

11217

191  
237



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA

"CONCENTRACIONES DE ESTRADIOL Y  
DIAMETRO FOLICULAR PREOVULATORIOS:  
CORRELACION CON LA MADUREZ DEL OVOCITO"

DR. SA...  
MEXICO D.F. 1990

DR. ...  
MEXICO D.F. 1990

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
ESPECIALISTA EN GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA  
P R E S E N T A :  
LUIS ASSAD SIMON PEREIRA  
ASESOR: ALBERTO KABLY AMBE



MEXICO, D. F.

1990

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

---

I N D I C E

	Página
INTRODUCCION . . . . .	1
GENERALIDADES DEL SEGUIMIENTO FOLICULAR . . . . .	3
DESARROLLO FOLICULAR, MECANISMOS DE OVULACION Y PATRON HORMONAL DEL CICLO OVULATORIO . . . . .	5
MONITORIZACION DEL CRECIMIENTO FOLICULAR . . . . .	8
INDUCTORES DE OVULACION . . . . .	14
OBJETIVOS . . . . .	21
MATERIAL Y METODOS . . . . .	23
RESULTADOS . . . . .	26
DISCUSION . . . . .	46
CONCLUSIONES . . . . .	51
BIBLIOGRAFIA . . . . .	53

## INTRODUCCION

Debido al número creciente de parejas estériles en los últimos años, la ciencia médica ha aumentado el interés en el estudio de esta problemática, tratando de darles un adecuado manejo a éstas y así satisfacer una de las principales causas de consulta médica.

Son diversas las definiciones para esterilidad, y ésta puede ser dada desde el punto de vista médico, demográfico o del uso popular. (1, 2)

Se define como la incapacidad temporal o definitiva de la pareja para concebir, después de un tiempo determinado de relaciones sexuales sin control voluntario; en forma general, se estipula un año como lapso para lograr el embarazo, aunque cabe señalar, que la edad de las mujeres debe tomarse en cuenta en relación con el tiempo de evolución de la esterilidad. Es así que se considera a una pareja como portadora de esterilidad, si la mujer teniendo menos de 25 años de edad, no concibe en dos años de exposición por lo menos; sin embargo, si la mujer posee entre 25 y 30 años de edad, la exposición al embarazo deberá ser de un año; si la mujer es mayor a 30 años, se considerará esterilidad, con tan solo 6 meses sin lograr gestación. (1)

La esterilidad, en forma general se clasifica en primaria

cuando la pareja nunca ha logrado concebir, o secundaria, cuando la pareja tiene el antecedente de uno o más embarazos. (1)

Se dice que alrededor de una de cada siete parejas sufre con esterilidad, lo cual per-se, lo hace un problema de magnitud, y que tanto la esterilidad como la infertilidad afectan de un 10 a 25% de las parejas en etapa reproductiva, ocasionando un problema de salud, ya que se calcula que alrededor de dos millones de consultas médicas, fueron ocasionadas por esta alteración entre 1981 y 1983 en Estados Unidos. Cerca de un 50% de los casos de esterilidad son dados por factor femenino, siendo el mayor problema alteraciones en la ovulación, seguido de alteraciones tuboperitoneales. Lo más importante en la evaluación de la pareja estéril, es establecer el diagnóstico etiológico y poder conocer el pronóstico en cuanto a su fertilidad, y es por ésto, el gran empeño en éstas áreas para dar como resultado un embarazo a término en cada pareja estudiada. (2-4)

GENERALIDADES DEL SEGUIMIENTO FOLICULAR

El funcionamiento del ovario, está íntimamente ligado a otros sistemas endocrinos que comunican señales estimulantes e inhibitorias al mismo. Desde el punto de vista funcional, el hipotálamo, la hipófisis y el ovario se encuentran sumamente relacionados; sin embargo, la farmacología de la terapéutica hormonal exógena, altera ésta relación durante la estimulación de los ovarios para la fertilización *in vitro* y posterior transferencia del embrión. (5)

La estimulación exógena de los ovarios, en reproducción asistida, lleva como finalidad, la de aumentar el número de ovocitos capaces de ser fecundados, para de éste modo aumentar los índices de embarazos, ya que se reconoce que el mayor éxito para la producción de embarazos, está relacionado con el uso de múltiples embriones; lo cual ha llevado a tratar de vigilar lo mejor posible los diversos regímenes de estimulación ovárica. Para lo anterior, se ha utilizado la medición del crecimiento folicular y la presencia de señales endocrinas y biológicas, tratando de establecer el momento oportuno de la obtención del ovocito maduro, manteniendo al mismo tiempo, sincronía con la maduración endometrial y la función luteínica, a fin de lograr una implantación exitosa.

Se han utilizado diversas técnicas de vigilancia, las cuales

incluyen señales corporales fisiológicas, como es el moco cervical y cambios citológicos vaginales; determinación de diferentes hormonas y tamaño folicular por medio de ultrasonido. Es así, que en los diferentes programas de fertilización asistida del Instituto Nacional de Perinatología, tratando de obtener mejores resultados, se realizó seguimiento folicular en ciclos estimulados exógenamente, por medio de determinaciones séricas diarias de estradiol (a partir del día 8 del ciclo) cuando a la medición de la cohorte folicular por medio de ultrasonido, tratando por medio de ambos métodos, de optimizar el momento de la recuperación ovular para los diferentes programas de fertilización.

DESARROLLO FOLICULAR, MECANISMO DE OVULACION  
Y PATRON HORMONAL DEL CICLO OVULATORIO

---

La ovulación, es el resultado final de un prolongado proceso de foliulogénesis, crecimiento y desarrollo del folículo y del oocito.

La formación de los folículos se inicia en la vida intrauterina y se completa en cada ciclo de la mujer adulta. El ciclo ovulatorio del cual depende la fertilidad, está regulado por un sistema neuroendócrino elaborado que incluye el hipotálamo, la adenohipófisis y los ovarios.

La función cíclica se obtiene a través de la dependencia absoluta de la actividad endocrina de la adenohipófisis de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRh), de la dependencia del ovario de las gonadotropinas hipofisarias (LH y FSH) y de la dependencia de la adenohipófisis de las acciones de retroalimentación esteroidea ovárica (estrógenos). Las características cíclicas y sincrónicas, son producidas por esta interdependencia. A medida que el folículo ovárico crece y secreta cantidades crecientes de estradiol en respuesta a las gonadotropinas hipofisarias; el aumento en el estradiol dispara una oleada cíclica de liberación de hormona luteinizante a partir de la hipófisis, justo en el momento adecuado para causar la ovulación. (3, 4-6).

Se dice que la ovulación, se produce al azar en cada ciclo en cualquiera de los dos ovarios, que la LH y FSH son indispensables en el crecimiento folicular y ovulación y que el exceso de éstas hormonas (ej. en administración exógena), puede reclutar más de un folículo y producir superovulación; el incremento de estrógeno en el folículo preovulatorio y sérico, va en ascenso hasta que desata un incremento de LH que origina el reinicio de la metotada del oocito y la ruptura del folículo. (5)

Las diferentes hormonas que participan en el ciclo ovulatorio, poseen patrones de actividad que definen las interrelaciones del sistema; es así como el GnRh, tiene fluctuaciones horarias a lo largo del ciclo, con un pico definido en el período peri-ovulatorio; la LH se incrementa desde la fase folicular temprana hasta la fase folicular tardía, los niveles de LH aumentan gradualmente en la fase folicular, haciendo una elevación marcada en respuesta al aumento de estradiol, aproximadamente un día después del aumento de E., posteriormente declina en la fase lútea hasta niveles que son inferiores a los hallados en la fase folicular. (2, 4-6)

La FSH se incrementa durante la fase lútea y los primeros días de la fase folicular, presentando un aumento marcado, concomitante con el pico de LH, las fluctuaciones de FSH son normalmente similares a las de la hormona luteinizante, aunque menores. Los niveles de estradiol, se incrementan en forma progresiva

hasta alcanzar un valor pico, el cual se cree está dado por el folículo preovulatorio dominante, ésto ocurre aproximadamente un día antes del incremento máximo de LH, también se observa un pico secundario, más bajo durante la fase lútea, el cual estaría dado por la secreción del cuerpo lúteo activo. Por su parte, la progesterona aumenta un día después de la elevación máxima de LH, ocasionado por acción del folículo preovulatorio, y continúa aumentando constantemente hasta aproximadamente seis días después, en que inicia un descenso en su concentración sérica.

(2, 5)

MONITORIZACION DEL CRECIMIENTO FOLICULAR

En un intento de optimizar las tasas de recuperación ovular en los diferentes programas de fertilización asistida, se han utilizado diversas técnicas de vigilancia del crecimiento folicular, las cuales han incluido desde la observación de señales corporales fisiológicas, como es la temperatura basal, observación del moco cervical y cambios citológicos vaginales; hasta la determinación de diferentes hormonas, tanto en suero como en orina y la medición del tamaño folicular por medio de ultrasonidos serados.

En un inicio, cuando aún no se contaba con métodos de laboratorio adecuados para documentar la ovulación, la monitorización estaba limitada a la observación clínica de las características del moco cervical y a los resultados de la citología vaginal; siendo éstos, en su momento, los métodos más sensibles para tratar de evaluar la secreción de estrógenos. Se desarrolló un índice para evaluar el moco cervical en sus diferentes características; pero se ha visto que éste parámetro aislado es insuficiente para poder determinar con precisión el día de la ovulación, ya que tanto la cantidad como las propiedades de filantez, viscosidad y patrón de cristalización, dependen de las funciones secretoras de las células epiteliales y su poder de respuesta al estímulo estrogénico. (3-8)

La citología vaginal, refleja los niveles de estrógenos existentes; pero su gran variabilidad, así como la falta de correlación lineal con los niveles de estradiol, han hecho de este método algo poco práctico y con elevadas tasas de error; por lo que hoy en día no se utiliza como parámetro para monitorizar la ovulación. (7, 9, 10)

La Curva de Temperatura Basal, ha quedado relegada, debido a ser un método de poca utilidad, ya que puede ser alterada por diferentes eventos, además que podría causar estrés suficiente para incluso impedir la relaciones sexuales en la pareja. (2, 3)

La biopsia de endometrio, debe realizarse dos a tres días antes de la menstruación esperada, nos dará información acerca de la función lútea ovárica y la influencia de la progesterona; e indirectamente, como indicador de la ovulación, aunque posee la desventaja de ser una prueba dolorosa y cara. (2, 4, 5, 8)

La medición de la progesterona sérica s/o 17 hidroxiprogesterona, las cuales son productos importantes del cuerpo lúteo, parece ser la evidencia que corrobora la función del cuerpo lúteo, y que por lo tanto, indica que la ovulación probablemente ha ocurrido, siendo un método de utilidad para evaluar ovulación en la mujer normal, pero no para ser utilizado en programas de fertilización como método para la recuperación ovular.

(3, 3, 11)

Tratando de determinar el momento oportuno para la recuperación de ovocitos humanos maduros, en los programas de fertilización asistida, se ha utilizado principalmente la determinación de hormona luteinizante (LH), estradiol (E<sub>2</sub>) y crecimiento folicular.

La medición de LH sérica, se ha utilizado como indicador de la ovulación, la cual aumenta en forma importante antes de que ocurre la ruptura folicular (alrededor de 9 horas previas al evento), ésto es generalmente cierto en ciclos espontáneos, pero existen dudas si ésto siempre ocurre en ciclos estimulados, ya que algunos autores refieren que en ciclos inducidos no siempre se eleva la LH, debido a que los inductores de la ovulación estimulan un mayor número de folículos maduros y ésto daría un aumento por parte de éstos folículos de un factor no esteroideo ovárico inhibidor de la elevación de la LH, o que quizá esta falta de pico sérico de la LH, estaría dado por aumento de inhibinas a nivel folicular, las cuales actúan a nivel hipofisario, inhibiendo el aumento de LH posterior al estímulo de estradiol. Es por lo anteriormente citado, que algunos investigadores prefieren no utilizar la determinación de LH en sus programas de fertilización asistida. (11-14)

La mayor parte de los programas de fertilización asistida,

basan la evolución del desarrollo folicular por medio de la medición de la concentración de estradiol en sangre periférica, generalmente en combinación con la observación ultrasonográfica. Se ha considerado que la determinación sérica de estradiol, en forma seriada y por medio de radioinmunoanálisis, es uno de los métodos más sensibles para evaluar la respuesta ovárica. (16)

El incremento de la concentración de estradiol sérico es paralelo al crecimiento folicular activo, alcanzando su mayor concentración días previos a la ovulación y estimulando la oleada de LH (24 horas posteriores al pico de E.). En ciclos estimulados el estradiol puede mostrar diferentes comportamientos en cada paciente, lo cual ha llevado a clasificar como de alta respuesta a las pacientes con concentraciones de E. mayores a 600 pg/ml, de respuesta intermedia cuando los niveles de E. se encuentran entre 300 y 600 pg/ml, y las denominadas de baja respuesta cuando el E. es menor de 300 pg/ml. (10, 11, 16, 17)

Tomando en cuenta el aumento en los valores de estradiol sérico, se puede determinar el día de la realización de la recuperación ovular, sobre todo aunado al seguimiento folicular por ultrasonido. Otra de las ventajas de la medición del estradiol, es la posibilidad de poder detectar complicaciones como el de la hiperestimulación ovárica en los ciclos inducidos; así mismo, su determinación en la mitad de la fase lútea, nos

puede indicar la presencia de embarazo.

Debido a las ventajas mostradas por la determinación sérica de estradiol, se ha abandonado la de estrógenos urinarios, además que esta medición refleja un estado hormonal de más de 24 horas previas a la obtención de la muestra. (10, 11, 16-18)

Otro método utilizado para la predicción y detección de la ovulación, que ha alcanzado gran popularidad en las Clínicas de Reproducción Asistida, es el ultrasonido, el cual en manos expertas posee una muy alta sensibilidad, y aunado a las determinaciones séricas de estradiol, son los recursos más socorridos.

La medición se hace en forma seriada, aunque los datos suministrados por diferentes autores varían considerablemente; lo cual se debe fundamentalmente a la técnica de las mediciones. Se dice que el folículo incrementa su diámetro en forma lineal, variando entre 14 y 30 mm como predictor de ovocito maduro y próximo a ovular. (5, 10, 14, 17, 19)

No cabe duda de la utilidad del seguimiento folicular por medio de ultrasonido, aunque hay que recordar, que ni las mediciones de estradiol, ni el ultrasonido, por sí solos, se han considerado lo suficientemente precisos para determinar el momento de administrar la gonadotropina coriónica humana (HCG). Esta

falta de precisión, aumenta cuando se emplean agentes estimulantes del folículo, ya que la coorte de folículos puede ser anatómica, tanto en la maduración como en el tamaño, y cada folículo proporciona diferentes cantidades de estradiol a la sangre periférica en un momento determinado de tiempo; además, un folículo maduro que contenga un ovocito, que tiene el potencial, tanto para ser fecundado como para proporcionar un embarazo en un ciclo natural o estimulado, puede variar en cuanto a su diámetro (14 a 30 mm); no obstante lo anterior, éstas dos métodos de monitorización folicular, son los más empleados y los que mejores resultados han arrojado. (4, 8)

INDUCTORES DE OVULACION

En el inicio de los programas de inseminación in vitro, se utilizaron ciclos espontáneos de ovulación, pero pronto se vió que el ciclo natural en general, no producía el éxito deseado y era impráctico; por lo cual la mayoría de las clínicas abandonaron éste procedimiento y recurrieron a algún método de estimulación ovárica, el objetivo era el desarrollo de múltiples folículos y reclutamiento de un mayor número de ovocitos.

Dentro de los fármacos utilizados se encuentran: el Citrato de Clomifeno, la Gonadotropina Menopáusicas Humana (hMG), la Hormona Liberadora de LH (GnRh) y Hormona Folicúlar Estimulante (FSH); las cuales se pueden utilizar solas o en forma combinada. (2-4)

CITRATO DE CLOMIFENO.

Es un agente no esteroideo, derivado del trifenil-etileno, cuyo mecanismo de acción es complejo. Inicialmente fue desarrollado como un compuesto antiestrogénico, antigonadotrópico y como probable anticonceptivo, pero al administrarse se observó rápidamente, que producía inducción de ovulación; y hoy en día se le considera un agonista/antagonista de los receptores para estrógenos; con una acción agonista débil de larga duración, por cuyo efecto es captado por los receptores para estrógenos

a nivel citoplasmático, donde bloquean el reciclado de los mencionados receptores y por lo tanto mantienen una depleción de los mismos, provocando de esta manera, cierto grado de insensibilidad a los estrógenos por la célula blanco, ocasionando por este mecanismo su acción antiestrogénica. (5)

Debido a que es hidrosoluble, es absorbido casi en su totalidad a nivel del tracto gastrointestinal, metabolizado en el hígado y excretado por las heces, siendo su vida media alrededor de 5 a 6 días. (5, 21)

Su utilización en esterilidad, se debe a que es un iniciador del proceso ovulatorio (no se considera como un verdadero inductor de ovulación), actúa a nivel hipotalámico, probablemente en el núcleo Arcuato que es generador de los pulsos de Gn RH; y a nivel hipofisario ocupando los receptores para estrógenos e inhibiendo así el efecto de retroalimentación negativa dado por éstos, dando como resultado un aumento en la liberación de LH y FSH. A nivel ovárico estimula la actividad de la Aromatasa en la granulosa, dando como resultado un incremento en la biosíntesis de estrógenos. (20, 22, 23)

Se ha visto una discrepancia entre el rango de ovulación y embarazo en pacientes manejadas con citrato de clomifeno, y se cree que esto pudiera estar dado por su efecto antiestrogénico sobre el endometrio y el moco cervical, dicho efecto es más mar-

cado cuando se manejan dosis elevadas.

Los efectos colaterales de la administración del citrato de clomifeno, son relativamente raros, entre éstos se citan el crecimiento ovárico, síntomas vasomotores, distensión abdominal, mastodinia, sintomatología visual (visión borrosa, escotomas), cefalea, alopecia y el riesgo más serio que sería la formación de múltiples quistes con la ruptura de alguno de ellos.

Durante los ciclos de estimulación, en los programas de fertilización asistida, frecuentemente se asocia el citrato de clomifeno con hormona gonadotropina coriónica, ya que ésta combinación al parecer da mejores resultados en cuanto a la recuperación ovular, que el sólo citrato de clomifeno. (3, 8, 23)

#### MENTROPINAS (hMG):

Es una preparación de gonadotropinas purificadas, que se extraen de orinas de mujeres postmenopausicas; la preparación comercial contiene 75 U de FSH y 75 U de LH; son rápidamente inactivadas por vía oral, por lo cual su administración se realiza por vía parenteral (IM), la dosis a administrar debe ser individualizada, según la duración del ciclo y la monitorización de los valores de estradiol sérico. Se dice que en términos generales, alrededor del 90% de las pacientes logran ovular si poseen ovarios sanos y el rango de embarazos oscila entre el

50 y 70%, y que la incidencia de gestaciones múltiples es al rededor del 11 al 42%, lo cual segun algunos investigadores se puede reducir por medio de la monitorización adecuada del estradiol.(34)

La utilización de la hMG, también puede ocasionar un síndrome de hiperestimulación, el cual pudiera ser leve y solo caracterizarse por crecimiento ovárico, distensión abdominal y ganancia de peso, o desarrollar un síndrome grave con aparición de ascitis, derrame pleural, desequilibrio electrolítico (hiperkalemia + hipernatremia) y producir hipervolemia con la consiguiente hipotensión y oliguria; como se citó anteriormente tratando de evitar una hiperestimulación; siempre que se administre la hMG se debería realizar una monitorización estrogénica. (5, 34)

Cuando no se logra una respuesta adecuada con hMG, esta puede asociarse a otros inductores de ovulación, principalmente cuando ha habido una adecuada respuesta estrogénica, estos inductores serían la FSH pura o incluso el citrato de clomifeno, tratando con ésto de obtener un aumento en el número de ovocitos recuperados y transferidos en los programas de fertilización asistida. (4, 23, 26)

#### HORMONA LIBERADORA DE LH (Gn RH):

Es un decapeptido sintético, que al administrarse principal-

mente en pulsos, estimula a la hipófisis ocasionando la liberación de LH y FSH, lo cual producirá a nivel ovárico un aumento en la síntesis hormonal (estradiol), lo cual per-se, puede estimular la aparición del pico de LH y no ser necesaria la administración de hCG.

Puede ser administrada por vía intravenosa o subcutánea, obteniéndose un índice de ovulación de alrededor del 90%, siendo ideal su administración a mujeres con valores disminuidos de gonadotropinas endógenas, pero que poseen hipófisis capaces de responder ante un estímulo adecuado. (3, 5)

Se dice que la Gn Rh puede también causar hiperestimulación ovárica, aunque ésta es poco frecuente y susceptible de prevenir, ya que la retroalimentación estrogénica ovárica a nivel de hipófisis regula la sensibilidad al Gn-Rh, y sería lógico esperar que un sistema de retroalimentación intacto pueda prevenir la excesiva estimulación de FSH. (5)

#### **HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE (FSH):**

Es una glicoproteína formada por dos subunidades distintas designadas como "alfa" y "beta", siendo ésta última quien le confiere sus propiedades biológicas exclusivas.

La FSH purificada es también preparada a partir de orina de mujeres postmenopáusicas; estimula el crecimiento folicular, así como la síntesis de estrógenos a nivel ovárico, ésto en asociación a la hormona luteinizante. Se dice que la paciente ideal para ser tratada con FSH pura, es aquella que posee valores elevados de LH con FSH normal o bajo y que poseen evidencia clínica de actividad estrogénica endógena, algunas citan que la falla en la ovulación con clomifeno suele ser un prerrequisito para iniciar manejo con FSH pura, la cual como se sabe, estimula el crecimiento folicular, sin aumentar en forma excesiva los valores de LH; en éste tipo de pacientes, la ovulación puede ocurrir espontáneamente sin medir HCG, pues el pico de LH puede ser estimulado por los estrógenos; aunque la gran mayoría de los investigadores coinciden en la administración de HCG para inducir la ruptura folicular. (2, 3)

Se dice que la administración de FSH pura, en pacientes bien seleccionadas, no ocasiona un desarrollo folicular excesivo, y por lo tanto, que ocurra un síndrome de hipersensibilización es raro. (2, 4, 5, 20)

La FSH, debido a que causa desarrollo de múltiples folículos, puede ser un método excelente en el manejo de pacientes para los programas de fertilización asistida, ya que daría un número importante de ovocitos para ser recuperados.

Esta hormona puede asociarse con otros inductores de ovulación, como sería la HCG, lo que ocasionaría en algunos pacientes mejores índices de recuperación ovular.

---

OBJETIVOS

- 1.- Correlacionar el número y diámetro de folículos observados por ultrasonido con la cantidad y grado de madurez de los ovocitos recuperados.
- 2.- Observar el número de ovocitos recuperados y el grado de maduración de los mismos.
- 3.- Relacionar los valores de estradiol sérico terminal, con el número de ovocitos recuperados y su grado de madurez.
- 4.- Observar el efecto de los diferentes regímenes utilizados durante la hiperestimulación ovárica inducida, sobre el número de ovocitos maduros recuperados, para ser utilizados en los diversos programas de fertilización asistida.

MATERIAL Y METODOS

Se revisaron los resultados obtenidos en 49 pacientes portadoras de esterilidad primaria y secundaria, a las cuales se les realizó hiperestimulación ovárica controlada, previa a la recuperación ovular por medio de laparoscopia o minilaparotomía para algunos procedimientos de fertilización asistida. El estudio se realizó en el periodo comprendido entre mayo de 1989 a agosto de 1990, en el Instituto Nacional de Perinatología.

Los criterios de inclusión de las pacientes fueron:

PARA GIFT:

- \* Derechohabientes del Instituto.
- \* Indicaciones para el procedimiento.
- \* Estudios clínicos y paraclicales completos, realizados en la institución.
- \* Uno o ambas trompas uterinas permeables.
- \* Uno o dos ovarios.
- \* Respuesta adecuada al esquema de inducción.

PARA FIVTE:

- \* Los mismos que para GIFT.
- \* Obstrucción tubaria bilateral.

Los pacientes fueron estimuladas con FSH-LH únicamente, o en combinación con citrato de clomifeno o FSH pura; en todos los esquemas se administró adicionalmente HCG dependiendo del patrón terminal de estradiol y el desarrollo folicular; la recuperación ovular se realizó 36-38 horas posteriores a la administración de HCG.

De las 49 pacientes estudiadas, 33 eran portadoras de esterilidad primaria y 16 de esterilidad secundaria; la edad de las pacientes osciló entre 25 y 40 años, con un promedio de 6 años de esterilidad; todas fueron manejadas con inductores de ovulación.

21 pacientes fueron estimuladas con menotropinas y HCG; 17 con citrato de clomifeno más menotropinas y HCG adicional; y 11 con FSH pura más menotropinas. (Tabla No. 1) En todos los casos se les realizó una determinación basal de estradiol el día tres del ciclo y un seguimiento diario de las concentraciones de estradiol sérico, por medio de radioinmunoanálisis a partir del día ocho del ciclo, a lo cual se ausó el seguimiento folicular por medio de ultrasonido (vaginal) con un aparato Phillips 1,550 de tiempo real y 5.0 MHz, con el cual se realizaron dos mediciones a cada folículo (transversal y A-P); y dependiendo del valor terminal de estradiol y el desarrollo folicular, se administraron 10,000 U. de HCG., y 34-38 horas después, se procedió a realizar

la recuperación ovular para los programas de GIFT o FIVTE.

Los diferentes esquemas de inducción se realizaron de la siguiente manera:

Las menotropinas se iniciaron entre el día 4<sup>o</sup>-8<sup>o</sup> del ciclo, dependiendo de los valores basales de estradiol sérico y las dosis fueron ajustadas según el comportamiento de ésta hormona y el desarrollo folicular observado, utilizando este seguimiento para decidir la administración de hCG.

La utilización de citrato de clomifeno + menotropinas, se realizó iniciando con 100 mg de citrato de clomifeno el día tercero del ciclo, a dosis constantes durante 5 días, e iniciando el día sexto del ciclo, la administración de menotropinas por vía intramuscular, en cantidad que varió según las determinaciones de estradiol sérico y el comportamiento de la cohorte folicular observada por ultrasonido; posteriormente, 34-38 horas previas a la recuperación ovular, se administraron 10,000 U de hCG.

El esquema en el cual se utilizó FSH para más menotropinas, se inició con la administración de la FSH el día tercero del ciclo, durante tres días a dosis constantes; seguida de dosis variables de menotropinas, según el comportamiento de los dos parámetros ya citados de seguimiento folicular utilizados en el estudio; lo cual también fue seguido de la administración

de HCG previo a la recuperación ovular.

En los tres esquemas utilizados para la estimulación folicular, posterior a la administración de 10,000 U de HCG, se procedió a realizar la recuperación ovular por medio de laparoscopia o minilaparotomía, bajo anestesia general, procediéndose a la inmediata tipificación del grado de madurez del ovocito, así como el número de éstos; para la realización de GIFT o FIVTE, según fuese el caso.

La clasificación del grado de madurez de los ovocitos recuperados fue realizada, al analizar bajo microscopía invertida las características del ovocito observado, en cuanto a la morfología del cumulus, la corona radiante, el eosinoma y la separación de las células de la granulosa respecto a la membrana. Según por las diferentes características mostradas por el ovocito, se los clasificó en maduros, inmaduros y atrécicos. (17)

## RESULTADOS

Posterior al seguimiento folicular por medio de ultrasonido y determinaciones de estradiol en las pacientes estimuladas con los esquemas antes mencionados, se observó el número de ovocitos recuperados, así como el grado de maduración de los mismos.

De las pacientes incluídas en el estudio, 33 eran portadoras de esterilidad primaria y 16 de esterilidad secundaria, con una media de edad 32 y 33.5 años respectivamente, ambos grupos con un promedio de esterilidad de 6 años. (Tabla No. 2)

La causa más frecuente de esterilidad en ambos grupos fue la no determinada, 30 pacientes en total, seguida por endometriosis mínima y OTB. (Tabla No. 3)

Ya que, lo que se buscaba era la correlación de los parámetros de seguimiento folicular con la recuperación de ovocitos en cuanto a su número, así como su grado de maduración, se estudiaron en conjunto ambos grupos de esterilidad, tomando en cuenta el esquema de estimulación ovárica utilizado y la respuesta hormonal de éste.

Se funcionaron pacientes con dos o más folículos, desde 10 a 29 mm de diámetro (por medición ultrasonográfica), antracitrónes

una media de 15.2 mm de diámetro foliular; en el esquema Citrato de Clomifén + Hormona menopáusicá Humana, los folículos tuvieron un diámetro medio de 15.25 mm; en el de hormona menopáusicá humana un promedio de 15.02 y las pacientes estimuladas con Hormona Foliular Estimulante y Hormona Menopáusicá Humana de 15.10; obteniéndose en total 305 ovocitos, con una media por paciente de 4.18 ovocitos recuperados por ciclo, independientemente del esquema utilizado. Las pacientes estimuladas con porgonal únicamente, tuvieron el promedio más alto de ovocitos recuperados. (Tabla No. 4)

Se observaron por ultrasonido, un promedio de 5.75 folículos por paciente, siendo puncionados durante la recuperación ovular 5.32 folículos por paciente en promedio. La media fue mayor en las pacientes inducidas únicamente con menotropinas. Hubo una correlación entre los folículos observados por ultrasonido y los puncionados de 92.35%. (Tabla No. 5)

Se recuperaron 305 ovocitos en las 49 pacientes, de los cuales 179 fueron clasificados como maduros, 9 inmaduros y 17 atresícos; siendo potencialmente fertilizables el 91.7% del total de los ovocitos recuperados (maduros e inmaduros); observándose una mayor recuperación de ovocitos maduros en los recuperados de folículos de 15 mm o más, así como menor número de ovocitos inmaduros y atresícos. (Tablas Nos. 6, 10-12) (Figuras Nos. 3-4)

En cuanto al estradiol sérico determinado el día tres del ciclo, los valores oscilaron entre cero y 66  $\mu\text{g/ml}$  con una media de 19.1  $\mu\text{g/ml}$ . El estradiol final se encontró en valores entre 430 y 2,200  $\mu\text{g/ml}$ , lo cual arroja una media de 1,044  $\mu\text{g/ml}$ , previo a la recuperación ovular. (Tabla No. 7)

En cuanto a la respuesta final del estradiol sérico, 42 de las 49 pacientes tuvieron un valor  $\geq$  700  $\mu\text{g/ml}$ , 7 tuvieron valores inferiores a los citados; encontrando en las pacientes de respuesta elevada una media de 4.64 ovocitos recuperados/paciente, siendo el 82.92% clasificados como maduros, contrastando con el promedio de 1.42 ovocitos recuperados/paciente en las denominadas de respuesta intermedia al estradiol, en las cuales en 3 pacientes no se recuperaron ovocitos y en otra el recuperado fue clasificado como atréxico. (Tabla No. 8) (Fig. No. 1)

El día en que se encontró el pico máximo de estradiol, osciló entre los días 10 y 13, con una moda el día 12; y la recuperación ovular se llevó a cabo con una moda del día 13 del ciclo. (Tabla No. 9)

### RESPUESTA FINAL DEL ESTRADIOL

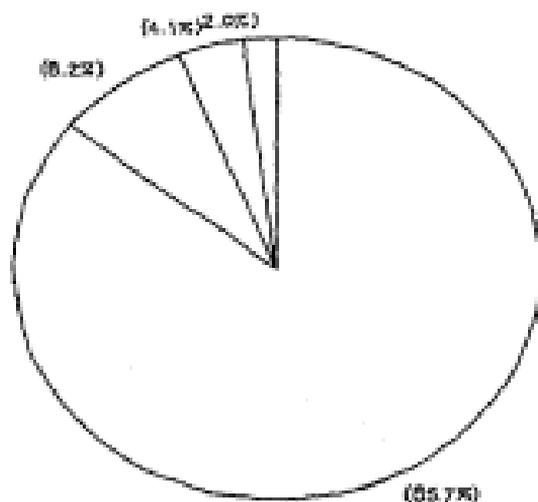


Fig 1

### RESPUESTA FINAL DEL ESTRADIOL

**Una respuesta**

42/49 pacientes      85.72%

**Respuesta intermedia**

7/49 pacientes      14.28%

4/7 CC-P      8.16%

2 pacientes sin ovocitos y 2 pacientes con ovocitos maduros

2/7 FSH-P      4.08%

1 paciente con ovocitos atresicos y 1 paciente sin ovocito

1/7 P      2.04%

1 paciente con ovocitos maduros

# OVOCITOS MADUROS RECUPERADOS

DE CUERPO AL DIAMETRO FOLICULAR

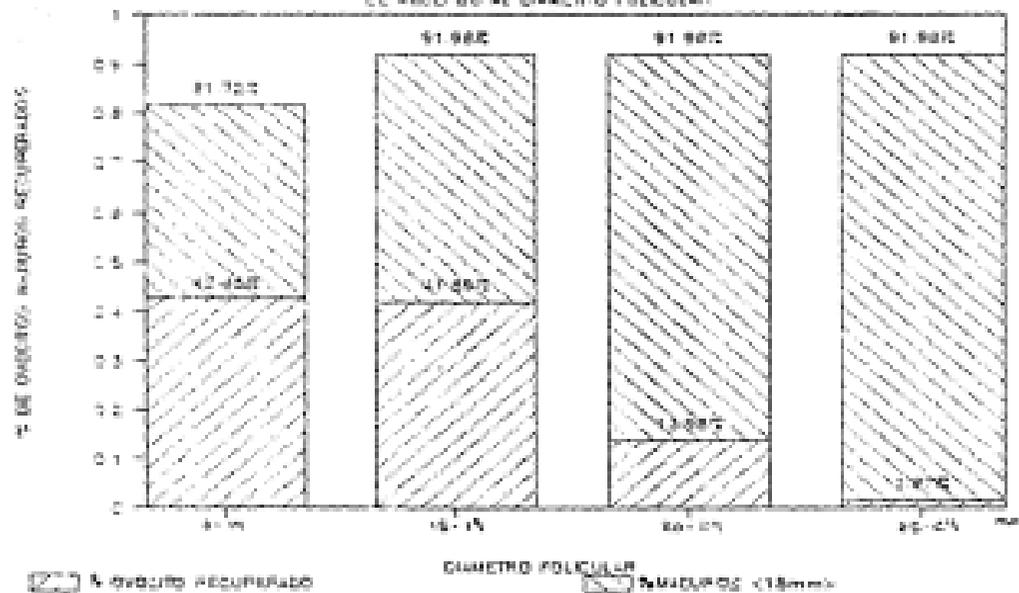


Fig. 2

# OOCITOS INMADUROS RECUPERADOS

DE ACUERDO AL DIAMETRO FOLICULAR

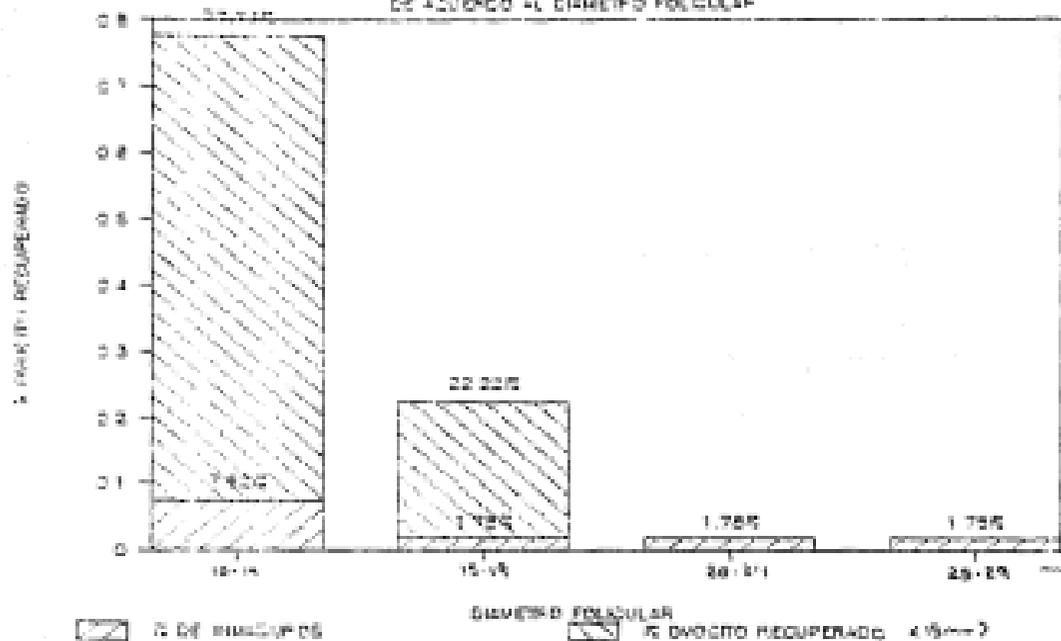
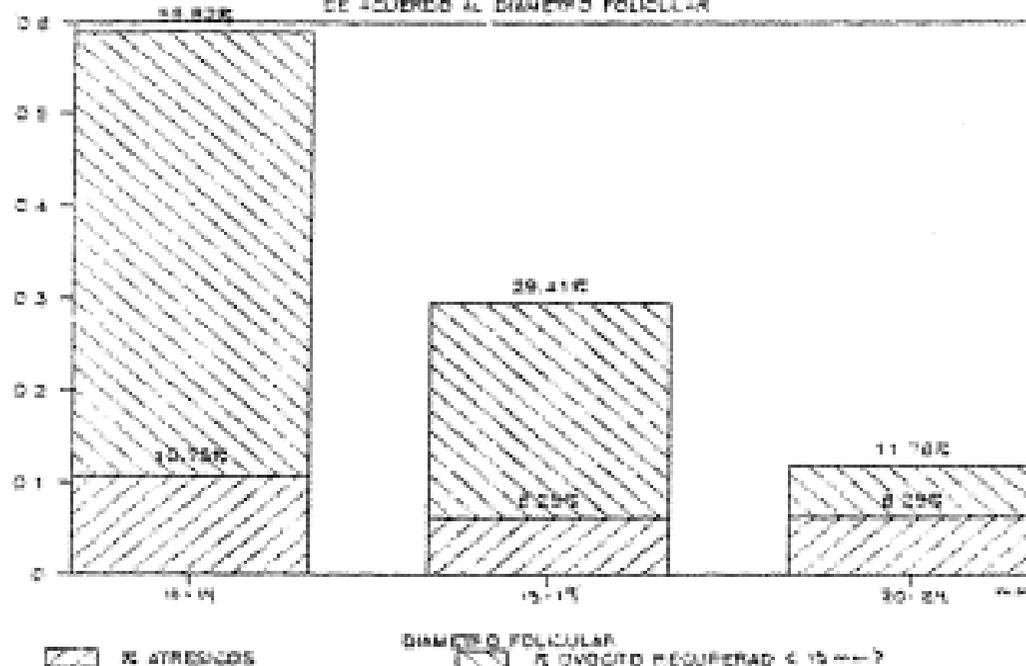


Fig. 2

# OVOCITOS ATRESICOS RECUPERADOS

DE ACUERDO AL DIAMETRO FOLICULAR

% DE OVOCITOS ATRESICOS RECUPERADOS



T<sub>10</sub> H

## ESQUEMAS DE INDUCCION

ESQUEMA	NUMERO DE PACIENTES
CITRATO DE CLOMIFENO + MENOTROPINAS	17
MENOTROPINAS	21
FSH + MENOTROPINAS	11
TOTAL	49

TABLA # 1

## ANTECEDENTES EN EL ESTUDIO DE ESTERILIDAD

ESTERILIDAD	NUMERO DE PACIENTES	TIEMPO AÑOS	MEDIA	RANGO DE EDAD	MEDIA
PRIMARIA	33	2 - 12	6.3	25 - 39	32.45
SECUNDARIA	16	2 - 12	6.25	27 - 39	33.45

TABLA # 2

## CAUSAS DE ESTRILIDAD

	NO DETERMINADA	ENDOMETRIOSIS	FACTOR MASCULINO	CERVICO ESPERMATICO	ANOVULACION	OTB	TOTAL
PRIMARIA	22	2	2	2	1	2	32
SECUNDARIA	0	2	2	0	0	2	16
TOTAL	22	4	4	2	1	4	48

TABLA # 3

### SEGUIMIENTO FOLICULAR – RECUPERACION OVULAR.

ESQUEMAS	DIAMETRO FOLICULAR POR ULTRASONIDO		NUMERO DE OVOCITOS RECUPERADOS/PACIENTE	
	RANGO	MEDIA	RANGO	MEDIA
CC + P	10 - 24	15.25	2 - 11	3.47
P	10 - 26	15.62	3 - 9	5.33
FSH + P	10 - 29	15.10	0 - 7	3.09
TOTAL	10 - 29	15.12	0 - 11	4.18

NUMERO DE FOLICULOS/US = 2 - 11/PACIENTE (MEDIA 5.7)

TABLA # 4

## SEGUIMIENTO FOLICULAR POR ULTRASONIDO

NUMERO DE FOLICULOS	TOTAL	FSH - LH	CLOMIFEN+ FSH - LH	FSH + FSH -LH
POR ULTRASONIDO	262	134	92	56
MEDIA	5.75	6.38	5.41	5.09
PUNCIONADOS	261	123	86	52
MEDIA	5.32	5.85	5.05	4.72

TABLA # 5

## CLASIFICACION DE MADUREZ DE OVOCITOS

GRADO	NUMERO	PORCENTAJE	
MADUROS	179	87.32%	91.71% *
INMADUROS	9	4.39%	
ATRESICOS	17	8.29%	
TOTAL	205	100%	

\* PORCENTAJE DE OVOCITOS CAPACES DE SER FERTILIZADOS

TABLA # 6

### RESPUESTA FINAL AL ESTRADIOL

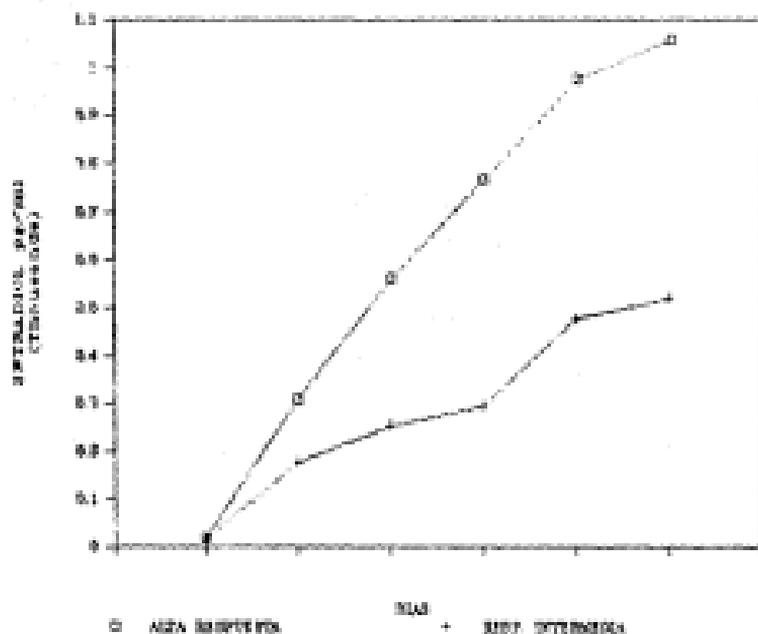


Fig. 5

### SEGUIMIENTO

#### FOLICULAR - ESTRADIOL

	Rango	Media
E2 basal	0 - 640 pg/ml	11.1
e2 final	450 - 2000 pg/ml	1044.0

Tabla n° 7

**CORRELACION DE ESTRADIOL FINAL  
Y RECUPERACION DE OVOCITOS**

ESTRADIOL TERMINAL	OVOCITOS RECUPERADOS		MADUREZ			TOTAL OVOCITOS RECUPERADOS
	Rango/pac.	Media	Maduro	inmaduro	atréxico	
ALTA RESPUESTA ≥ 700 pg/ml	1-11	4.64	170 (82.92%)	9 (4.39%)	16 (7.80%)	195 (95.12%)
RESP. INTERMEDIA 300 a < 700 pg/ml	0-6	1.42	9	0	1	10 (8.88%)
TOTAL			179	9	17	205

TABLA # 8

## ESTRADIOL

ESQUEMA DE INDUCCION	DIA DE PICO MAXIMO DEL ESTRADIOL	DIA DE RECUPERACION OVULAR
P	10-13	11-14
CC + P	11-13	12-14
FSH + P	11-13	12-14

MEDIA 11.74 dias

MEDIA 12.78 dias

MODA 12 dias

MODA 13 dias

MEDIANA 12 dias

MEDIANA 13 dias

TABLA # 9

### ESQUEMA DE INDUCCION/MADUREZ OVULAR

OVOCITOS	CITRATO-CLOMIFENO MENOTROPINAS	FSH - LH	FSH/FSH-	TOTAL
MADUROS	51 (85%)	100(89.28%)	28(84.84%)	179(87.32%)
INMADUROS	5(8.33%)	2(1.78%)	2(6.06%)	9(4.39%)
ATRESICOS	4(6.66%)	10(8.92%)	3(9.09%)	17(8.29%)
TOTAL	60	112	33	205

TABLA # 10

### CORRELACION ENTRE SEGUIMIENTO POR ULTRASONIDO Y OVOCITOS RECUPERADOS

DIAMETRO FOLICULAR	MADUROS	INMADUROS	ATRESICOS	TOTAL
10-14 MM	76 (42.45%)	7 (77.77%)	10 (58.82%)	93
15-19 MM	75 (41.89%)	2 (22.22%)	5 (29.41%)	82
20-24 MM	25 (13.90%)	0	2 (11.76%)	27
25-29 MM	3 (1.67%)	0	0	3
TOTAL	179	9	17	205

TABLA # 11

## DIAMETRO FOLICULAR Y CARACTERISTICAS DE LOS OVOCITOS

D.FOL.	MADURO	INMADURO	ATRESICO
10	13	4	4
11	18	1	2
12	14	0	2
13	11	1	0
14	20	1	2
15	23	0	1
16	14	0	0
17	14	2	3
18	12	0	1
19	12	0	0
20	15	0	0
21	6	0	1
22	1	0	0
23	2	0	1
24	1	0	0
25	1	0	0
26	1	0	0
27	0	0	0
28	0	0	0
29	1	0	0

D. FOL. = DIAMETRO FOLICULAR: MODA 15 mm.

MEDIANA 15 mm.

TABLA # 12

MEDIA 15.22 mm.

### DIAMETRO FOLICULAR/MADUREZ DE OVOCITOS

	FOLICULOS $\geq$ 15 mm.	FOLICULOS $<$ 15 mm.	TOTAL
MADUROS	103 91.96%	76 81.72%	179
INMADUROS	2 1.78%	7 7.52%	9
ATRESICOS	7 6.25%	10 10.75%	17
TOTAL	112	93	205

TABLA # 13

## DISCUSION

La fertilización asistida, es una ayuda más en el tratamiento de las pacientes portadoras de esterilidad, y un punto importante en éste, es la obtención del ovocito en las mejores condiciones para ser fertilizado, ya que el índice de embarazos en éstas pacientes, depende de la obtención de un mayor número de ovocitos capaces de ser fertilizados, para lo cual se han utilizado diversos métodos de estimulación ovárica y de seguimiento del crecimiento folicular, todos encaminados a optimizar el número y grado de madurez de los ovocitos capaces de ser utilizados en los programas de fertilización asistida, aumentando de esta manera el número de embarazos logrados en éstas mujeres. (4, 20, 28)

Se cita que la edad materna también influye en el número y características del ovocito recuperado; en el presente estudio, ninguna paciente rebasó los 40 años de edad, en las cuales se obtuvo una media de 32 y 33.5 años, en los casos de esterilidad primaria y secundaria respectivamente, las cuales se encuentran en el rango sugerido por la mayoría de los investigadores como una de las más adecuadas para lograr los mejores resultados. (28)

En un inicio los diferentes programas de fertilización asistida, utilizaron ciclos naturales, pero pronto se vió que al emplear inductores de ovulación, aumentaba el número de ovocitos

en condiciones adecuadas para ser fertilizados, por lo cual, estos fármacos que sólo eran hasta entonces utilizados en mujeres con anovulación para restituirles su función reproductora, son empleados ahora en casi todos los centros de fertilización, independientemente si curran o no con anovulación, es por ésto, que en éstas pacientes se utilizaron inductores de ovulación, logrando recuperar un mayor número de ovocitos aptos para ser fecundados, que los referidos en la literatura con ciclos naturales. Así mismo, cabe señalar, que no se observó un asincronismo manifiesto en el crecimiento folicular y grado de maduración de los ovocitos, como ha sido citado en otros estudios. (14, 29, 30)

El seguimiento folicular, se realizó por medio de la determinación de estradiol sérico y la medición del diámetro folicular por ultrasonido. Se sabe que el aumento de estrógeno decausa un incremento de hormona luteinizante que originará el reinicio de la meiosis del ovocito y la ruptura folicular al cabo de 24 a 36 horas.

Tratando de simular el pico de la hormona luteinizante, se administró en todas las pacientes estudiadas, hormona gonadotropina coriónica para posteriormente realizar la recuperación ovaria, obteniéndose una media de 4.18 ovocitos/paciente, lo cual concuerda con otros estudios reportados; de los ovocitos recuperados, el 91.7% fueron potencialmente capaces de ser fertilizados, lo cual es un porcentaje acorde con otras publica-

ciones. (5, 31)

Al monitorizar los valores de estradiol, se pudo ver que las pacientes clasificadas como de alta respuesta, tuvieron el mayor número de ovocitos capaces de ser fertilizados. Lo dicho anteriormente, es esperado ya que, nos habla de que hubo una respuesta adecuada por parte de la granulosa y la teca al estímulo administrado, lo cual causó el crecimiento folicular observado por ultrasonido, dando una idea de la respuesta ovárica y el momento de realizar la recuperación ovular. Aunque existen discrepancias entre los diferentes investigadores, en cuanto a que el estradiol es o no representativo del crecimiento folicular, por lo observado en éste y otros estudios, sí sería presumitivo de la calidad de los ovocitos recuperados para ser fertilizados. (5, 16, 17, 32)

El pico de estradiol se observó en promedio el 12º día del ciclo, por lo que la recuperación de los ovocitos se realizó el 13º en promedio, lo cual también es sugerido en diferentes reportes de la literatura; y además, de ésta manera el ciclo endometrial sería el adecuado para cuando el huevo fertilizado llegase a implantarse en él. (5, 8)

El crecimiento folicular fue observado por medio de ultrasonido seriado, y fueron punccionados los folículos cuando éstos alcanzaron en promedio 15 mm, obteniéndose en los mayores de

13 mm un número importante de ovocitos capaces de ser fertilizados (93.74%); en cuanto a los folículos con diámetros entre 10 y 14 mm, se obtuvieron mayor cantidad de ovocitos inmaduros y atéricos, no obstante el número de ovocitos maduros no fue nada despreciable (81.72%); sin embargo, consideramos que no es adecuado el tratar de recuperar ovocitos en folículos con diámetro menor a 13 mm, ya que el riesgo de encontrar dificultades para puncionarlos, además de no encontrar ovocitos, es mayor que en aquellos de mayor tamaño; pero si las pacientes son sometidas a captura de ovocitos por folículos de mayor diámetro, también deberán puncionarse los de menor tamaño por la posibilidad de encontrar ovocitos adecuados para ser fertilizados, lo anterior, también es mencionado en la literatura. (5, 14, 20) (Tabla No. 4) (fig. 2, 3, 4, 5).

No hay que olvidar que el diámetro máximo folicular se ha correlacionado con el pico de hormona luteinizante, lo cual sería horas antes de la ovulación y por lo tanto el aumento máximo de estradiol sería previo a éstos dos eventos, lo cual hace suponer que la monitorización de las concentraciones de estradiol y del diámetro folicular, como fue el caso del presente estudio, sería un buen parámetro para la adecuada recuperación ovular en los programas de fertilización asistida. (17)

Así mismo, éste doble esquema de seguimiento folicular, indicaría el día apropiado de la administración de la gonadotropina coriónica humana.

Cabe señalar, que en el presente estudio no se observó hiperestimulación ovárica con ningún esquema de inducción ovular y los índices reportados de que éste ocurra, varían mucho entre diferentes autores, oscilando entre 1 y 6% en la presencia de hiperestimulación ovárica severa y alrededor del 25% en la aparición de un cuadro leve; el no haber observado hiperestimulación en nuestras pacientes, quizás se deba a la estrecha vigilancia de los valores de estradiol, el cual algunos investigadores citan que podría participar en el fenómeno de hiperestimulación, ocasionando un aumento en la permeabilidad capilar, así mismo, el valor de estradiol fue determinante para la administración de hormona gonadotropina coriónica, que también es citada como responsable del síndrome de hiperestimulación, aunque éste puede evitarse por la punción folicular para la recuperación de los ovocitos en éstos programas. (33)

## CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio permiten concluir:

- 1.- El seguimiento folicular por medio de ultrasonido y concentraciones séricas de estradiol, son métodos confiables y complementarios para la recuperación de ovocitos capaces de ser fertilizados.
- 2.- La utilización de ambos métodos dan mejores resultados en la captura ovular, lo cual concuerda con lo reportado en la literatura.
- 3.- El diámetro folicular por ultrasonido, que se correlaciona con la presencia de ovocitos maduros, debe ser igual o mayor a 15 mm.
- 4.- Los valores finales de estradiol sérico de 700 pg/ml o mayores, son un buen indicador de la presencia de ovocitos capaces de ser fertilizados.
- 5.- Dado los resultados obtenidos, éstos métodos de seguimiento folicular, deberán continuar siendo utilizados en los programas de fertilización asistida.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Normas y Procedimientos de Ginecología y Obstetricia. Instituto Nacional de Perinatología. Subdirección General Médica N.G. 13-1. 1990.
- 2.- Westz A.C.: Novak's Textbook of Gynecology. Williams y Wilkins, Baltimore. Edic. 11ava. 263. 1988.
- 3.- Speroff L., Glass R.H., Kase S.G.: Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility. Williams and Wilkins, Baltimore. 2a. Edic. 467. 1983.
- 4.- Hodgen G.: Fertilización in vitro. Clin Obstet Ginec. 1: 157. 1986.
- 5.- Insler V., Lunenfeld B.: Infertilidad en el hombre y la mujer. Médica Panamericana. Buenos Aires. 1988.
- 6.- Moghissi E.S., Syner F.M., Evans T.N.: A composite picture of the menstrual cycle. Am J Obstet Gynecol. 114: 405, 1972.
- 7.- Gorlitzky G.A., Kase S.G., Speroff L.: Ovulation and pregnancy rates with clomiphene citrate. Obstet Gynecol. 53: 265, 1978.
- 8.- Hill H.C.B., Savage P.E.: The value of single serum progesterone measurement in the mid-luteal phase as a criterion

- a potentiality fertile cycle (ovulation) derived from treated and untreated conception cycle. *Fertil Steril.* 37: 353, 1982.
- 9.- Jones G.S., Acosta A.A., Garcia J.E., et al.: The effect of follicle-stimulating hormone without additional luteinizing hormone on follicular stimulation and oocyte development in normal ovulatory women. *Fertil Steril.* 43: 696, 1985.
- 10.- Bernardus E.E., Jones G.S., Acosta A.A.: The significance of the ratio in follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in induction of multiple follicular growth. *Fertil Steril* 43: 373, 1985.
- 11.- Passerstein C.J., Eddy C.A., Crosatto H.B.: Temporal relationships of estrogen, progesterone and luteinizing hormone levels to ovulation in women and infrahuman primates. *Am J Obstet Gynecol.* 130: 876, 1978.
- 12.- Littman S.A., Hodgen G.D.: Human menopausal gonadotropin stimulation in monkeys: Blockade of the luteinizing hormone surge by a highly transient ovarian factor. *Fertil Steril.* 41: 440, 1984.
- 13.- Nader S., Berkowitz A.S., Makiel N.: Characteristics of patients with and without gonadotropin surges during follicular recruitment in an in vitro fertilization/embryo transfer program. *Fertil Steril* 45: 75, 1986.

- 14.- Bonsel H.O., Huyen L.V.N., Ganselin D.L.: Mature and immature oocytes in large and medium follicles after clomiphene citrate and human menopausal gonadotrophin stimulation without human chorionic gonadotropin. *Fertil Steril.* 48: 596, 1987.
- 15.- Schiphorst L.E., Collins W.P., Boyston J.P.: An estrogen test to determine the times of potential fertility in women. *Fertil Steril.* 44: 328, 1985.
- 16.- Measher S., Acosta A.A., Garcia J.E.: Luteal phase serum estradiol and progesterone in in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 41: 838, 1984.
- 17.- Elissa M.E., Ghobrai M.S., Decker M.F.: Follicular growth and endocrine profiles in spontaneous and induced conception cycles. *Fertil Steril.* 45: 191, 1986.
- 18.- Jones H.W., Acosta A.A., Andrews H.C.: The importance of the follicular phase to success and failure in in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 40: 317, 1983.
- 19.- Garcia C.R., Mastroianni L., Amelar E.B.: Current therapy of infertility, 1982-1983. B.C. Decker Inc. - The C.V. Mosby Company, Ontario, 112, 1983.
- 20.- Jones H.W., Acosta A.A., Andrews H.C.: Three years of in vitro fertilization at norfolk. *Fertil Steril.* 42: 826, 1984.

- 21.- Eisner E.N.: Sequential use of clomiphene citrate and human menopausal gonadotropin in ovulation induction. *Fertil Steril.* 27: 72, 1976.
- 22.- Lopata A., Concepts in human in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril* 40: 389, 1983.
- 23.- Lobo R.A., Gyalor N., March Ch.N.: Clinical and laboratory predictors of clomiphene response. *Fertil Steril.* 37: 168, 1982.
- 24.- Schenker J.G., Yarkoni S., Granat M.: Multiple pregnancies following induction of ovulation. *Fertil Steril* 35: 105, 1981.
- 25.- Ekmann E., Jones J.R.: Sequential clomiphene citrate-menotropin therapy for induction or enhancement of ovulation. *Fertil Steril.* 39: 172, 1983.
- 26.- Jarrell J., Mc Innes E., Cooke E.: Observations on the combination of clomiphene citrate-human menopausal gonadotropin-human chorionic gonadotropin in the management of anovulation. *Fertil Steril.* 35: 634, 1981.
- 27.- Hill G.A., Freeman M.S., Bastian M.C.: The influence of oocyte maturity and embryo quality on pregnancy rate in a program for in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 32: 801, 1980

- 28.- Boses J., Maasher S.I., Acosta A.A.: Results of in vitro fertilization attempts in women 40 years of age and older: Norfolk experience. *Fertil Steril.* 47: 130, 1986.
- 29.- Vargas J.M., Morante C., Shengold G.: The effect of different methods of ovarian stimulation for human in vitro fertilization and embryo replacement. *Fertil Steril.* 42: 1, 1984.
- 30.- Fossan G.T., Vermesh N., Elstzkr A.: Biochemical and biophysical indices of follicular development in spontaneous and stimulated ovulatory cycles. *Gynecol Obstet.* 75: 407, 1990.
- 31.- Mahadevan M.M., Fleetham J., Taylor P.J.: The effect of the day of initiation of ovarian stimulation in the day luteinizing hormone surge and outcome of in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 47: 976, 1987.
- 32.- Venturoli S., Orsini L.F., Paradisi E.: Human urinary follicle-stimulating hormone and human menopausal gonadotropin in induction of multiple follicle growth and ovulation. *Fertil Steril.* 45: 30, 1986.
- 33.- Schenker J.G., Polishak M.Z.: Ovarian hyperstimulation syndrome. *Gynecol Obstet.* 46: 33, 1975.