

11217

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO  
FACULTAD DE MEDICINA

HOSPITAL DE LA MUJER

SUBDIVISION DE ESPECIALIZACION  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO  
FACULTAD DE MEDICINA  
UNAM.

ESTADO ACTUAL DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL  
INTRAUTERINA EN EL HOSPITAL DE LA MUJER  
AÑO 2002

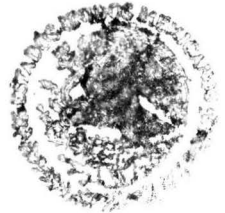
T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALIDAD EN  
GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

PRESENTA:

DAVID BLANCO CHAVEZ


ASESOR:  
DR. ANTONIO MIRANDA



HOSPITAL DE LA MUJER  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES GINECOLOGICAS Y OBSTETRICAS

MÉXICO D.F.

FEBRERO 2004

  
Dra. Ma de Lourdes Martinez  
JEFA de ENSEÑANZA

2004



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 esta 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.

## INTRODUCCIÓN:

### INFERTILIDAD

La infertilidad se considera un problema de salud pública, afecta a cerca del 15 % de parejas en edad reproductiva en los EE.UU. en algún momento de su vida; alrededor de 7 % de ellas no logran concebir un embarazo después de un año intentándolo.

La infertilidad se define como la imposibilidad de lograr un embarazo después de transcurrido un año de relaciones sexuales frecuentes, y sin método anticonceptivo.

La fertilidad se reduce conforme avanza la edad, ocurriendo infertilidad típicamente entre principio y finales de la 4ª década de la vida cuando hay una reducción significativa en la producción de ovocitos; la mayoría de clínicas de infertilidad han fijado como edad límite de estudio los 40 años de edad (21). Estudios sobre calidad del semen en hombres sanos describen una reducción del 20% de fertilidad comparando sujetos de 40 años de edad que hombres de 20 años; el 25-40 % de infertilidad se atribuye a factor masculino (15,21).

Técnicas modernas de tratamiento como la fertilización in-vitro (IVF), inyección intracitoplasmática de esperma (ICSI) etc implican un alto costo que la mayoría de las parejas no pueden solventar; si bien existen indicaciones precisas para la aplicación de dichas técnicas en muchos de los casos son propuestas cuando no se cuenta con un estudio completo de la causa ó factor implicado, en otros casos cuando no se han aplicado otras técnicas alternativas menos costosas y con porcentaje de éxito aceptable.

Es importante realizar una valoración diagnóstica eficaz tanto en tiempo como en costo, no sólo económico sino psicológico y emocional; para implementar la técnica de tratamiento que sea más adecuada para la pareja.

## VALORACIÓN DE LA INFECUNDIDAD.

El estudio básico de la pareja además de una Historia Clínica completa y pruebas de laboratorio de rutina se incluyen 6 pasos en la evaluación:

1. - Ovulación
2. -Integridad anatómica (útero y salpinges)
3. -Estudio del cuello uterino
4. -Biopsia de endometrio (fase luteínica)
5. -Estudio de la cavidad peritoneal
6. -Factor masculino

Ovulación:

La disfunción ovulatoria contribuye a 30-35 % de los casos; los métodos de evaluación incluyen registro de la temperatura basal; detección de la secreción súbita de LH (36-40hrs preovulación), éstos métodos presentan inconvenientes principalmente en la mala correlación con la dinámica folicular y la liberación del ovocito.

La detección de un incremento en la progesterona sérica en la fase luteínica media (día 21) ofrece una mejor prueba de ovulación; niveles mayores de 5 ng/ml provee prueba sólida de ovulación. Determinaciones de FSH,LH,perfil tiroideo prolactina se determinan en pacientes que se sospecha alteraciones .

La ultrasonografía se emplea en el seguimiento del crecimiento del folículo y proporciona información acerca del momento de la ovulación; por el costo del mismo se reserva éste método en los ciclos de estimulación ovárica para programar captura folicular ó inseminación artificial( 3).

Integridad Anatómica:

Se considera piedra angular en el estudio de la permeabilidad tubaria la Histerosalpingografía(HSG); método eficaz de diagnóstico de oclusión distal y proximal de las salpinges, permite además detectar anomalías uterinas estructurales, pólipos, miomas tabiques y otras alteraciones müllerianas.



### Biopsia Endometrial:

Se emplea para determinar defectos en la fase luteínica al encontrar desfase entre el ciclo ovárico y endometrial; la biopsia se realiza 10 a 13 días posteriores a la ovulación, siguiendo los criterios de Noyes, se considera fuera de fase cuando hay discrepancia de tres ó más días en el aspecto histológico y el cronológico del ciclo.

### Factor Masculino:

Casi 30-40 % de la infertilidad ocurre por alteraciones de la producción ó función espermáticas. La prueba más utilizada es el análisis del semen (seminograma), tomando como referencia valores normalizados por la OMS.

El resultado anormal de un análisis requiere repetirse antes de emitir el diagnóstico de una anomalía; estudios avanzados ( análisis de hemizona, unión de manosa etc) se reservan a casos especiales, sin embargo con las técnicas de capacitación espermática éstas pruebas suelen omitirse.

### Estudio de Cavidad Peritoneal:

La laparoscopia es un estudio usual de la infertilidad actualmente, permite valorar alteraciones pélvicas que pudieran afectar la fecundidad como adherencias y endometriosis.

Ocurre endometriosis en 25 a 65 % de las mujeres infértiles; afecta de manera adversa por la distorsión anatómica tubo-ovárica, no sólo por oclusión sino por producción de citocinas que alteran la motilidad tubaria y la interacción de ovocitos y espermatozoides

Las adherencias producidas ya sea por cirugías previas ó eventos infecciosos afectan la relación anatómica tubo-ovárica.

Además de realizar resección de adherencias ó evaporación de endometriosis se confirma la permeabilidad tubárica por cromopertubación( azul de metileno).

Indicaciones precisas: alteración tubaria demostrada por HSG; síntomas sugerentes de endometriosis ó antecedente de cirugía pélvica.

El estudio integral de la pareja infértil es de primordial importancia, para emitir un diagnóstico juicioso antes de emplear técnicas de reproducción asistida, eligiendo las más sencillas y de bajo costo como la inseminación artificial .

## **INSEMINACION ARTIFICIAL:**

La Inseminación artificial se define como el depósito en forma no natural de espermatozoides en el tracto reproductor femenino, utilizando maniobras instrumentales con la finalidad de conseguir una gestación.

Se divide en dos grandes grupos:

Cuando el semen procede del cónyuge se denomina HOMOLOGA.

Cuando el semen proviene de un donador se denomina HETEROLOGA.

## **HISTORIA (1):**

1790: La primera inseminación artificial exitosa se atribuye a John Hunter que depositó el semen de un hombre con hipospadias en la vagina de la esposa.

1838: Girault en Francia, realizó 10 inseminaciones homólogas resultando 8 exitosas, impulsando semen en la vagina mediante un tubo hueco.

1866: Sims realizó la primera inseminación homóloga exitosa en EE.UU.

1884: William Pancoast en Filadelfia consiguió la primera inseminación heteróloga con éxito, en un caso de azoospermia postgonocócica; el caso no se publicó sino 25 años después.

1890: Sofía Kleegman trabajos de inseminación homóloga y heteróloga, siendo dados a conocer hasta 1930.

1938: Se demuestra la supervivencia del semen congelado ( Jahnel).

1949: Polge y col. Reportaron al glicerol como un agente protector del semen humano congelado.

1954: Bunge, Keetel y Sherman reportaron 4 embarazos conseguidos por inseminación artificial con semen congelado homólogo.

1964: Sherman describe la Técnica del vapor de nitrógeno para congelamiento de semen.

1975: Sherman y Rosenfeld describieron la sobrevivencia del gonococo en semen criopreservado.

1978: Schenker y Weinstein publican resultados de la terapia de reemplazo hídrico intravenoso para el síndrome de hiperestimulación ovárica.

1980's: Auge de las técnicas de reproducción asistida , la fertilización in vitro expande su practica e indicaciones.

1990's: Se desarrollan áreas como la genética molecular aplicándose en diagnóstico genético preimplantación y la terapia génica preimplantación.

2000-?: Desarrollo progresivo de técnicas, procedimientos, medicamentos; innovaciones en laparoscopia, USG; además de implicaciones éticas: donación de ovocitos, madres subrogadas etc. Clonación humana?

## **INDICACIONES:**

La inseminación intrauterina (IUI) es considerada por diversos autores como la primera opción en el tratamiento de la pareja que consulta por infertilidad (7,22); y una alternativa de primera línea en el caso de donación de esperma (23,24,29).

Toda pareja candidata a realizarse IUI homóloga debe reunir las siguientes condiciones (1,2,3,4, 21):

- Integridad anatómica de trompas de Falopio.
- Concentración de espermatozoides móviles post-capacitación  $\geq$  3 millones.
- No tener antecedente de más de 6 ciclos de IUI previos.
- Tener en cuenta la edad y tiempo de infertilidad.\*
- Estabilidad psicológica personal y de pareja.
- Que exista indicación.

## INDICACIONES DE IUI HOMOLOGA

1. - Infertilidad Masculina: Incapacidad para depositar el semen en la vagina.  
(hipospadias, eyaculación retrógada, disfunción sexual)  
Oligoastenoteratozoospermia.\*\*
2. - Infertilidad Femenina: Cervical  
Uterina  
Endometriosis  
Disfunciones ovulatorias
3. - Factor inmunológico
4. - Infertilidad de idiopática.

## INDICACIONES DE IUI HETEROLOGA

1. - Azoospermia no obstructiva.
2. - enfermedades genéticas.
3. - esterilización quirúrgica masculina previa
4. -Mujer Soltera
5. -Fallo de técnicas RA
6. -Incompatibilidad Rh.

La inseminación intrauterina heteróloga ó de donador ha disminuido su auge con la aparición de la ICSI (inyección intracitoplasmática de esperma).

En el caso de mujeres solteras ó lesbianas su indicación depende de legislaciones propias de cada país.

\* ver Introducción.

\*\* ver Capacitación espermática.

## TÉCNICAS DE INSEMINACION ARTIFICIAL:

En la actualidad cada vez que se refiere a la inseminación artificial, se contempla una serie de procedimientos en un sentido integral, de tal forma que el procedimiento alcance la efectividad deseada; así como el costo y riesgos del mismo disminuyan. Estos procedimientos incluyen:

Estimulación del desarrollo folicular y control del mismo: para obtener la mayor cantidad de ovocitos posibles.

Técnicas de capacitación seminal.

Diversos tipos de inseminación artificial.

Los primeros dos apartados serán tratados en capítulo aparte; por lo que a continuación se describirán las diferentes técnicas de inseminación, que han sido empleadas con el objetivo de depositar los espermatozoides de mejor calidad lo más cerca de la porción ampular de la trompa y, en afán de mejorar las tasas de gestación.

### INSEMINACION INTRACERVICAL

Consiste en el depósito del semen en su totalidad, una vez licuado ó descongelado, sin preparación alguna en el canal cervical, mediante un capuchón semiesférico adaptada al cervix uterino(7,16,23, 29).

Esta técnica está indicada principalmente en la IUI heteróloga ya que sustituye el semen anormal por el de un semen fértil.

Si se emplea semen congelado se deben realizar pruebas para descartar enfermedades infecciosas(1, 18,22).

Se ha demostrado que la calidad del semen criopreservado disminuye posterior a la descongelación; la movilidad espermática disminuye por lo que las tasas de gestación son menores por ciclo con semen congelado que con semen fresco(18,22,23,24 ).

### INSEMINACION INTRAUTERINA

Consiste en la inyección del semen previamente preparado y capacitado en la cavidad uterina; siendo la técnica más empleada por su fácil acceso bajo costo y elevada efectividad(13, 22,).

La paciente se coloca en posición de litotomía, se coloca un espéculo vaginal, se limpia el exceso de moco cervical y mediante una cánula flexible (intracath –Deseret Sandy 17 g; Tefcath catéter Cook ® Ob/gyn inc.) se depositan 0.3 a 0.5 ml de preparado seminal en 30 a 60 seg la paciente permanece en decúbito dorsal de 10 a 15 minutos (4, 10,18, 22, 23, 24).

La inseminación puede realizarse en un solo evento que debe coincidir en el período periovulatorio (24-36 hrs después de la aplicación de hCG en ciclos estimulados ) ó en dos sesiones consecutivas el primer y segundo día después de la aplicación de hCG(período ovulatorio) (10, 11,12,13); otros autores realizan IUI 24 hrs después de detectar el pico de LH urinaria por kits comerciales (Ovukit®) (22,23,24,29)

Han sido descritas ventajas de la doble inseminación sobre la sencilla tal como una “ventana” más amplia de oportunidad de concepción, dada por una cantidad mayor de espermias móviles( capacitados), (13 ,10) , se reporta incremento de la tasa de gestación /ciclo (10).

#### INSEMINACION INTRATUBARICA

Técnica similar a la utilizada en la transferencia de gametos(GIFT) ,se utiliza semen capacitado, se introducen concentraciones espermáticas de por lo menos 70 000; por USG se determina cuál de los dos ovarios presenta el folículo dominante, se introduce una cánula Jansen-Anderson (Cook) 4 cms dentro del cuerno inyectando el semen capacitado en 30 ul de medio; éste procedimiento no ofrece mejores tasas de gestación que la IUI(23).

#### INSEMINACION INTRAPERITONEAL

Descrita como alternativa a la transferencia de gametos; consiste en la inyección de espermatozoides previamente lavados mediante jeringa de insulina en el fondo de saco de Douglas. Sólo se ha visto utilidad en los casos en que el canal cervical es inaccesible.

#### INSEMINACION INTRAFOLICULAR

Actualmente no es una técnica muy utilizada, ya que es más invasiva que las demás sin que se observe mejoría en los resultados, y existiendo el riesgo potencial de crear anticuerpos antiespermatozoide (23, 4).

## COLECCIÓN Y PREPARACIÓN DEL SEMEN.

### INTRODUCCIÓN:

El proceso fisiológico de la fecundación está precedido de una serie de fenómenos físicos y bioquímicos llevados a cabo en el tracto genital de la mujer; desde que el fluido seminal es emitido, en cervix y útero son eliminadas sustancias como prostaglandinas, detritus celulares, así como se eliminan aquellos espermatozoides anormales, con poca movilidad de tal forma que sólo uno de 15 millones de ellos alcanza la región ampular de la salpinx. Esta serie de fenómenos en conjunto se denomina capacitación espermática que en condiciones fisiológicas determina una mejor calidad espermática.

En las técnicas de reproducción asistida es necesario suplir ésta función natural, en muchos de los casos (como el factor masculino) modificar las condiciones seminales para buscar mejorar la probabilidad de éxito. Se han desarrollado diferentes técnicas cuya finalidad es la depurar el plasma seminal y de obtener aquellos espermatozoides que sean de mayor calidad. (15,16,17,18).

### COLECCIÓN DE LA MUESTRA:

La obtención de la muestra se obtiene en la mayoría de los centros de fertilidad por masturbación, ya sea momento antes del procedimiento en el centro de estudio ó previamente en su domicilio, esto último asegurando que el periodo entre la recolección de la muestra y su procesamiento no sea mayor de 2 hrs (15,17). Posterior a un periodo de abstinencia sexual no menor de 3 días, que asegurará un volumen de eyaculado suficiente para procesar la muestra y una cantidad de espermatozoides más óptima. La muestra se coloca en un recipiente estéril con las mejores medidas de higiene posibles.

En el caso de sospecha de eyaculación retrógrada la muestra puede obtenerse de la vejiga ya sea por cateterización uretral ó centrifugando la orina obtenida después de la eyaculación en búsqueda de espermatozoides; para cualquiera de los 2 casos se debe alcalinizar la orina para evitar el efecto deletéreo de la acidez.

## SEMINOGRAMA:

La OMS ha dictaminado criterios de normalidad en base a diferentes estudios realizados con el semen en fresco, valorando características tanto microscópicas como macroscópicas. Los parámetros evaluados volumen, Ph, aspecto, concentración de espermatozoides, movilidad y morfología determinan si una muestra es normal ó patológica de acuerdo a la siguiente tabla:

### **PARAMETROS NORMALES DE SEMINOGRAMA OMS**

volúmen	2.0 ml ó más
pH	7.2 -8.0
Concentración	20 millones /ml ó más
Conteo total	40 millones /ml ó más
Motilidad	50 % ó más de progresión rápida (tipo a y b)
Morfología	30 % ó más de formas normales
Viabilidad	75 % ó más de vivos
leucocitos	menos de 1 millón / ml.

Fuente: Sterility infertility 2001

## TÉCNICAS DE CAPACITACION ESPERMÁTICA:

En la búsqueda de la capacitación espermática y obtener de ésta forma la mayor calidad de espermatozoides, se han desarrollado varias técnicas, basadas en diferentes hipótesis de acuerdo a la conducta de los espermatozoides; y se dividen en:

**METODO DE MIGRACION:** Se basa en la capacidad de los espermatozoides para desplazarse en un medio, por lo que los más móviles se separarán del resto.

**SWIN-UP:** Es el método más clásicamente empleado para la recuperación espermática(15,20).

Por centrifugación y decantado se lava el eyaculado, se agrega medio de cultivo y se incuba a 37° C por 45 min y se recupera el sobrenadante.



## SWIN-UP+ CENTRIFUGACION ANTIGRAVITACIONAL

Método de reciente aplicación basado en el principio del anterior, aplicando una fuerza centrífuga posterior al lavado, de tal forma que se minimize el efecto deletéreo de la gravedad sobre la motilidad espermática.(20)

SWIN-DOWN: Técnica parecida al swin-up sólo que ésta el medio de cultivo se coloca por debajo del “pellet” seminal de tal manera que los espermatozoides en lugar de “nadar” hacia arriba nadan hacia abajo.

METODO DE GRADIENTES: Como el de PERCOLL Y ALBÚMINA.

Se coloca el semen por encima de una serie de soluciones preparadas con Percoll® y solución HAM F10® a diferentes diluciones, se centrifuga y se recupera el pellet del fondo del tubo. El fundamento de ésta técnica es que la selección de espermatozoides se realiza por que sólo los mejores podrán llegar al fondo del tubo a través de los diferentes gradientes.

METODO DE FILTRADO: FIBRA DE VIDRIO y SPERM-PREP

Se basa en el principio de la captación de los espermatozoides muertos ó defectuosos con la filtración del semen a través de la fibra de vidrio. Se requiere preparación previa con gradiente de percoll en el segundo de éstos.

## ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN INSEMINACION ARTIFICIAL

Es indudable el papel de la estimulación ovárica en las técnicas de reproducción asistida; si bien la primera fecundación in-vitro se logró a partir de un ovocito obtenido en un ciclo natural, hoy en día se han desarrollado tratamientos llamados de “superovulación” que pretenden conseguir el mayor número de folículos maduros.

Las ventajas de éstos tratamientos radican en que con el reclutamiento de varios ovocitos aumentan el número de embriones conseguidos y más probabilidades de gestación en la fecundación in-vitro.

A continuación se describirán los principales regímenes de estimulación ovárica utilizados más frecuentemente, empezando por un ciclo natural.

### 1- CICLO NATURAL.

Bases fisiológicas: durante un ciclo menstrual espontáneo, ocurre la selección de uno de los folículos reclutados previamente, lo cual ocurre alrededor del 5 al 7 día del ciclo ovárico. A medida que los niveles séricos de estradiol e inhibina producidos por el folículo aumentan ejercen un efecto negativo sobre la producción de FSH hipofisaria; al disminuir los niveles de ésta hormona se establece la dominancia del folículo (aquel con mayor cantidad de receptores de FSH) impidiendo la selección de otros folículos.

Por lo tanto para que se produzca una mayor cantidad de folículos en crecimiento y maduración, es necesario mantener niveles de FSH por arriba de cierto nivel y por un período de tiempo.

En base a lo anterior, el empleo de un ciclo natural en cualquier técnica de reproducción asistida presenta desventajas con respecto a ciclos estimulados:

- La paciente debe tener ciclos menstruales regulares.
- Habitualmente sólo se obtiene un ovocito.
- Difícil monitorización del pico de LH

El Ciclo natural se indica como método de preparación del endometrio para transferencia de embriones preservados.

## 2.- ESTIMULACIÓN DE CICLOS.

### Citrato de Clomifeno:

Sintetizado en 1956, fue en los 60's donde cobró auge su empleo, y desde entonces es el fármaco más utilizado en la inducción de la ovulación (9,12,13,14).

Con acción fundamental como antiestrógeno, se une a los receptores estrogénicos a nivel hipotalámico, bloqueando el efecto de retroalimentación negativa del estradiol; induce un aumento en la secreción de gonadotrofinas hipofisarias.

Indicado principalmente en pacientes oligo-anovuladoras, con niveles adecuados de estrógenos pero que no muestran un estímulo cíclico adecuado, por ejemplo en los ovarios poliquísticos.

ESQUEMA: Inicia los días 2-5 del ciclo en dosis de 50-150 mgs/día manteniéndose por 5 días; diversos autores recomiendan 100 mgs/día(9, 12,13)

VENTAJAS: Comodidad en la ingesta y económico

DESVENTAJAS: Efecto deletéreo sobre endometrio y cuerpo lúteo por lo que se debe administrar suplemento luteínico con progesterona (1, 9).

### GONADOTROPINAS:

Las gonadotropinas han sido empleadas desde los años 60's para la inducción de la ovulación; la primera de ellas la hMG (gonadotropina menopáusica humana) obtenida de la orina de mujeres postmenopáusicas provoca un aumento de la FSH en la fase folicular, induciendo mayor reclutamiento y desarrollo de los folículos (1,9, 10,12, 13, 21).

INDICACIONES: Estimulación ovárica en técnicas de reproducción asistida

Fallo en la respuesta tras uso de clomifeno  
Disfunción hipotálamo-ovárica

DESVENTAJAS: Mayores riesgos de síndrome de hiperestimulación ovárica

Embarazo múltiple.

ESQUEMAS: Se describen 2 pautas:

Pauta *ascendente*: Se inicia en el día 2 del ciclo con 2-3 ampulas (150-225UI)

se mantiene por 5 días y en caso de pobre respuesta ovárica

se incrementa la dosis.

Pauta *descendente*: Se inicia el día 2-3 del ciclo con 2-3 ampulas de FSH, manteniendo la dosis 3 días

, los días restantes se disminuye a 1  
ámpula/día hasta el día 8.

## FSH ( HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE)

Esta hormona actualmente obtenida por ingeniería genética, altamente purificada similar a la FSH humana.

Mecanismo de acción:

Es similar a la hMG sin embargo la FSH pura mejora la esteroidogénesis folicular obteniendo una relación andrógeno-estrógeno más adecuada.

DOSIS: Se utilizan las mismas pautas de las hMG sin embargo se debe de adaptar a cada paciente.

VENTAJAS: -crecimiento folicular múltiple en pacientes refractarias a otros fármacos disponible en forma purificada que disminuye efecto de LH sobre desarrollo folicular menor efecto colateral

DESVENTAJA: Mayor gasto económico.

## INDUCCIÓN COMBINADA

Diversos autores utilizan la combinación de antiestrógenos con gonadotropinas (8,9,13,14,21)

Con este tratamiento los niveles de estrógeno se elevan por 2 mecanismos: el efecto del clomifeno sobre la hipófisis y la administración de FSH en forma de hGM.

DOSIS: Citrato de Clomifeno (CC) 100 mg/día por 5 días iniciando los días 2-5 del ciclo.

Se administra hMG en forma simultánea a CC 1-2 ampulas/día ó iniciarse al momento de finalizar el CC.

VENTAJAS: La hMG evita el efecto antiestrógeno del CC sobre endometrio y fase lútea  
Mejora la captación ovocitaria que el CC solo (9).

## INDUCTORES DE LA OVULACIÓN

En los ciclos de estimulación ovárica se emplean métodos para identificar el momento de la ovulación; dos son las formas de identificarla:

Identificando el pico endógeno de LH. Difícil de identificar clínicamente

Por laboratorio es necesario determinaciones séricas seriadas por lo que su empleo no es generalizado. (1,9,10,12,22,23).

Induciendo el pico con hCG administrada en forma exógena.

Se han utilizado análogos de GnRH en la inducción de ovulación; Shalev y col. demostraron que bajas dosis de aGnRH pueden estimular un pico de gonadotropinas similar a un ciclo natural, induciendo ovulación y adecuada fase lútea. (6)

## **.hGC ( Gonadotropina coriónica humana)**

La hCG exógena es la más empleada hoy día en ciclos de inducción ovárica; su administración permite conocer con exactitud el momento de la ovulación, que ocurre 36 hrs después.

**DOSIS:** Inyección intramuscular de 5000 ó 10 000 UI (se conoce como día 0)

El momento de la inducción de la ovulación se indica por los siguientes factores:

Por seguimiento USG si el folículo dominante alcanza de 16-18 mm(11,12, 13,14, 21).

Por análisis de estradiol en base a 300 pg/ml por cada folículo mayor de 17 mm.

**DESVENTAJAS:** Riesgo de síndrome de hiperestimulación.

## **SUPRESIÓN HIPOFISARIA**

Análogos de GnRH: (6)

Ventajas en la administración de GnRHa en ciclos de estimulación ovárica radica en sus efectos de evitar picos prematuros de LH con la luteinización posterior del folículo que con frecuencia ocurre en ciclos estimulados con gonadotropinas.

La liberación pulsátil de la GnRH estimula la síntesis y liberación de gonadotropinas hipofisarias, mientras que su administración continua provoca una liberación inicial de gonadotropinas, posteriormente se produce un bloqueo reversible en la liberación de FSH y LH.

**Indicaciones:** Picos prematuros de LH en ciclos previos  
Niveles basales elevados de LH ó de andrógenos  
Pacientes con ovarios poliquísticos.

Protocolos: Existen varios protocolos denominados de acuerdo al tiempo de inicio en el ciclo; *de larga duración* cuando la administración comienza en la mitad de la fase luteínica del ciclo anterior a la estimulación; con ello se consigue una supresión hipofisaria más eficaz al momento de iniciar la inducción.

Dosis: 1 mg /día SC desde la fase luteínica del ciclo previo; se reduce la dosis al comprobarse supresión hipofisaria a 0.5 mg/día hasta la inducción ovulatoria.

El protocolo de *corta duración* aprovecha el efecto de estimulación inicial de gonadotropina ( efecto Flare up) siendo beneficioso para el reclutamiento folicular; el análogo se inicia a los 1-3 días del ciclo, las gonadotropinas se administran a partir del día 3 manteniéndose hasta la inducción de la ovulación.

Desventajas: utilización de soporte farmacológico en la fase lútea.

Antagonistas GnRH:

Su utilización se ha incrementado por que se logra una supresión hipofisaria más rápida, y se evita el efecto Flare-up de los análogos.

Se inicia al 6 día de la estimulación con gonadotropinas 0.25 mgs SC concluyendo el día de estimulación con hCG.

## Complicaciones:

Como todo procedimiento invasivo, la inseminación intrauterina conlleva una serie de riesgos que, si bien son de escasa incidencia, se convierten en situaciones tan graves que requieren de su identificación temprana ó realizar maniobras para la prevención de las mismas ya que en determinados casos comprometen la vida de la paciente

Se deben de tener presente las complicaciones derivadas del uso de la medicación inductora de la ovulación; las surgidas por la misma técnica de la inseminación y aquellas derivadas del éxito de la misma como la gestación múltiple que, según algunos autores no puede hablar que sea totalmente exitosa(27,28).

Dentro de las primeras la más frecuente y peligrosa es el Síndrome de hiperestimulación ovárica (SHEO) que se describirá más adelante; la infección pélvica, reacciones alérgicas incluso incremento en los títulos de anticuerpos antiesperma(4) se han descrito como parte de los problemas posteriores a la manipulación uterina, la simple cateterización del cervix puede ser motivo de inoculación de gérmenes produciendo salpingitis, endometritis e incluso absceso pélvico, sin embargo la incidencia infecciosa es baja (0.2 %) por lo que la posición actual es no administrar antibióticos profilácticos, y emplearlos sólo en los casos que se presente una infección seria(30).

El embarazo múltiple es una situación que debe evitarse, en primer lugar por que hay una mayor incidencia de malformaciones tales como defectos de tubo neural, hidrocefalia, labio leporino ó malformaciones cardiovasculares; en segundo lugar considérese la respuesta materna al embarazo múltiple(ó de alto orden fetal)con exageración de los mecanismos adaptativos, produciéndose con mayor frecuencia preeclampsia (20 a 30 %) retardo en el crecimiento intrauterino, peso bajo al nacer y prematuridad con secuelas neurológicas subsiguientes que llegan a ser superiores al 20 %.(28).

En caso de presentarse un embarazo múltifetal(más de 2 fetos) los avances tecnológicos han posibilitado que se puede recurrir a la reducción embrionaria selectiva, que ocasiona cuestiones éticas, morales y legales sin omitir afección al equilibrio psíquico de la paciente.



## SÍNDROME DE HIPERESTIMULACIÓN OVÁRICA

El Síndrome de hiperestimulación ovárica (SHEO) es una constelación de síntomas y cambios fisiológicos posteriores a la terapia de reproducción asistida.

Esta condición iatrogénica es potencialmente letal, la etiología no está totalmente esclarecida, sin embargo el marco fisiopatológico se ha descrito como una condición de desequilibrio hemodinámico; caracteriza al síndrome en formas leves por crecimiento ovárico, formación de quistes y en los casos graves ascitis, derrame pleural, una grave depleción del volumen plasmático, hemoconcentración (hto >55%), oliguria y falla renal(25,26,27)..

La incidencia de SHEO fluctúa en los casos leves (agrandamiento ovárico) del 5 al 15% y es considerado como prueba de respuesta al tratamiento; la forma moderada se presenta en el 5-10% y la forma grave se presenta en el 0.6 al 5 % de las pacientes (26), se han descrito 2 patrones de presentación de acuerdo al tiempo de inicio: temprano cuando los síntomas se presentan 3-7 días después de la administración de la HCG, y tardío cuando éstos se presentan a los 12 a 17 días posteriores a su administración (25).

Como se mencionó la etiología no se ha demostrado pero se ha considerado el hecho fisiopatológico básico el aumento de la permeabilidad capilar, especialmente en el ovario; causando una extravasación de líquido a tercer espacio. Otros datos indican que existe una vasodilatación arteriolar generalizada causada por niveles altos de estrógenos circulantes producido por un gran número de folículos en desarrollo además de una importante producción de prostaglandinas que se han descrito como las mediadoras de la permeabilidad vascular concomitante con sustancias vasoactivas; la fuente de prostaglandinas puede estar mediada por niveles altos de angiotensina II que también se han correlacionado con el número de folículos en desarrollo por lo que, el sistema renina angiotensina se ha propuesto como hipótesis en el aumento de la permeabilidad arterial y capilar.(25,26)

Los factores de riesgo implicados principalmente a la aparición del síndrome se encuentran a las pacientes del grupo II de la OMS, es decir pacientes con anovulación asociada a trastornos menstruales diversos (opso, oligomenorrea) y que presentan niveles normales de gonadotrofinas y/o actividad estrogénica endógena; aquí se incluyen las pacientes con síndrome de ovarios poliquísticos (PCOS), con niveles normales-altos de LH y que responden importantemente a las gonadotrofinas exógenas.(27).

Navot y col. Describen una correlación positiva con el síndrome a pacientes jóvenes (<35 a.), hábito asténico, niveles altos de estradiol, múltiples folículos inmaduros, empleo de agonistas de GnRH, y administración exógena de hCG(26,27).

El principal medio de prevención del síndrome es la supresión de la administración de HCG si la respuesta ovárica es excesiva, manifestada por un gran número de folículos en desarrollo y altos niveles de estradiol, sin embargo es difícil establecer con seguridad márgenes de confianza para determinar qué pacientes desarrollarán el síndrome, la no administración de hGC implica que muchos ciclos de inducción se cancelarán y que no hubieran evolucionado a SHEO, dichas cancelaciones resultan en frustración para las pacientes dado el costo y esfuerzo en cada ciclo de inducción.(25,26).

Entre las estrategias sugeridas están la de diferir la administración de hCG hasta que el tamaño folicular y los niveles de estradiol se encuentren en niveles más seguros; otra maniobra es la de aspiración folicular selectiva dejando sólo el folículo dominante(25,26,27).

Las formas leves y moderadas pueden tratarse en forma ambulatoria haciendo énfasis en el reposo absoluto y la hidratación, la reposición del volumen plasmático y el equilibrio hídrico pueden lograrse con la administración de soluciones salinas balanceadas (por ejemplo con bebidas comerciales para atletas); cuando aparecen signos de severidad como aumento rápido de peso, acumulación de ascitis, dolor abdominal, disminución de la diuresis y aumento del hematocrito por laboratorio la indicación de hospitalización es inmediata.(27)

La monitorización mínima del paciente para mantener balance de líquidos son el gasto urinario, peso corporal, Hto, perímetro abdominal: la reposición hídrica se realiza con solución salina 1.5 a 3 lt por día, si no es posible mantenerse sólo con cristaloides está indicado expansores del plasma como dextran, plasma fresco, albúmina humana etc.

Se ha sugerido la práctica de paracentesis ó drenaje vía vaginal del líquido de ascitis ya que además de disminuir el discomfort y las modificaciones en la ventilación, se mejora la diuresis por disminución de la presión en los ureteros(26), el volumen de descompresión se realiza de 1-2 lt por hora.

Diuréticos son indicados en caso de oliguria (<40 ml/hr), en la práctica es controversial por la posibilidad de agravar la depleción de volumen intravascular, se aconseja administrar previamente una carga de albúmina( 100 g) seguidos por 10 mgs furosemide.

La administración de antiprostaglandinas está contraindicado ,ya que puede contrarrestar la producción de prostaglandinas vasodilatadoras renales desencadenando daño renal agudo; de la misma forma los inhibidores de angiotensina deben evitarse ya que alteran la respuesta compensatoria mediada por el sistema renina- angiotensina-aldosterona que se activa por la grave depleción de volumen.

## INSEMINACION ARTIFICIAL RESULTADOS

La finalidad de todo tratamiento en infertilidad es la de lograr el embarazo; por lo que la efectividad de cada método se mide con la tasa de embarazo conseguida.

La inseminación intrauterina desempeña un papel importante en el tratamiento de la pareja infértil; los estudios publicados y los resultados publicados se multiplican considerando variables entre técnicas y métodos, pacientes, ciclos empleados y medicamentos indicados creando un sin fin de posibilidades de tratamiento.

La tasa de gestación por ciclo es alrededor del 13 %, con rangos de 7 a 24 % cuando se utiliza IUI con inducción de la ovulación con menotropinas (9,14); la tasa acumulada se estima en 35 % con rangos desde 20 hasta 46% en algunas series.

En promedio se consigue gestación al 4o ciclo (21).

En ciclos estimulados con citrato de clomifeno y hCG se han reportado tasas por ciclo de 7 % con rangos desde 2 al 9% (9,14,15,22).

El método de preparación seminal más comúnmente empleado es el swim-up, sin embargo el número de espermatozoides móviles es menor si se compara con la técnica de gradientes(15); se prefiere la primera por ser más sencilla de realizar.

Como se comentó la edad ejerce un efecto negativo en la fertilidad; en artículos de revisión han encontrado tasas de gestación por ciclo sólo del 7% (0-11 %). los autores recomiendan excluir de protocolo de infertilidad a pacientes mayores de 40 a por factores de riesgo ya discutidos (21)

En la inseminación intrauterina por donante ó heteróloga se han reportado tasas de gestación mayores ya que se realiza la técnica con semen normal por lo que se excluye factor masculino (su principal indicación): se reportan tasas de gestación de 24 % en ciclos estimulados con CC + HMG, 13 % con CC solo; cuando se emplea semen congelado se encuentra más eficaz la inseminación intrauterina que la intracervical con 23 % de éxito con la primera técnica vs 5 % de la segunda ( 7, 24 )

Diversos autores prefieren emplear doble inseminación al primer y segundo día de la ovulación ya que han observado mejores tasas de gestación al emplear dicha técnica, ésta se ha empleado en IUI heteróloga con semen criopreservado logrando 30-33% de éxito por paciente y 19 % por ciclo(10,13) .

El riesgo de embarazo múltiple con ciclos de estimulación ovárica se reporta entre 15 al 20% de gestaciones gemelares y de 3 ó más productos en 3-5% ( 12,30).

## DISCUSIÓN:

La incidencia de infertilidad primaria fue de 76.2% (48 parejas), mientras que la infertilidad secundaria de 23.8% (15 parejas) del total de pacientes que fueron sometidas a inseminación artificial intrauterina; porcentaje elevado según la literatura. El promedio de años de infertilidad no presentó variación con 5.25 y 5.13 años respectivamente, con intervalo desde 1 hasta 10 años; esto indica que las parejas no suelen solicitar apoyo médico sino mucho tiempo después del año sin gestación que marca la definición; entre los factores implicados se pueden mencionar bajo nivel educativo, indecisión, sentimiento de vergüenza desinformación etc.

El promedio de edad en la pareja femenina de 31.8 años coincide con los reportes del problema de infertilidad de la 4ª década de la vida, la edad masculina con 33.4 años no representa en sí causa directa en las alteraciones del seminograma; el factor principal que afecta el mismo es el infeccioso ya que de los 26 pacientes con espermatobioscopia anormal 22 tuvieron seminocultivo positivo; las bacterias más frecuentes staphyloco en el 82% y E.Coli 16%, en algunos casos Kleibseilla y 1 caso VPH (condilomas); el tratamiento utilizado trimetroprim-Sulfametoxazol y Doxiciclina a la pareja; se identificaron 2 pacientes que habían tenido cirugía por varicocele.

En nuestra población el factor tuboperitoneal fue el más alto siendo la endometriosis la principal causa de infertilidad como factor único (18 pacientes 28% del total); 11 pacientes con estadio mínimo sólo fueron tratadas expectativamente y 7 con forma leve recibieron tratamiento 2 de ellas con Danazol por 3 meses antes de la inducción de ovulación 5 fueron tratadas con nafarelina intranasal también por 3 meses. Los casos de EPIC se documentaron por laparoscopia y se trataron con Doxiciclina VO; 9 pacientes con oclusión tubaria de las cuales 2 por fimbrectomía secundaria a embarazo ectópico, 1 con adherencias por apendicectomía, 2 hidrosalpinx (Pb.EPIC).

El factor endocrino-ovárico representado por anovulación se documento como factor aislado en 10 pacientes (15%) sin embargo asociado a otros factores femeninos se presentó en otras 10 pacientes, 3 de ellas con endometriosis 5 con hiperprolactinemia y quienes recibieron tratamiento con bromocriptina hasta normalizar valores.

En 3 pacientes se identificaron miomatosis uterina subserosos y submucosos, 2 pacientes se realizó miomectomía y 1 paciente recibió tratamiento con nafarelina.

En cuanto a la inducción de la ovulación ó estimulación ovárica controlada el régimen más empleado fue el citrato de clomifeno + hCG , la dosis más empleada 100 mg CC+ 10 000 UI hCG ( 69 ciclos); le siguió CC 50 mgs + hCG (52 ciclos); CC 50 mgs+ 75 UI hMG (30 ciclos); 4 pacientes recibieron 150 mgs CC y 1 CC 200 mgs.

El régimen más efectivo fue el CC 50 mgs hCG con 6 gestaciones; el embarazo gemelar se produjo con CC 200 mgs; 2 pacientes (2ciclos) suspendieron la inducción por desarrollo multifolicular, el seguimiento realizado por USG; en ninguna paciente se reportó el síndrome de hiperestimulación ovárica; 1 paciente presentó embarazo ectópico.

El porcentaje promedio de embarazo por ciclo se reporta alrededor del 13 al 17 % dependiendo del factor implicado; el porcentaje de embarazo por paciente hasta 38%.

En nuestra población las tasas de éxito quedan muy por debajo con el 6.7% por ciclo y 14 % por paciente; se logró 1 gestación cada 2.3 ciclos.

## CONCLUSIONES:

El presente estudio permitió determinar el índice de gestaciones 14% por paciente y 6.7% por ciclo.

De las 10 gestaciones 3 fueron pérdidas del primer trimestre.

La frecuencia de infertilidad primaria fue de 76.2 % y de infertilidad secundaria 23.8%.

La edad promedio femenino fue de 31.8 años; edad promedio masculino 33.4 %

Del factor masculino la hipooligoastenospermia fue la más frecuente alcanzando 42% de las alteraciones; seguido de eritrospermia 24% , de todos los casos 76% asociado a infección; 2 pacientes con varicocele.

El factor femenino encontrado fue el tuboperitoneal con 62% del total; 18 pacientes (46%) con endometriosis; seguido por factor endocrino-ovárico alcanzando 31% de pacientes afectadas la mitad de ellas asociado a otro factor.

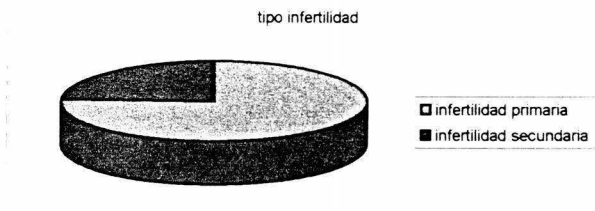
Es importante revisar el método de estudio y selección de pacientes que serán sometidas a inseminación artificial intrauterina; el presente estudio arrojó resultados muy por debajo de lo reportado en la literatura Europea y Anglosajona; es de interés comparar los resultados con el trabajo realizado en un Hospital de segundo nivel con población similar a la nuestra, y poder realizar un juicio objetivo; en 1998 se revisó el índice de embarazo con IUI encontrando un alto porcentaje sin embargo el número de ciclos revisado fue de 51.

Además importante es revisar la técnica de capacitación espermática, si bien el Swim-Up es la técnica más empleada, la centrifugación por gradientes Percoll puede mejorar los resultados si se implementa haciendo estudio comparativo con el primero.



## RESULTADOS

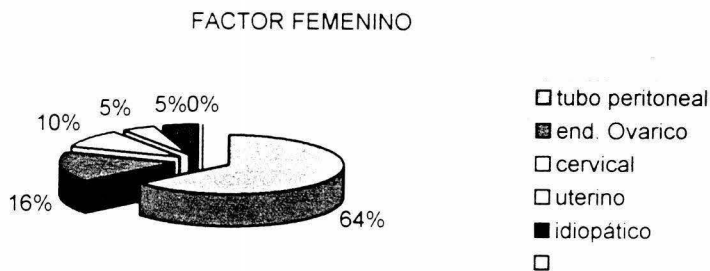
infertilidad primaria	76.20%
infertilidad secundaria	23.80%



Fuente: Archivo del Hospital de la Mujer

Promedio de edad masculina 33.4 años  
 Promedio de edad femenina 31.8

FACTOR FEMENINO		
	#pacientes	%
tubo peritoneal	39	62
end. Ovarico	10	15.8
cervical	6	9.5
uterino	3	4.7
idiopático	3	4.7



Porcentaje de pacientes por factor implicado

Fuente: Archivo del Hospital de la Mujer 2002

## FACTOR TUBOPERITONEAL

	# pacientes	%
Endometriosis	18	46
oclusión tubaria	9	23
EPIC	12	33
total	39	100

### FACTOR TUBOPERITONEAL



Fuente: Archivo Hospital de la Mujer SSA

De 18 pacientes con endometriosis en 11 (61%) se encontró estadio leve y en 7(38%) minima.

De 9 pacientes con oclusión tubaria 5 correspondieron al lado derecho;3 lado izquierdo y 1 OTB voluntaria

De las oclusiones derechas 2 hidrosalpinx, 2 sx adherencial 1 fimbrectomía

A la OTB se realizó plastía.

## FACTOR MASCULINO

### Alteraciones en el Seminograma

	pacientes	%
Hipospermia	6	20
eritrospermia	6	20
astenospermia	3	10
Oligoastenospermia	3	10
Hipo-O-A-	2	6.6
Hipo-O-A-T	2	6.6
Hipoeritrospermia	4	13.3
cultivo (+)	4	13.3
total:	30	

Hipo-O-A: hipooligoastenospermia

Hipo-O-A-T: hipooligoastenoteratospermia

De las 63 parejas estudiadas 30 presentaron factor masculino alterado **47.60%**

28 Parejas presentaron factor masculino y femenino alterado **44.4 %**

sólo 2 parejas mostraron factor masculino como único factor **3%**

3 parejas no se identificó factor alterado (idiopático) **4.7**

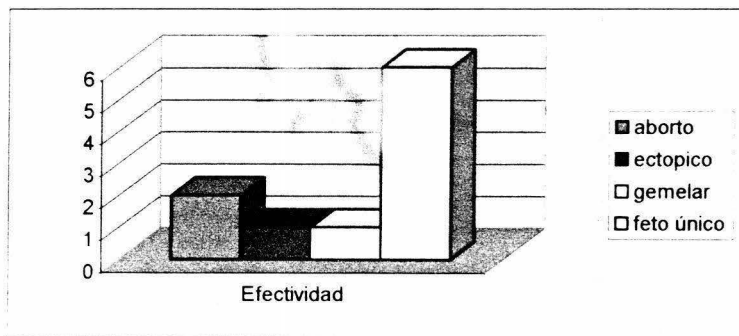
31% de las mujeres presentaron 2 causas de factor femenino alterado

En 12 pacientes se asoció oligo/anovulación con otro factor de infertilidad.

3 con endometriosis, 4 EPIC, 3 cervical, 2 oclusión tubaria.

## EFFECTIVIDAD DE LA INSEMINACION

Se efectuaron 148 ciclos de inducción de ovulación con 10 embarazos clínicos comprobados. 2 abortos del primer trimestre; 1 ectópico; 1 gemelar 6 con feto único



Gestación	Valor
aborto	2
ectópico	1
gemelar	1
feto unico	6

Fuente: Archivo Hospital de la Mujer SSA 2002

De los 6 embarazos únicos 4 continúan sin alteraciones; 2 de ellos se resolvieron por vía cesárea por complicación con preeclampsia severa y diabetes gestacional; el embarazo gemelar se resolvió por vía abdominal

Con los datos obtenidos se determina 1 embarazo por cada 2.3 ciclos por paciente para una efectividad de 6.7% por ciclo y la efectividad acumulada del 14 % por paciente.

## Bibliografía:

- 1.- Chen Serena H, MD; Wallach Edward MD: Five decades in management on the infertile couple . Fertil steril 1994;62 :665.
- 2.- J.Rojo Moreno, C.Valdemoro García,ML. García Merita and M.G.Tortajada. Personality characteristics análisis in copules undergoing artificial insemination. Hum.Reprod. 1994 vol.9 pp. 172-175.
- 3.- Bostoffe Erick ,M.D; Bagger Peter,M.D.; Michael Adel. Fertility prognosis for infertile couples. Fertil Steril. 1993;59:102-107.
- 4.- Francavilla Felice,M.D. Romano Rossella,M.D. Santucci RicardoPhD. Failure of intrauterine insemination in male immunological infertility in cases in which all spermatozoa are antibody-coated. Fertil.Steril. 1992,58:587-591.
- 5.- Griffith Carolyn S.M.D. Grimes David. M.D. The Validity of the postcoital Test. Am.J.Obstet gynecol. 1990;162:615-20.
- 6.- Shalev E,Y. Geslevich, M. Matilsky and M.Ben-Ami. Gonadotrophin-realising hormone agonist compared with human chorionic gonadotrophin for ovulation induction after clomiphene citrate treatment. Hum.Reprod. 1995;10; pp. 2541-44.
7. - Peters Albert J.D.O; Hecht Bryan,M.D. Colston Anne.M.D. Comparison of the methods of artificial insemination of the incidence of conception in single un married women.Fertil.Steril.1993;59:121-24.
8. - T.Strowitzky, H.Kentenich, L.Kiesel , J.Neulen. Ovarian stimulation in women undergoing in-vitro fertilization and embryo transfer using recombinant human follicle stimulating hormone(Gonal-F) in non-down-regulated cycles. Hum.Reprod. 10;12:3097-3101.
9. - Karlström Per-Olof,M.D. Bergh Torbjörn,M.D. Lundkvist Örjan,M.D. A prospective randomized trial of artificial insemination versus intercourse in cycles stimulated with human menopausal gonadotropin or clomiphene citrate. Fertil.Steril.1993,59:554-59.

- 10.- Siverberg Kaylen,M.D. Johnson Julia.M.D. Burns William.MD. A prospective, randomized trial comparing two different intrauterine insemination regimens in controlled ovarian hyperstimulation cycles. *Fertil.Steril.* 1992;57:357-61.
- 11.- Chung.C C.Fleming R. Jamieson M.E. R.W.S Yates. Randomized comparison of ovulation induction with and without intrauterine insemination in the treatment of unexplained infertility. *Hum. Reprod.* 1995;10: 3139- 3141.
- 12.- Dickey Richard.M.D. Taylor Steven N.M.D. Lu Peter, Sartor B.M.D. Relationship of follicle number and estradiol levels to multiple implantation in 3608 intrauterine insemination cycles. *Fertil.Steril.* 2001; 75:69-77.
- 13.- Ragni Guido ,M.D. Maggioni Paola, M.D. Guermandi Ellade M.D. Testa Alexandra MD.. Efficacy of double intrauterine insemination in controlled ovarian hyperstimulation cycles. *Fertil.Steril.*1999,72; 619-22.
- 14.- Dickey Richard,M.D. Olar Terry,M.D. Taylor Steven, M.D. Curole David, M.D. Relationship of follicle number and other factors to fecundability and multiple pregnancy in clomiphene citrate-induced intrauterine insemination cycles.*Fertil.Steril.* 1992; 57:613-619.
- 15.- Ohashi Kazumoto, M.D. Saji Fumitaka M.D. Munehiro Kato.M.D Preparation of oligozoospermic and/or asthenozoospermic semen for intrauterine insemination using the SpermPrep Semen filtration column. *Fertil.Steril.*1992; 57: 866-70.
- 16.- Depypere H.T. , Gordts S. , Campo R. M.D's. Methods to increase the success rate of artificial insemination with donor semen. *Hum.Reprod.* 1994;9:661-663.
- 17.- Kidd Sharon, M.P.H. Eskenazy Brenda, PhD. Wyrobek Andrew.Ph.D. Effects of male age on semen quality and fertility: A review of the literature. *Fertil.Steril.* 2001;75:237-47.
- 18.- Byrd William, M.D. Drobnis Erma, Ph D. Carr Bruce M.D. Intrauterine insemination with frozen donor sperm: a prospective randomized trial comparing three different sperm preparation techniques. *Fertile.Steril.* 1994;62: 850-855.

- 19.-Comphaire Frank, Ph D. Schoonjans Frank. MD. Methodological aspects of sperm morphology evaluation: Comparison between strict and liberal criteria. *Fertil.Steril.* 1994;62: 857-860.
- 20.- Baboo C.Jan., Hecht Bryan M.D. and Col. Increased recovery of swim-up spermatozoa by application of "antigravitational" centrifugation. *Fertil.Steril.* 1999,72: 556-558.
- 21.- Sahakyan Marine, M.D. Harlow Bernard Ph D. Hornstein Mark M.D. Influence of age, diagnosis, and cycle number on pregnancy rates with gonadotropin-induced controlled ovarian hyperstimulation and intrauterine insemination. *Fertil.Steril.* 1999;72: 500-503.
- 22.- Wolf. Don P, Ph D. Patton Phillip E. M.D. Burry Kenneth M.D.. Intrauterine insemination-ready versus conventional semen cryopreservation for donor insemination: a comparison of retrospective results and prospective, randomized trial. *Fertil.Steril.* 2001: 76: 181- 185.
- 23.- Hurd William. M.D. Randolph John .M.D Menge Alan MD. Comparison of intracervical, intrauterine, and intratubal techniques for donor insemination. *Fertil.Steril.*1993; 59: 339-344.
- 24.-Patton Phillip MD. Burry Kenneth M.D. Novy Miles M.D. Intrauterine insemination outperforms intracervical insemination in a randomized, controlled study with frozen, donor semen. *Fertil.Steril.* 1992;57: 559-563.
- 25.- Dahl Lyons Cecilia, Wheeler Carol, MD. Haning Ray Jr. MD. Early and late presentation of the ovarian hyperstimulation syndrome: two distinct entities with different risk factors. *Hum. Reprod.* 1994; 9: 792-799.
- 26.- Shrivastav Pankaj,Craft Ian MD. Day care management of severe ovarian hyperstimulation syndrome avoids hospitalization and morbidity. *Hum. Reprod.* 1994; 9 812-814.
- 27.- Navot Daniel M.D. Bergh Paul .MD. Laufer Nery M.D. Ovarian Hyperstimulation Syndrome in novel reproductive technologies: prevention and treatment. *Fertil.Steril.* 1992;58: 249-258.
- 28.- Sable David Md. Yanushpolsky Elena. MD . Rupture pelvic abscess after intrauterine insemination: case report. *Fertile.Steril.* 1993; 59: 679-8.
- 29.- Derom Catherine; Derom Robert; Iatrogenic multiple pregnancies in East Flanders *Fertil Steril* 1993;60 : 493.