)	4 (4%)	8 (8%)	0,261
Ftubarico	Si	7 (2.3%)	7 (2.3%)	2 (2%)	2 (2%)	3 (3%)	0,99
Fcervical	Si	5(1.7%)	7 (2.3%)	1 (1%)	3 (3%)	3 (3%)	0,641

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos según la causa de esterilidad por factor masculino ($p=0,02$). El grupo secuencial tiene la tasa mayor (19%) frente al 12% de Fsh r y 6% de Fsh u.

(a pesar de esta distribución en los grupos no homogénea, no lo consideramos como factor de confusión ya que para realizar la inseminación se precisa que la muestra de semen tenga un REM superior a 3 millones)

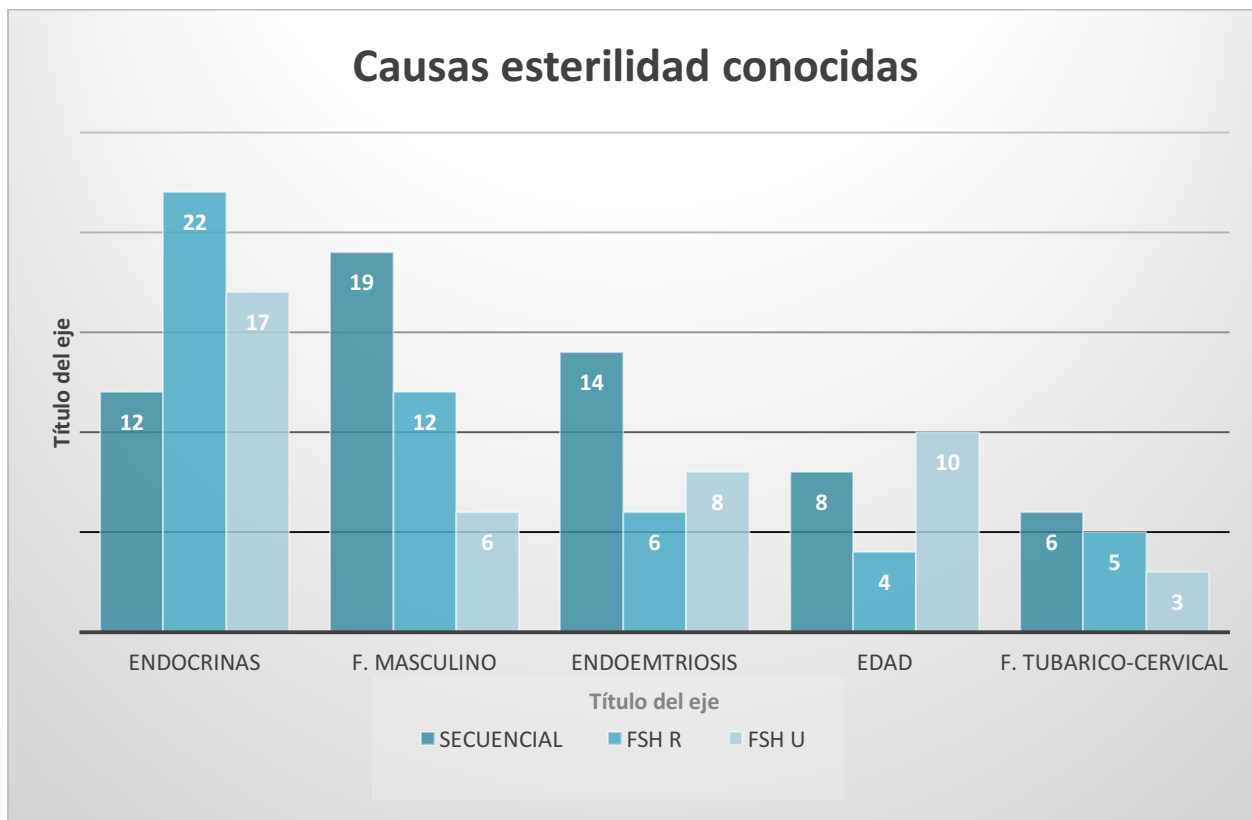


FIGURA 27: Distribucion causas esterilidad conocidas en los 3 grupos de tratamiento

- En cuanto a los antecedentes gineco - obstétricos: el 29% de las pacientes (51) presentaron antecedentes de embarazo previo, de ellas 31 habían sufrido al menos un aborto. También presentan homogeneidad respecto a los tres esquemas de tratamiento. En el total de los ciclos, observamos que el 28,4% han tenido un embarazo previo, con una tasa de abortos del 16,4%. sobre el total de los ciclos. **Tabla 4 (figura 28,29,30)**

(No hemos incluido en las causas abortos de repetición porque solo 6 pacientes con dos abortos previos, sin estudio de AR.)

Irene Perelson del Pozo
**PROTOSCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SEGÚN EL
 PATRÓN DE GLICOSILACIÓN DE LA HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE**

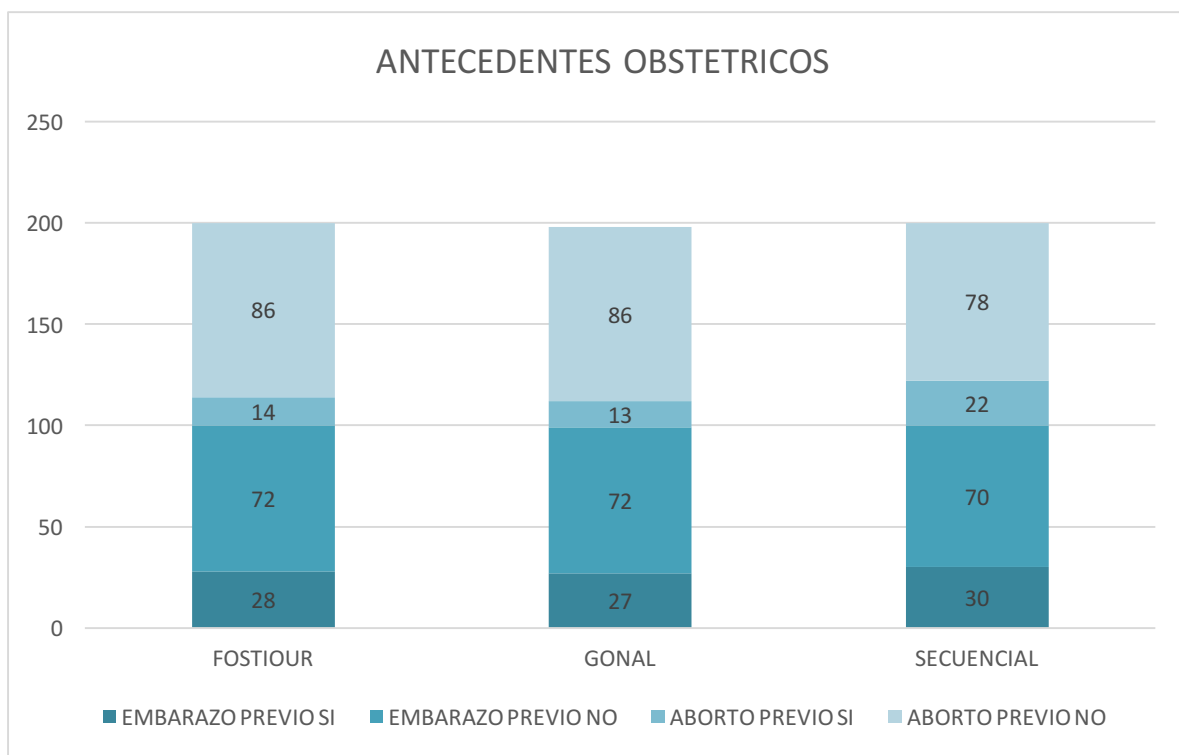


FIGURA 28: Distribución antecedentes obstétricos

Tabla 4: Antecedentes gineco-obstetricos

		TOTA	Fsh u	Fsh r	Secuencial	p-valor
Embarazo	Si	85 (28.4%)	28 (28%)	27 (27.3%)	30 (30%)	
Aborto	Si	49 (16.4%)	14 (14%)	13 (13.1%)	22 (22%)	0,201

***por tanto un 28,4 % del total de las pacientes, presentaban una esterilidad secundaria.**

***la distribución de la tasa de abortos es homogénea en todos los grupos.**



FIGURA 29: Porcentaje de pacientes con embarazo previo

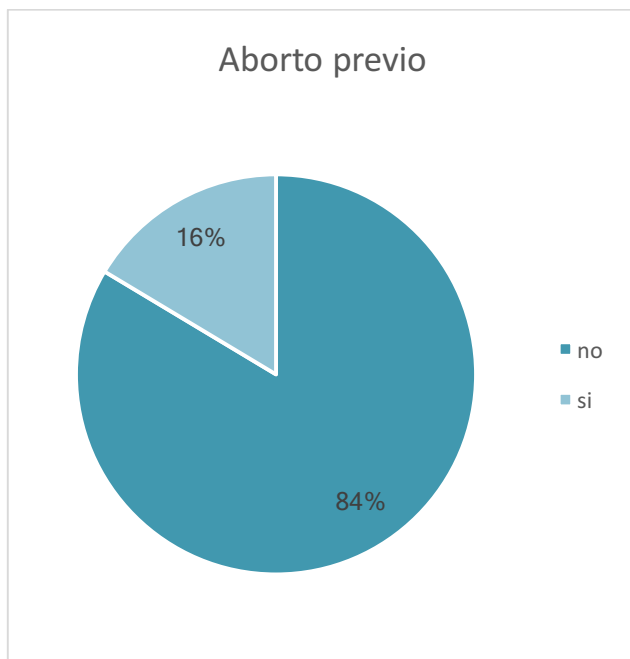


FIGURA 30: Antecedentes de aborto previo

- Con respecto al número de ciclo de inseminación al que se somete la paciente, encontramos que el 48% de los ciclos eran los primeros que se le realizaban a la paciente, mientras que el resto correspondía a un 47% entre 2ºs y 3ºs ciclos y solo un 5% correspondían a su 4º ciclo (**figura 31**)

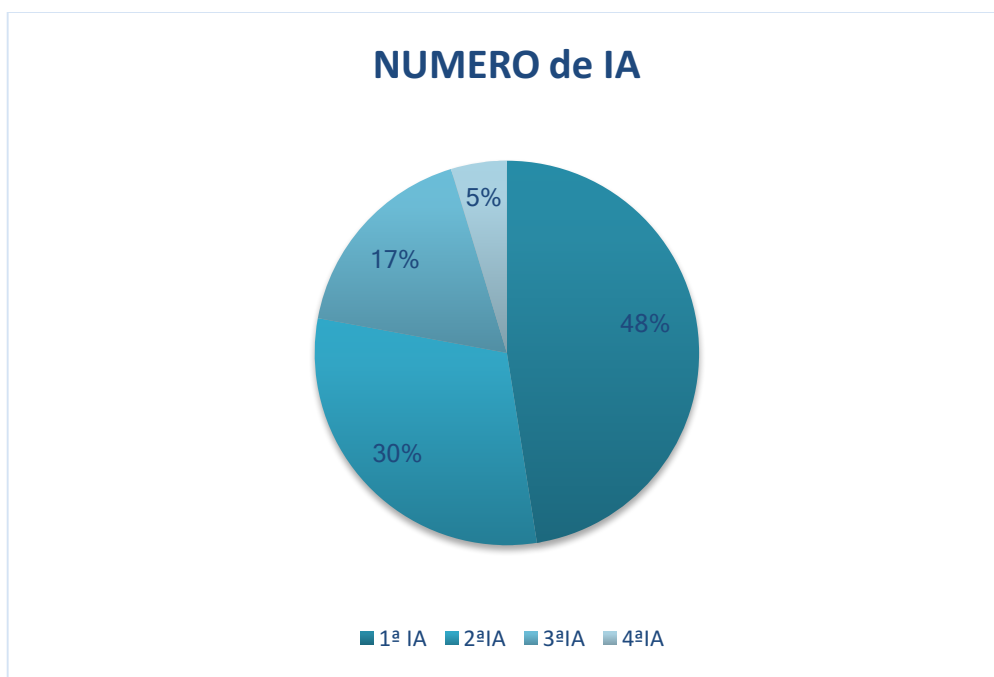


FIGURA 31: Distribución del número de inseminación en todos los ciclos de estudio

La comparación entre grupos reflejó con significación estadística, $p=0,001$ un mayor número de primeros ciclos en Fostipur®, respecto a secuencial y Gonal®, y un mayor número de segundos y terceros ciclos en Secuencial.

- En el grupo de Fostipur tenemos un 60% de primeros ciclos, 38% de 2ºs y 3ºs
- En el grupo de Gonal en cambio 45 % de primeros ciclos, 44% de 2ºs y 3ºs
- En el grupo de Secuencial 37% de los primeros, 61% de 2ºos y 3ºs **Tabla 5**

(Posteriormente debido a esta distribución, haremos un estudio separando a las pacientes entre las que han tenido inseminaciones previas de las que esta es su primera inseminación)

Irene Perelson del Pozo
 PROTOCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SEGÚN EL
 PATRÓN DE GLICOSILACIÓN DE LA HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE

Tabla 5 :Número de ciclo de estimulación que realiza cada paciente.

		Total	Fsh u	Fsh r	Secuencial	P-Valor
		n=299	n=100	n=99	n=100	
Número Ciclo	1	142 (47.5%)	60 (60%)	45 (45.5%)	37 (37%)	0,001
	2	91 (30.4%)	27 (27%)	30 (30.3%)	34 (34%)	
	3	52 (17.4%)	11 (11%)	14 (14.1%)	27 (27%)	
	4	14 (4.7%)	2 (2%)	10 (10.1%)	2 (2%)	

- No encontramos diferencias significativas entre los grupos en el valor del estradiol basal, en la Hormona Foliculo estimulante (FSH) basal o en el recuento de folículos antrales. **Tabla 6**

Tabla 6 :Parámetros basales pre inseminación

		Total	Fsh u	Fsh r	Secuencial	P-Valor
Estradiol	Mediana (Rango inter-	43 (32 - 61)	41.5 (33.3 - 60)	42 (32 - 57)	47 (35 - 69.8)	0,051
REM basal	Mediana (Rango inter-	12 (7 - 20)	12 (8 - 23)	14 (7 - 20)	12 (6 - 20)	0,246
FSH basal	Mediana (Rango inter-	6 (5 - 7)	6 (5 - 7)	6 (5 - 8)	6 (5 - 7)	0,35
Fas drch	Mediana (Rango inter-	5 (5 - 7)	6 (5 - 7)	6 (5 - 7)	5 (5 - 6)	0,255
Fas izq	Mediana (Rango inter-	6 (5 - 7)	6 (5 - 7)	6 (5 - 7)	5 (4 - 6.8)	0,053

13.2.- Datos de la estimulación

Las características de los ciclos de estimulación analizadas fueron las siguientes: duración de la estimulación en días y la dosis total utilizada en la estimulación. **Tabla 7**

1. La mediana de días de estimulación ovárica, en el total de las intervenciones fue de 8 días con un rango intercuartílico de 6-10. Si lo analizamos por grupos encontramos que tanto el grupo de Fsh u como en el de Fsh r la mediana es de 8 mientras que en el grupo Secuencial es de 7 días con rango de 6-9.

Todos sin significación estadística, pero, aunque no la alcance, observamos que en este último grupo (Secuencial) es necesario un día menos de mediana de estimulación que en los otros dos grupos, lo cual sí que tendría significación clínica.

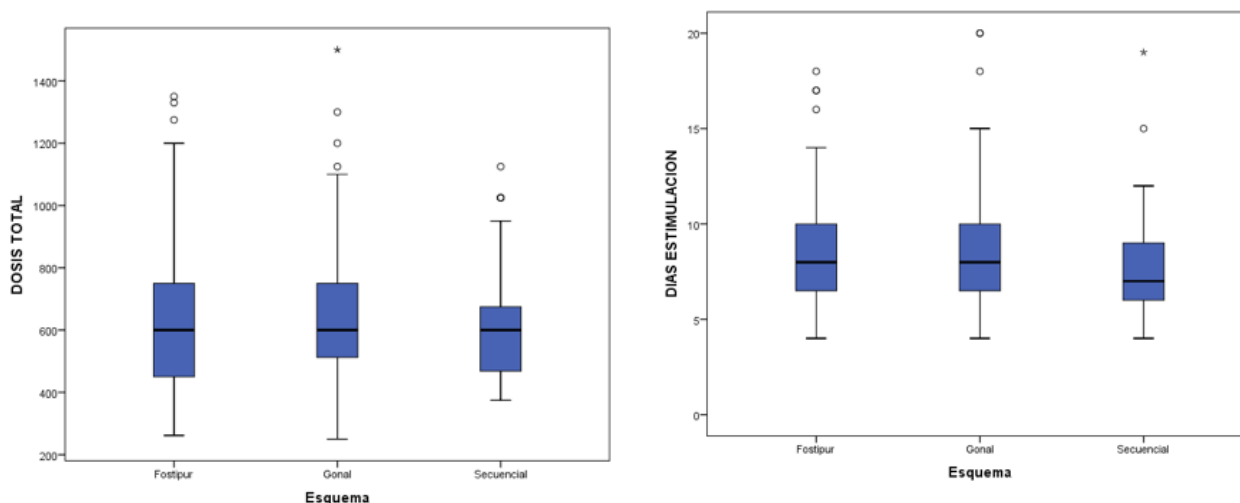
2. Tampoco encontramos en el análisis univariante diferencias estadísticamente significativas en la dosis total de gonadotropinas. La dosis media de gonadotropinas administrada durante la estimulación es de $623.5 \pm 207,4$ UI.

Por grupos, en el grupo Fsh u: 628,7 UI, Fsh r 635,6 y en el grupo Secuencial: 606,4 UI. Pese a que esto evidencia un menor consumo de gonadotropinas en el grupo secuencial estas diferencias no fueron estadísticamente significativas $p=0,76$.

Tabla 7: Datos de la estimulación ovárica: Días de estimulación y dosis total utilizada por ciclo.

			Fsh u	Fsh r	Secuencial
		n=299	n=100	n=99	n=100
Días estimulación	Mediana (Rango intercuartilico)	8 (6 - 10)	8 (6.3 - 10)	8 (7 - 10)	7 (6 - 9)
Dosis total	Media ± Desviación	623.5 ± 207.4	628.7 ± 228.2	635.6 ± 220.6	606.4 ± 169.6
	Mediana (Rango intercuartilico)	1 (1 - 2)	1 (1 - 2)	1 (1 - 2)	2 (1 - 2)

En el test de Kruskal Wallis no se encontró diferencias estadísticamente significativas en los días de estimulación y en la dosis utilizada (p-valor=0.095).



- El número de folículos maduros (>17 mm) el día de la HCG obtenidos en el protocolo secuencial, es de 2, mientras que, en los otros dos grupos, se obtiene un solo folículo.

Tabla 8 :Número de folículos reclutados tras estimulación

Num.foli.reclutados	Mediana (Rango intercuartilico)	1 (1 - 2)	1 (1 - 2)	1 (1 - 2)	2 (1 - 2)	0,102
---------------------	---------------------------------	-----------	-----------	-----------	-----------	-------

- Lo mismo ocurre con el nivel de Estradiol en sangre que medimos en día de la hCG, obtenemos una cifra de 278 pg/ml en el protocolo Secuencial y de 231 pg/ml y 250 pg/ml en el grupo de Fsh u y Fsh r. El nivel de significación es de p= 0,206

Tabla 9: Nivel de estradiol plasmático el día de la HCG

E2HCG	Mediana (Rango intercuartilico)	250 (186 - 350)	231 (176.8 - 318.8)	250 (180 - 341)	278 (202.3 - 376.5)	0,206
-------	---------------------------------	-----------------	---------------------	-----------------	---------------------	-------

Con el tratamiento con protocolo secuencial se observó mayor número de folículos con nivel de estradiol mayor en comparación con los otros grupos. La obtención de un folículo necesitó de menor dosis y menos días de estimulación en el protocolo secuencial frente al resto. **Tabla 8, 9.**

En ningún caso se encontró significación estadística.

- No encontramos diferencias tampoco entre los grupos en cuanto a la necesidad de usar tratamiento con antagonistas o no, ni en los días en los que es necesario usarlo, siendo lo más frecuente no usar antagonista y posteriormente solamente usarlo un día. (el uso de antagonista en realidad lo utilizamos para ajuste de fechas de la inseminación, pero lo consideramos para que no hubiera factores de diferenciación)

PROTOCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SEGÚN EL PATRÓN DE GLICOSILACIÓN DE LA HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE

- Con respecto a los días de estimulación: La estimulación ovárica mediante Fsh r incrementó un 10% el número de días de estimulación frente al tratamiento secuencial. La magnitud del efecto se mantuvo ajustado por la edad y el número de ciclos. No hubo diferencias entre el tratamiento por Fsh u y el secuencial. **Tabla 10**
- En cuanto a la dosis total que se necesitó para la estimulación observamos que, el efecto, tanto ajustado como sin ajustar, el uso del protocolo con Fsh r **incrementa** en 26 unidades la dosis total frente a secuencial. **Tabla 11**

Tabla 10 :Resultados días de estimulación. Índice de Riesgo Relativo

		Efecto sin ajustar			Efecto ajustando por edad y nº de ciclo		
		IR	IC95%	p	IRR	IC95%	p
DÍAS ESTIMUL		1.08	0.98 - 1.19	0.113	1.06	0.96 - 1.17	0.229
		1.1	1 - 1.2	0.038	1.1	1 - 1.2	0.043
	Secuencial	REF	-	-	REF-	-	-

Tabla 11 :Resultados dosis total utilizada por grupos, comparativa cambio medio

		Cambio medio	IC95%	p	Cambio medio	IC95%	p
Dosis Total	Fsh u	22.34	-35.47 - 80.15	0.448	19.27	-39.87 - 78.42	0.522
	Fsh r	26.23	-28.72 - 87.19	0.322	28.57	-29.41 - 86.56	0.333
	Secuencial	-	-	-	-	-	-

13.3.- Resultados tras la inseminación

Del total de las pacientes del estudio 47 alcanzaron un BHCG positivo, lo que supone una tasa de BHCG del total de 27,2%. El estudio obtuvo una tasa de embarazo total del 26% IC 95%:19,6%-32,2%, 45 pacientes de las 175 quedaron embarazadas. La tasa de aborto y recién nacido fue de 31% sobre las betas positivas y de 68% respectivamente. (excluimos las cancelaciones)

Tabla 12

Tabla 12: Tasa de gestación total.

BHCG	Si	47 (27.2%)	0,197
Gestación	Si	45 (26%)	0,11
Aborto	Si	15 (31.9%)	0,401
Nacido	Si	32 (68.1%)	0,401
Embarazo múltiple	Si	8 (17.8%)	1

En La siguiente tabla y gráfico se presenta las diferencias en cuanto a efectividad de los esquemas de tratamiento del total de los ciclos estimulados. **Tabla 13 (figura 32)**

- La tasa de gestación por ciclo: BHGC positiva (>1,2) excluyendo las cancelaciones fué de 19.1%, IC95%:14.7% - 24.2%
- La tasa de gestación clínica (seve gestación ecográficamente) de 17,7% excluyendo las cancelaciones con IC95%:13.5% - 22.7%.

No encontramos diferencias estadísticamente significativas entre los distintos esquemas, aunque ambas tasas son mayores en Fsh u y Secuencial frente a Fsh r.

- La tasa de gestación química en el grupo Fshu fué de un 21.5%, en el grupo de Fsh r 13,7%, y en el grupo Secuencial un 22.3%. (excluyendo las cancelaciones)
 *el valor no sale significativo porque el número de eventos es pequeño y la diferencia absoluta es solo del 8%.
- La tasa de gestación clínica (se ve ecográficamente) fué de un 19,4% en el grupo de Fsh u, 12,6% en el grupo de Fsh r, y de un 21,3% en el grupo Secuencial. (excluyendo las cancelaciones) **Tabla 13**

Tabla 13: Resultados por ciclos, excluyendo las cancelaciones.

Variables Resultado		Total	Fsh u	Fsh r	Secuencial	P-Valor
		n=282	n=93	n=95	n=94	
BHCG	Si n (%)	54 (19.1%)	20 (21.5%)	13 (13.7%)	21 (22.3%)	0,249
GESTACION clinica	Si n (%)	50 (17.7%)	18 (19.4%)	12 (12.6%)	20 (21.3%)	0,263

En relación a la tasa de aborto, se calculó sobre la Bhcg positivo. Se encontraron 21 casos de aborto, lo que correspondió a un 38,9% sobre el total de test positivos. **Tabla 14**

En cuanto a los resultados por grupos: **Tabla 14**

- 9 casos abortos de los 20 positivos en el grupo FSH u (45%)
- 5 abortos de los 13 embarazos positivos en Fsh r (38,5%)
- 7 abortos de los 21 test positivos.33,3% en el grupo secuencial,

Sin llegar a la significación estadística en ninguno de los casos, $p=0,745$

La tasa de recién nacido siendo unos resultados sin significación estadística con $p= 0,745$. Total, de 33 sobre 54 (61,1%), Fsh u un 55%, Fsh r un 61.5%, y Secuencial un 66.7%. **Tabla 14**

Tabla 14: Resultados tras gestación positiva: aborto y recién nacido vivo.

Variables Resultado		Total	Fsh u	Fsh r	Secuencial	P-Valor
		n=54	n=20	n=13	n=21	
ABORTO	Si	21 (38.9%)	9 (45%)	5 (38.5%)	7 (33.3%)	0,745
NACIDO vivo		33 (61.1%)	11 (55%)	8 (61.5%)	14 (66.7%)	0,745

Irene Perelson del Pozo
PROTOCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SEGÚN EL
PATRÓN DE GLICOSILACIÓN DE LA HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE

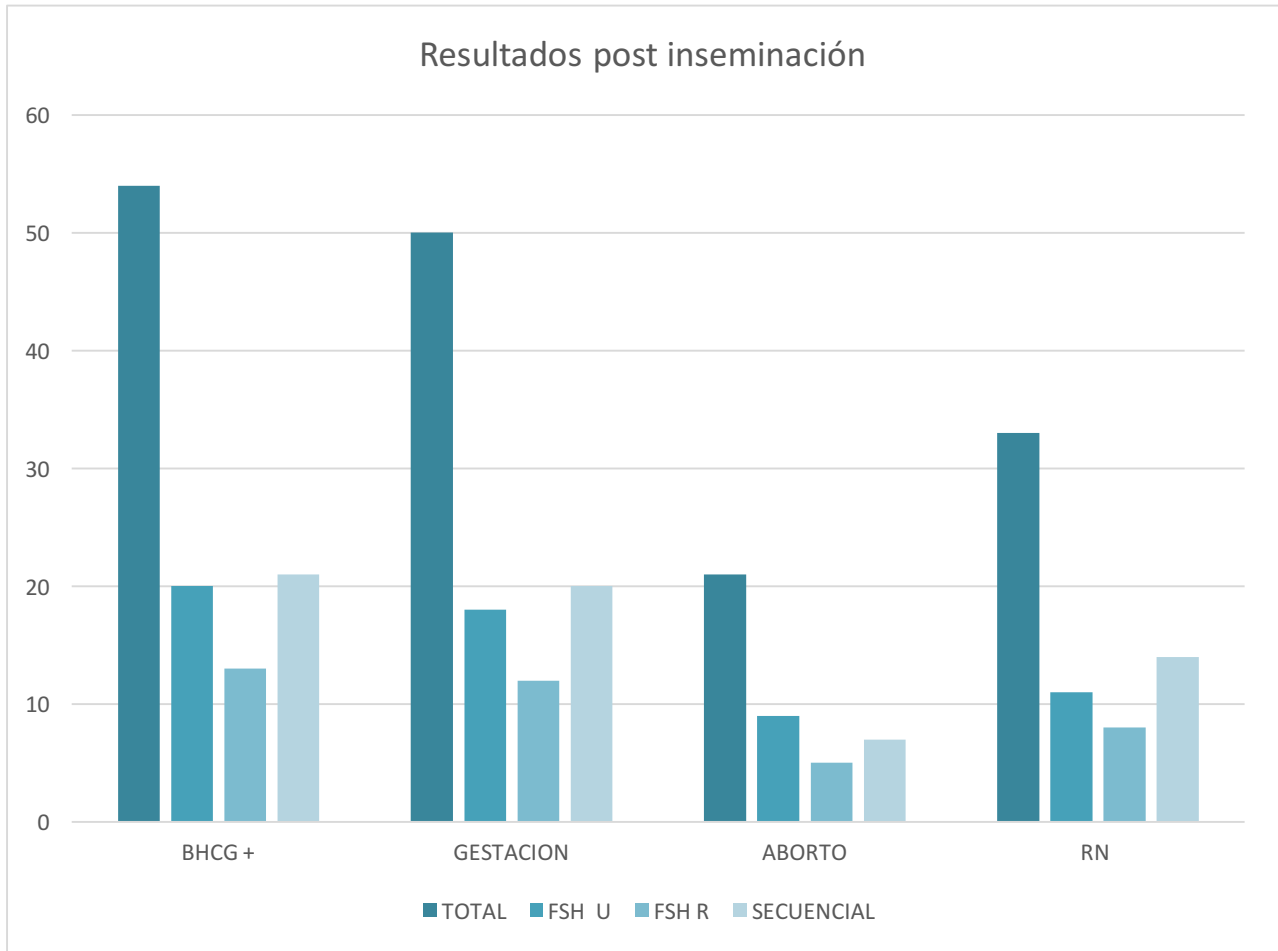


FIGURA 32: Resultados de la inseminación total y por ciclos

Sí encontramos diferencias en cuanto a los embarazos múltiples, siendo más frecuentes con Fsh r y secuencial (25% y un 25%), que con Fsh u (0%) sobre el total de gestaciones, con una significación de $p= 0.044$. El total de gestaciones múltiples alcanzó una tasa de un 16%. **Tabla 15**

Tabla 15 :Resultados tras gestación positiva en cuanto embarazos múltiples.

		Total	Fostipur	Gonal	Secuencial	P-Valor
EMBARAZO MULTIPLE sobre gestaciones	Si n(%)	8 (16%)		3 (25%)	5 (25%)	0,044
	IC 95%	7.2% - 29.1%		5.5% - 57.2%	8.7% - 49.1%	

Estimamos los efectos en términos de Odds Ratio (OR) sin ajustar y ajustando por los posibles factores de confusión. En este caso incluimos las cancelaciones para evitar efectos de confusión:

- Con respecto a BhCG, no encontramos diferencias entre protocolo Secuencial y Fsh urinaria, pero la probabilidad de BhCG se reduce en un 43% (OR=0.57, IC95%:0.27–1.21) si se trata con Fsh recombinante frente a Secuencial, aunque este efecto no es estadísticamente significativo $p=0.143$. **Tabla 16**

Tabla 16: Probabilidad de BHCG positiva entre los distintos protocolos. (OR)

	N	BHCG incluyendo cancelaciones	Efecto sin ajustar		
			OR	IC95%	p
Fsh urinaria	100	20 (20%)	0,94	0.47 - 1.87	0,861
Fsh recombinante	99	13 (13.1%)	0,57	0.27 - 1.21	0,143
Secuencial	100	21 (21%)	-	-	-

De manera similar la probabilidad de gestación también se reduce casi a la mitad con Fsh recombinante frente a Secuencial, aunque tampoco es significativo. **Tabla 17**

Tabla 17: Probabilidad de gestación entre los distintos protocolos (OR).

	N	GESTACION incluyendo cancelaciones	Efecto sin ajustar		
			OR	IC95%	p
Fsh urinaria	100	18 (18%)	0,88	0.43 - 1.78	0,719
Fsh recombinante	99	12 (12.1%)	0,55	0.25 - 1.2	0,139
Secuencial	100	20 (20%)	-	-	-

Y por último la tasa de recién nacido, no mostró grandes diferencias entre Fsh recombinante y Fsh urinaria frente a Secuencial. **Tabla 18**

Irene Perelson del Pozo
**PROTOCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SEGÚN EL
 PATRÓN DE GLICOSILACIÓN DE LA HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE**

Tabla 18: Probabilidad de Recién Nacido entre los protocolos (OR).

	N	NACIDO sobre Bhcg positiva	Efecto sin ajustar		
			OR	IC95%	p
Fsh urinaria	20	11 (55%)	0,61	0.17 - 2.2	0,445
Fsh recombinante	13	8 (61.5%)	0,8	0.19 - 3.4	0,761
Secuencial	21	14 (66.7%)	-	-	-

Ajustamos ahora los datos sobre los posibles factores de confusión y obtenemos similares resultados con respecto al odds ratio que, sin ajustar por edad, factor masculino o causas endocrinas, numero de ciclo o estradiol:

Tabla 19: Resultados según los protocolos ajustados con los factores de confusión.

	N	BHCG incluyendo cancelaciones	Efecto ajustando por edad, n° ciclo y estradiol			Efecto ajustando por edad, FM y Causas endocrinas2		
			OR	IC95%	p	OR	IC95%	p
Fsh urinaria	100	20 (20%)	0,89	0.43 - 1.85	0,764	0,8	0.39 - 1.62	0,528
Fsh r	99	13 (13.1%)	0,62	0.28 - 1.34	0,220	0,55	0.25 - 1.18	0,122
Secuencial	100	21 (21%)	-	-	-	-	-	-

Irene Perelson del Pozo
 PROTOCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SEGÚN EL
 PATRÓN DE GLICOSILACIÓN DE LA HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE

	N	GESTACION incluyendo cancelaciones	Efecto ajustando por edad, n° ciclo y estradiol			Efecto ajustando por edad, FM y Causas endocrinas ²		
			OR	IC95%	p	OR	IC95%	p
Fsh urinaria	100	18 (18%)	0,83	0.39 - 1.76	0,630	0,75	0.36 - 1.55	0,433
Fsh r	99	12 (12.1%)	0,6	0.37 - 1.32	0,203	0,53	0.24 - 1.16	0,111
Secuencial	100	20 (20%)	-	-	-	-	-	-

	N	NACIDO sobre Bhcg positiva	Efecto ajustando por edad, n° ciclo y estradiol			Efecto ajustando por edad, FM y Causas endocrinas ²		
			OR	IC95%	p	OR	IC95%	p
Fsh urinaria	20	11 (55%)	0,56	0.12 - 2.5	0,450	0,7	0.19 - 2.7	0,605
Fsh r	13	8 (61.5%)	0,72	0.12 - 4.2	0,714	0,89	0.19 - 4.2	0,884
Secuencial	21	14 (66.7%)	-	-	-	-	-	-

13.4.- Resultados: coste - efectividad de los tratamientos:

En el análisis coste-efectividad, se observó una menor ratio coste/efectividad en el esquema Secuencial frente a los otros dos esquemas de tratamiento. **Tabla 20**

Tabla 20: Comparativa coste efectividad según los protocolos.

		Dosis media	COSTE POR CICLO	Ratio coste/ bhcg	Ratio coste/RN
Fsh urinaria	n=100	628.7 UI	240.6	12.03	21,87
Fsh recombinante	n=99	635.6 UI	328,05	25,23	41
Secuencial	n=100	606.4 UI	259,68	12,36	18,54

- El Coste por ciclo con cada protocolo fue:
 - Fsh urinaria fue de: 240,6 Euros
 - Fsh recombinante: 328,05 Euros
 - Fsh u + Fsh r (Secuencial): 259,68 Euros.

*coste por ciclo: dosis media utilizada por cada ciclo, entre 75UI de medicación, multiplicado por el coste de PVP de cada vial de 75 UI. 1 Vial 75 UI Foptipur®: 28,71 E, 1 vial de 75 UI Gonol :38,71

- El Ratio coste/efectividad sobre Bhcg positiva fue menor con Fsh urinaria en comparación con Fsh recombinante, que fue casi el doble, de 25,23 euros/ gestación.

PROTOCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SEGÚN EL PATRÓN DE GLICOSILACIÓN DE LA HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE

- El Ratio coste/ efectividad sobre Recién nacido fue de: Fsh urinaria: 21,87 EUROS /por recién nacido, la mitad en comparación con Fsh recombinante

Por tanto, objetivamos que utilizando el protocolo secuencial obtenemos unos resultados positivos con menos coste del tratamiento. Es decir, tiene un coste/efectividad menor que los otros dos protocolos. **(figura 33)**

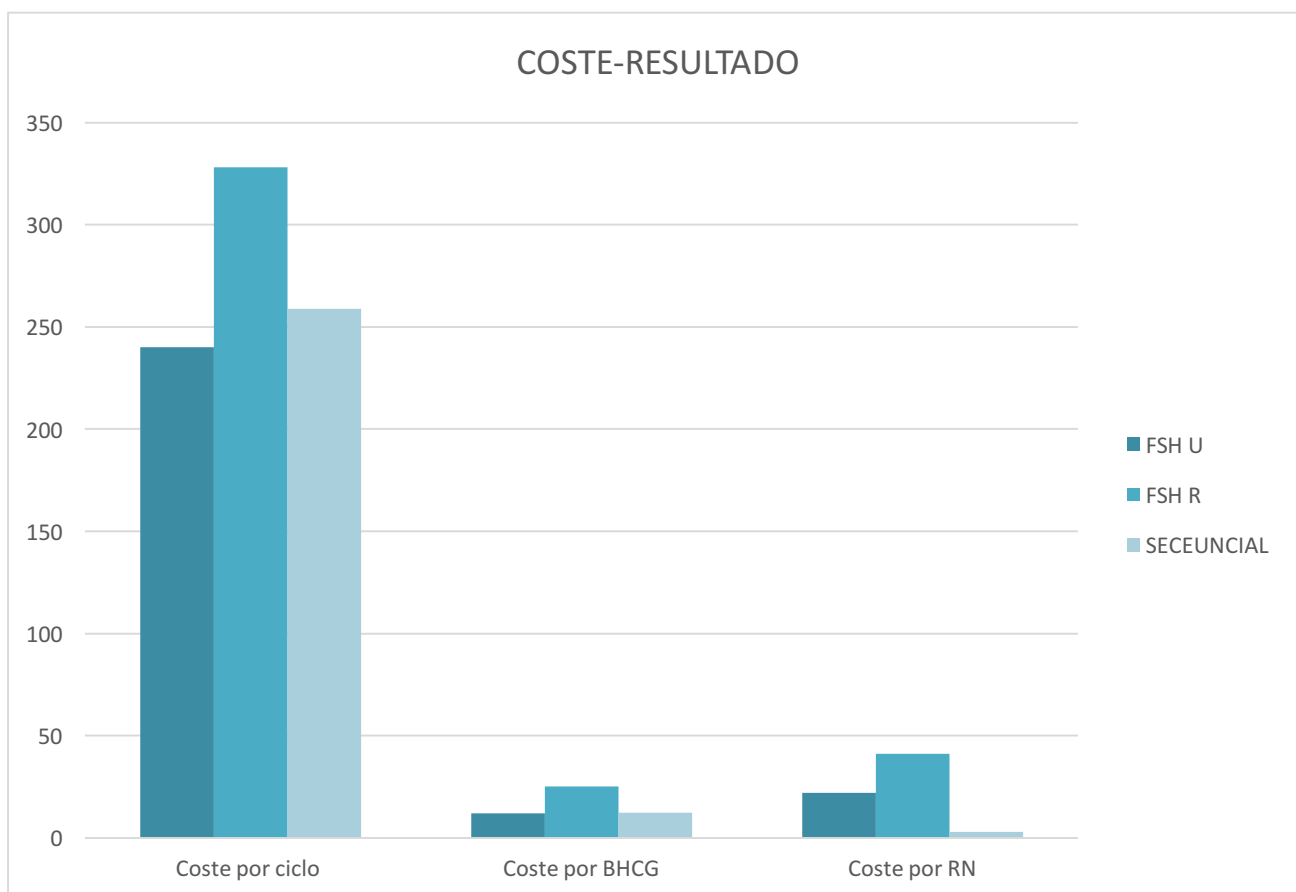


FIGURA 33: Coste efectividad de los tratamientos

13.5.- Análisis según número de ciclo de inseminación

Los tres grupos fueron analizados según su última intervención: pacientes con inseminaciones anteriores y pacientes sin inseminaciones anteriores. A continuación, se detallan los resultados de las pacientes.

Se analizan un total de 173 pacientes. (aquí solo consideramos las inseminadas)

- El rango de edad es de 27 a 40 años, con una edad media de 35 ± 3 años.
- En 70 pacientes la causa de infertilidad era conocida, siendo las más frecuentes las causas endocrinas y el factor masculino. Mientras que las otras 102 pacientes, lo que supone un 59% de las causas presentaban una Esterilidad de origen desconocido (EOD) **Tabla 21.**

Tabla 21: Causas de esterilidad por paciente.

EOD	102 (59%)
CAUSAS ENDOCRINAS con PCO	26 (15%)
FMASCULINO	20 (11.6%)
ENDOMETRIOSIS	13 (7.5%)
AÑOSAS	14 (8.1%)
FTUBARICO	4 (2.3%)
FCERVICAL	3 (1.7%)
PCO	15 (8.7%)

Irene Perelson del Pozo
 PROTOCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SEGÚN EL
 PATRÓN DE GLICOSILACIÓN DE LA HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE

En los casos de factor masculino el resultado obtenido más bajo de 3 mill/ml y el más alto de 26 mill/ml

En cuanto a los antecedentes ginecológicos, un 29% de las pacientes tenía antecedentes de embarazo previo y un 23% tenía antecedentes de al menos un aborto previo.

En cuanto a las variables resultado, un total de 47 pacientes alcanzaron BHCG positivo, lo que supone una tasa de BHCG del 27.2%.

La tasa de aborto y de recién nacido es de 31% sobre las betas positivas y de 68,1% respectivamente. El estudio obtuvo una tasa de embarazo de 26% IC 95%: 19.6% - 32.2%. 45 pacientes, de las 173 inseminadas quedaron embarazadas. **Tabla 22**

Tabla 22: Resultados en función de intento previo o no.

		Intento Previo		Total	p-valor
		No	Si		
BHCG	Sí	23 (32.4%)	24 (23.5%)	47 (27.2%)	0,197
GESTACIO NN	Sí	23 (32.4%)	22 (21.6%)	45 (26%)	0,11
ABORTO	Sí	6 (26.1%)	9 (37.5%)	15 (31.9%)	0,401
NACIDO	Sí	17 (73.9%)	15 (62.5%)	32 (68.1%)	0,401
EMBARAZO - MULTIPLE	Sí	4 (17.4%)	4 (18.2%)	8 (17.8%)	1

COMPARACIÓN SERIE CON Y SIN INTENTOS PREVIOS

Distribuimos las pacientes entre las que han tenido intentos previos (ciclos anteriores) y las que este es su primer ciclo.

Tenemos en el estudio 71 (41%) de casos sin intento previo, y 102 (59%) que tuvieron ciclos anteriores.

La edad media de los casos sin intentos previos fue de $35,3 \pm 3.3$, con edades entre 27 y 40 años, frente a las pacientes con ciclos anteriores de 35.4 ± 2.9 , con edades entre 28 y 40 años. No existieron diferencias estadísticamente significativas.

La distribución de los tratamientos fue estadísticamente significativa entre pacientes con intento previo y aquellas sin intento previo. ($p < 0,05$) **Tabla 23**

Tabla 23: Distribución pacientes con intento previo y sin intento previo.

N pacientes	Fostipur	Gonal	Secuencial
Sin intento previo	33 (46%)	25 (35%)	13 (18%)
Con intento previo	25 (25%)	33 (32%)	44 (43%)

En el resto de características no se encontraron diferencias a excepción, del REM basal, tampoco en el tiempo de esterilidad. **Tabla 24**

Irene Perelson del Pozo
 PROTOCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SEGÚN EL
 PATRÓN DE GLICOSILACIÓN DE LA HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE

Tabla 24: Tiempo de esterilidad de la pareja

		Intento Previo		Total	p-valor
		No	Si		
Tiempo Años	0	1 (1.4%)		1 (0.6%)	0,18
	1	38 (53.5%)	44 (43.1%)	82 (47.4%)	
	2	32 (45.1%)	57 (55.9%)	89 (51.4%)	
	3		1 (1%)	1 (0.6%)	

Tampoco encontramos diferencias en cuanto a las variables resultado ni estimulación: **Tabla 25,26**

Tabla 25: Resultados en series con o sin intento previo.

		Intento Previo		Total	p-valor
		No	Si		
Tto antagonista	No	46 (64.8%)	65 (63.7%)	111 (64.2%)	0,886
	Si	25 (35.2%)	37 (36.3%)	62 (35.8%)	
IA complejidad	Fácil	67 (94.4%)	94 (92.2%)	161 (93.1%)	0,763
	Difícil	4 (5.6%)	8 (7.8%)	12 (6.9%)	

Tabla 26: Resultados en series con o sin intento previo.

		Intento Previo		Total	p-valor
		No	Si		
BHCG	Si	23 (32.4%)	24 (23.5%)	47 (27.2%)	0,197
GESTACIÓN	Si	23 (32.4%)	22 (21.6%)	45 (26%)	0,11
ABORTO	Si	6 (26.1%)	9 (37.5%)	15 (31.9%)	0,401
NACIDO	Si	17 (73.9%)	15 (62.5%)	32 (68.1%)	0,401
EMBARAZO MÚLTIPLE	Si	4 (17.4%)	4 (18.2%)	8 (17.8%)	1

DIFERENCIAS POR ESQUEMA

Se realizó el estudio por separado de la serie de pacientes sin intervención previa y la serie de pacientes con intervenciones previas para ver si existían diferencias comparando los tres grupos de tratamiento de estimulación.

A. Pacientes sin intervención previa

Se analizan los resultados de 71 pacientes que no han tenido inseminaciones previas.

En cuanto a la homogeneidad de los grupos respecto a las características basales encontramos que difieren respecto a los antecedentes ginecológicos de embarazo y aborto previo y en las medidas de estradiol.

Las pacientes del grupo secuencial presentan mayor frecuencia de embarazo y aborto previo.

Las medidas de estradiol eran más bajas en el grupo de FSH urinaria. **Tabla 27, 28**

Tabla 27: Características basales en serie sin intento previo.

		Fsh u	FSH r	Secuencial	P-Valor
		n=33	n=25	n=13	
Embarazo previo	No	29 (87.9%)	15 (60%)	7 (53.8%)	0,016
	Sí	4 (12.1%)	10 (40%)	6 (46.2%)	
Aborto previo	No	31 (93.9%)	21 (84%)	9 (69.2%)	0,088
	Sí	2 (6.1%)	4 (16%)	4 (30.8%)	
Edad	Media ± Desviación	34.8 ± 2.9	35.6 ± 3.5	35.6 ± 3.8	0,46
	Rango	28 - 41	29 - 41	27 - 41	
Estradiol	Mediana (Rango intercuartilico)	37 (31.5 - 61)	52 (42 - 60)	42 (28.5 - 55.5)	0,054
	Rango	24 - 112	22 - 73	16 - 112	
FSH basal	Mediana (Rango intercuartilico)	7 (5 - 8)	6 (5.5 - 8)	6 (5.5 - 7)	0,744
	Rango	3 - 12	3 - 12	3 - 8	
Fas.drch	Mediana (Rango intercuartilico)	6 (5 - 7)	5 (5 - 7)	6 (4.5 - 7)	0,907
	Rango	2 - 12	3 - 10	4 - 8	
Fas.izq	Mediana (Rango intercuartilico)	6 (5 - 7)	6 (4 - 7.5)	5 (4 - 6.5)	0,264
	Rango	3 - 9	2 - 12	3 - 8	
REM	Mediana (Rango intercuartilico)	12 (7.3 - 19.5)	10 (7 - 14.5)	11 (4 - 21)	0,505
	Rango	4 - 46	4 - 26	4 - 64	

Irene Perelson del Pozo
 PROTOCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SEGÚN EL
 PATRÓN DE GLICOSILACIÓN DE LA HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE

Tabla 28: Datos estimulación en serie sin intentos previos

		FSH u	FSH r	Secuencial	P-Valor
		n=33	n=25	n=13	
Tto antagonista	No	21 (63.6%)	16 (64%)	9 (69.2%)	1
	Sí	12 (36.4%)	9 (36%)	4 (30.8%)	
IA complejidad	Fácil	31 (93.9%)	23 (92%)	13 (100%)	0,823
	Difícil	2 (6.1%)	2 (8%)		
REM IA	Mediana (Rango inter-cuartílico)	12 (8 - 26)	13 (8 - 23)	12 (5.5 - 20.5)	0,796
	Rango	1 - 60	1 - 39	2 - 73	
Endometrio	Mediana (Rango inter-cuartílico)	9 (8 - 9)	9 (8 - 10.5)	9 (8 - 10)	0,726
	Rango	7 - 14	6 - 14	7 - 12	
Nº folic. recltdos	Mediana (Rango inter-cuartílico)	1 (1 - 2)	1 (1 - 2)	2 (1 - 2)	0,57
	Rango	1 - 2	1 - 4	1 - 4	
Tamaño max. folic	Mediana (Rango inter-cuartílico)	18 (18 - 19)	19 (18 - 20)	19 (18 - 19)	0,695
	Rango	17 - 22	17 - 22	17 - 19	

En cuanto a la eficacia y seguridad del tratamiento, no encontramos diferencias entre esquemas. Todas las pacientes con BHCG logran GESTACION ecográfica, no hay abortos bioquímicos.

En cuanto a los casos de aborto, se dan 6 casos, 4 en FSH u y 2 en FSH r pero sin diferencias estadísticamente significativas.

Tampoco encontramos diferencias en cuanto al embarazo múltiple, con 3 casos en FSH r y 1 en secuencial. **Tabla 29, (figura 34)**

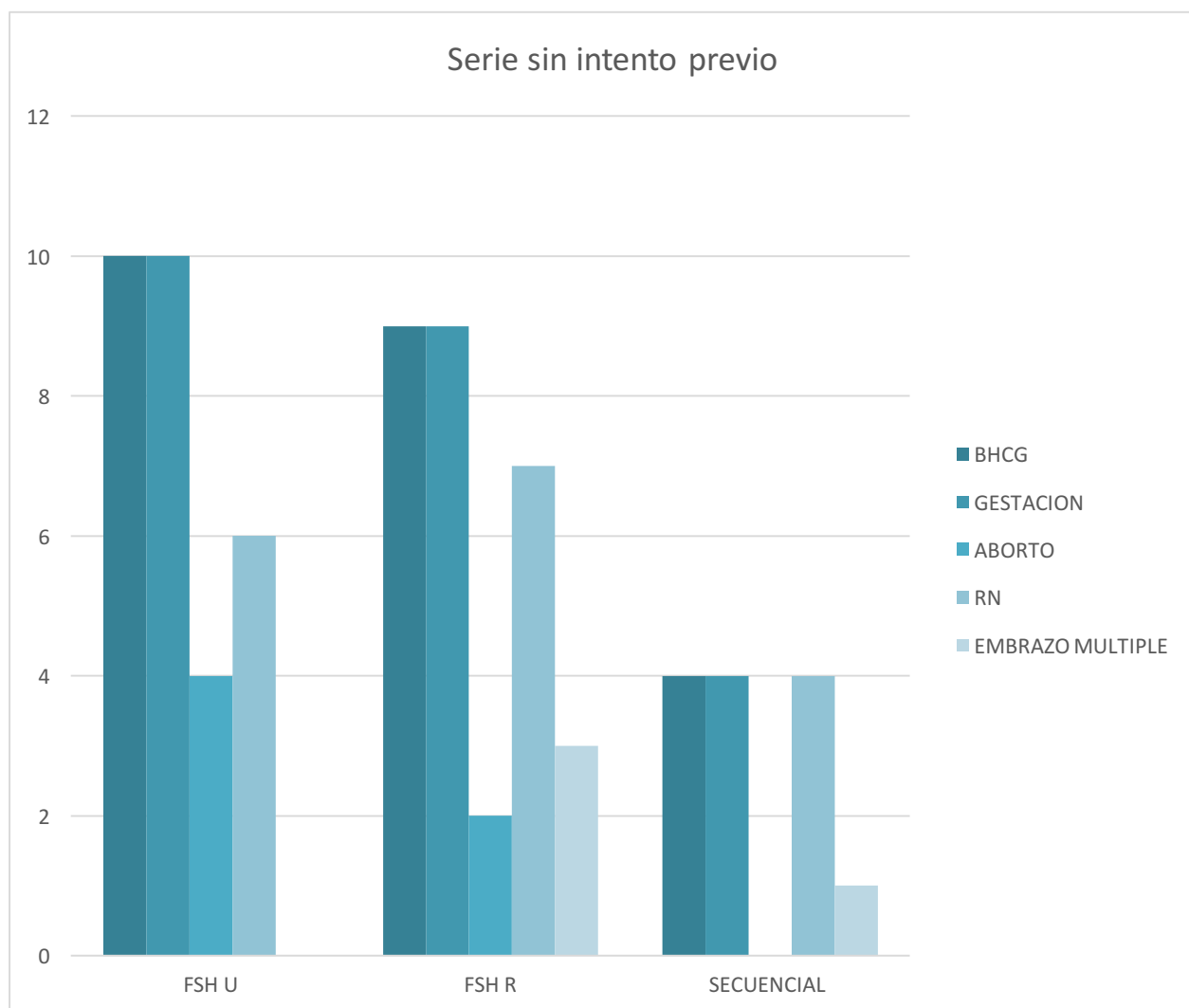


FIGURA 34: Resultado de inseminación según protocolo en serie sin intento previo

Tabla 29: Resultados en serie sin intento previo.

		FSH u	FSH r	Secuencial	P-Valor
		n=33	n=25	n=13	
BHCG					0,891
	Sí	10 (30.3%)	9 (36%)	4 (30.8%)	
Gestación (eco)					0,891
	Sí	10 (30.3%)	9 (36%)	4 (30.8%)	
Aborto					0,483
	Sí	4 (40%)	2 (22.2%)		
Nacido					0,483
	Sí	6 (60%)	7 (77.8%)	4 (100%)	
Embarazo Múltiple	Sí		3(33,3%)	1 (25%)	

Estudiamos ahora como varia la probabilidad de respuesta en función del esquema. Para esto estimamos los OR del esquema FSH r y FSH u frente a secuencial sin ajustar y ajustando por edad, embarazo previo y estradiol. No encontramos efectos relevantes en los modelos sin ajustar, ni en los modelos ajustados. **Tabla 30**

Tabla 30: Probabilidad de gestación y recién nacido en modelos ajustados en serie sin intentos previos.

		Sí	Efecto sin ajustar			Efecto ajustando por edad, embarazo previo y estradiol		
			OR	IC95%	p	OR	IC95%	p
BHCG/GESTACIÓN	FSH u	10 (30.3%)	0,98	0.24 - 3.94	0,975	1,13	0.23 - 5.58	0,879
	FSH r	9 (36%)	1,27	0.3 - 5.31	0,747	1,13	0.22 - 5.69	0,884
	Secuencial	4 (30.8%)	-	-	-	-	-	-

		Sí	Efecto sin ajustar			Efecto ajustando por edad, embarazo previo y estradiol		
			OR	IC95%	p	OR	IC95%	p
NACIDO	FSH u	6 (60%)	0,16	0.01 - 3.78	0,256	0,24	0.01 - 7.87	0,423
	FSH r	7 (77.8%)	0,33	0.01 - 8.63	0,508	0,62	0.01 - 31.2	0,813
	Secuencial	4 (100%)	-	-	-	-	-	-

B. Pacientes con intervención previa

Se analizan los resultados de 102 pacientes que no han tenido inseminaciones previas. La edad media de esta serie es de 35.4 ± 2.9 , con edades entre 28 y 41 años. En cuanto a la homogeneidad de los grupos respecto a las características basales encontramos que solo difieren respecto las medidas de estradiol. En esta serie, las medidas de estradiol eran más altas en el grupo de secuencial. En el resto de características basales, los grupos fueron homogéneos. **Tabla 31.** Al igual que en los datos de la estimulación.

Irene Perelson del Pozo
 PROTOCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SEGÚN EL
 PATRÓN DE GLICOSILACIÓN DE LA HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE

Tabla 31: Características basales en la serie con intento previo.

		FSH u	FSH r	Secuencial	p-valor
		N=25	N=33	N=44	
Embarazo Previo	No	14 (56%)	25 (75.8%)	32 (72.7%)	0,225
	Sí	11 (44%)	8 (24.2%)	12 (27.3%)	
Aborto Previo	No	18 (72%)	28 (84.8%)	35 (79.5%)	0,487
	Sí	7 (28%)	5 (15.2%)	9 (20.5%)	
Edad	Media ± Desviación	34.9 ± 3.5	35.2 ± 2.9	35.8 ± 2.5	0,599
	Rango	28 - 41	29 - 40	31 - 41	
Estradiol	Mediana (Rango intercuartilico)	42 (33.5 - 54)	37 (28 - 51)	56.5 (38 - 78.5)	0,002
	Rango	13 - 78	10 - 84	11 - 112	
FASDRCH	Mediana (Rango intercuartilico)	6 (5 - 7.5)	5 (5 - 7)	5 (5 - 6)	0,532
	Rango	4 - 10	2 - 10	3 - 8	
FASIZQ	Mediana (Rango intercuartilico)	6 (5 - 7.5)	6 (5 - 7.5)	6 (5 - 6.75)	0,491
	Rango	3 - 10	3 - 10	2 - 8	
FSH BASAL	Mediana (Rango intercuartilico)	6 (5 - 7)	6 (5 - 7)	6 (5 - 7)	0,684
	Rango	3 - 13	3 - 14	3 - 11	
REM	Mediana (Rango intercuartilico)	13 (11 - 30.5)	15 (7.5 - 19)	12 (10 - 20)	0,424
	Rango	5 - 50	3 - 45	4 - 44	

En cuanto a la eficacia y seguridad del tratamiento se encontraron diferencias significativas en la tasa de BHCG y en la de GESTACION en los diferentes esquemas de tratamiento. **Tabla 32. (figura 35)**

- Las pacientes con esquema secuencial y FSH u tienen mayor frecuencia de BHCG y GESTACION que las pacientes con esquema FSH r. La tasa de gestación es significativamente mayor que con los otros dos esquemas de tratamiento, con una $p = 0.022$
- En cuanto a la frecuencia de ABORTO, se dan 6 casos, 3 en las pacientes del esquema FSH u, 2 en el esquema FSH r y 4 en secuencial, sin diferencias estadísticamente significativas.
- El embarazo múltiple se presenta en 4 casos de la serie de secuencial.
- La tasa de recién nacido es mayor en secuencial que en los otros dos grupos, con un 69,2% aunque no es significativo.

Irene Perelson del Pozo
 PROTOCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SEGÚN EL
 PATRÓN DE GLICOSILACIÓN DE LA HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE

Tabla 32: Resultados en la serie con intentos previos.

		FSH u	FSH r	Secuencial	p-valor
		N=25	N=33	N=44	
BHCG	No	17 (68%)	30 (90.9%)	31 (70.5%)	0,051
	Sí	8 (32%)	3 (9.1%)	13 (29.5%)	
GESTACION	No	18 (72%)	31 (93.9%)	31 (70.5%)	0,022
	Sí	7 (28%)	2 (6.1%)	13 (29.5%)	
ABORTO	No	5 (62.5%)	1 (33.3%)	9 (69.2%)	0,61
	Sí	3 (37.5%)	2 (66.7%)	4 (30.8%)	
NACIDO	No	3 (37.5%)	2 (66.7%)	4 (30.8%)	0,61
	Sí	5 (62.5%)	1 (33.3%)	9 (69.2%)	
EMBARAZO - MULTIPLE	No	7 (100%)	2 (100%)	9 (69.2%)	0,353
	Sí			4 (30,8%)	

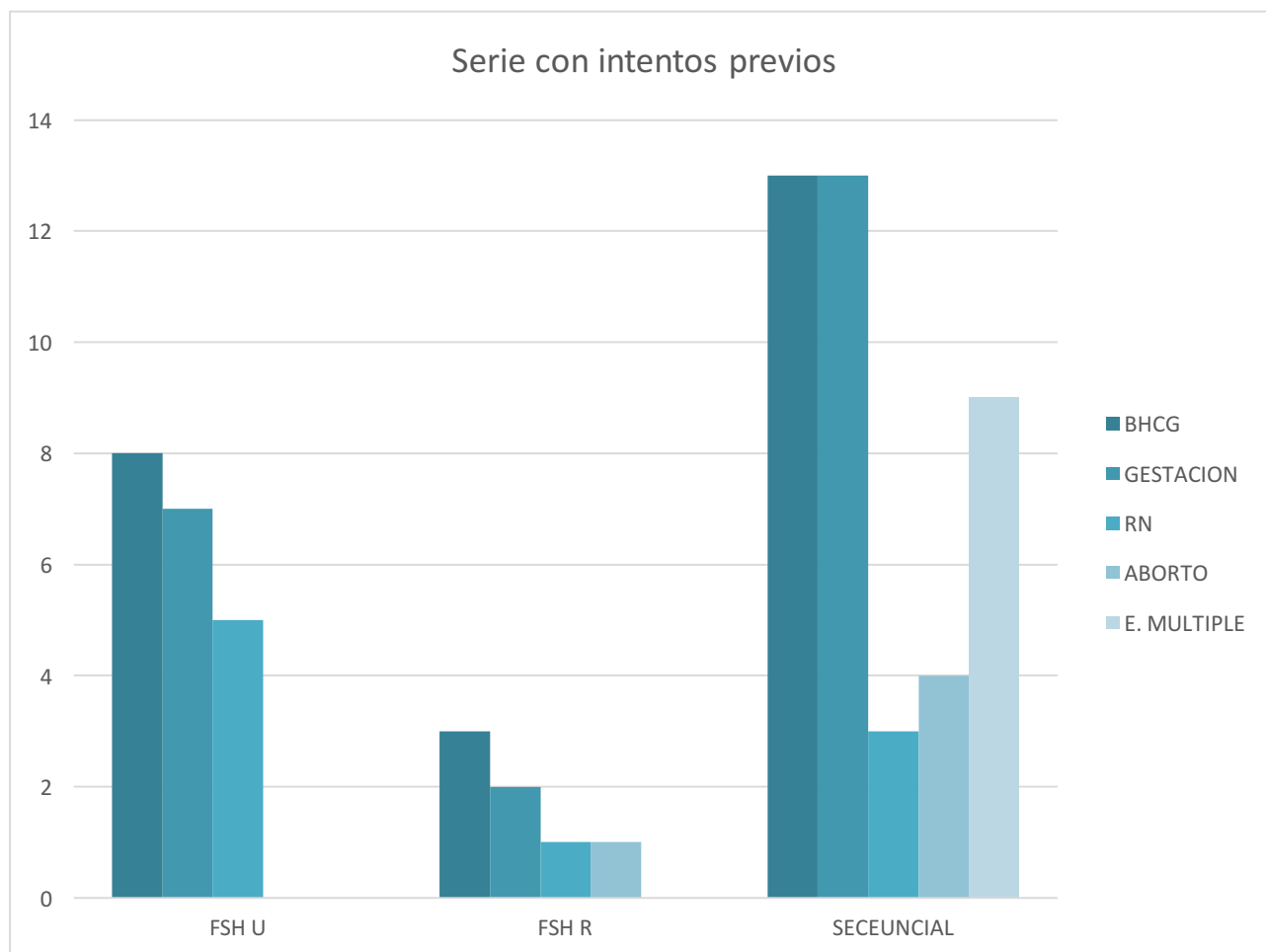


FIGURA 35: Resultados en serie con intentos previos

En cuanto a los resultados de los modelos de regresión logística se obtienen efectos estadísticamente significativos comparando secuencial frente a FSH r

La probabilidad de BHCG y GESTACION y de recién nacido disminuye en el esquema FSH r frente al secuencial con OR=0.24 (IC95%: 0.06 – 0.92, p=0.038) y OR=0.15 (IC95%: 0.03 – 0.74, p=0.019) y un OR 0,22 con IC95%: 0,02-3,2 y p=0,089 respectivamente. Todas con significación estadística.

Se encontró efectos de la misma magnitud en los modelos ajustados estadísticamente significativos en gestación **Tabla 33**, por tanto, FSH r disminuye la probabilidad de BHCG frente a secuencial de manera estadísticamente significativa, $p=0.038$

Tabla 33: Probabilidad de Bhcg, gestación y recién nacido entre grupos en modelos ajustados en series con intento previo

		BHCG	Efecto sin ajustar			Efecto ajustando por edad y estradiol		
			OR	IC95%	p	OR	IC95%	p
BHCG	FSH U	8 (32%)	1,12	0.39 - 3.24	0,831	1,29	0.41 - 4.07	0,664
	FSH r	3 (9.1%)	0,24	0.06 - 0.92	0,038	0,29	0.07 - 1.18	0,084
	Secuencial	13 (29.5%)	-	-	-			

		GESTACIÓN N	Efecto sin ajustar			Efecto ajustando por edad y estradiol		
			OR	IC95%	p	OR	IC95%	p
GESTACIÓN	FSH U	7 (28%)	0,93	0.31 - 2.75		1,06	0.32 - 3.48	0,922
	FSH r	2 (6.1%)	0,15	0.03 - 0.74	0,019	0,18	0.04 - 0.95	0,043
	Secuencial	13 (29.5%)	-	-	-	-	-	-

Irene Perelson del Pozo
 PROTOCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SEGÚN EL
 PATRÓN DE GLICOSILACIÓN DE LA HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE

		NACIDO	Efecto sin ajustar			Efecto ajustando por edad y estradiol		
			OR	IC95%	p	OR	IC95%	p
NACIDO	FSH U	5 (62.5%)	0,74	0.12 - 4.7	0,751	0,11	0 - 2.9	0,185
	FSH r	1 (33.3%)	0,22	0.02 - 3.2	0,270	0,04	0 - 1.6	0,089
	Secuencial	9 (69.2%)	-	-	-	-	-	-

Con respecto a nacido no encontramos diferencias estadísticamente significativas, pero se observa que es mucho menos probable nacido con FSH u o FSH r frente a secuencial.

14.- DISCUSIÓN

Existen en la literatura científica múltiples estudios que comparan la eficacia de distintos protocolos de estimulación ovárica para técnicas de reproducción asistida sin llegar a conclusiones indiscutibles. Por tanto, la elección del protocolo de estimulación más eficaz para conseguir un folículo maduro y posteriormente un embarazo es un tema muy estudiado en el campo de la reproducción asistida.

El objetivo final de un tratamiento de reproducción asistida independientemente de la técnica que se elija para cada pareja que consulta por un problema de fertilidad es conseguir un embarazo y finalmente un recién nacido sano. Estos son los criterios para demostrar cuál es el tratamiento más eficaz. También debemos buscar tratamientos que sean los más seguro posible para las pacientes e incluso el más efectivo con una ratio coste efectividad lo más bajo posible. La tendencia actual en las estrategias de estimulación e inducción de la ovulación es mejorar el éxito tanto de la técnica y la seguridad del tratamiento a la vez que se minimicen las molestias causadas por este (78) (70).

Uno de los pilares básicos de la inseminación artificial es la estimulación ovárica para conseguir un folículo maduro, lo cual se consigue con una estimulación externa con gonadotropinas. Actualmente en el mercado encontramos varios preparados de gonadotropinas, que se pueden utilizar solas o combinadas en los distintos protocolos de estimulación ovárica.

En las últimas décadas la hormona FSH ha adquirido un papel principal en los protocolos de estimulación ovárica en las mujeres infértiles o subfértiles.

Durante muchos años y en la actualidad, la gonadotropina más utilizada para la estimulación es la FSH que a su vez podemos diferenciar en FSH u y FSH r. Estas gonadotropinas tienen distintas isoformas que les dan unas propiedades químicas y biológicas diferentes. El alto coste médico de los productos recombinantes ha motivado el hacer estudios que exploren la eficacia y el coste- efectividad de tratamientos alternativos para la estimulación ovárica.

Debido a esto y como ya se ha explicado anteriormente, la hormona estimulante del folículo (FSH) es una hormona glucoproteica implicada en la regulación de la foliculogénesis ovárica y que circula en el torrente sanguíneo como una heterogénea población de moléculas, isoformas de FSH individuales. Estas isoformas presentan diferencias en su acidez, en la afinidad de unión al receptor y en la vida media plasmática. (79)

Las isoformas de la FSH van variando durante el ciclo y la vida de la mujer, están influenciadas por el aumento de las concentraciones de estrógeno durante la fase folicular, siendo menos ácidas cuanto mayor sea la concentración de estrógeno (80).

Se sabe que las isoformas más ácidas se producen en la fase folicular inicial y que conforme va aumentando el nivel de estrógenos van perdiendo acidez.

Dentro de los preparados comerciales actuales, sabemos que las isoformas resultantes de la administración de FSH recombinante (FSH r) son menos ácidas que las que encontramos tras la administración de FSH altamente purificada (FSH hp) (81).

Uno de los puntos claves a la hora de diseñar un protocolo de hiperestimulación ovárica en una paciente determinada es buscar lo que más se asemeje al ciclo natural de la mujer. Debido a esto, es interesante comparar diferentes protocolos de estimulación variando el patrón de glicosilación según la secuencia de administración de gonadotropinas. Los distintos protocolos utilizados durante muchos años consisten en FSH r durante todo el ciclo (isoformas menos ácidas) o FSH hp durante todo el ciclo (isoformas más ácidas).

Basándonos en estos cambios de acidez de la FSH durante la fase folicular del ciclo, hay estudios que diseñan protocolos de estimulación siguiendo una secuencia de administración de la FSH ácida menos ácida imitando el ciclo natural. El protocolo de estimulación que se propone en este estudio consiste en administrar FSH hp en la fase folicular inicial para continuar con FSH r cuándo las concentraciones de estrógeno aumenten (similar al ciclo natural).

El uso de FSH r es indiferente de los comercializados, ya que existe estudios que demuestran misma eficacia con ambos tipos de FSHr (82), por lo que se utilizó indistintamente Gonal® y Puregon® aunque la mayoría de los casos se utilizó Fsh r GONAL®

Los estudios que comparan distintos protocolos de estimulación en técnicas de reproducción asistida, tanto en FIV, como en IA, lo hacen principalmente entre la FSH r y la FSH u, con una dominancia del preparado recombinante en todos los estudios identificados, donde se encuentran mayores tasas de gestación en las tratadas con FSH r que frente a las pacientes tratadas con FSH u (83). Aunque en una revisión de múltiples estudios que comparan la eficacia de distintas preparaciones de FSH en ciclos FIV, los resultados fueron contradictorios (84).

Sin embargo, en el estudio de Selman, H et al. 2010 que comparan los protocolos básicos de estimulación con FSH u y con FSH r en la totalidad de la estimulación y los protocolos secuencial de administración de la FSH acida- menos acida, encuentra tasas de gestación mayores y mayor recuperación de ovocitos maduros y embriones de mejor calidad utilizando el protocolo secuencial (66)

En otro estudio de Selman, H et al. 2013 se plantea un nuevo protocolo de estimulación ovárica multifolicular para FIV, que resulta de la combinación de FSH u y FSH r con resultados positivos en cuanto a reclutamiento folicular, número de ovocitos obtenidos y calidad ovocitaria, en pacientes con fallo de implantación con intentos previos de FIV. Esto conlleva a unos resultados con embriones de mejor calidad y por tanto mayor tasa de gestación (85).

En el ámbito de la inseminación artificial encontramos pocos estudios que comparen protocolos de FSH r y FSH u en protocolos de estimulación y menos con protocolo secuencial, pero no debemos olvidar que la inseminación artificial ha sido considerada la primera línea de tratamiento en pacientes menores de 37

años con historia de infertilidad no muy prolongada, normalmente no mayor a 1 año, sin factor masculino severo, ni factor tubárico bilateral.

Pese a que en los últimos años las tasas de éxito de la fecundación in vitro (FIV) han ido aumentando considerablemente mientras que no ha ocurrido lo mismo con las de la IAC, muchos estudios que analizan resultados y costes concluyen que tratar directamente con FIV es más costo-efectivo que intentar IAC en primer lugar. Pero, teniendo en cuenta que las tasas acumuladas de embarazo, considerando un tiempo medio de 6 meses, no son nada despreciables (25- 50%), algunas parejas pueden evitarse tratamientos más invasivos y caros.

De hecho, las Guidelines internacionales (ESHRE 2001, NICE 2004, The Practice Committee ASRM 2012) recomiendan empezar con tratamientos menos invasivos y derivar directamente a FIV cuando fracasa la técnica, en casos de edad materna avanzada y/o tiempo de esterilidad prolongado. De todas formas, todas ellas están de acuerdo en que, en ningún caso, deben suponer un incremento de las gestaciones múltiples y sus complicaciones.

Los tratamientos de FIV, en esta situación son más caras comparadas con el tratamiento de estimulación ovárica seguida de IAIU, sin ser significativamente más efectiva. Por tanto, se recomienda la IAIU, siendo una técnica más barata y menos invasiva como primera línea de tratamiento en las parejas antes mencionadas con diagnóstico de infertilidad idiopática y subfertilidad masculina (86) (87).

En nuestro estudio se plantea la estimulación ovárica con protocolo secuencial en pacientes que van a ser sometidas a inseminación artificial, y aunque no hemos encontrado diferencias significativas, sí que se ha podido observar que tanto la dosis total utilizada como los días de estimulación que precisan las pacientes es menor con este protocolo que con los clásicos con Fsh recombinante o urinaria únicamente. Esto demuestra que el protocolo secuencial podría ser beneficioso para las pacientes, ya que el hecho de tener que utilizar menos dosis, tanto en unidades como en días, conllevara a tener menos efectos secundarios indeseables, más comodidad y abaratará el tratamiento de la paciente. No obstante, el objetivo final sigue siendo la estimulación ovárica para conseguir dos folículos, y que finalmente se consiga gestación tras la inseminación.

Y en nuestro estudio se obtiene una tasa de gestación bioquímica y clínica mayor con el protocolo secuencial que con los otros dos protocolos, siendo esta de un 20%. Sobre un 12% con Gonal® y un 18% con Fostipur.

Esto demuestra que si se utiliza un protocolo de estimulación ovárica que simule el ciclo natural de la mujer, en la práctica clínica vamos a encontrar mejores resultados en cuanto a las tasas de gestación.

En base a esto, aunque no hayamos obtenido significación estadística, sí que se observa una tendencia en la que para la obtención de un folículo maduro y alcanzar mayores niveles de estradiol sérico, se necesitan menos días de estimulación y menos dosis de gonadotropinas utilizando el protocolo secuencial en comparación con los otros dos protocolos.

Hay que tener en cuenta que el protocolo secuencial no solamente es más barato porque Fostipur® tenga menos PVP, sino porque la dosis utilizada con el protocolo secuencial es menor y menos días de estimulación con una mayor tasa de gestación

Todos los ciclos de estimulación incluidos en el estudio presentan homogeneidad en cuanto a factores demográficos y variables principales, sin obtener diferencias significativas. Excepto en el número de ciclo que estaba realizando la paciente.

Debido a esto y a los resultados obtenidos en el estudio de Selman, H et.al 2015 realizamos un segundo análisis donde hemos comparado por un lado las pacientes que están realizando su primer ciclo y por otro lado las pacientes que están realizando el segundo o más ciclos de estimulación.

Es en estas situaciones donde encontramos resultados interesantes y significativos. De tal manera que en el estudio se observa que las pacientes que se han sometido a ciclos previos de inseminación, tienen una tasa mayor de embarazo con el protocolo Secuencial y con Fostipur® con respecto a las pacientes que se estimulan con Gonal®. En nuestro estudio se concluye que, en la serie sin intentos previos, no sale significativo ningún aumento de probabilidad de embarazo, ni en cuanto a la Bhcg, ni en la tasa de gestación, ni en la tasa de recién nacido.

En cambio, en la serie con intentos previos sí encontramos diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la Bhcg y la tasa de gestación clínica al comparar Gonal® frente a secuencial. Mientras que Fostipur® se comporta similar a secuencial.

Otro aspecto importante que debemos considerar, es según la tendencia actual de las unidades de reproducción asistida, si merece la pena desarrollar estudios para optimizar los resultados de la inseminación artificial, ya que la mayoría de los trabajos se centran en comparativas y mejorías para tratamientos de reproducción asistida centrándose en la FIV. La infertilidad es un problema global que afecta entre a 60 – 80 millones de parejas en el mundo con mayor frecuencia en países en vías de desarrollo, hasta el punto en el que la OMS ha declarado la infertilidad como un problema de salud pública. Por tanto, no debemos despreciar una técnica como la inseminación artificial, que, aunque a priori las tasas de éxito no son tan elevadas como se desearía, sí que supone un resultado exitoso en pacientes seleccionados. La inseminación artificial es una técnica sencilla, económica y menos compleja a otros niveles como el aspecto moral y ético que la fecundación in vitro (88).

En cuanto a los resultados, los datos publicados en la literatura son de una tasa de gestación de alrededor del 25%, pero es muy variable según la selección de los pacientes, por otro lado, la tasa de aborto debe considerarse también, ya que esta alrededor del 20%, también muy dependiente de factores y sobretodo más elevada en paciente de 40 años, o cercanas a los 40 años.

Por otro lado, a la hora de valorar el éxito de las técnicas de reproducción asistida, hay que considerar también que la tasas de fecundabilidad, es decir la probabilidad de conseguir un embarazo mes a mes en una pareja fértil, es del 20-25% y que cuando tienen algún problema esta tasa, baja hasta un 8%. (89)

Para sustentar esta afirmación, existen varios estudios que afirma la falta de evidencia para recomendar FIV frente a inseminación artificial como primera línea de tratamiento y otros estudios que si recomiendan la inseminación artificial como técnica indicada en pacientes con infertilidad desconocida (90). (91)

A pesar de esta evidencia, es necesario informar a las pacientes sobre todos los riesgos que conlleva cada técnica, de los resultados y las tasas de éxito de cada una, así como de todas las implicaciones que puedan conllevar, personalizando el tratamiento en cada pareja. A pesar de que la FIV es una técnica con unas tasas de éxito más elevadas que la inseminación artificial debemos informar a los pacientes de su complejidad y sus implicaciones.

Sobre este tema, es importante reseñar, que los tratamientos de fertilidad son eficaces en un 70% de una forma global, y que, sin tratamiento, una pareja con problemas reproductivos solamente tendrá un 6% de posibilidades de conseguir un embarazo de forma natural. (92)

Por último, también es importante destacar que nuestro estudio, se relaciona con un tema en auge dentro de la reproducción asistida, como es la farmacogenética. En esta nueva disciplina se estudia el impacto del genotipo en la respuesta del individuo, tanto en eficacia como efectos adversos, ante un determinado fármaco.

Los trabajos más relevantes en el ámbito de la farmacogenética de la estimulación ovárica están relacionados con los polimorfismos del gen del receptor de la hormona folículo estimulante (FSHr). En cuanto al patrón de glicosilación, se observó en un estudio retrospectivo que según el polimorfismo del gen del FSH r hay mujeres que responden mejor a la estimulación con cuando reciben FSH de origen humano y tras cuando reciben Fsh recombinante. (57) (93)

15.- LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Una de las limitaciones del estudio fue el no contar con un número mayor de muestra para detectar diferencias entre los grupos, aun así, las diferencias encontradas entre la tasa de embarazo hallada para el esquema de FSHu+FSHr frente al tratamiento de FSH r fueron de 7,8% (IC95%: -2.7 a 18.32%), intervalo compatible con la hipótesis planteada para determinar el tamaño de la muestra (94). No fue así, para las diferencias encontradas entre la tasa de embarazo para el esquema de FSHu+FSHr frente al tratamiento de FSH u, -0,8% (IC95%: -12.2 a 10.67%). Donde futuros estudios deberían plantear diferencias menores entre ambas estrategias, FSHu+FSHr frente a FSH u.

16.- CONSIDERACIONES ÉTICAS

Junto a los resultados científicos de esta tesis, considero oportuno añadir algunos comentarios de naturaleza ética. Todo se apunta como reflexiones que pueden servir de prospectiva para orientar nuevas investigaciones en nuestra especialidad.

El objetivo principal de la tesis, como se ha explicado, ha sido dilucidar cual es el protocolo más ventajoso (en tasa de gestación obtenidas vs efectos secundarios) de la estimulación ovárica con gonadotropinas previo a inseminación artificial.

En ausencia de una información científica fiable que avale una u otra opción, las decisiones terapéuticas podrían determinarse por motivos que no sean meramente

científicos, por tanto, si los resultados de nuestro estudio representan nuevos criterios científicos de ayuda de decisión, estaríamos aportando una información valiosa en bien del paciente.

Una primera cuestión tendría que ver con la naturaleza de la información que se ofrece a las parejas a las que se propone el procedimiento de estudio. Las técnicas de reproducción asistida están reguladas desde el punto de vista legal en nuestro país, y gozan de una aceptación social ampliamente generalizada como el derecho a la maternidad y paternidad, “derechos reproductivos”.

Es obvio que el deseo de paternidad es un bien objetivo pretendido por las parejas con dificultades para conseguirlo de forma natural, lo que entraña un gran sufrimiento en muchas de ellas. Pero ello no justificaría éticamente por parte de los médicos, emplear cualquier medio que la tecnología ofrezca, para conseguir dicho fin. Al menos no sin hacer una reflexión ética y crítica adecuada.

Las diferencias en la regulación jurídica internacional sobre aspectos particularmente controvertidos, dan cuenta de la debilidad del criterio legal y del potencial riesgo futuro de que se pueda traspasar cualquier límite actual, sin más argumento que dispongamos de una solución técnica para resolver un problema y de que exista una gran demanda social que solicita el servicio. En esta circunstancia existiría un claro riesgo de mercantilizar la reproducción humana induciendo situaciones de consideración moral compleja.

En este contexto se deben recordar algunas premisas deontológicas:

- El bien del paciente como finalidad suprema de todo acto médicos, y el imperativo de no inducir daños a pacientes ni a terceros.
- La necesidad de adecuación y proporcionalidad de las intervenciones médicas a la necesidad del paciente.

- La necesidad rigor y claridad en la información ofrecida al solicitar consentimiento para cualquier procedimiento de potencial riesgo (de la naturaleza que sea).
- La honestidad intelectual de profesional al explicar ventajas e inconvenientes de las alternativas diagnosticas o terapéuticas entre las que puede elegirse, evitando la persuasión del paciente por una u otra opción cuando entren en juego intereses o preferencias personales del propio médico.
- El incondicional respeto a los legítimos valores y preferencias del paciente, que no entren en colisión con derechos de terceros.

Por los anteriores y otros motivos, la práctica ginecológica está llena de riesgos éticos sobre los que, con frecuencia, no se reflexiona expresamente en buena medida por la escasa formación en disciplinas humanísticas de los programas de especialización en ginecología. El sesgo biomédico de la educación médica actúa, la presión social y los intereses económicos en juego no ayudan mucho a valorar con criterio y ecuanimidad estas circunstancias.

Esta tesis evalúa y analiza la información de una serie de pacientes sometidas a estimulación ovárica como mecanismo de mejora potencial de la eficacia de la inseminación artificial. Las mujeres estudiadas fueron evaluadas de forma retrospectiva, tras seguir dicho tratamiento en condiciones de práctica habitual en el hospital donde se realiza la investigación.

Aunque excede de los objetivos de esta tesis, cabría reflexionar sobre la oportunidad o necesidad de usar sistemáticamente dicha estimulación hormonal, en todos los casos de inseminación artificial, o de evitarla cuando la causa de infertilidad no sea ovárica, por ejemplo, en casos de alteración de permeabilidad tubárica o en casos de infertilidad masculina.

Aquí merece una consideración detallada sobre el beneficio y los riesgos que esta práctica ofrece a los pacientes, aunque también es de considerar que en general debemos recurrir a la evidencia científica, la cual nos dice que no encontramos mejores tasas de gestación cuando se realiza estimulación ovárica y que los riesgos de esta de manera controlada son muy bajos.

Así mismo hay que tener en cuenta como ya se ha comentado, que las casusas de esterilidad son la mayor parte de las veces de origen mixto, masculina y femenina.

Respecto a las exigencias de información previa a los procedimientos de estimulación ovárica pre inseminación, cabría comentar que los pacientes candidatos deberían ser informados de la tasa de éxito del procedimiento al que se van a someter, pero en contrapartida, también deberíamos informarles de las consecuencias de no someterse al tratamiento, como ya hemos mencionado y reseñado con anterioridad.

Con toda esta información, y el deseo legítimo de la paternidad, más la confianza en las posibilidades de la medicina reproductiva, el especialista debería considerarlo todo en conjunto y guiar al paciente con honestidad, sentido común y preocupación por él.

Asimismo, debería explicarse con claridad a las pacientes candidatas a inseminación, que, tras un potencial fracaso del procedimiento, la alternativa más común será el paso a un protocolo de fecundación in vitro, que como se ha mencionado también anteriormente, aunque conlleva mejores resultados de gestación, es más caro, más complejo y conlleva otras implicaciones éticas de mayor calibre.

En definitiva, se trata de ofrecer a toda paciente una información veraz, suficiente y relevante en el consentimiento informado para que pueda elegir libremente, sin coacción ni datos parciales. Quizás sería necesaria una regulación superior profesional que unifique claramente las prácticas de información previa, velando por la seguridad y el respeto a la dignidad de cada paciente. Un reto complejo que exige a los profesionales formación y reflexión.

17.- CONCLUSIONES

1. En nuestro estudio, aunque sin significación estadística, se observa que la Inseminación Artificial con protocolo secuencial obtiene mismas o mejores tasas de gestación y de recién nacido que con los otros protocolos con FSH u y FSH r.
2. No hay diferencias significativas en cuanto a la seguridad de los tratamientos (Síndrome de Hiperestimulación Ovárica). Con respecto a los embarazos múltiples sí se encontró significación estadística, con los protocolos Secuencial y FSH r frente a FSH u, aunque la tasa total es muy baja.
3. El número de folículos reclutados y los niveles séricos de estradiol determinados el día de la administración de la HCG, son mayores en el protocolo Secuencial en comparación con los otros dos.
4. Según los resultados de nuestro estudio, utilizando el protocolo Secuencial para estimulación ovárica en pacientes van a ser sometidas a Inseminación Artificial, tanto el número de días de estimulación como la dosis total de gonadotropinas utilizadas es menor que con los otros dos protocolos.
5. El coste medio del tratamiento utilizando el protocolo secuencial es menor que con los otros dos tratamientos, y lo mismo ocurre cuando se calcula el coste efectividad.
6. En nuestro estudio, en las series de pacientes con intentos previos los resultados indicarían al protocolo secuencial como un protocolo de rescate.

Bibliografía

1. *A global perspective on infertility : an under recognized public health issue* . Mc Donald E. . 2004, carolina papers, Vol. 18.
2. *El estudio basico de esterilidad desde el punto de vista de la medicina basada en la evidencia*. Bruna Catalan I, Collado Ramos O, Prados Mondejar F, Perez Bermejo G. 3, MAY-JUN 2007, Rev Iberoam Fertil , Vol. 24, pp. 145-150.
3. *Epidemiologia de la esterilidad. Actualizaciones de la sociedad española de fertilidad*. Matorras R. s.l. : sociedad española de fertilidad, 2000, pp. 7-9.
4. *Management of the infertile couple : an evidence - based protocol*. Kamel R.M. 8, mar 2010, *Reprod. Biol. Endocrinol*, Vol. 6, p. 21.
5. Instituto Nacional de Estadística. www.ine.es. www.ine.es. [Online]
6. *EUROPE in figures .Eurostat yearbook 2009 population*. 2009.
7. *Registro FIV-IAC/IAD de la Sociedad Española de Fertilidad 2006*. Hernandez J, Cabello Y, Gomez JL, Manqueta J, Coroleu B, Castilla JA. 2, 2009, *Rev Iberoam Fertil*, Vol. 26, pp. 1-52.
8. Saber mas sobre fertilidad y reproduccion asistida. www.sefertilidad.net. [Online] www.sefertilidad.net.
9. *Unexplained infertility: an uptodate and review practice*. Ray, A.et al. 6, 2012, *Reproductive biomedicine online*, Vol. 24, pp. 591-602.
10. *Male Infertility and its causes in human*. Toshinobu Miyamoto et al. 1, 2012, *Advances in Urology*, Vol. 2012, p. 7 pages. article ID 384520.
11. *Diagnóstico de la Infertilidad. Estudio de la pareja estéril*. Diego Masoli I. 3, mayo 2010, *Rev.Med.Clin.Condes*, Vol. 21, pp. 263-7.
12. *ACouple with infertility*. Collins JA. 14, 1995, *JAMA*, Vol. 274, pp. 1159-1164.
13. *Valores de hormona antimulleriana (HMA) y recuento de folículos antrales (RFA) en casas con fallo reproductivo previo*. Bonilla - Musoles, Fernanado et al. . 1, 2012, *Progresos de Obstetricia y ginecologia* , Vol. 55, pp. 8-14.

14. *Antimullerian hormone levels are strongly associated with live- birth rates after Assisted Reproduction* . Holte J. . 3, 2013, J.Clin Endocrinol Metab , Vol. 98, pp. 1107-1114.
15. *The accuracy of hysterosalpingography in the diagnosis of tubal pathology: a meta analysis* . Swart P. 64, 1995, Fertil Steril, pp. 486-91.
16. Matorras R, Hernandez J. *Estudio y Tratamiento de la pareja esteril: Recomendaciones de la Sociedad Española de Fertilidad , con la colaboracion de la Asociacion española de andrologia y de la Soceidad Española de Contracepcion*. madrid : adalia, 2007.
18. *Influence of the number of motile spermatozoa inseminated and of their morphology on the success of intrauterine insemination*. Wainer R, Albert M, Dorion A, et.al. 9, sept 2004, Hum Reprod , Vol. 19, pp. 2060-5.
19. Requena A, Martinez-Salazar J, Parraga M, Isaza V, Landazabal A, Villasante A, Garcia-Velasco JA, Simon C, Pellicer A, Remohi J., *Inseminacion Artificial*. In : Remohi J, Pellicera, Simon C, Navarro J. Madrid : McGraw-Hill Interamericana, 2002. pp. 263-72.
20. *One versus two inseminations per cycle in intrauterine insemination with sperm from patients husbands : a systematic review of the literature*. Osuna c, Matorras R, Pijoan JI, Rodriguez-Escudero FJ. 1, 2004, Fertility and Sterility, Vol. 82, pp. 17-24.
21. *Controlled ovarian hyperstimulation and intrauterine insemination for treatment of unexplained infertility should be limited to a maximum of three trials*. Aboulghar, Mohamed et al. 1, 2001, Fertility and Sterility, Vol. 75, pp. 88-91.
22. Remohi J, Cano F, Guitierrez A. *Resultados de la Inseminacion Artificial Conyugal*. madrid : Panamericana, 1995. pp. 107-27. Vol. 1.
23. Nicolas et al. *Inseminacion Artificial. Manual practico de reproduccion humana*. Madrid : Mc Graw Hill. INTERAMERICANA , 2004. pp. 142-156.
24. *Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals reproduction*. Eppig J.J. 122, 2001, pp. 829-838.
25. ALILA MEDICAL MEDIA. [Online] ID 27345475. www.alilamedicalmedia.com.
26. *Understanding follicle growth in vivo*. Oktem O, Urman B. . 12, 2010, Hum Reprod , Vol. 25, pp. 2944-54.
27. *Fisiologia reproductiva y cambios evolutivos con la edad de la mujer*. . David Vantman B, Mege B.M. 3, 2010, Rev. Med. Clin. Condes, Vol. 21, pp. 348-362.
28. *Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles* . Mc Gee E.A. 2, 2000, Endocr Rev, pp. 200-214.

29. *Regulation of primordial follicle assembly and development*. Skimer M.K. 11, 2005, Hum Reprod Update, pp. 461-471.
30. Tresguerres J.A.F. Fisiología humana. cap 83: fisiología del eje hipotálamo hipofisario ovarico. [book auth.] J.Fernandez - Tresguerres Hernandez. *Fisiología Humana*. Madrid : Mc Graw-Hill, 2010, pp. 1040-1053.
31. Roca, Alfredo Jácome. Fisiología Endocrina , CAPITULO 2. 3ª edición . s.l. : Academia Nal. de Medicina, 2005.
32. LLuisá, Jose Botella. capitulo 5, Gonadotropinas. *El ovario: fisiología y patología*. s.l. : Diaz de Santos , 1995, pp. 99-105.
33. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. Carbohydrates can be attached to proteins to form Glycoproteins, SECCION 11.3. [book auth.] Berg JM. *Biochemistry*. New York : s.n., 2002.
34. *The regulation of metabolic clearance of human FSH in mice by variation of the molecular structure of the hormone*. Wide L et. al. 1986, Acta Endocrinologica, Vol. 112, pp. 336-344.
35. *Efficacy, efficiency and effectiveness of gonatropin therapy for infertily treatment*. Sandro C. Esteves. 3, june 2015, Medical Express , Vol. 2.
36. *FSH induced resumption of meiosis in mouse oocytes : effect of different isoforms* . Andersen CY. et al. 8, 1999, Mol Hum Reprod, Vol. 5, pp. 726-31.
37. *Are recombinant gonadotrophins safer, purer and effective than urinary gonadotrophins*. Casper RF. 11, 2005, Reprd Biomed Online, pp. 539-540.
38. *Hypophysenorder lappenhormon und ovarialhormon in ham von Schwangeren*. Aschheim S, Zondek B . 6, 1927, Klin Wschr , p. 1322.
39. *Clinical effect of human pituitary follicle - stimulating hormone* . Gemzell et al . 18, 1958, J. Clin Endocrinol Metab, pp. 1333-1348.
40. *Purification of Gonadotrophin from Menopausal Urine by gel filtration and Sephadex*. Donini et al. 45, 1964, Acta Endocrinol, pp. 329-334.
41. Medicine, Practice Committee of American Society for Reproductive. Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine . Birmingham, Alabama : s.n., 2008.
42. *Composition and commercial gonadotrophin preparations extracted from human post-menopausal urine*. Giudece E, Crisci C, Eshked A, Popoian R. 9, 1994, Hum Reprod , pp. 2291-2299.

43. *The evolution of in vitro fertilization : integration of pharmacology technology and clinical care.* . Feinberg EC, Bromer JG, Catherine WH. 313, 2005, J Pharmacol exp Ther , pp. 935-942.
44. *A Double - blind non inferiority RCT comparing corifolitropin alfa and recombinant FSH during the first seven days of ovarian stimulation using GnRH antagonist protocol.* Devroey et al. 24, 2009, Human Reprod, pp. 3063-3072.
45. *Recombinant LH is equally effective as recombinant hcg in promoting oocyte maturation in a clinical in vitro maturation programme a randomized study.* Hreinsson et al. 18, 2003, Hum Reprod, pp. 2131-2136.
46. www.aesospain.org. [Online]
47. *Decremental follicle - stimulating hormone and dominant follicle development during the normal menstrual cycle.* Van Santbrink et al. 64, 1995, Fertil Steril, pp. 37-43.
48. *Follicle- stimulating hormone and advanced follicle development in the human .* Mackelon NS, Fauser BC. 32, 2001, Arch Med Res , pp. 595-600.
49. *Stimulation and growth of antral ovarian follicles by selective LH activity administration in women .* Filicori et al. 87, 2002, J Clin Endocrinol Metab , pp. 1156-1161.
50. Gary A;Patton K.T. *Anatomia y Fisiologia: Sistema Endocrino. 4ª Edicion .* Madrid : Harcourt, 2000. p. 483.
51. *Three dimensional structure of human follicular stimulating hormone .* Fox KM,Dias JA, Van Roey P. 3, 2001, Mol Endocrinol , Vol. 15, pp. 378-89.
52. *Primary amino acid sequence of follicle - stimulating hormone from human pituitary glands I alpha subunit .* Rathnam P, Saxena BB. 250(17), sep 1975, J Biol Chem , Vol. 10, pp. 6735-46.
53. www.fertilidadonline.es. www.Fertilidadonline.es. [Online] www.fertilidadonline.es.
54. *Influenceof the assay method used on the selection of the most active forms of FHS from the human pituitary.* Wide L, Hobbson B. 113, 1986, Acta Endocrinol , pp. 17-22.
55. *Pituytary glycoprotein hormone oligosaccharides : structure, syntesis and function of the asparagine- linked oligosaccarides of lutrofin, follitropin and tyrotrophin.* Jaques U, Baenzigwe , Eric D. Green. 2, 1988, Biochimica et Biophysica Acta , Vol. 947, pp. 287-306.
56. *Differential effects of the charge variants of human follicle stimulating hormone .* Timossi LM ,Barrios De Tomasi J, Gonzalez- Suarez R et al. 2000, J Endocrinol , Vol. 165, pp. 193-205.

57. *Evaluation of the oligosaccharide composition of commercial follicle stimulating hormone preparations. Electrophoresis.* Lombardi A, et al. 2013, Vol. 34, pp. 2.394-2.406.
58. *Different effects of the charge variants of human follicle- stimulating hormone .* Timossi et al. 2000, J.Endocrinol, Vol. 165, pp. 193-205.
59. *Glycoform composition of serum gonadotropins trough the normal menstrual cycle and in the postmenopausal state.* Anobile et al. 1998, Mol. Human Reproduct, Vol. 4, pp. 631-639.
60. *Biological characterization of recombinant human follicle stimulating hormone isoforms. .* Antonio MD, Borrelli F, Datola A, Bucci R, Mascia M, Polleta P, et al. 1999, Hum Reprod, Vol. 14, pp. 1160-7.
61. *Dynamics of basal and gonadotropin- releasing hormone -releasable serum follicle - stimulating hormone charge isoform distribution throughout the human menstrual cycle.* Zambrano E, Olivares A, Mendez JP, Guerrero L, Diaz-Cueto L, Veldhuis JD, et al. . 1995, J Clin Endocrinol Metab , Vol. 80, pp. 1647-56.
62. *Implication of using acidic isoform for controlled ovarian stimulation.* Andersen C.Y. Barcelona : s.n., 2014. XXX Congreso Soceidad Española de Fertilidad.
63. *Biological characterization of the isoforms of urinary human follicle stimulating hormone contained in a purified commercial preparation .* Ulloa-AguirreA, Damina-Matsumura P, Jimenez M, Zambrano E, Diaz-Sanchez V. 1992, Human reprod , Vol. 7, pp. 1371-8.
64. *FSH isoform comparison of commercial gonadotropin preparation: a neglected aspect?* Claus Yoling Andersen, Lars Grabow Westergaard, Madelon Van wely. 2, 2004, Reproductive Biomedicine online, Vol. 9, pp. 231-236.
65. *Isoforms of human recombinant follicle stimulating hormone: comparasion of effects on murine follicle development in vitro.* Vitt et al. 1998, Biol Reproduct , Vol. 59, pp. 854-861.
66. *Ovarian stimulation protocols based on follicle-stimulating hormone glycosylation pattern : impact on oocyte quiality and clinical outcome.* Selman, H. Pacchiarotti, A. El-Danasouri, I. 2010, Fertil and Steril., Vol. 94, pp. 1782-1786.
67. *Different stimulation protocols : impact on oocyte and embryo quality.* www.praximedica.it. [Online] 2013. www.praximedica.it.
68. *Prediction of an ongoing pregnancy after intrauterine insemination.* Steures P, et.al. 82, 2004, Fertil Steril., pp. 45-51.
69. *Desarrollo folicular múltiple en inseminacion artificial .* Pellicer A, Cano F. . 1, Madrid : Panamericana , 1995, In: Remohi J, Ruiz A, eds. Inseminacion artificial. Cuadernos de medicina reproductiva., pp. 15-45.

70. *Recombinant versus urinary follicle stimulating hormone in intrauterine insemination cycles: a prospective study.* Gerli S et al. 3, sep 2004, Fertil Steril, Vol. 82, pp. 573-8.
71. *Urinary FSH versus recombinant-FSH in patients under intrauterine inseminations: a prospective study.* Isaza V, et.al. 15, 2000, Hum Reprod, p. 062.
72. *Clinical efficacy os highly purified ovarian FSH recombinant FSH in volunteers undergoing controlled ovarian stimulating for in vitro fertilization : a randomized multicenter investigator blind trial.* Valerie L.Baker et al. 4, april 2009, Fertility ans Sterility, Vol. 9, pp. 1005-1011.
73. *Endogenpus LH surge detection versus adminstration of hCG to correctly time intrauterine insemination : which provides a better pregnancy rate .* Garcia Velasco JA. et al. 4, 2000, Hum Reprod, Vol. 15, pp. 975-6.
74. *comparation of two ovarian stimulating protocol for intrauterine inseminationwith Fsh r and with or without GnRH antagonist. .* Nava JM,Nava Perez. 3, May 2004, Revista Iberoamericana de Fertilidad , Vol. 21, pp. 153-157.
75. *The effectiveness of ovulation induction and intrauterine insemination in the treatment of persistent infertility:a meta-analysis.* Huges EG. 12, 1997, Hum Reprod, pp. 1865-72.
76. *Intrauterine insemination.* ESHRE.Capri Workshop Group. 15, 2009, Hum Reprod Update, pp. 225-67.
77. *The European IVF Monitoring Programme (EIM), for the European Society of Human Reproduction and Embriology(ESHRE).Assisted reproductive technology and intrauterine insemination in europe, 2006: results generated from European registers by ESHRE.* Mouzon J,et al;. 8, 2010, Hum Reprod, Vol. 25, pp. 1851-62.
78. *Cost effectiveness of recombinant follicle- stimulating hormones versus human FHS in intrauterine insmination cycles : a statistical model derived analysis.* Gerli S, Bini V, Di Renzo GC. 1, January 2008, Gynecological Endocrinology, Vol. 24, pp. 18-23.
79. *Studies on the relative in vitro biological potency of the naturally occurring isoforms of intrapuitary follicle stimulating hormone .* Zambrano et al. . 1996, Mol. Hum. Reprod. , Vol. 2, pp. 563-71.
80. *Role of glycosilation in function of follicle - stimulating hormone.* Ulloa-Aguirre A, Timossi C, Damian Matsumua P, Dias J.A. 1999, Endocrine , Vol. 11, pp. 205-215.
81. *In vitro biopotency and glycoform distribution of recombinant human follicle stimulating hormone .* Lambert A. et. al. 1995, Hum Reprod Oxf Engl , Vol. 10, pp. 1928-35.
82. *The use of 100 UI of recombinant FSH reaches similar results than 150 UI in Intrauterine artificial insemination.* Muñoz E.A. 4, agosto 2002, Revista Iberoamericana de Fertilidad, Vol. 19.

83. *Updated meta-analysis of recombinant follicle- stimulating hormone (FSH) versus urinary FSH for ovarian stimulation in assisted reproduction.* . Daya , S. . 202, Fertil. Steril. , Vol. 77, pp. 711-714.
84. *Recombinant vs urinary gonadotrophin for ovarian stimulation in assisted reproductive technology cycles.* Van Wely, M. et al. 2011, Cochrane Database Syst. Rev. CD005354.pub2.
85. *Simultaneous administration of human acidic and recombinant less acidic follicle-stimulating hormone for ovarian stimulation improves oocyte and embryo quality, and clinical outcome in patients with repeated IVF failures.* Selman H et al. 2013, Eur Rev Med Pharmacol Sci, Vol. 17, pp. 1814-9.
86. *Intrauterine insemination or in vitro fertilisation in idiopathic subfertility and male subfertility: a randomised trial and cost- effectiveness analysis.* Goverde AJ, McDonell J, Vermeiden JPW, Schats R, Rutten FFH, . 355, january 2000, Lancet , pp. 13-8.
87. *Is IVF -served two different ways- more cost-effective than IUI with controlled ovarian hyperestimulation?* R.I. Tjon-Kon-Fat, Bensdorp A.J. et.al . 10, August 2015, Hum. Reprod, Vol. 30, pp. 2331-2339.
88. *Aspectos clinicos de la inseminacion artificial homologa, ¿es actualmente una tecnica eficaz?* Paez G. 1, 2011, Pers. Bioet , Vol. 15, pp. 25-39.
89. Barbieri RL. *Yen and Jaffe´s Reductive Endocrinology. Female infertility.* [ed.] Eight edition. s.l. : Elsevier, 2018.
90. *Intrauterine insemination with ovarian stimulation versus expectant management for unexplained infertility (TUI) a pragmatic, open-label , randomised, controlled, two-center trial.* Farquahar, Cynthia M et al. 10119, Feb 2018, The Lancet, Vol. 391, pp. 441-450.
91. *Is IVF - served two different ways- more cost effective than IUI with controlled ovarian hyperstimulation?* R.I. Tjon-Kon-Fat et. al. 10, August 2015, Hum. Reprod., Vol. 30, pp. 2331-2339.
92. *International estimates infertility prevalence and treatment - seeking : potential need and demand for infertility medical care.* . boivin J, Bunting L,Colins JA, Nygren KG. 2007. human Reproduction. Vol. 22, pp. 1506-12.
93. *Clinical efficacy of recombinante versus highly purified - stimulating hormone according to follicle-stimulating hormone receptor genotype.* Lledó B, Dapena P, Ortiz JA, Morlaes R, Llacer J, Bernabeu R. 6, 2016, Pharmacogenet Genomics., Vol. 26, pp. 288-293.
94. *The use of predicated confidence intervals when planning experiments and the misuse os power when interpreting results.* Goodman SN BJ. (3), Aug 1994, Ann Intern Med, Vol. 121, pp. 200-206.

95. *Comparative assessment of the consistency and quality of a highly purified FSH extracted from urine and recombinant human FSH.* Lispi M, Basset R, Crisci C, Mancilj nelli M, Martelli F, Cecarelli D, et al. . 2006, *Reprod Biomed Online*, Vol. 13, pp. 179-93.
96. *Nuevos valores para el espermiograma OMS 2010.* Sarabia L, Munuce M.J. 4, 2011, *Revista Medica de Chile*, Vol. 139, pp. 548-549.
97. B, Luis Fernando Pacheco. *Secrecion y fisiologia de las hormonas sexuales femeninas.* Departamento de Fisiologia y Escuela de Medicina, Universidad de Costa Rica., s.l. : s.n.
98. Inhibition and excitacion across the menstrual cycle. The early follicular phase. ReserchGate .net. [Online] <https://researchgate.net>.

Irene Perelson del Pozo

PROCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SEGÚN EL PATRÓN
DE GLICOSILACIÓN DE LA HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE