

11217



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL DE GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA No. 3
CENTRO MÉDICO "LA RAZA"

EVOLUCION Y RESULTADO DE LOS
EMBARAZOS INDUCIDOS CON FSH
RECOMBINANTE EN PACIENTES CON
DISFUNCION HIPOTALAMO HIPOFISIARIA

(N° 029/03)

TESIS DE POSTGRADO
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MÉDICO ESPECIALISTA EN
GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA



PRESENTA
DR. ROBERTO GONZALEZ HIDALGO



CENTRO MÉDICO LA RAZA
Hosp. de Gineco-Obstetricia
Unidad de Enseñanza e Investigación

ASESOR:
DR. JUAN CARLOS HINOJOSA CRUZ

MÉXICO D.F.



CENTRO MÉDICO LA RAZA
Hosp. de Gineco-Obstetricia
Unidad de Enseñanza e Investigación



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Fig.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

B. J.

**“Evolución y resultado del embarazo inducido con FSH recombinante en
pacientes con disfunción hipotálamo hipofisiaria”**

(N° 029/03)

Autores:

DR. Juan Carlos Hinojosa Cruz

**Jefe de servicio Biología de la Reproducción Hospital de Ginecología y
Obstetricia # 3 Centro Medico La Raza IMSS.**

DR. Roberto González Hidalgo.

**Medico Residente Hospital de Ginecología y Obstetricia # 3 CM la Raza
IMSS.**

EVOLUCIÓN Y RESULTADO DE EMBARAZOS INDUCIDOS POR FSH RECOMBINANTE EN PACIENTES CON DISFUNCION HIPOTÁLAMO-HIPOFISIARIA.

(N° 029/03)

Dr. Juan Carlos Hinojosa Cruz (Jefe de servicio Biología de la reproducción)

Dr. Roberto González Hidalgo (Medico residente de ginecologia)

HOSPITAL DE GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA # 3 CENTRO MEDICO LA RAZA. IMSS. SERVICIO BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN.

RESUMEN: Se considera que actualmente la infertilidad es un problema de salud publica, actualmente se considera que el 30% de las parejas presentan infertilidad La anovulacion por disfunción hipotálamo-hipofisis constituye una de las causas frecuentes de infertilidad. El objetivo ideal de la inducción de la ovulación es el conseguir el desarrollo de un folículo que albergue un ovocito de alta calidad, que de lugar a un embrión excelente. En la actualidad con el desarrollo de la ciencia y la biología molecular se cuenta con la FSH recombinante como alternativa de tratamiento en la inducción de la ovulación.

El presente estudio estuvo constituido por 29 pacientes con diagnostico de infertilidad, adscritas al servicio de Biología de la reproducción del Hospital de Ginecología y Obstetricia N°3 CM la Raza del IMSS. que reunieron los criterios de inclusión y embarazo inducido por FSH recombinante, en el periodo comprendido de Septiembre del 2001 a Junio del 2004. Se realizaron seguimientos durante todo el embarazo registrando todo evento obstétrico, patología materna y condiciones del feto al momento del nacimiento y dos meses después de la resolución del embarazo. El método estadístico utilizado fue descriptivo con medidas de tendencia central.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes: La edad promedio de las pacientes fue de 25 a 35 años correspondiente a un 87%, el 81% con diagnostico de infertilidad primaria, los ciclos de FSH-R promedio requeridos para lograr el embarazo fueron 44.4% con primer ciclo y 44.4% con el segundo ciclo. La complicaciones obstetricias presentadas fueron 7 pacientes con amenaza de aborto todos del primer trimestre, cuatro paciente terminaron en aborto uno de estos abortos con embarazo gemelar de dieciocho semanas, Embarazos múltiples tres correspondiendo al 9.37% del total de los embarazos dos dobles y un triple, En cuanto a la patología materna 2 Pacientes presentaron diabetes gestacional correspondiente a un 8.6% requiriendo manejo con insulina. 4 pacientes presentaron preeclampsia correspondiente a 17.3%. La vía de resolución del embarazo fue 91% por operación cesárea, el resto eutocia. 51% de los fetos fueron de término.

Con los resultados obtenidos se concluye que la evolución y resultado de los embarazos no se ve modificado en pacientes con disfunción hipotálamo hipófisis tratadas con FSH recombinante como inductor de la ovulación y las complicaciones maternas presentadas corresponden en igual frecuencia que las reportadas en la población abierta. La frecuencia de prematuridad llama la atención y da pauta para próximas líneas de investigación.

AGRADECIMIENTOS.

A dios por ser mi guía y permitirme seguir adelante en este camino.

A mi esposa Rosario Chávez por el apoyo y motivación mostrado.

A mi hijo Roberto por enseñarme que solo con trabajo y dedicación llega uno a la meta.

A mis maestros por su apoyo, enseñanza, paciencia y dedicación

A mis compañeros por su paciencia, comprensión y apoyo mostrado en los momentos difíciles de mi vida.

A la Dra. Maria de los Ángeles Guzmán y al Dr. Alejandro Lievano por su asesoría en la realización de este trabajo

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE:

ROBERTO LIEVANO LITUS

FECHA:

27/09/04

FIRMA:

CONTENIDO.

Antecedentes	1
Justificación	12
Planteamiento del problema	13
Hipótesis	14
Objetivos	15
Criterios de selección.....	16
Material y métodos.....	17
Análisis estadístico.....	18
Cronograma de actividades.....	19
Operacionalizacion de las variables	20
Análisis de resultados	22
Discusión.....	25
Conclusiones.....	27
Tablas y graficas.....	28
Anexos.....	38
Bibliografía.....	41

ANTECEDENTES.

La infertilidad es la incapacidad temporal o definitiva de la pareja para concebir después de un año de relaciones sexuales sin control anticonceptivo voluntario.

La infertilidad ocurre entre el 10 y el 20% de la población (1), El 30% de las mujeres infértiles muestran trastornos de la ovulación. Estas alteraciones son un cuadro complejo que ha sido clasificado por la OMS de la siguiente manera.

GRUPO I. Falla del eje hipotálamo-hipófisis, pacientes con amenorrea y producción baja de estrógenos, con valores normales o bajos de FSH y prolactina y sin lesiones evidentes del área hipotálamo-hipófisis.

GRUPO II. Alteración hipotálamo-hipófisis en pacientes con diversos trastornos del ciclo ovárico que incluyen anovulación y amenorrea con baja producción de estrógenos y FSH baja o normal, LH normal o elevada, prolactina, y TSH normales.

GRUPO III. Paciente con falla ovárica primaria o secundaria.

GRUPO IV. Pacientes en las que no se logra inducir el desarrollo endometrial tras la administración de estrógenos y progesterona por la alteración a órgano blanco.

GRUPO V. Pacientes con hiper prolactinemia y evidencia de lesión en el área hipotálamo-hipófisis que compromete la función de órganos adyacentes.

GRUPO VI. Pacientes con hiper prolactinemia sin lesión evidente en el área hipotálamo-hipófisis.

GRUPO VII. Mujeres con amenorrea y lesión evidente en el área hipotálamo-hipófisis y valores normales o bajos de gonadotropinas, prolactina y estrógenos.

La causa mas frecuenté es la correspondiente al grupo II que incluye a la disfunción hipotálamo-hipofisiaria con secreción inapropiada de gonadotropinas; siendo la inducción de la ovulación el tratamiento de elección en estas pacientes; y el objetivo de dicha inducción es de propiciar el desarrollo monofolicular de la ovulación subsecuente y el embarazo.

CITRATO DE CLOMIFENO.

Pertenece al grupo de los antagonistas de los estrógenos, compuestos esteroides con semejanzas estructurales al dietilestilbestrol (DES) mas usado como inductor de la ovulación. Es bien absorbido en el tracto gastrointestinal y se excreta principalmente por las heces puede detectarse hasta seis semanas después de su ingesta. Los mecanismos de acción no se conocen exactamente pero sin embargo es probables que desplace al estradiol de su receptor hipotalamico

induciendo el la disminución del feedback negativo del estrógeno lo que resulta en aumento de la liberación de la gonadotropinas.

Existen diferentes esquemas de administración de citrato de clomifeno iniciando con 50mg 1 tableta diaria por cinco días hasta una dosis diaria de 250 mg . Los resultados son de 75% de respuesta a la ovulación con una tasa total de embarazos del 30-40%. Las complicaciones con citrato de clomifeno son fenómenos vasomotores, inflamación o dolor abdominal, náuseas y vómito, mastodinia, dermatitis y urticaria. En el 5 al 12% los embarazos son múltiples con 6.9% de mellizos, y 0.5% de trillizos.

GONADOTROPINAS.

El uso de las gonadotropinas como inductores de ovulación se remonta a los inicios del siglo XX, donde se demostró que la hipofisectomía parcial (anterior) de un perro adulto provocaba la atrofia de los órganos reproductores, se observó también, que si se realizaba la hipofisectomía a perros inmaduros, los órganos dedicados a la reproducción, no se desarrollaban (3,4).

En 1912. Cushing reportó una interacción entre la hipófisis y la gónada: tuvo entonces la firme comprobación de que los órganos reproductores masculinos y femeninos están bajo el control de la glándula pituitaria (5,6). Estas observaciones dieron pauta clara a investigaciones que llegaron a aislar de manera individual a las gonadotropinas; el objetivo de dicha investigaciones era aislar el factor

gonadotropico individual con el fin de observar los efectos de su deficiencia y mostrar por lo tanto su actividad biológica.

Las gonadotropinas se obtuvieron de hipófisis de animales y de la extracción de suero de yeguas embarazadas (4,5), la observación de los hallazgos obtenidos encamino hacia la hipótesis de que podría embarazarse mujeres infértiles en quienes se inyectara dichos extractos. En 1938 se logro inducir la ovulación en mujeres por medio de gonadotropinas de origen animal (8). A pesar de esto la gonadotropinas de origen animal no se usaron por largo tiempo, debido a que rápidamente se producían anticuerpos contra ellos, los cuales neutralizaban sus efectos (8).

En 1958 Gemzell y colaboradores obtuvieron hipófisis de cadáveres humanos (7), a las sustancias obtenidas se llamo Human Pituitary Gonadotropin (HPG). La HPG fue empleada por Bettendorf., en Alemania y por su inventor Gemzell en Suecia (6). Los primeros embarazos logrados con HPG fueron obtenidos a finales de la década de los cincuentas (7). Paralelamente en Francia en 1954 se demostró que los extractos de orina de mujeres posmenopáusicas contenían FSH y LH (4,5,7,8,9), sin embargo no se excluyó la utilización de HPG debido a que aproximadamente en una glándula pituitaria había igual cantidad de FSH que la contenida en 2 a 5 litro de orina de mujer posmenopáusica la cual era mas difícil de obtener (9). Además de brindar una opción para el tratamiento de la infertilidad estos extractos prevenían la atrofia de las células de Leydig y ajustaban la espermatogénesis en ratas hipofisectomizadas, por lo cual las investigaciones en

cuanto a su uso continuaron y en 1957 se demostró que esos extractos inducían el crecimiento folicular y la presencia del cuerpo luteo (5,10).

El extracto urinario inicial fue preparado por medio del método de caolín-cetona purificado. Primero: se obtuvo mediante etanol de amonio, después por cromatografía (6). Esta preparación es un estimulante ovárico potente en seres humanos. Sin embargo aquellas preparaciones de orina de mujeres posmenopáusicas eran de 3% a un 4% de pureza y contenían mas de 97% de proteína urinaria. El extracto recibió el nombre de Human Menopausal Gonadotropin (HMG) (5,11). Estas sustancias fueron ocupadas, no solo para la inducción de la ovulación, si también en casos de amenorrea e incluso de infertilidad masculina.

Fue en 1962 cuando Bruno Lunenfeld obtuvo los tres primeros embarazos con HMG después de 16 ciclos de tratamiento en diez mujeres con anovulación (12,13). La utilización de esta nueva opción fue tan inmediata que ya para 1970 se publico un metanálisis con los resultados obtenidos en aproximadamente 100 investigaciones clínicas (14). Sin embargo la falta de pureza y las cantidades enormes de orina de mujer posmenopáusicas que se tenían que reunir para obtener pequeñas cantidades efectivas de gonadotropinas hizo que se insistiera en la obtención de gonadotropinas de mejor calidad (15,16).

Se atribuyo a la LH[®] que contenía la HMG el provocar una alta incidencia de hiper-respuesta por lo cual se intento obtener únicamente la FSH pura de extracto hipofisiario (17,18).

Se utilizaron anticuerpos anti-HMG para causar la absorción de la LH en columnas de gel y obtener FSH purificada de extractos HMG. El resultado fue la Urinary Follicle Stimulating Hormone (FSHu) o Urofolitropina. Se realizaron múltiples estudios para su uso; sin embargo la FSHu contenía aun múltiples contaminantes urinarios (19), esta fue aprobada para su uso en Noviembre de 1986 (8), pero por su alta cantidad de contaminantes, inmediatamente se realizaron esfuerzos para la obtención de una preparación pura. A principios de esta década gracias al desarrollo de las técnicas de purificación y al empleo de anticuerpos monoclonales, se desarrollo la Urinary Follicle Stimulating Highly Purified (FSHu HP) y que contenía menos de 0.1 UI de actividad de LH y menos de 5% de proteínas urinarias en comparación con su antecesora que contenía mayor cantidad de LH y proteínas urinarias (8,20).

HORMONA FOLÍCULO ESTIMULANTE RECOMBINANTE.

Con el descubrimiento de las técnicas del DNA recombinante en 1982, y la inquietud de obtener una hormona foliculo estimulante mas pura, en 1987 Walkins; Clonaron y secuenciaron por primera vez la FSH por medio del plasmido **pBR322**, de la célula de ovario de hámster chino (26).

La hormona folículo estimulante es una glucoproteína heterodimérica cuyo tamaño es de 35 a 45kD: esta formada por dos subunidades sin relación covalente entre si, la subunidad alfa y la subunidad beta; contiene cuatro cadenas de carbohidratos, dos en la subunidad alfa y dos en la subunidad beta. La presencia de estas cadenas de carbohidratos proporciona a la FSH su perfil como isohormona,

conocido como microheterogenicidad, especialmente en lo que respecta al grado de sialización (27).

La FSH humana de la apófisis anterior puede dividirse por lo menos en 20 fracciones de isohormonas (28), las cuales muestran aproximadamente siete niveles distintos de actividad relacionada con la unión a receptores (29). Las diferentes formas (isohormonas) de FSH pueden ser identificadas por su vida media o por la técnica isoelectrica la cual, separa a las proteínas dependiendo de su carga; Las formas con una vida media mayor exhiben un punto isoelectrico más ácido, como resultado de un incremento en la molécula de la cantidad de carbohidrato o azúcar terminal (ácido sialico) (30).

Se ha demostrado que durante el ciclo menstrual hay un cambio en la carga de la FSH secretadas por la hipófisis anterior, en diferentes etapas del ciclo menstrual hay diferentes isohormonas. Cuando los residuos de ácido sialico son removidos de la FSH, la galactosa terminal de la molécula se une al receptor asialoglicoproteína tomado fuera de la circulación (hígado a riñón) (31), las moléculas con menos ácido sialico quedan expuestas en mayor grado a los residuos de galactosa y salen de la circulación con mayor rapidez, además se ha visto que durante la fase folicular temprana del ciclo menstrual se observa la mayor variedad de formas ácidas: en la mitad del ciclo se observa un cambio y predominan las formas básicas (36); posteriormente, en la fase lutea las formas ácidas vuelven a predominar (32). Este cambio es fisiológico y se necesita para el desarrollo folicular normal.

La retroalimentación negativa de la menstruación produce en la hipófisis, grandes cantidades de FSH cargada con abundante ácido sialico provocando isoformas ácidas con una vida media plasmática más prolongada, lo que asegura que el mensaje de la hipófisis llegue a los ovarios. Una vez que los ovarios llegan a responder a la señal de la actividad larga de la FSH. Se comienza a secretar estradiol, inhibina y otros factores que retroalimentan a la hipófisis. Esto causa no solamente una disminución en el total de la cantidad de FSH que esta siendo secretada, si no también a un cambio hacia formas mas básicas, formas con actividad mas corta. Así se limita la cantidad y duración del estímulo de la FSH para el desarrollo de la cohortes de los folículos que han crecido, esto ayuda a seleccionar el folículo mas dominante (33,34).

La eficacia de la FSH para inducir la ovulación esta relacionada principalmente con la proporción y la cantidad de las isoformas ácidas que presente y con el grado de la complejidad molecular (33).

Con el desarrollo de la FSH recombinante es posible desarrollar una generación de productos de FSH, por lo cual es posible administrar FSH con vida media larga para protocolos de fertilización in vitro, ya que remueven el mecanismo de selección del folículo dominante y permiten el desarrollo de múltiples folículos. Por el contrario también, estos productos permiten la utilización de isoformas con actividad mas corta para tener el control del desarrollo folicular momento por momento y obtener así el éxito en la inducción de la ovulación (33,34).

Para la producción de FSH recombinante se necesita el aislamiento y la clonación de los diferentes genes, la subunidad alfa y la subunidad beta, utilizando una línea celular de ovario de Hámster chino transfectada con un plasmido que contiene dos subunidades de los genes codificados de la FSH humana (35). El fragmento de la subunidad alfa genómica usada para la expresión está formado por 11 kilopares de longitud y se deriva de un clon 17-kb genómico; El gen promotor endógeno se remueve del sitio BamHI en el exon 1. La contracción del gen alfa se dirige por el promotor MMT-1 del ratón y la poliadenilación endógena fue usada por el procesamiento 3' del RNA_m (36).

La región de la subunidad beta de la FSH se obtiene por los mismos pasos por medio del promotor D del Sau3aI. La poliadenilación del FSHB se remueve también por el procesamiento 3' (37).

Para la expresión y la purificación de la FSH recombinante se seleccionan varias colonias y los cultivos son ampliados por el incremento de cantidades de metrotexato, a fin de obtener grandes niveles de FSH. Se escoge la célula clonada con mayor expresión, y se le utiliza para la bioproducción de la molécula de FSH recombinante; esta, expresada por una línea celular clonada, la cual se purifica por tres pasos, los cuales incluyen cambios aniónico, inmunoafinidad y exclusión por cromatografía; se logra una pureza del 99.9% y una bioactividad mayor de 10 000 UI por mg de proteína (33).

El primer estudio clínico que empleó FSH recombinante como agente terapéutico fue publicado en 1992. Se informó en sus reportes de caso que la FSH sola, estimula el crecimiento ovárico y la secreción del estradiol (38). Posteriormente se

publicaron reportes acerca de los primeros bebés nacidos después del tratamiento con FSH recombinante (39,40). Inicialmente se utilizó para la fertilización in vitro, subsecuentemente se realizaron estudios con pacientes anovuladoras crónicas, algunas de ellas resistentes al citrato de clomifeno (41). No fue sino hasta 1995 que la primera preparación de FSH recombinante, fue registrada en Europa (Suiza), la folitropina alfa; más tarde en 1996 fue registrada la folitropina beta (42).

Aunque la FSH recombinante fue obtenida tan solo un año después que la FSHu HP. Se realizaron múltiples estudios y comparaciones. Con ellos, se demostró que la FSH recombinante contiene un porcentaje por lo menos dos veces más alto de isoformas básicas que la FSHu HP ($\text{pH} > 4.7$), 32.0% VS 17.0%, y un porcentaje dos veces más bajo de isoformas ácidas ($\text{pH} < 4.1$), 14.7% vs 31.4%. Lo anterior produce un efecto directo en la actividad biológica y, en consecuencia, la mimetización en el ciclo folicular desde las fases más tempranas hasta las últimas de la ovulación (33).

INDUCCIÓN DEL DESARROLLO FOLICULAR CON GONADOTROPINAS Y RESULTADOS

La evolución de las gonadotropinas crónicas desde sus extractos hipofisarios hasta la FSH recombinante obtenida mediante tecnología del DNA ha permitido

una amplia variedad de alternativas en el extenso campo de la inducción de la ovulación. La FSH recombinante tiene una pureza del 99% y es muy estable, lo que permite una larga actividad biológica, no contiene actividad de LH y además contiene mas isoformas básicas que la FSH de origen natural. Con este fármaco se obtiene tasas acumuladas de ovulación de entre 62- 98% y tasas de embarazo por ciclo del 10 al 20% así como de embarazo por paciente del 26 al 75% (43,44).

JUSTIFICACIÓN.

La anovulación por disfunción hipotálamo-hipofisiaria constituye una de las causas frecuentes de infertilidad, siendo este grupo de pacientes candidatas a inducción de la ovulación. El objetivo ideal de la inducción de la ovulación es el conseguir el desarrollo de un folículo que albergue un ovocito de alta calidad, que de lugar a un embrión.

La inducción de la ovulación presenta complicaciones ya conocidas como el síndrome de hiperestimulación ovárica . La cual se presenta en forma leve hasta en el 33% de los casos, y la forma severa del 1 al 4% de los casos (3). El embarazo ectópico se presenta en el 1 a 2% de los pacientes que reciben tratamiento de inducción de la ovulación.

Actualmente en el Instituto Mexicano del Seguro Social contamos con FSH recombinante como tratamiento de la inducción de la ovulación en pacientes con disfunción hipotálamo hipófisis, pero no se cuenta con estudios publicados sobre posibles complicaciones obstétricas o perinatales que pueden presentarse en la evolución del embarazo. Por tal motivo este estudio tiene la finalidad de analizar la evolución y resultados maternos y fetales de estos embarazos.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

¿El tratamiento con FSH recombinante como inductor de la ovulación en pacientes con disfunción hipotálamo hipófisis modifica la evolución y resultado de los embarazos?

HIPÓTESIS.

Hipótesis alterna.

La evolución y resultado de los embarazos no se ve modificado en pacientes con disfunción hipotálamo hipófisis, tratadas con FSH recombinante como inductor de la ovulación.

Hipótesis nula:

La evolución y resultado de los embarazo se modifica en pacientes con disfunción hipotálamo hipófisis tratadas con FSH recombinante como inductor de la ovulación.

OBJETIVOS.

OBJETIVO GENERAL:

Conocer la evolución y el resultado de los embarazos inducidos con FSH recombinante en pacientes con disfunción hipotálamo hipofisiaria.

OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- a) Conocer las complicaciones maternas que se presentan durante el Embarazo.
- b) Conocer el resultado perinatal
- c) Conocer y analizar las condiciones del producto al nacimiento.

CRITERIOS DE SELECCIÓN.

Criterios de Inclusión.

- Pacientes infértiles
- Pacientes con anovulación por disfunción hipotálamo hipofisiaria.
- Embarazadas después de tratamiento con FSH recombinante

Criterios de no inclusión.

- Mujeres con patología sistémica (diabetes, Nefropatías, lupus, artritis, diabetes, hipertensión).

Criterios de exclusión.

- Pacientes que abandonen el tratamiento o seguimiento.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Diseño:

Estudio retroprolectivo

Universo de trabajo:

La población de estudio esta integrada por pacientes con diagnostico de infertilidad primaria o secundaria por disfunción hipotálamo hipofisiaria, que confirmaron embarazo mediante inducción de la ovulación con FSH recombinante en el Servicio de Biología de la Reproducción del Hospital de Ginecología y Obstetricia N° 3 Centro Medico la Raza del IMSS en el periodo comprendido entre Septiembre del 2001 a Junio del 2004, periodo en que se resolvió el embarazo, y que reunieron los criterios de inclusión.

Procedimiento.

Se realizara seguimiento a las pacientes que presenten embarazo mediante FSH recombinante, registrando todo evento presentado hasta dos meses después del nacimiento Se registrara a su ingreso la edad, tipo de esquema de FSH recibido ,

antecedentes obstétricos, eventos obstétricos presentados como seria amenazas de aborto, abortos, embarazos ectopicos, embarazo múltiples, ruptura de membranas, datos del producto al nacimiento como valoración de Capurro, sexo, peso, apgar, talla, malformaciones del producto, días de hospitalización del producto, enfermedades de la madre agregadas en el transcurso del embarazo y días de hospitalización de la madre.

ANALISIS ESTADISTICO

1.- descriptivo. Con medidas de tendencia central como promedio, media, frecuencia, desviación estándar.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

- 1.- Planeación de la investigación Del 1 al 30 de Septiembre del 2003.
- 2.- Elaboración de protocoloDel 1 al 15 de Octubre del 2003.
- 3.- Recolección de datos Del 15 de Octubre al 15 de Mayo del 2004.
- 2.- Análisis de datos..... Del 16 de Mayo al 16 de Junio del 2004.
- 3.- Conclusión y resultados.... Del 1 al 28 de Julio del 2004.

Definición conceptual y operacional de las variables.

- **Tratamiento con FSH Recombinante** Hormona sintetizada a partir de ingeniería genética que estimula el crecimiento y maduración de los folículos, así como la producción de hormonas femeninas.
-
- Tipo de variable: cualitativa nominal
-
- **Aborto** Pérdida del producto de la concepción antes de las veinte semanas de gestación o un peso menor de 500mg.
-
- Tipo de variable: cualitativa nominal
-
- **Cesárea** Intervención quirúrgica mediante la cual se extrae el feto por medio de una incisión abdominal y otra en la pared uterina.
-
- Tipo de variable: cualitativa nominal
- **Amenaza de aborto** Presencia de sangrado transvaginal así como actividad uterina sin modificaciones cervicales.
-
- Tipo de variable: cualitativa nominal
- **Embarazo ectópico** Embarazo que se desarrolla fuera de la cavidad uterina, mas común mente en la salpinx.
-
- Tipo de variable: Cualitativa nominal.
-
- **Embarazo múltiple** Desarrollo simultaneo de dos o más fetos.
-
- Tipo de variable: cuantitativa ordinal

- **Capurro** Valoración del recién nacido que permite evaluar las características anatómicas y funcionales.
 -
 - Tipo de variable: cuantitativa ordinal
 - **Apgar** Valoración que permite establecer la evolución pronóstica del recién nacido.
 -
 - Tipo de variable: cuantitativa ordinal
-
- **Anomalia congénitas** Toda alteración somática o bioquímica presente en el recién nacido.
 -
 - Tipo de variable: Cualitativa nominal

ANÁLISIS DE RESULTADOS.

Se estudiaron la evolución y culminación de los embarazos logrados mediante FSH recombinante como inductor de ovulación en pacientes con infertilidad en el servicio de biología de la reproducción en el Hospital de Ginecología y Obstetricia Centro Medico la Raza en el periodo comprendido de Septiembre del 2001 a junio del 2004 reportando los siguientes resultados.

Se lograron 32 embarazos, de los cuales a 5 de ellos no se conoce la información por haber dejado de asistir al servicio, así como por cambio de domicilio; Solo se realizo seguimiento a 27 embarazos, de los cuales la edad de las pacientes promedio se encuentra entre 25 y 35 años, correspondiendo a un 87% del total de las mismas. De estas, 81% de las pacientes presentan infertilidad primaria y el resto infertilidad secundaria. El año de ingreso de las pacientes al servicio de biología de la reproducción fue 7.4% de las pacientes en 1997, 3.7% de las paciente en 1998, 7.4% de las pacientes en 1999, 29.6% de las pacientes en el 2000, 22.2% de las pacientes en el 2001, 14.8% de las pacientes en el 2002 y 14.8% de las pacientes en el 2003. Los ciclos administrados de FSH recombinante requeridos para lograr el embarazo fueron de un ciclo el 44.4% de los embarazos, con el segundo ciclo el 44.4%, con el cuarto ciclo el 7.4% de los embarazos y con el quinto ciclo 3.7% de los embarazos.

Las complicaciones obstétricas presentadas fueron amenaza de aborto del primer trimestre 7 pacientes correspondiente al 26% de ellas, (2 pacientes en la semana sexta, 1 paciente en la semana doce y 4 pacientes en la semana trece). Abortos presentados fueron 4 correspondiente a un 14.8% mismo porcentaje que

refiere la bibliografía para embarazos sin factores de riesgo (2 del primer trimestre y 2 del segundo trimestre), el de la semana diecisiete por ruptura de membranas y el de dieciocho semanas embarazo gemelar, cabe mencionar que de los abortos presentados ninguno de ellos curso con amenaza de aborto.

Embarazos múltiples fueron 3 correspondiente a un 9.37% del total de los embarazos, de los cuales fueron 2 dobles (6.25%) y 1 triple (3.12%), de estos un doble curso con amenaza de aborto a la semana trece, el otro presento aborto a la semana dieciocho. Dicho porcentaje corresponde al reportado en diferentes centros de atención médica.

En cuanto a la patología obstétrica presentada, 2 pacientes cursaron con Diabetes Gestacional correspondiente a 8.6%, 1 a la semana veintiocho y la otra a la semana treinta y dos, requiriendo manejo con insulina. En cuanto a preeclampsia, 4 pacientes la presentaron correspondiendo a un 17.3% del total, 1 en la semana treinta y una, reportada previamente como embarazo triple, 1 en la semana treinta y dos, y 2 en la semana treinta y ocho, porcentaje el cual corresponde a población abierta reportado en la bibliografía.

En cuanto a la vía de resolución del embarazo, el 8.6% de las pacientes por Eutocia y el 91.3% por operación cesárea. La atención obstétrica, se llevo a cabo el 91.3% en nuestra unidad, el 4.3% en su hospital general de zona y el 4.3% restante en hospital particular.

En cuanto a edad gestacional de los fetos obtenidos, mediante la valoración de Capurro al momento del nacimiento por parte del servicio de Pediatría, se reporta 10 fetos entre la semana 34-36 correspondiente a un 43.4 %, 12 fetos entre la

semana 37-40 correspondiente al 52.1% y 1 feto de 41 semanas correspondiente al 4.3%. La valoración de Apgar obtenida al minuto y a los cinco minutos del nacimiento fue; 14 fetos con 8/9 correspondiente a un 60.8%, 4 fetos con 7/8 correspondiente al 17.3%, 1 producto con 9/9 correspondiente al 4.3%, 2 fetos 7/9 correspondiente al 8.6% y 1 producto con 4/8 con un 4.3% del total de los embarazos.

- Como anecdotario, un embarazo logrado con primer ciclo de FSH-rec. sin presentar complicaciones obstétricas ni complicaciones maternas, atendido en su hospital general de zona mediante eutocia con peso de 2900gm, Capurro de 40 semanas, calificación de Apgar 8/9 falleció a los treinta días de nacido por cuadro de Neumonía.

DISCUSIÓN:

La inducción de la ovulación mediante FSH recombinante en la actualidad es una alternativa de tratamiento en pacientes con disfunción hipotálamo hipófisis.

En nuestra serie llamo la atención que la posibilidad de embarazo es mayor en mujeres con infertilidad primaria en un 81% que en la secundaria; logrando el embarazo al primero y segundo ciclo de FSH recombinante en 77% de las pacientes. Los resultados de embarazos múltiples corresponde a un 9.37% del total de los embarazos logrados, correspondiendo solo el 3.1 a embarazo triple considerado como de alto orden fetal y los restantes a gemelares, estas cifras son menores a las reportadas con el uso de metropinas y similares a las reportadas con el uso de gonadotropinas recombinante en esquema de baja dosis y seguramente también, es el reflejo de la aplicación de controles estrictos de ovulación.

En relación a prematuridad, llama la atención que el 37% del total de los nacimientos fueron valorados al nacimiento por el servicio de pediatría con Capurro de 34-36 semanas; esto abre una línea nueva de investigación en relación a conocer si la infertilidad por si misma o el uso de gonadotropinas recombinante son las causantes de prematuridad o no. Cabe mencionar que estos prematuros fueron de bajo riesgo y actualmente se encuentran sin problema.

Otra línea de investigación es el alto porcentaje de cesáreas obtenido (91.3%), ya que nos lleva a pensar si existe asociación entre embarazos inducidos por FSH recombinante y cesárea, cabe mencionar que no contamos con la

información de la indicación de la cesárea por lo que no se logro completar el análisis que consideramos de trascendencia para determinar si el tratamiento con gonadotropinas recombinante favorece la indicación de cesárea o si es realizada solo por el antecedente de infertilidad.

Dos de las complicaciones frecuentes en nuestro medio corresponden a diabetes gestacional y la Preeclampsia que en nuestra serie se presentaron en 7.4 % y 14.8%, estos datos son semejantes a los presentados en pacientes sin antecedentes de infertilidad y no tratadas con gonadotropinas (45).

CONCLUSIONES:

La evolución y resultado del embarazo no se ve modificado en pacientes con disfunción hipotálamo hipófisis tratadas con FSH recombinante como inductor de ovulación.

Las complicaciones maternas presentadas corresponden en igual frecuencia a las reportadas en población abierta.

La frecuencia de prematuridad de bajo riesgo es mayor que en población abierta, pero como se comentó existen sesgos importantes que influyen en el resultado, pero que abren nuevas líneas de investigación.

Los fetos no se ven afectados por el uso de gonadotropinas recombinante al momento del nacimiento y hasta los dos meses de seguimiento.

TABLAS Y GRAFICAS

Tabla No 1 : Grupo de edad de pacientes con embarazos inducidos por FSH-rec.

Grupo de edad	No pacientes
20-25 años	2
26-30 años	11
31-35 años	11
36-40 años	3

Fuente: Hoja de recolección de datos HGO # 3 2004.

Tabla No 2 : Ciclos de FSH-rec. requeridos para lograr el embarazo.

Ciclos	No pacientes
Uno	12
Dos	12
Tres	0
Cuatro	2
Cinco	1

Fuente: Hoja de recolección de datos HGO # 3 2004.

Grafica No 2 Ciclos de FSH-rec. requeridos para lograr el embarazo

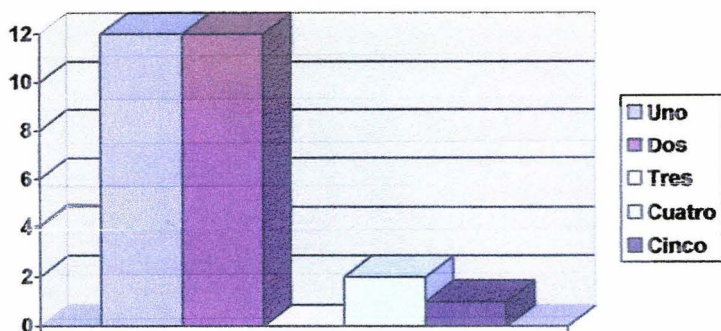


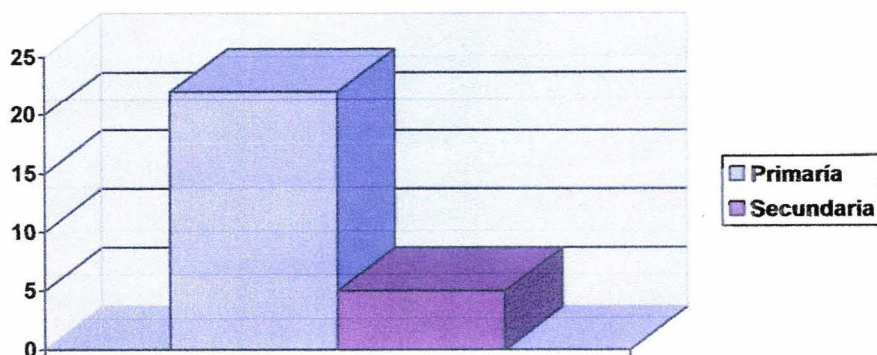
Tabla No 3 : Tipo de infertilidad de las pacientes con embarazo inducido por FSH-rec.

Infertilidad	No pacientes
Primaria	22
Secundaria	5

Fuente: Hoja de recolección de datos HGO # 3 2004

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

Grafica No 3: Tipo de infertilidad de las pacientes con embarazo inducido por FSH-rec.



Grafica No 4 : Año de ingreso al servicio de Biología de la Reproducción de las pacientes que lograron embarazo mediante FSH-rec.

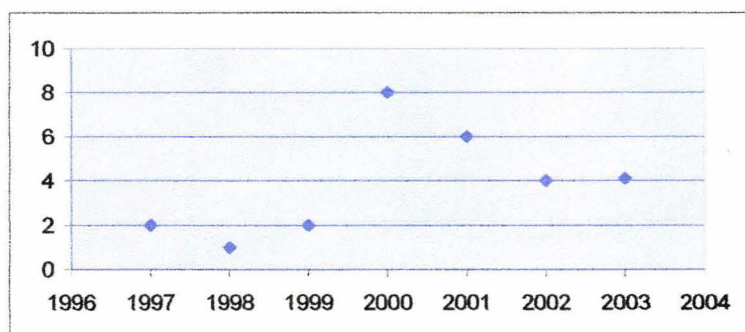


Tabla No 5 : Amenazas de Aborto presentadas en pacientes con embarazo inducido por FSH-rec.

Semana	No pacientes	%
Sexta	2	7.4
Doce	1	3.7
Trece	4	14.8
TOTAL	7	25.6

Fuente: Hoja de recolección de datos HGO # 3 2004

Grafica No 5 : Amenazas de Aborto presentadas en pacientes con embarazo inducido por FSH-rec.

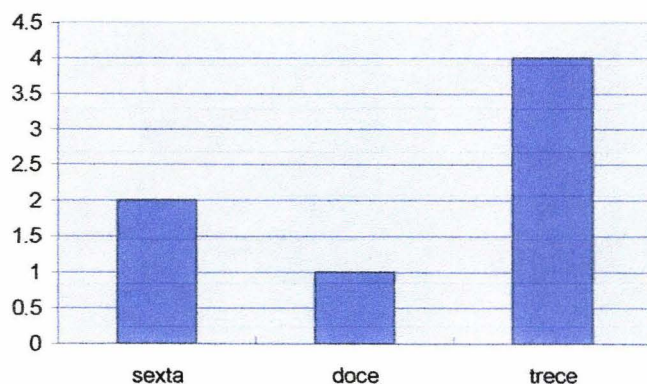


Tabla No 6: Abortos presentados en pacientes con embarazo inducido con FSH-rec.

semanas	No pacientes	%
dieciocho	1	3.7
diecisiete	1	3.7
Trece	1	3.7
Diez	1	3.7
TOTAL	4	14.8

Fuente: Hoja de recolección de datos HGO # 3 2004.

Tabla No 7 : Embarazos múltiples presentados en paciente con embarazos inducidos por FSH-rec.

Embarazos múltiples	No pacientes	%
Doble	2	7.4
Triple	1	3.1
TOTAL	3	9.37

Fuente: Hoja de recolección de datos HGO # 3 2004

Tabla No 8: Valoración de Capurro de los Recién Nacidos de embarazos inducidos por FSH-rec.

Semanas	No pacientes	%
34-36	10	37.0
37-40	12	44.4
41-42	1	4.3
TOTAL	23	100%

Fuente: Hoja de recolección de datos HGO # 3 2004

Tabla No 9 : Calificación de Apgar de los Recién Nacidos de embarazos inducidos por FSH-rec.

Apgar	No pacientes
4 / 8	1
6 / 8	1
7 / 8	4
7 / 9	2
8 / 9	14
9 / 9	1

Fuente: Hoja de recolección de datos HGO # 3 2004

Grafica N° 9: Calificación de Apgar de los Recién Nacidos de embarazos inducidos por FSH-rec.

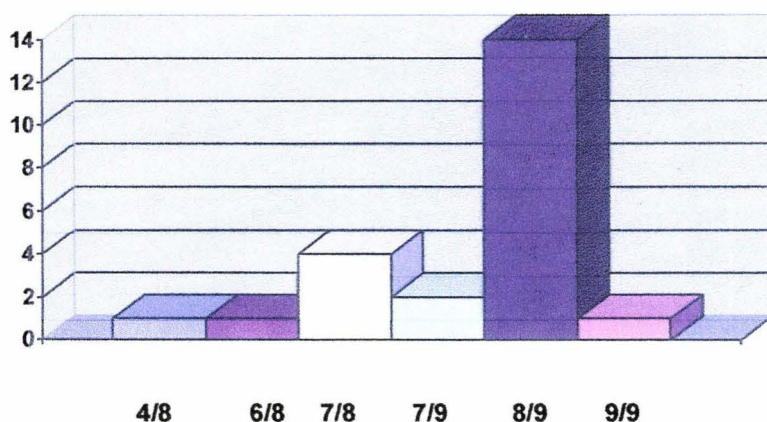


Tabla No 10 : Peso de los Recién Nacidos de embarazos inducidos por FSH-rec.

Peso	No pacientes	%
1525-2000gm	2	8.6
2050-2500gm	7	30.4
2550-3500gm	13	56.5
3600-4000gm	1	4.3
TOTAL	23	100

Fuente: Hoja de recolección de datos HGO # 3 2004.

Tabla No 10: Peso de los Recién Nacidos de embarazos inducidos por FSH-rec.

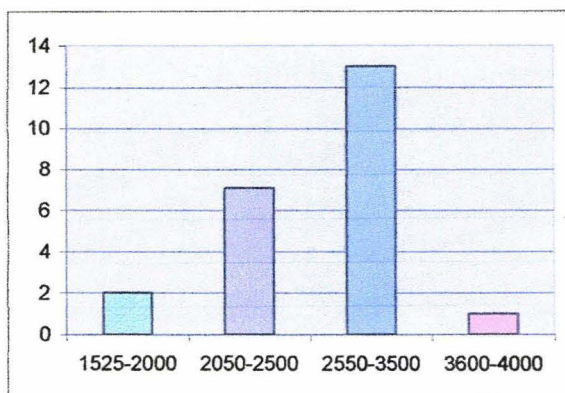


Tabla No 11: Numero de casos y semanas de gestación de las pacientes que presentaron Diabetes Gestacional en Embarazos inducidos por FSH-rec.

Semanas	No pacientes	%
veinte y ocho	1	3.7
treinta y dos	1	3.7
TOTAL	2	7.4

Fuente: Hoja de recolección de datos HGO # 3 2004.

Tabla No 12: Numero de pacientes y semanas de gestación que presentaron Preeclampsia en embarazos inducidos por FSH-rec.

Semanas	No pacientes	%
Treinta y uno	1	3.7
Treinta y dos	1	3.7
Treinta y ocho	2	7.4
TOTAL	4	14.8

Fuente: Hoja de recolección de datos HGO # 3 2004.

Tabla No 13 Vía de resolución de los embarazos inducidos por FSH-rec.

Vía de resolución	No pacientes	%
Parto	2	8.6
Cesárea	21	91.3
TOTAL	23	100

Fuente: Hoja de recolección de datos HGO # 3 2004

Grafica No 13 Vía de resolución de los embarazos inducidos por FSH-rec.

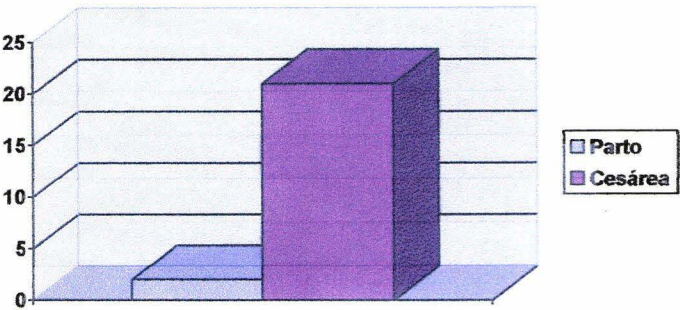
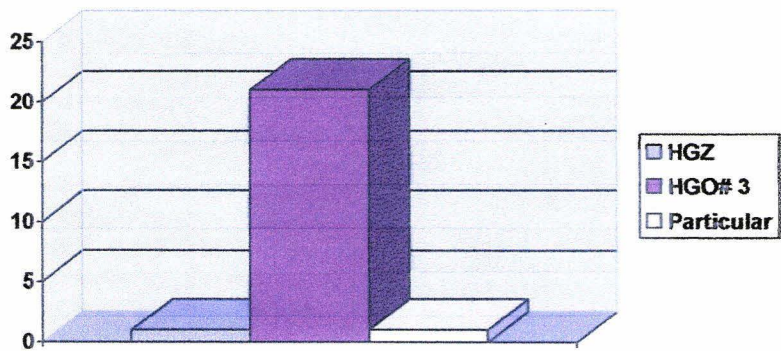


Tabla No 14 Lugar de atención de los embarazos inducidos por FSH-rec.

Lugar	No pacientes	%
HGZ	1	4.3
HGO# 3	21	91.3
Particular	1	4.3
TOTAL	23	100

Fuente: Hoja de recolección de datos HGO # 3 2004

Grafica No 14 Lugar de atención de los embarazos inducidos por FSH-rec.



ANEXOS

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

México D. F. a _____ de _____ del 2003

Acepto participar en la investigación titulada "Evolución y resultados de los embarazos inducidos por FSH recombinante en pacientes con disfunción hipotálamo hipófisis" con numero de registro en el comité de investigación _____ Se me ha explicado la finalidad de la investigación, la cual no comprometerme a mi hijo o a mi persona. También se me informo que en cualquier momento soy libre de dejar de participar en la investigación sin afectar mi atención médica. Además tengo derecho de conocer los resultados al finalizar la investigación.

Nombre y firma del paciente

Testigo

Testigo

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL DE GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA # 3 CM. LA RAZA
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION**

PROTOCOLO DE INVESTIGACION

**“EVOLUCION Y RESULTADO DE LOS EMBARAZOS INDUCIDOS POR FSH RECOMBINANTE
EN PACIENTES CON DISFUNCION HIPOTALAMO-HIPOFISIARIA”**

TELEFONO _____

NOMBRE _____ FILIACION _____

EDAD _____ FECHA DE INGRESO AL SERVICIO _____

FECHA DE ÚLTIMA MESTRUACION _____ TIPO DE CICLO _____

AGO: G ____ P ____ A ____ C. ____ E ____

EVENTOS OBSTETRICOS:

AMENAZA DE ABORTO _____ SEMANA _____

ABORTO _____ SEMANA _____

EMBARAZO ECTOPICO _____ SEMANA _____

EMBARAZO GEMELAR O MULTIPLE _____

RUPTURA PREMATURA DE MEMBRANAS A QUE SEMANA _____

DATOS DEL PRODUCTO:

CAPURRO _____ SEXO _____ PESO _____

PERIMETRO CEFALICO _____ APGAR _____ TALLA _____

MALFORMACIONES _____

PATOLOGIA MATERNA AGREGADA SI _____ NO _____ SEMANA _____

DIABETES () PREECLAMPSIA () LUPUS () ARTRITIS () OTRAS _____

DIAS DE HOSPITALIZACION DEL PRODUCTO _____

DIAS DE HOSPITALIZACION MADRE _____

INVESTIGADOR: DR. ROBERTO GONZALEZ HIDALGO.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Pague H. Estimation of the prevalence and incidence of infertility in population. A pilot study *Fertility Sterility*, 1989;51: 571-577.
2. Yee B. Ovulation Induction. *Inferi Reprod Med Clin NA*. 1990; 1:1-218.
3. Fiddes JC. Goodman HM. Isolation, cloning and sequences análisis of the cDNA for the alpha-subunit of human chorionic gonadotropin. *Nature*. 1979; 81:351-354.
4. Perez Peña. Inducción de la ovulación. *Infertilidad., esterilidad y endocrinología de la reproducción*. Mexico:JHG Editores. 1995. pp. 367-413.
5. Lunenfeld B. Lunenfeld E. Ovulation induction with Human Menopausal Gonadotropin. *Hormonal Treatment of infertility of women*. 1994:507-511.
6. Evans J. Townsend L. The induction of Ovulation. *Am J Obstet Gynecol*. 1976; 1:321-327.
7. Gemzell C. Diczfalusy E. Tillinger K. Clinical effect of human pituitary follicle stimulating hormone. *J. Clin Endocrinol Metab*. 1958; 18:1333-1338.
8. Machele M. Seibel. Ovulation induction with Follicle Stimulating Hormone. *Hormonal Treatment of infertility of woman*. 1994; 525-536.
9. Mc Faul P. Traub A. Thompson W: Treatment of clomiphene citrate-resistant polycystic ovarian syndrome with pure follicle stimulating hormone or human menopausal gonadotropin. *Fertil Steril*. 1990; 53:792-797.

10. Dumble LD, Klein RD. Creutzfeld-Jacob disease legacy for Australian women treated with human pituitary gonadotropins. *Lancet* 1992; 340:848-850.
11. Olive D. The role of gonadotropins in ovulation. *Am J Obstet Gynecol.* 1995; 172:759-765.
12. Lunenfeld B: Treatment of anovulation by human gonadotropins. *Int J Obstet Gynecol.* 1963;1:153-158.
13. Jewelewicks R. Warren M. Dyrenfurth I. Vandewiele RL. Physiological studies with purified human pituitary FSH. *J Clin Endocrinol Metab.* 1971; 32:688-694.
14. Thompson C, Hansen L. Personal (menotropins): A summary of clinical experience in the induction of ovulation and pregnancy. *Fertil Steril.* 1970;21:844-853.
15. Raj S. Berger M. Grimes E, Taymor M. The use of gonadotropins for the induction of ovulation in women with polycystic ovarian disease. *Fertil Steril.* 1977; 28:1280-1284.
16. Verturoli S, Paradasi R, Fabbri R, Magrini O, Porcu E, Flamigni C. Comparison between human urinary follicle-stimulating hormone and human menopausal gonadotropin treatment in polycystic ovary. *Obstet Gynecol.* 1984;63:6-11.
17. Jones GS, Acosta AA, Garcia JE, et al. The effect of follicle-stimulating hormone without additional luteinizing hormone on follicular stimulation and oocyte development in normal ovulatory women. *Fertil Steril.* 1985;43:696-701.

18. Remorgida V, Verturini PL, Anserini P, Salerno E, deCecco L. Use of combined exogenous gonadotropins and pulsatile gonadotropins-releasing hormone in patients with polycystic ovary disease. *Fertil Steril*. 1991;55:61-66.
19. Don P, Puzzuoli D, Dalessio I, et al. Purification and separation of FSH and LH from human postmenopausal gonadotropin II. Preparation of biological apparently pure FSH by selective binding of the LH with anti-HCG serum and subsequent chromatography. *Acta Endocrinol*. 1966; 52:169-173.
20. Harlin J, Khan SA, Diczfalussy E. Molecular composition of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in commercial gonadotropin preparations. *Fertil Steril*. 1986; 46:1055-1062.
21. Grillo M, Buck S, Freys I, Mettler L. Results of the use of a pure urinary FSH stimulation regime in patients unsuccessfully treated with hMG in an in vitro fertilization program. *Gynecol Obstet Invest*. 1989; 28:269-73.
22. Flamigni C, Verturoli S, Paradisi R, et al. Use of human urinary follicle-stimulating hormone in infertile women with polycystic ovaries. *J Reprod Med*. 1985;30:184.
23. Garcea N, Campo S, Panetta V, et al. Induction of ovulation with urinary follicle-stimulating hormone in patients with polycystic ovarian syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. 1985;51:635-639.
24. Seibel MM, McArdle C, Smith D, Taymor ML. Ovulation induction in polycystic ovary syndrome with urinary follicle-stimulating hormone or human menopausal gonadotropin. *Fertil Steril*. 1985; 43:317-320.

25. Iaman P, Seibel MM, McArdle C, Berger MJ, Taymor ML. Comparison of intermediate-dose purified urinary follicle-stimulating hormone with or without hCG for ovulation induction in polycystic ovarian disease. *Fertil Steril*. 1986;46:518-523.
26. Hernandez ER. The clinical benefits of recombinant gonadotropins. *Human Reprod*. 2000;15:71-81.
27. Zambrano E, Olivares A, Mendez JP, et al. Dynamics of basal and gonadotropins releasing hormone-releasable serum follicle-stimulating hormone charge isoform distribution throughout the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995;80:1647-1650.
28. Wide L. Male and female forms of human follicle-stimulating hormone in serum. *Fertil Steril*. 1982;55:682-684.
29. Perez M, Gromoll J, Behre H, et al. Ovarian Response to follicle-stimulating hormone stimulation depends on the FSH receptor Genotype. *J. Clin Endocrinol Metab*. 2000;85:3365-3369.
30. Cerpa-Poljak A, Bishop LA, Hort JL, et al. Isoelectric charge of recombinant human follicle-stimulating hormone isoforms determines receptor affinity and in vitro bioactivity. *Endocrinology*. 1993;132:351-356.
31. Chappel SC. Heterogeneity of follicle stimulating hormone control and physiological function. *Hum Reprod Update*. 1995;1:479-487.
32. Zariñan T, Olivares A, Soderlund D, et al. Changes in the biological immunological ratio of basal and GnRH-releasable FSH during the follicular, pre-ovulatory and luteal phase of the human menstrual cycle *Human Reprod* 2001;16:1611-1618.

33. Shoham Z. Howles C. Jacobs H. Basic knowledge about recombinant gonadotropic hormone production. Female infertility therapy. United Kingdom: Serono Symposia. 1999:95-102.
34. Rabon A. Lavery S. Burell R. et al. Clinical experience with recombinant follicle-stimulating hormone and urinary FSH: a retrospective case controlled analysis. Fertil Steril. 2001; 75:920-925.
35. Leal del Rosal J. Leal del Rosal JA. Escarcega A. Reachments and limitations of assisted reproduction. En Medicina Reproductiva en Mexico: JHG Editores. 1999 pp 307-313.
36. Fiddes JC. Goodman HM. Isolation, cloning and sequence analysis of the cDNA for the alpha subunit of human chorionic gonadotropin. Nature. 1979;281:351-356.
37. Jameson JL, Becker CB, Lindel CM, et al. Human follicle stimulating hormone beta subunit gene encodes multiple Messenger ribonucleic acids. Mol Endocrinol. 1998;2:806-815.
38. Donderwinkel P. Schoot D. Coelingh, et al. Pregnancy after induction of ovulation with recombinant human FSH in polycystic ovary syndrome. Lancet. 1992;340:983-986.
39. Devroey P. Van Sterteghem A. Mannaerts B. Coeling B. Successful in vitro fertilization and embryo transfer after treatment with recombinant human FSH. 1992. Lancet:339:1170-1171.
40. Germond M. Desseole S. Senn A. et al. Successful in vitro fertilization and embryo transfer after treatment with recombinant human FSH. Lancet. 1992:339.1170-1171.

41. Honnes P. Girod D. Howles C. Louymaye E. Recombinant human follicle-stimulating hormone treatment leads to normal follicle growth, estradiol secretion, and pregnancy in a World Health organization group II anovulatory woman. *Fertil Steril*. 1993;60:724-726.
42. Harlin J. Csemiczky G. Wramsby H. Fried G. Recombinant follicle stimulating hormone in in-vitro fertilization treatment-clinical experience with follitropin alpha and follitropin beta. *Human Reprod*. 2000;15:239-244.
43. Hard K. Mekking A. Damm J. Kamerling J. de Boer W. et al. Isolation and structure determination of the intact sialylated N-linked carbohydrate chains of recombinant human follitropin expressed in Chinese hamster ovary cells. *Eur J Biochem*. 1990;193:263-271.
44. Hughes Jn. The use of recombinant human FSH in ovulation induction. In *female infertility Therapy*. Shoham Z. Howles CM. Jacobs H. editors. Editorial Martin Dunitz. 1999;part IV:115-116.