

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA
UNIDAD DE SERVICIOS ESCOLARES DE POSGRADO
ESPECIALIDAD EN BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION HUMANA



PREMEDICACION CON AINES EN LA TRANSFERENCIA EMBRIONARIA:
EXPERIENCIA CON EL USO DE PIROXICAM

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
ESPECIALISTA EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN HUMANA

PRESENTA:
DR. ERNESTO PÉREZ LUNA

ASESOR:
DR FRANCISCO ROJAS ROMERO

ZAPOPAN, JAL.

AGOSTO DE 2009



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.

Dedicatoria

A mi familia...

A mis padres Ernesto Pérez Peña y Margarita Arcelia Luna Jaime, por su gran apoyo y por nunca perder la fe en mi, gracias por compartir mis sueños...

Agradecimientos

A mi tío y mentor, Dr. Efraín Pérez Peña por despertar en mi la inquietud de la investigación y por su apoyo en el proyecto.

A mi maestro y asesor de tesis, Dr. Francisco Rojas Romero por compartir conmigo la idea de realizar ésta investigación.

A la enfermera Reyna Isabel Muñoz, por colaborar con su tiempo para asesorar a las pacientes, sin ella éste proyecto jamás se hubiera realizado en tan poco tiempo.

Al Instituto Vida Guadalajara y al Hospital Puerta de Hierro por apoyar nuestra causa y ser sede de éste proyecto.

A Norberto de Laboratorios Senosiain, por creer en el proyecto desinteresadamente desde el inicio y por ser mi patrocinador de medicamento para el estudio.

A mis compañeros, fellows y amigos, a todos quienes en algún momento intervinieron en éste proyecto.

Índice

Capítulo	Página
1. Premedicación con AINES en la Transferencia Embrionaria	
Introducción.....	6
Resumen.....	10
2. Planteamiento del problema.....	11
3. Antecedentes	
Revisión de la literatura.....	12
Marco de referencia.....	13
4. Estudio	
Objetivos.....	20
Hipótesis.....	20
Justificación.....	21
Limitaciones y delimitaciones del estudio.....	22

5. Metodología		
	Diseño del estudio y criterios de la población.....	24
	Tamaño muestral.....	25
	Recursos estadísticos.....	26
6. Análisis de resultados		
	Resultados de la metodología.....	27
	Análisis de los resultados.....	28
7. Conclusiones		
	Discusión y comentario.....	30
8. Tablas, Figuras y Anexos		
	Tabla I: Universo de Pacientes.....	31
	Tabla II: Grupo A (Piroxicam).....	31
	Tabla III: Grupo B (Placebo).....	32
	Tabla IV: Cuadro de Contingencia (Embarazo).....	32
	Tabla V: Cuadro de Contingencia (Implantación).....	33
	Tabla VI: T de Student.....	33
	Figura 1: Fórmula Química del Piroxicam.....	34
	Figura 2: Síntesis de Prostaglandinas.....	34

Figura 3:	Contractilidad Mediada por Prostaglandinas...	35
Figura 4:	Contracciones Uterinas.....	35
Figura 5:	Patrones Contráctiles.....	36
Figura 6:	Porcentaje de Embarazos de Acuerdo al Patrón Contráctil.....	36
Figura 7:	Catéter de Transferencia Tocando el Fondo Uterino.....	37
Figura 8:	Encuesta de Opinión: Factores Más Importantes en la TE.....	37
Figura 9:	Variables que Afectan al Éxito de una TE.....	38
Figura 10:	Tasas de Embarazo de Acuerdo a la Causas de la Infertilidad.....	38
Figura 11:	Hipnosis durante la TE.....	39
Anexo A:	Consentimiento Informado.....	40
Anexo B:	Hoja de Captura.....	41

9. Referencias Bibliográficas.....	42
------------------------------------	----

Introducción

La Reproducción Asistida es en la actualidad el tratamiento de elección para múltiples entidades clínicas causales de infertilidad y pérdida gestacional, desde la época de los setentas se ha difundido el conocimiento de las diversas técnicas de reproducción asistida por los 5 continentes, de manera que hoy en día solamente la fertilización in-vitro ha conseguido más de 5 millones de nacidos vivos en todo el mundo.

El principio básico de la fertilización in vitro es muy simple: cuando los gametos no pueden unirse naturalmente para formar un embrión, capaz de implantarse en el endometrio, los gametos se extraen individualmente de la mujer y del hombre, y se promueve su unión en el laboratorio por distintas técnicas. Una vez que se ha confirmado la fertilización mediante visión directa con un microscopio, se coloca el embrión en el endometrio secretor, mediante un catéter aplicado a través del cérvix. A éste último paso se le denomina Transferencia Embrionaria.

La Transferencia Embrionaria (TE) es uno de los pasos más críticos en los procedimientos de Reproducción Asistida (RA) y que afecta directamente la tasa de éxito de los mismos, fue descrita por Robert G. Edwards y Patrick C. Steptoe, quienes obtuvieron el primer nacimiento por Fertilización In-Vitro (FIV) y transferencia embrionaria transcervical en 1978 [47].

Desde los setentas, hasta la actualidad muy poco ha cambiado la técnica de TE, contrastando con los grandes adelantos que se han suscitado, en otros aspectos de la RA, como lo son la estimulación ovárica, la aspiración folicular, los medios de cultivo, el soporte lúteo, la micro-manipulación de gametos, etc.

Se calcula que hasta el 85% de los embriones transferidos no se implantan [13], y aunque se han implicado múltiples factores como lo son anomalías genéticas de los embriones y defectos en la receptividad uterina, permanece latente la posibilidad de que adversidades en la transferencia embrionaria sean los causales de la baja tasa de implantación embrionaria. A finales de los ochentas, David R. Meldrum fue uno de los primeros en sugerir que una transferencia embrionaria óptima es esencial para el éxito de la FIV [35].

La introducción de catéteres suaves y la guía ultrasonográfica, han permitido que la TE sea cada vez un procedimiento menos traumático, produciendo con esto menor producción de sustancias embriotóxicas y menor contractilidad uterina, evitando así la expulsión de los embriones fuera de la cavidad uterina.

En las últimas dos décadas se han publicado una gran cantidad de estudios sobre la TE, la mayoría de ellos retrospectivos, pero todos con la finalidad de esclarecer la importancia de la TE en el éxito de las técnicas de RA. Debido a éstos estudios, hoy sabemos que la TE requiere de los esfuerzos conjuntos del embriólogo y del clínico, por lo que una TE óptima será infructífera si no se cuenta con embriones viables para transferir y del mismo

modo, los esfuerzos del embriólogo por preservar la viabilidad de los embriones en el laboratorio, habrán sido en vano si se realiza una TE traumática [45].

En la última década mucho se ha avanzado en múltiples áreas de la RA, las compañías farmacéuticas han lanzado medicamentos recombinantes y altamente purificados así como análogos de GnRh, que han permitido la generación de protocolos de estimulación ovárica más flexibles y de gran eficacia. Los avances en los laboratorios de andrología, embriología, genética y crio-preservación, parecen sacados de una novela de ciencia ficción, teniendo alcances no solo para la fertilidad sino para múltiples ramas de la medicina moderna [40].

En Septiembre del 2008 hablando con mi asesor, el Dr. Rojas Romero, surgió la interrogante de ¿cómo era posible que embriones de buena calidad en endometrios óptimos no consiguieran implantarse? Surgieron muchas ideas para tratar de explicarlo, y concluimos que la TE y eventos posteriores a la misma pudieran ser la causa de estos fallos en la implantación, motivo por el cual decidimos indagar un poco más en el tema, dando origen a ésta tesis.

Encontramos poco investigado, el factor de la dinámica uterina durante la TE y su relación con la expulsión temprana de los embriones transferidos. Existen en el mercado un sinnúmero de sales que tienen efectos sobre la contractilidad uterina, por lo cual nos pareció inusual que los protocolos modernos de RA con TE no recomienden la

implementación de éstas sales para optimizar el éxito de éste importante paso en los programas de FIV.

El Piroxicam [Fig. 1], es una sal ampliamente utilizada para el manejo del dolor y la inflamación, forma parte del grupo de drogas conocidas como Anti-Inflamatorios No Esteroideos (AINE's), su mecanismo de acción es la inhibición de prostaglandinas que se producen en el sitio del dolor, causado por inflamación de distinta etiología.

El Piroxicam inhibe inespecíficamente a la enzima Ciclo-oxigenasa, [Fig. 2] por lo cual posee propiedades analgésicas y antipiréticas, además de tener un efecto antiespasmódico en el músculo liso al disminuir la producción de prostaglandinas [Fig. 3], que mediante una serie de mensajeros celulares, promueven la contractilidad uterina.

En los ciclos de RA, la premedicación con Piroxicam poco antes de la TE pudiera inhibir la síntesis de prostaglandinas y con ello disminuir la contractilidad uterina que se asocia frecuentemente a expulsión embrionaria temprana.

Resumen

Objetivo: Conocer el beneficio real de la premedicación con AINES en un programa de Fertilización in vitro y su correlación con tasas de implantación y embarazo. Investigación realizada mediante un estudio mono-céntrico, prospectivo, doble-ciego, randomizado en pacientes menores de 35 años que fueron sometidas a algún procedimiento de mediana o alta complejidad. **Materiales y métodos:** Se incluyeron 11 casos a los cuales se les administró Piroxicam (Grupo A) y 11 a los que se les administró Placebo (Grupo B) una hora previo a su transferencia embrionaria. **Resultados:** Todas las transferencias embrionarias fueron óptimas, asimismo la calidad embrionaria se reportó como buena en todos los casos. La calidad endometrial se corroboró mediante ultrasonografía y/o determinaciones hormonales y fue adecuada en todos los casos. Se administró 50mg de progesterona intramuscular y 4-6 mg de etinilestradiol vía oral, en todos los casos para soporte lúteo. La tasa de embarazo del grupo A fue 9.1% y su tasa de implantación fue 15.6%, comparable con la tasa de embarazo de 18.2% y tasa de implantación de 9.7% en el grupo B, aunque se notan claras tendencias hacia una mayor tasa de implantación en el grupo A, y una mayor tasa de embarazo en el grupo B, dichas diferencias no llegan a ser significativas por el reducido tamaño muestral. **Conclusiones:** En nuestro estudio, la premedicación con AINES no demostró ser superior al placebo en tasas de implantación y embarazo en procedimientos de reproducción asistida, se requiere investigar una población mayor en pacientes de bajo riesgo para determinar la importancia real del uso de AINES en la transferencia embrionaria.

Planteamiento del Problema

Tras observar en nuestro programa de Reproducción Asistida, varios casos de pacientes jóvenes con fallo a implantación, pese a tener embriones de buena calidad, endometrios adecuados y transferencias embrionarias óptimas. Decidimos presentarlos ante el comité de investigación, en dónde surgió la interrogante de evaluar las variables que pudieran estar involucradas en los fallos en implantación con condiciones óptimas.

Eligiendo adecuadamente los casos en nuestro instituto, eliminando el factor humano y algunos otros factores que podrían ocasionar sesgo en los resultados, nos planteamos la interrogante: ¿Es probable que la dinámica uterina ocasione fallos de implantación en pacientes con condiciones óptimas?

Revisión de la literatura

En la última revisión de Medline del 4 de Agosto del 2009, se encontraron 10,710 artículos sobre transferencia embrionaria humana, proviniendo en su mayoría de fuentes americanas y europeas, sólo uno hablaba de premedicación con piroxicam. En la revista *Fertility and Sterility* de la Sociedad Americana de Reproducción Asistida (ASRM), bajo el rubro “Embryo Transfer” se encontraron 3,131 artículos, refinando la búsqueda a “Embryo Transfer” mas “Technique”, se encontraron 624 artículos, nuevamente sólo encontramos un artículo que hablaba de premedicación con AINES para la transferencia embrionaria, el mismo artículo que surgió de la revisión en Medline. En la revista *Human Reproduction* de la Sociedad Europea para la Reproducción Humana y la Embriología (ESHRE) se encontraron en una búsqueda refinada 410 artículos en los cuales tampoco encontramos alguno sobre premedicación con AINES. A continuación presentamos una síntesis de los artículos más relevantes de éstas revisiones a la literatura mundial.

Marco de Referencia

El estudio inicial de la dinámica uterina quizá se remonte a 1991, cuando E.A. Lyons en Canadá, estudia 328 ultrasonografías, observando claros patrones de contractilidad miometrial subendometrial, las cuales según describió, aumentan en porcentaje, frecuencia y amplitud en las fases folicular y periovulatoria, para posteriormente revertir su patrón en la fase lútea [32].

En 1997, R. Woolcott en Australia, publica una serie de 121 TE, en la cual señala la importancia de la guía ultrasonográfica para evitar transferencias subóptimas [50], debidas al depósito de los embriones en localizaciones anómalas y a la generación de contracciones cuando se toca el fondo uterino con el catéter [Fig. 7].

Al siguiente año, en 1998, P. Lesny en Reino Unido, simuló transferencias óptimas y traumáticas, aplicando un bolo ecolúcido en la cavidad uterina de donadoras de óvulos. En el grupo de trasferencias traumáticas, deliberadamente se tocó el fondo uterino dos veces y posteriormente se observó el comportamiento de las burbujas ecolúcidas. Se corroboró una vez más, que la contractilidad uterina ocasionaba mayor expulsión del contenido endometrial hacia el cérvix, en aquellas pacientes con TE traumáticas [28].

En 1998 y 1999, el francés Renato Fanchin, quizá uno de los investigadores que más ha estudiado la dinámica uterina en Reproducción, publica un artículo en el cual 220 ciclos de FIV+TE fueron estudiados con ultrasonido 5 min previo a la TE, se observaron distintos patrones de contractilidad [Fig. 4,5] que correlacionaban con niveles hormonales de Estradiol y Progesterona, se concluyó que a mayor contractilidad uterina, menor fue la

tasa de implantación y embarazo [Fig. 6], resaltando la necesidad de un adecuado soporte lúteo con Progesterona para disminuir la contractilidad uterina [14, 15] y también mejorar el estado secretor del endometrio en fase lútea [16].

Nuevamente el grupo inglés de P. Lesny, en 1999 publica un video en el cual pueden observarse a gran detalle las contracciones uterinas principalmente en el segmento uterino [30]. En otro artículo, Lesny publica ése mismo año, que el uso de un tenáculo o pinza de Pozzi para corregir la posición uterina al momento de la TE, desencadena también un mayor número de contracciones, presentándose éstas en fondo, cuerpo y segmento uterinos [29].

Hacia finales de 1999, el grupo australiano de G.T. Kovacs, se dio a la tarea de realizar una encuesta de opinión entre los clínicos que trataban infertilidad, para consensar que factores eran los más importantes en la TE [Fig. 8]. Llama la atención que la mayoría de los clínicos dan gran importancia a la presencia de sangre en el catéter, además de resaltar el uso de catéteres blandos, y evitar en todo momento tocar el fondo uterino o usar tenáculos de sujeción. Todas éstas medidas van encaminadas a evitar la generación de prostaglandinas y con ello, de contracciones uterinas que tendrían un efecto adverso en los resultados. Sin embargo, el factor que menos consideraron importante es el uso de anti prostaglandinas para prevenir dichas contracciones [26].

En 2001, tras una extensa revisión de la literatura, W.B. Schoolcraft, publica un artículo de revisión sobre las técnicas y variables que afectan la TE [45]. No sólo se mencionan las variables que ya se han mencionado anteriormente y su efecto positivo o negativo en el éxito de la TE, sino que por primera vez se “da peso” a cada variable mediante una escala de 3 grados [Fig. 9].

En el año 2002 R. Fanchin vuelve a mencionar la importancia de la dinámica uterina, en su artículo: Nuevas perspectivas en contractilidad uterina y reproducción, nos menciona que la actividad uterina aumentada en fase periovulatoria quizá vaya de la mano con el transporte espermático hacia el óvulo, y que el cese las contracciones por efecto progesteronal en la fase lútea, es una respuesta a requerimientos propios del embrión para su implantación [17].

El grupo egipcio de Mansour y Aboulghar en un artículo de opinión en el 2002, mencionan por primera vez que pese a los múltiples factores involucrados, tres son los pilares del éxito reproductivo: Calidad Embrionaria, Receptividad Uterina y Transferencia Eficaz [33], y continúan señalando “el primer y más importante paso es: evitar a toda costa estimular la contractilidad uterina”.

También en el 2002, Cándido Tomás publica un estudio retrospectivo multicéntrico con colaboración finlandesa y portuguesa, en el cual califican como fácil, intermedia y difícil, a 4,807 TE basados en distintas características y correlacionándolas con tasa de embarazo. Ellos concluyen que la dificultad en la TE es un factor independiente para predecir embarazo [48].

Hacia 2004, la Sociedad de Fertilidad del Medio Oriente liderada por R. Mansour y H.N. Sallam, inician un debate sobre los pasos que durante la TE influyen mayormente en los resultados, concluyendo en 5 puntos fundamentales: 1) Evaluación cuidadosa del útero, 2) Evitar contracciones uterinas, 3) Remover el moco cervical, 4) Adecuado depósito embrionario y 5) Minimizar expulsión embrionaria [44].

En ese mismo año, el coreano H.S. Moon realiza el único estudio de Piroxicam versus placebo que encontramos en la revisión de la literatura, él concluye que el Piroxicam

incrementa las tasas de implantación y embarazo considerablemente tanto para embriones frescos como para congelados en pacientes menores de 40 años [37] observación que se presentó en casi todos los tipos de infertilidad [Fig. 10]. Sin embargo en dicho año se publicaron una serie de artículos sobre TE que daban mayor importancia a otros factores, como lo eran la calidad embrionaria y calidad de transferencia como predictores de embarazo en FIV, por B.J. Deenihan y cols. [12]. O el uso de medios viscosos para “pegar” los embriones al endometrio, por D.E. Marek y cols. [34]. O bien, la no aspiración del fluido endometrial previo a la TE, por el grupo turco de M. Berkkanoglu y cols. [9]. Todos éstos estudios, aunados al desarrollo de mejores catéteres y de “embriopegamentos” minimizaron la importancia del uso de medicamentos previo a la TE que había propuesto el grupo de Corea.

El año 2005 fue un año de ruptura de paradigmas en la TE; El grupo egipcio de A.M. Abou-Setta, realiza una revisión sistemática y meta-análisis sobre los catéteres usados para TE, concluyendo que tanto el Cook® como el Wallace® presentan las mismas tasas de implantación y embarazo [2]. El grupo israelí de I. Bar-Hava publica que la ambulación temprana no afecta las tasas de embarazo como se pensaba [8]. El grupo canadiense de E. Michael publica que el uso del Citobrush® no afecta las tasas de embarazo durante la limpieza del cérvix, en contraste con la idea de solamente utilizar materiales suaves como el hisopo de algodón [36]. En Estados Unidos, A.B. Neithardt publica la importancia de colocar primero una camisa a través del cérvix y posteriormente a través de ella colocar el catéter con los embriones, en contraste con la colocación del catéter con los embriones desde el inicio como se venía haciendo hasta entonces [39]. El grupo hindú de G.N. Allahbadia publica la importancia de la irrigación

transcervical [5], en contraste con el estudio turco antes mencionado que desacreditaba dicha práctica. También publican sobre la importancia de la “prueba de transferencia” que disminuye las tasas de transferencias difíciles y que muy poco se practicaba hasta ése entonces [6]. Finalmente un grupo en Atlanta, liderado por Z.P. Nagy, recomienda la grabación en video de todas las TE, para realizar análisis retrospectivos de múltiples factores que pudieran estar implicados en la dificultad de la transferencia [38].

Para 2006, los avances en ultrasonografía eran evidentes en todo el mundo, por lo cual surgieron una serie de artículos que señalaban la importancia del uso de éste recurso de imagenología durante la transferencia, tal es el caso del artículo de M. Feinman en Estados Unidos [19] y el de C. Rubina en Reino Unido [43]. En Nueva York R.J. Kiltz no reporta diferencias significativas entre el uso de transductores abdominales o vaginales para la TE [25]. Y tampoco reporta W.H. Kutteh en Tennessee, ventajas entre el uso de catéteres con puntas ecolúcidas y catéteres normales [27]. Por su parte, A. Yoshida en Japón [51] y F.I. Sharara en Nueva York [46], publican que el tiempo de transferencia es irrelevante, y que la facilidad de la misma es lo que importa. En éste año también continúa la batalla por el mejor catéter, ésta vez en resultados de Inyección Intracitoplásmica de Espermatozoide (ICSI) en un grupo turco encabezado por Y. Karaman, con resultados comparables entre los catéteres suaves Cook® y Wallace® [23]. Dos estudios vuelven a cuestionar la utilidad de pasos ya establecidos en la TE, con resultados controversiales: el grupo hawaiano de J.L. Frattarelli publica que la “prueba de transferencia” es un indicador impreciso de la profundidad endometrial [20]; Y el grupo egipcio de A. Abdel-Fattah y H.N. Sallam vuelve a cuestionar la importancia del lavado vigoroso del cérvix, al no presentar diferencias significativas en un estudio de casos y

controles de ICSI [1]. Finalmente un grupo israelí encabezado por A. Ravhon, desacredita el uso de “embrio-pegamentos” (Embrioglue®) al no demostrar diferencias significativas en tasas de embarazo [42], resultados que también publicaría al año siguiente el grupo estadounidense de S. Chao, ésta vez con embriones congelados [10]. Otro grupo israelí encabezado por E. Levitas, publica sobre el uso de la hipnosis durante la TE, con resultados muy favorables en cuanto a tasas de embarazo [Fig. 11], dejando ésta herramienta para mayor investigación en el futuro [31]. Finalmente a finales de 2006 la revista iraní de medicina reproductiva publica una nueva revisión sobre factores que afectan la TE, sus autores Aflatoonian y Asgharnia comentan 6 pasos fundamentales para el éxito: 1) Prueba de transferencia, 2) Lavado cervical, 3) Guía ultrasonográfica, 4) Depósito embrionario a 2 cm del fondo uterino, 5) Revisión del catéter post-TE y nuevamente figurando entre las opiniones de los expertos: 6) Evitar la contractilidad uterina [4].

El año de 2007 presenta de nuevo gran flexibilidad en cuanto a la TE; Un grupo estadounidense encabezado por H.J. Abu-Halimeh, publica sobre la inocuidad de la prueba de transferencia en el día de la aspiración folicular [3], asimismo un grupo turco encabezado por H.N. Ciray, publica sobre la inocuidad de las TE prolongadas [11], y también el grupo de San Francisco de K.J. Purcell, publica sobre la inocuidad de la ambulancia inmediata [41]. Finalmente G.N. Frishman y sus colaboradores norteamericanos, publican un estudio de casos versus placebo, utilizando la escala visual-análoga del dolor, y empleando el anestésico Fenazopiridina para aliviar las molestias durante la TE [21], sin embargo, dicho medicamento no tiene efectos sobre la dinámica uterina.

En el 2008 se acuña un nuevo término: Depósito Endometrial Embrionario Directo (DEED), realizado por histeroscopia. El grupo estadounidense de M.M. Kamrava reporta 9 embarazos en 12 pacientes utilizando esta técnica, habrá que esperar series mayores para considerarla útil para todos los casos de RA [22].

Para 2009 ya se ha publicado el primer nacido vivo por técnica de DEED histeroscópica, por el grupo de Z. Kilani en Jordania [24]. Surgen nuevas competencias para tasas de embarazo entre el catéter de Wallace® y el SureView® con punta ecolúcida, el grupo hindú de G.N. Allahbadia no pudo demostrar diferencias significativas entre ambos [7]. Por último A. Torre y R. Fanchin del grupo francés vuelven a retomar el tema de la contractilidad uterina en el presente año y publican que durante la “prueba de transferencia” no se ve afectada la dinámica uterina [49] y que aún hay muchos medicamentos que deben probarse para mejorar las tasas de embarazo e implantación al disminuir la contractilidad uterina, entre ellos inhibidores de la ciclo-oxigenasa, agonistas beta 2 adrenérgicos, bloqueadores del canal del calcio, inhibidores de la fosfodiesterasa y antagonistas de la oxitocina [18], nosotros decidimos investigar sobre el primer grupo, los inhibidores de la ciclo-oxigenasa. Un grupo italiano en Boloña, encabezado por Luca Dal Prato, publicó hace un par de meses un abstract en una revista inglesa, sobre un trabajo similar al nuestro, aún no publican el artículo completo con sus resultados y conclusiones, por lo cual decidimos no lo incluirlo en nuestra revisión ni en nuestra bibliografía.

Objetivos

Conocer la correlación entre:

- ❖ Premedicación con Piroxicam y
 - Tasa de implantación
 - Tasa de embarazo
- ❖ Premedicación con Placebo y
 - Tasa de implantación
 - Tasa de embarazo

Hipótesis

1. La premedicación con Piroxicam mejora las tasas de embarazo, cuando se compara contra placebo durante la transferencia embrionaria.
2. La premedicación con Piroxicam mejora las tasas de implantación, cuando se compara contra placebo durante la transferencia embrionaria.

Justificación

El impacto en las tasas de implantación y embarazo, en pacientes sometidas a procedimientos de Reproducción Asistida, justifican nuestra investigación; No en busca de una fórmula mágica para retener los embriones transferidos y promover su implantación, ni tampoco intentando minimizar otras medidas que promueven el éxito en éste importante paso, sino en busca de modificar el entorno intrauterino adverso y cambiar el desenlace de muchos ciclos que de otro modo estarían destinados al fracaso.

Limitación y delimitación del estudio

En nuestro instituto, sede de ésta investigación, la población presenta diferencias significativas en: nacionalidades, etnias, culturales, nutricionales, económicas y religiosas. No se realizaron subgrupos poblacionales en éste estudio.

El estudio se realizó en un solo centro de Reproducción Asistida, la metodología del estudio imposibilitó su carácter multicéntrico, lo cual nos daría un mayor tamaño muestral y una mejor panorámica de los alcances terapéuticos.

El estudio fue realizado en un instituto, dentro de un hospital privado de Guadalajara que atiende población del estrato socioeconómico medio y medio-alto de la ciudad, así como referencias del área metropolitana, estados vecinos y algunos extranjeros. Por lo cual nuestro universo de pacientes fue muy variado.

La evaluación clínica, la estimulación ovárica, la punción folicular y la transferencia embrionaria estuvieron a cargo de 4 médicos tratantes, todos ellos biólogos de la reproducción, y ocurrieron de Enero a Julio del 2009, ingresando a todas las pacientes que llenaran los criterios de inclusión y aceptaran ingresar al protocolo bajo consentimiento informado.

Los procedimientos de Reproducción Asistida, fueron de mediana o alta complejidad según las necesidades individuales de cada caso, no se hicieron subgrupos de acuerdo a la causa subyacente de infertilidad ni de acuerdo al grado de complejidad del tratamiento.

Por diversas cuestiones logísticas, el presente protocolo no logró alcanzar el tamaño muestral que demandaba el estudio de acuerdo a las características del mismo. Estudios con poblaciones mayores serán de gran utilidad para valorar la utilidad clínica del tratamiento.

Metodología

Diseño

Estudio prospectivo, randomizado, aleatorizado, doble ciego, casos y controles, comparativo (sustancia activa contra placebo).

Criterios de inclusión

Pacientes del Instituto de Ciencias en Reproducción Humana “VIDA” de Guadalajara, que fueran menores de 35 años y/o receptoras de ovodonación, que fueran observables hasta el primer trimestre de embarazo, a quienes se les transfirieran de 2 a 3 embriones de buena calidad, que tuvieran integridad uterina, endometrios trilaminares de 9 a 12 mm el día de su transferencia embrionaria, cuyas transferencias embrionarias fueran óptimas y que fueran consentidoras de tomar un medicamento (ya fuere activo o placebo) de manera ciega y que permitieran la utilización anónima de los datos de su expediente clínico, previa aprobación de su médico tratante.

Criterios de exclusión

Pacientes mayores de 35 años que no fueran receptoras de ovodonación, con enfermedades concomitantes como síndrome de ovarios poliquísticos, con mala calidad embrionaria el día de su TE, con endometrios delgados o irregulares, con algún tipo de comorbilidad uterina o bien que no cumplieran con los criterios de inclusión antes mencionados.

Criterios de eliminación

Pacientes cuyas transferencias embrionarias hayan sido subóptimas, pacientes con mala calidad embrionaria, pacientes con mala calidad endometrial el día de la transferencia embrionaria, quienes presentaran sangrado transvaginal en cualquier momento previo a su transferencia embrionaria. Registros incompletos o ilegibles, consentimientos no firmados.

Tamaño de muestra

Para demostrar diferencia de proporciones, bajo α 0.05 y β 0.20 se requieren 31 pacientes por rama para un estudio de dos colas.

Recursos Estadísticos

Estadística descriptiva previa comprobación de distribución normal (Kolmogorov-Smirnov)

Excel Microsoft Office 2007 para Windows Vista, se usaron recursos de estadística descriptiva e inferencial (Chi cuadrada, T de Student).

SPSS para Windows, v10.

Análisis de resultados

Resultados de la metodología

Previa autorización por el comité de bioética del instituto y previo consentimiento informado [Anexo A] por la paciente, teniendo a su médico tratante como testigo por escrito en la forma de consentimiento; Bajo cumplimiento estricto de los criterios de inclusión, en ciclos de Reproducción Asistida de mediana y alta complejidad; Se capturaron datos de estadística descriptiva en hoja de cálculo [Anexo B] y se administraron 22 dosis por vía oral una a dos horas previas a su TE. Se dividieron las pacientes en 2 grupos para su estudio, el Grupo A, a quienes se le administraron 20 mg de Piroxicam y el grupo B, a quienes se les administraron placebos. Ambos tipos de cápsulas tenían el mismo tamaño, forma y color. Los casos fueron randomizados y aleatorizados debidamente y la dosis fue entregada a la paciente por su médico tratante (ajeno al investigador), que al igual que su paciente, no sabía el contenido de la sustancia que estaba recibiendo.

Se observaron los desenlaces de las pacientes mediante cuantificaciones de HCG 14 días después de la TE y ultrasonido transvaginal 21 días después de la TE. Aquellas pacientes que resultaron embarazadas, se les vigiló secuencialmente hasta 12 semanas posterior a la TE, realizando ultrasonidos en cada visita. A todas las pacientes se les administró 50 mg de progesterona intramuscular y de 4 a 6 mg de etinilestradiol por vía oral, diariamente para su soporte lúteo.

Entre los datos generales de las pacientes, no hubo diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las edades de los dos grupos, ni diferencias significativas ($p < 0.05$) en cuanto a peso, talla e índice de masa corporal entre ambos grupos.

Se calcularon las tasas de embarazo e implantación, de acuerdo a estándares en Reproducción Asistida: Tasa de Embarazo = Número de embarazos cuyo embrión presentaba frecuencia cardíaca visible por ultrasonido, divididos entre el número de transferencias embrionarias realizadas; Tasa de Implantación = Número de sacos gestacionales visibles por ultrasonido, divididos entre el número de embriones viables transferidos. La tasa de embarazo del grupo A fue 9.1% y su tasa de implantación fue 15.6%, la tasa de embarazo del grupo B fue de 18.2% y la tasa de implantación, de 9.7%.

Análisis

Se calcularon las tasas antes mencionadas en todo el universo de pacientes [Tabla I], así como para cada grupo por separado [Tabla II, III]. Las tasas de implantación y embarazo para el universo general de pacientes, para el grupo de administración de Piroxicam y para el grupo placebo, estuvieron por debajo a la media esperada. Para calcular diferencia entre proporciones, se utilizó *t de student* y *chi cuadrada* [Tabla IV, V, VI], comparando ambos grupos de estudio. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los 2 grupos para tasas de implantación o embarazo.

Conclusiones

Discusión

El tamaño muestral estuvo muy por debajo de lo necesario para demostrar diferencia entre proporciones, por lo cual se sugieren estudios multicéntricos en poblaciones mayores, para demostrar dicha diferencia.

Las tasas de embarazo e implantación estuvieron por debajo de la media esperada, lo cual sugiere que el universo de pacientes pertenece a una población de alto riesgo, se recomienda categorizar y subagrupar el universo de pacientes de acuerdo al tipo de infertilidad y descartar otros factores involucrados en fallas de implantación y embarazo.

Comentarios

De acuerdo a la literatura publicada hasta el momento y los resultados de nuestro estudio, aún no queda claro el papel de la premedicación con AINEs en la TE.

Aunque observamos tendencias hacia una mayor tasa de implantación, se requieren estudios con poblaciones mayores debidamente categorizadas, para comprobar sus beneficios hipotéticos.

La premedicación con Piroxicam queda a decisión del clínico hasta éste momento.

Tabla I Universo de Pacientes

General	
Num. Transferencias	22
Num. Embriones Transferidos	63
Num. Sacos Gestacionales	8
Num. Emb. Clínicos	3
Tasa de Embarazo	13.6%
Tasa de Implantación	12.7%

Tabla II Grupo A (Piroxicam)

Grupo A (Piroxicam)	
Num. Transferencias	11
Num. Embriones Transferidos	32
Num. Sacos Gestacionales	5
Num. Emb. Clínicos	1
Tasa de Embarazo	9.1%
Tasa de Implantación	15.6%

Tabla III Grupo B (Placebo)

Grupo B (Placebo)	
Num. Transferencias	11
Num. Embriones Transferidos	31
Num. Sacos Gestacionales	3
Num. Emb. Clínicos	2
Tasa de Embarazo	18.2%
Tasa de Implantación	9.7%

Tabla IV Cuadro de Contingencia (Embarazo)

Tabla de Observación			
	Piroxicam	Placebo	
Emb	9.1	18.2	27.3
No Emb	90.9	81.8	172.7
	100	100	200

Tabla de Valores Esperados			
	Piroxicam	Placebo	
Emb	13.65	13.65	27.3
No Emb	86.35	86.35	172.7
	100	100	200

Chi 2	0.06089517
-------	------------

Tabla V Cuadro de Contingencia (Implantación)

Tabla de Observación			
	Piroxicam	Placebo	
Implant.	15.6	9.7	25.3
No Implant.	84.4	90.3	174.7
	100	100	200

Tabla de Valores Esperados			
	Piroxicam	Placebo	
Implant.	12.65	12.65	25.3
No Implant.	87.35	87.35	174.7
	100	100	200

Chi 2	0.20946150
-------	------------

Tabla VI Resultados de T de Student

Tasa Emb T Student
0.557346118
Tasa Impl T Student
0.706152596

Fig. 1 Fórmula Química del Piroxicam

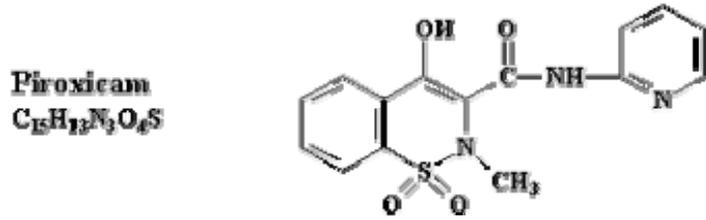


Fig. 2 Síntesis de Prostaglandinas

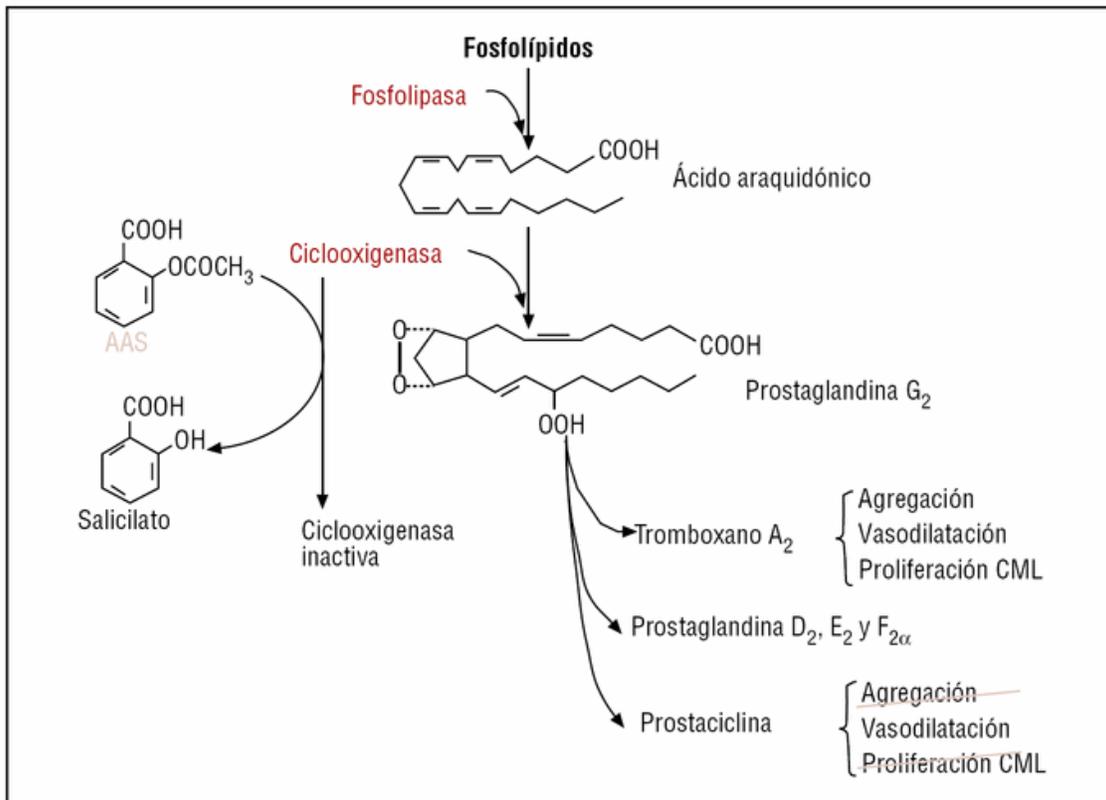


Fig. 3 Contractilidad Mediada por Prostaglandinas

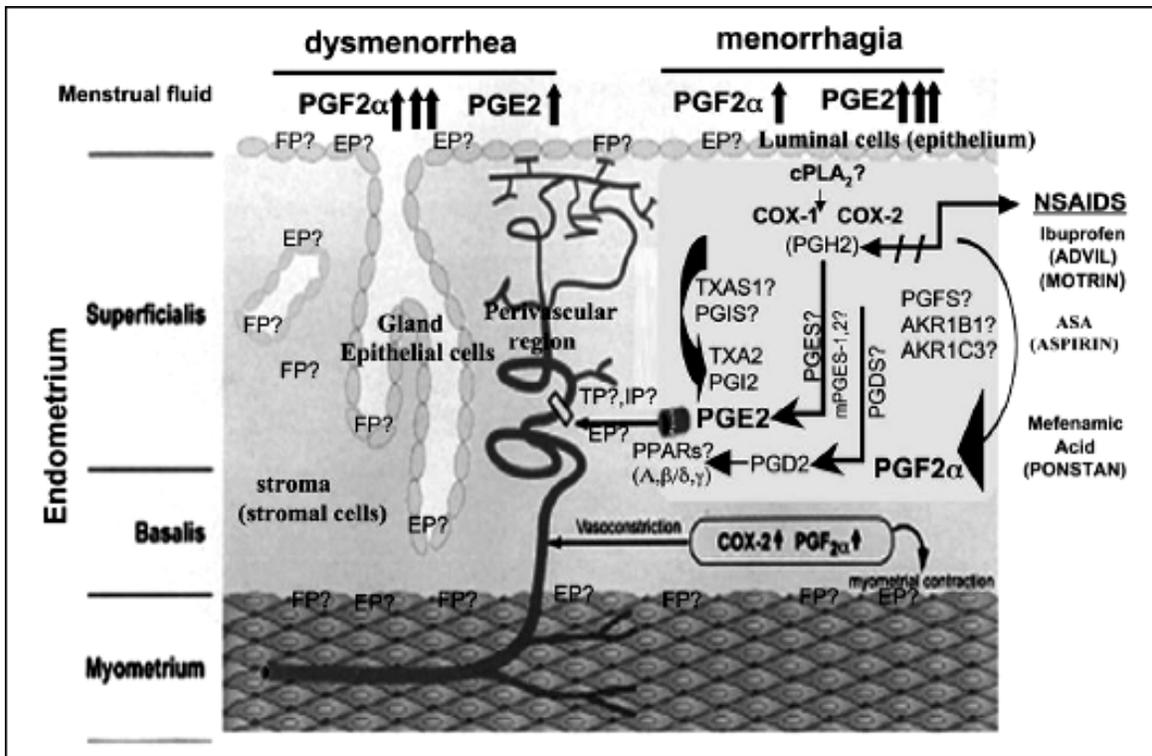


Fig. 4 Contracciones Uterinas (UC)

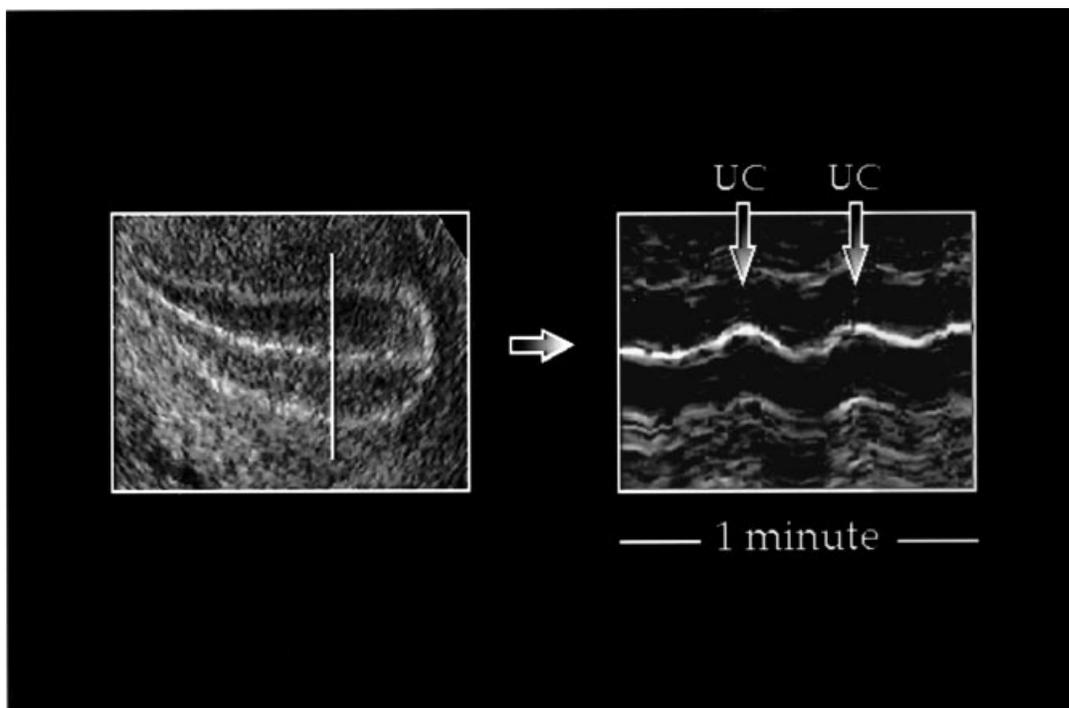


Fig. 5 Patrones Contráctiles

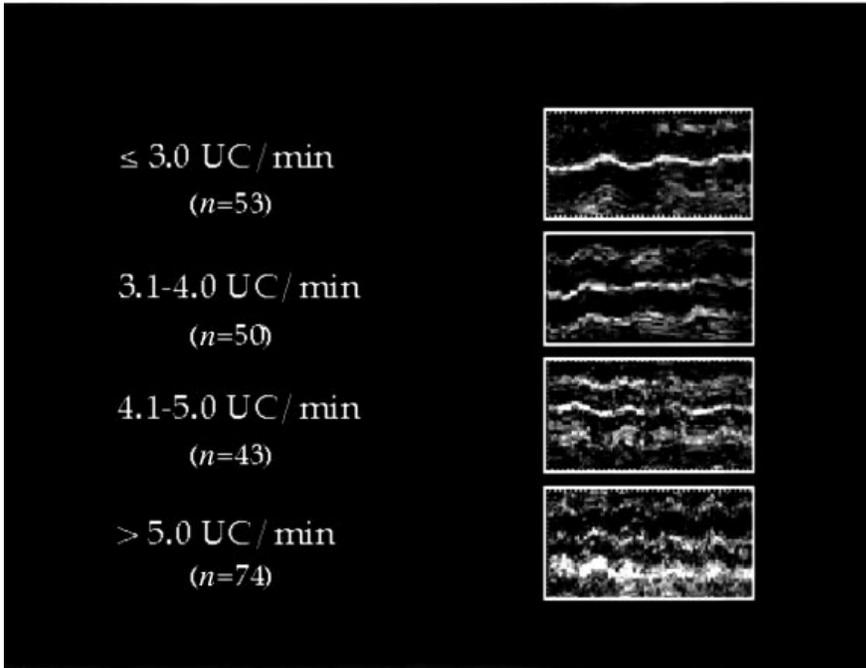


Fig. 6 Porcentaje de Embarazos de Acuerdo al Patrón Contráctil Uterino

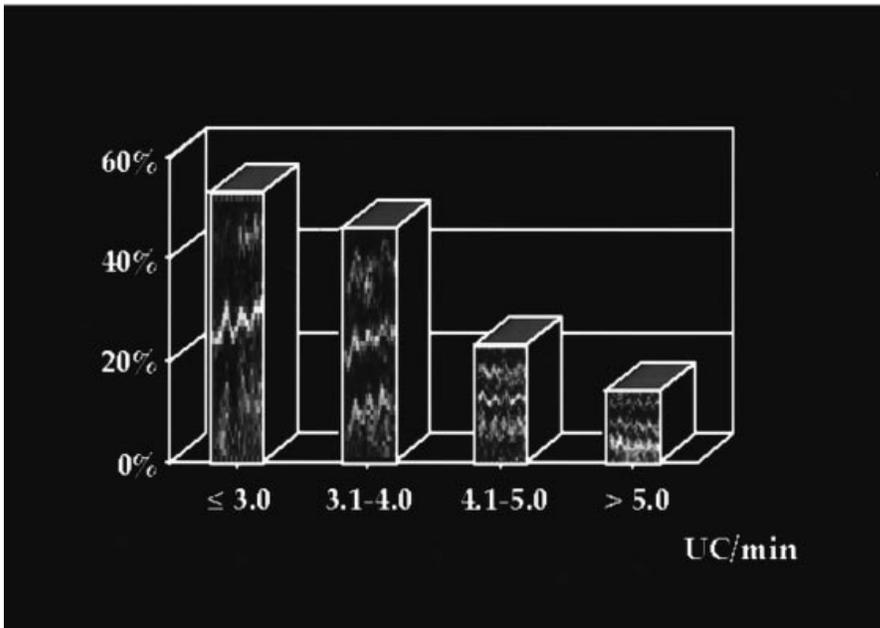


Fig.7 Catéter de Transferencia Tocando el Fondo Uterino



Fig. 8 Encuesta de Opinión: Factores Más Importantes en la TE

Table I. The relative importance of each factor as rated by the total, mean score and SD. The maximum possible score for each variable was 500

Priority		Mean score	SD	Total score
1	Removal of hydrosalpinges before treatment	6.8	2.8	340
2	Absence of bleeding/blood on catheter	6.6	2.5	330
3	Type of catheter used	6.1	2.7	255 ^a
4	Not touching the fundus	5.8	3.2	292
5	Avoiding the use of a tenaculum	5.7	2.9	283
6	Removal of all mucus from cervix	5.2	3.2	258
7	Ultrasound details of cavity before treatment	4.3	2.8	216
8	Leaving catheter in place for at least 1 min	4.2	3.1	211
9	30 min rest after transfer	3.8	2.8	192
10	Dummy transfer before treatment	3.1	3.1	157
11	Ultrasonic monitoring of transfer	2.6	2.2	125
12	Antiprostaglandins to prevent contractions	1.9	1.5	93

^aOnly 42 clinicians responded to this question.

Fig. 9 Variables que Afectan al Éxito de una TE

TABLE 3	
Variables affecting the success of embryo transfer.	
Effect	Degree of impact
Positive	
Cervical lavage	+
Catheter type (soft)	+
Loading catheter by limiting volume and air	++
Presence of a trial transfer	+++
Precycle cervical dilatation (if necessary)	++
Ultrasonographic guidance	++
Late luteal transfer (day 5)	+
Negative	
Blood on catheter	+++
Mucus on catheter tip	+
Retained embryos	+
Bacterial contamination of catheter	+++
Excessive uterine contractions	++
Subjective assessment of difficulty of transfer	+

Schoolcraft. Embryo transfer. Fertil Steril 2001.

Fig. 10 Tasas de Embarazo de Acuerdo a la Causa de Infertilidad

TABLE 3		
Comparison of pregnancy rates according to the infertility causes.		
Infertility causes	Control	Piroxicam treatment
Male	4/17 (23.5%)	7/16 (43.8%) ^a
Tubal	15/57 (26.3%)	24/50 (48.0%) ^a
Endometriosis	2/7 (28.5%)	5/10 (50.0%) ^a
Unexplained	5/13 (38.5%)	8/18 (44.4%)

^a $P < .05$ (vs. control group).

Moon. Piroxicam increases pregnancy rate of IVF. Fertil Steril 2004.

Fig. 11 Hipnosis durante la TE

TABLE 3		
IVF/ET cycle outcome for hypnosis versus regular ET cases.		
Characteristics	Hypnosis ET	Regular ET
No. of clinical pregnancies	52	29
Clinical PR/patient (%)	58.4 (52/89) ^a	30.2 (29/96)
Clinical PR/cycle (%)	53.1 (52/98) ^a	30.2 (29/96)
Implantation rate (%)	28 (73/261) ^b	14.4 (39/271)
Multiple PR (%)	36.5	31

^a $P < .05$ vs. the regular ET cycles.
^b $P < .001$ vs. the regular ET cycles.

Levitas. Hypnosis and IVF outcome. Fertil Steril 2006.

Anexo A: Consentimiento Informado

Protocolo de Transferencia Embrionaria

Instituto de Ciencias en Reproducción Humana Vida

Dr Ernesto Pérez Luna Cel. 331 5265136

Dr Efraín Pérez Peña Cel. 3336774789

Dr. Francisco Rojas Romero Cel. 333 1571732

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Estimada Señora:

Por medio de este escrito dando cumplimiento a la Norma Oficial Mexicana NOM-168 SSA1-1998 en su punto 10.1.1, se le pide a Ud. Consentimiento (autorización) para incluirla como paciente en una investigación médica cuyo nombre esta en el encabezado. El investigador a cargo es el Dr. Ernesto Pérez Luna.

Si acepta participar en el protocolo se espera de usted lo siguiente:

1. Se tomarán datos con respecto a su edad, peso y talla.
2. Se asignara al azar a un grupo de tratamiento (Grupo A: Relajante, Grupo B: Placebo).
3. Los medicamentos a utilizar son el Piroxicam el cual se utiliza de manera rutinaria para molestias relacionadas con el embarazo, a las mismas dosis utilizadas en este estudio, sirve para disminuir el dolor relacionado con secreción de prostaglandinas y mantener relajado el útero, evitando así la expulsión prematura de los embriones.
4. Se ingresarán los datos de su transferencia así como el logro o no del embarazo, con fines de establecer el tipo de pacientes que se ven beneficiadas con cada tratamiento.

Nada de lo anterior le causa un costo o cargo extra a su cuenta del tratamiento.

No tendrá ningún riesgo para usted, su embarazo o su bebe, ya que estos medicamentos se utilizan ampliamente en pacientes de reproducción asistida en todo el mundo.

El Piroxicam puede tener como efectos secundarios diarrea, náuseas, flatulencia, mareo, dolor de cabeza e insomnio, a dosis muy altas ictericia y vértigo. Los efectos colaterales son muy raros y generalmente son bien tolerados. Durante todo el efecto del medicamento estará bajo supervisión médica y si presentara Ud. alguno de estos efectos colaterales recibirá la atención médica necesaria.

Aun habiendo dado su consentimiento, es usted libre de retirarse de la investigación en cualquier momento, no hay ninguna otra implicación, ni presión sobre Ud. del mismo modo esta investigación guardara anonimato absoluto de sus datos personales, No se prevé que Ud. corra ningún riesgo ya que las dos formas de tratamiento (con y sin medicamento) son aceptadas y consideradas seguras por la ciencia médica. Se espera lograr con su participación mayor claridad sobre cual de los dos abordajes es el más eficaz.

Zapopan Jal. Fecha _____

Paciente (nombre y firma) _____

Testigo (nombre y firma) _____

Testigo (nombre y firma) _____

Investigador _____

Anexo B: Hoja de Captura

Protocolo Transferencia Embrionaria			
Sede	Gdl	Ejemplo	
Datos Preliminares			
Nombre	María Marcela Mata Mora		
Edad	28	años	
Peso	65	kg	
Estatura	1.65	mts	
IMC	23.88		
Transferencia			
Frescos (S/N)	Si		
Congelados (S/N)	No		
No. Embriones Transferidos	3		
Día de transferencia post FIV o ICSI	3		
Adyuvante			
Facicam (S/N)	Si		
Placebo (S/N)	No		
Embarazo			
Prueba Positiva (S/N)	Si		
Simple (S/N)	Si		
Gemelar (S/N)	No		
Múltiple (S/N)	No		
Criterios de Inclusión			
1 < 35 años ó receptoras de ovodon			
2 2 a 3 embriones de buena calidad			
3 Integridad uterina			
4 Endometrio trilaminar de 9 a 12 mm			
5 Transferencia óptima			
Criterios de Exclusión			
1 > 35 años sin ovodon			
2 SOP			
3 Mala calidad embrionaria			
4 Endometrio delgado o irregular			
5 Comorbilidad uterina			
Criterios de Eliminación			
1 Sangrado trans-transferencia			
2 Transferencia difícil			
Folio		24	
Ejemplo			

Referencias

a) Artículos de revista

1. Abdel-Fattah, A. et al. (2006). Vigorous Flushing of the Cervical Canal Prior to Embryo Transfer: A Prospective Randomized Study. Fertil Steril (85), 13.
2. Abou-Setta, A.M. et al. (2005). Soft Embryo Transfer Catheters for Assisted Reproduction: A Systematic Review & Meta-Analysis. Fertil Steril (84), S354.
3. Abu-Halimeh, H.J. et al (2007). Mock Embryo Transfer Performed at the Time of Oocyte Retrieval Does Not Impair Pregnancy Rate. Fertil Steril (88), S156-S157.
4. Aflatoonian, A. et al. (2006). Factors Affecting the Successful Embryo Transfer. Iran Journ Reprod Med (4), 45-50.
5. Allahbadia, G.N. et al. (2005). Pre-transfer Cervical Canal Irrigation: An Approach to Improved Pregnancy Outcomes in Recipient Cycles. Fertil Steril (84), S366.
6. Allahbadia, G.N. et al.. (2005). Pregnancy Outcomes in IVF Cycles With Trial Embryo Transfer Done 1 Month Prior to the Cycle Versus Those Done on the Day of ET. Fertil Steril (84), S362.

7. Allahbadia, G.N. et al. (2009). Embryo Transfer Using the SureView Catheter-Beacon in the Womb. Fertil Steril (In Press).
8. Bar-Hava, I. et al. (2005). Immediate Ambulation After Embryo Transfer: A Prospective Study. Fertil Steril (83), 594-597.
9. Berkkanoglu, M. et al. (2004). Flushing the endometrium prior to the embryo transfer does not improve the pregnancy rate: A prospective randomized study. Fertil Steril (82), S200-S201.
10. Chao, S. et al. (2008). The Effect of Embryo Glue on Clinical Pregnancy Rate in Frozen Embryo Transfers. Fertil Steril (90), S434.
11. Ciray, H.N. et al. (2007). Prolonged Duration of Transfer Does Not Affect Outcome in Cycles With Good Embryo Quality. Fertil Steril (87), N°5, 1218-1221.
12. Deenihan, B.J. et al. (2004). The Utility of Embryo Quality and Transfer Quality Scores as Predictors of IVF Outcomes. Fertil Steril (82), S222.
13. Edwards, R.G. et al. (1995). Clinical Approaches to Increasing Uterine Receptivity During Human Implantation. Hum Reprod (10), N°2, 60-66.
14. Fanchin, R. et al. (1998). Uterine Contractions at the Time of Embryo Transfer: A Hindrance to Implantation? Contracept Fertil Sex (26), N°7-8, 498-505.

15. Fanchin, R. et al. (1998). Uterine Contractions at the Time of Embryo Transfer Alter Pregnancy Rates After IVF. Hum Reprod (13), N° 7, 1968-1974.
16. Fanchin, R. et al. (1999). Computerized Assessment of Endometrial Echogenicity: Clues to the Endometrial Effects of Premature Progesterone Elevation. Fertil Steril (71), 174-181.
17. Fanchin, R. et al. (2002). Uterine Contractility and Reproduction: New Perspectives. J Gynecol Obstet Biol Reprod (31), N°4, 325-332.
18. Fanchin, R. et al. (2009). Uterine dynamics: impact on the human reproduction process. Reprod Biomed Online (18), N°2, S57-S62.
19. Feinman, M. et al. (2006). Comparison of Ultrasound Guided and Traditional Blind Embryo Transfer on Pregnancy Rates Outcome. Fertil Steril (85), S23
20. Frattarelli, J.L. et al. (2006). The Pre-cycle Blind Mock Transfer is an Inaccurate Predictor of Anticipated Embryo Transfer Depth. Fertil Steril (86), N°3, S184.
21. Frishman, G.N. et al. (2007). Use of Phenazopyridine for Reducing Discomfort During Embryo Transfer. Fertil Steril (87), N°5, 1010-1014.
22. Kamrava, M.M. et al. (2008). Hysteroscopic Direct Endometrial Embryo Delivery (DEED). Fertil Steril (90), S434.

23. Karaman, Y. et al. (2006). Cook ® and Wallace ® Soft Embryo Transfer Catheters Yield Comparable Pregnancy Outcomes Following ICSI and Embryo Transfer. Fertil Steril (86), S240.
24. Kilani, Z. et al. (2009). Live Birth After Hysteroscopic-Guided Embryo Transfer: A Case Report. Fertil Steril (91), N°6, 2733.e1-2733.e2.
25. Kiltz, R.J. et al. (2006). Vaginal Versus Abdominal Ultrasound Guidance for Embryo Transfer. Fertil Steril (86), N°3, S245-S246.
26. Kovacs, G.T. et al. (1999). What Factors are Important for Successful Embryo Transfer After IVF? Hum Reprod (14), N°3, 590-592.
27. Kutteh, W.H. et al. (2006). A Prospective, Randomized, Single-Center Study Comparing the Use of an Echogenic Embryo Transfer Catheter to a Standard Embryo Transfer Catheter in an IVF Program. Fertil Steril (86), N°3, S255-S256.
28. Lesny, P. et al. (1998). Embryo Transfer: Can We Learn Anything New From the Observation of Junctional Zone Contractions? Hum Reprod (13), N°6, 1540-1546.
29. Lesny, P. et al. (1999). Junctional Zone Contractions and Embryo Transfer: Is It Safe to Use a Tenaculum? Hum Reprod (14), N°9, 2367-2370.
30. Lesny, P. et al. (1999). Embryo Transfer and Uterine Junctional Zone Contractions. Hum Reprod Update (5), N°1, 87-88.

31. Levitas, E. et al. (2006). Impact of Hypnosis During Embryo Transfer on the Outcome of IVF-Embryo Transfer: A Case-Control Study. Fertil Steril (85), N°5, 1404-1408.
32. Lyons, E.A. et al. (1991). Characterization of Subendometrial Myometrial Contractions Throughout the Menstrual Cycle in Normal Fertile Women. Fertil Steril (55), N°4, 771-774.
33. Mansour, R.T. et al. (2002). Optimizing the Embryo Transfer Technique. Hum Reprod (17), N°5, 1149-1153.
34. Marek, D.E. et al. (2004). Comparison of Embryo Transfers Performed with G2.3 and Embryo Glue. Fertil Steril (82), N°2, S26.
35. Meldrum, D.R. et al. (1987). Evolution of a Highly Successful IVF-Embryo Transfer Program. Fertil Steril (48), 86-93.
36. Michael, E. et al. (2005). The Use of Cytobrush in Cervical Canal Preparation for Embryo Transfer Procedures. Fertil Steril (84), S357.
37. Moon, H.S. et al. (2004). Treatment with piroxicam before embryo transfer increases the pregnancy rate after in vitro fertilization and embryo transfer. Fertil Steril (82), N°4, 816-820.
38. Nagy, Z.P. et al. (2005). Multiple Parameter Evaluation Using Digital Video Records of 67 Ultrasound Guided Embryo Transfers. Fertil Steril (84), N°1, S352.

39. Neithardt, A.B. et al. (2005). Embryo Afterloading: A Refinement in Embryo Transfer Technique That May Increase Clinical Pregnancy. Fertil Steril (83), N°3, 710-714.
40. Perez-Peña, E. (2007). Avances en Reproducción Asistida; en Atención Integral de la Infertilidad (Segunda Edición) México, D.F.: Ed. McGraw-Hill. 775-790.
41. Purcell, K.J. et al. (2007). Bed Rest After Embryo Transfer: A Randomized Controlled Trial. Fertil Steril (87), N°6, 1322-1326.
42. Ravhon, A. et al. (2006). Does Embryo Transfer in Hyaluronan Enriched Transfer Medium (Embryoglu®) Improve Pregnancy Rate in IVF? Fertil Steril (86), N°2, S230
43. Rubina, C. et al. (2006). Implantation, Clinical Pregnancy and Miscarriage Rates One-Year After the Introduction of Ultrasound-Guided Embryo Transfer: A Comparative Stratified Analysis. Fertil Steril (86), N°3, S247.
44. Sallam, H.N. et al. (2004). Embryo Transfer Techniques: What Affects the Results? Mid East Fertil Soc Jour (9), N°3, 202-204.
45. Schoolcraft, W.B. et al. (2001). Embryo Transfer: Techniques and Variables Affecting Success. Fertil Steril (76), N°5, 863-870.
46. Sharara, F.I. et al. (2006). Does the Air Bubble Placement and the Ease of ET Correlate with Pregnancy Rates? Fertil Steril (86), N°2, S258.
47. Steptoe, P.C. et al. (1978). Birth After the Reimplantation of a Human Embryo. Lancet (2), N°8085, 366.

48. Tomás, C. et al. (2002). The Degree of Difficulty of Embryo Transfer is an Independent Factor for Predicting Pregnancy. Hum Reprod (17), N°10, 2632-2635.
49. Torre, A. et al. (2009). Mock Embryo Transfer Does Not Affect Uterine Contractility. Fertil Steril (Artículo aún en Prensa).
50. Woolcott, R. et al. (1997). Potentially Important Variables Identified by Transvaginal Ultrasound-Guided Embryo Transfer. Hum Reprod (12), N°5, 963-966.
51. Yoshida, A. et al. (2006). Analysis of Whether the Time Taken for Embryo Transfer Affects ART Results. Fertil Steril (86), N°3, S249.