



Comparación de los resultados de dos protocolos flexibles de hiperestimulación ovárica controlada con dosis diferentes de inicio (150 vs \geq 225)

RESUMEN

Antecedentes: para la aplicación de los nuevos protocolos de hiperestimulación ovárica controlada, con dosis menores a las clásicas de gonadotropinas y a la tendencia actual de transferir menor número de embriones, no hay hasta hoy acuerdo en la dosis óptima de inicio en un protocolo de este tipo.

Objetivo: comparar los resultados de dos protocolos flexibles de hiperestimulación ovárica controlada con dosis de inicio diferente (150 vs. 225 UI de FSHr/ hMG) más un antagonista de GnRH en ciclos de FIV/ ICSI.

Material y métodos: estudio retrospectivo y descriptivo en el que se analizaron ciclos de FIV/ICSI con variables primarias de: dosis total de FSH, incremento de dosis, ovocitos capturados, embriones disponibles para transferir y criopreservar.

Resultados: se analizaron 231 ciclos y la dosis total de FSH en el grupo II fue significativamente superior al grupo I (2096.0 vs 1447.9). El porcentaje de pacientes en quienes se incrementó la dosis fue superior en el grupo I vs el grupo II (26.4 vs 9.1%, p=0.001). El número de ovocitos capturados fue similar entre los grupos (10.5 vs 10.2, p=0.76) así como el número de embriones disponibles el día de la transferencia y de embriones vitrificados que fueron de: 6.73 vs 6.08 (p=0.97) y de 1.5 vs 1.3 (p=0.820) para el grupo I y II, respectivamente. La tasa de embarazo clínico fue de 39.3% (n=91), y de 41.6 y 37.7% para el grupo I y II, respectivamente.

Conclusiones: en la mayor parte de las variables primarias de estudio no se encontraron diferencias significativas entre las dos dosis de inicio (150 vs \geq 225).

Palabras clave: estimulación ovárica controlada, protocolos de estimulación, FSH recombinante, menotropinas, antagonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas, FIV-TE, ICSI, estudios clínicos aleatorizados, metanálisis.

Comparison of results of two flexible ovarian hiperestimulation protocols with two different initial doses (150 vs \geq 225)

Background: With the use of new protocols Controlled ovarian hyperstimulation (COH) with lower doses of gonadotropins to the classics

Juan Carlos Barros-Delgadillo¹
Cirenia Iveth Ruiz-Balderrama²
Mauricio Ríos-Barba³

¹ Médico adscrito al servicio de Biología de la Reproducción Humana.

² Residente de sexto año de la especialidad Biología de la Reproducción Humana.

³ Biología de la Reproducción Humana.
Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes, México DF.

Recibido: octubre 2014

Aceptado: noviembre 2014

Correspondencia:

Dr. Juan Carlos Barros Delgadillo
Agrarismo 208, torre B, 5^o piso, consultorio 553
11800 México DF
jcbarros@yahoo.com

Este artículo debe citarse como

Barros-Delgadillo JC, Ruiz-Balderrama CI, Ríos-Barba M. Comparación de los resultados de dos protocolos flexibles de hiperestimulación ovárica controlada con dos dosis diferentes de inicio (150 vs \geq 225). Ginecol Obstet Mex 2015;83:1-15.

protocols and current trend of fewer embryos transferred, there is no agreement until today on the optimal dose start of a COH protocol.

Objective: Compare the results of two flexible protocols of HOC with different starting doses (150 vs 225 IU rFSH / hMG) plus a GnRH antagonist in cycles of IVF / ICSI.

Methods: Retrospective, descriptive study, we analyzed 231 cycles of IVF / ICSI being the primary variables: total FSH dose, dose increase, retrieved oocytes, embryos available for transfer and for cryopreservation.

Results: The total dose of FSH in group II was significantly higher versus group I (2096.0 vs 1447.9). The percentage of patients in whom the dose increased was higher in Group I vs Group II (26.4% vs 9.1%, p = 0.001). The number of retrieved oocytes was similar between the groups (10.5 vs 10.2, p = 0.76) as well as the number of embryos available the day of the transfer and the number of embryos that were vitrified 6.73 vs 6.08 (p = 0.97) and 1.5 and 1.3 (p=0.820) for Group I and II respectively. The clinical pregnancy rate was 39.3% (n = 91), and for groups I and II were 41.6 and 37.7% respectively.

Conclusions: No significant differences between two loading dose was found (150 vs ≥ 225) in most of the primary endpoint.

Key words: Controlled ovarian stimulation, stimulation protocols, recombinant FSH, Menotropins, gonadotropin-releasing hormone antagonists, IVF, ICSI, randomized clinical trial, meta-analysis.

ANTECEDENTES

Los protocolos de estimulación ovárica en ciclos de alta complejidad se han ido modificando a lo largo de los años, gracias al advenimiento de preparaciones como las gonadotropinas urinarias y luego recombinantes y a la tendencia actual de transferir cada vez menos embriones para evitar embarazos múltiples y síndrome de hiperestimulación ovárica. Hasta la fecha no hay acuerdo en la dosis óptima de inicio en un protocolo de hiperestimulación ovárica controlada. En el decenio de 1980 se capturaba un solo ovocito en la fase preovulatoria de un ciclo natural, pero se fue abandonado con la introducción de protocolos de hiperestimulación ovárica controlada con gonadotropinas para lograr la captura de múltiples ovocitos.¹

Hoy día, en muchos centros de reproducción asistida alrededor del mundo se recurre a los protocolos de estimulación mínima en ciclos de fertilización in vitro (FIV) o de inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), para obtener como máximo 5 a 7 ovocitos maduros, potencialmente fertilizables y embriones que permitan la selección y transferencia de uno o máximo dos para alcanzar, en la mayoría de los casos, un embarazo único y, a su vez, lograr embriones de buena calidad para criopreservar y, a su vez, evitar embarazos múltiples, síndrome de hiperestimulación ovárica y hacer que la paciente sienta un protocolo más amigable y de bajo costo.²

En nuestro medio aún se recurre a los ciclos convencionales³ con el afán de compensar disfunciones en el trabajo del laboratorio de



gametos y obtener mayor número de ovocitos, embriones disponibles para la transferencia y criopreservados, apoyados en la relativamente baja incidencia de embarazo múltiple, síndrome de hiperestimulación ovárica⁴ y al relativo bajo costo, sobre todo a nivel institucional.

En protocolos de hiperestimulación ovárica controlada la dosis óptima de inicio se calcula de acuerdo con las variables específicas de la paciente: edad, concentraciones basales de FSH y respuesta previa al tratamiento, entre otras. Las pacientes, comúnmente, difieren en su respuesta a la estimulación y, por lo tanto, es difícil establecer las dosis y protocolos efectivos.⁵ Hay mujeres con baja respuesta a la estimulación ovárica porque la dosis es subóptima o por baja reserva ovárica, circunstancias que disminuyen las probabilidades de embarazo;⁶ otras pacientes tienen hiperrespuesta, lo que las pone en riesgo de cancelación del ciclo o de síndrome de hiperestimulación ovárica.⁷

Existen estudios prospectivos aleatorizados que han comparado diferentes dosis de inicio de protocolos de hiperestimulación ovárica controlada. La mayor parte ha comparado dosis de 100 vs 200 UI,^{8,9,10} mientras que otros autores han comparado dosis de FSH de 150 vs 225 IU o más.^{11,12,13} Casi todos reportan que las dosis ≤ 150 UI vs ≥ 225 se asocian, esta última, con mayor número de ovocitos capturados, pero ambas son igualmente efectivas con respecto a la tasa de embarazo.

El objetivo del estudio es: comparar los resultados de dos protocolos flexibles de hiperestimulación ovárica controlada con dosis de inicio diferente (150 vs 225 UI de FSHr o hMG) más un antagonista de la hormona liberadora de gonadotropinas en ciclos de FIV e ICSI.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio retrospectivo efectuado con la información de ciclos de FIV-ICSI realizados entre el 1

de enero de 2011 y el 31 de diciembre del 2012, previa estimulación ovárica con protocolo no fijo de FSH recombinante o menotropinas y con antagonista de GnRH (anti-GnRH) llevados a cabo en nuestra unidad de reproducción asistida.

Los ciclos se dividieron según la dosis de inicio de la hiperestimulación ovárica controlada en las pacientes que recibieron 150 UI de FSHr o menotropinas (72 ciclos) (grupo I) versus las que recibieron 225 UI o 300 UI de FSH o menotropinas (159 ciclos) (grupo II).

La asignación de las pacientes a cada grupo fue arbitraria, aunque sí se tomaron en cuenta: edad, índice de masa corporal (IMC), número de folículos antrales y el antecedente de un ciclo con pobre respuesta a la dosis de 150 UI.

Sólo se incluyeron pacientes menores de 35 años, con infertilidad primaria o secundaria por factor endocrino ovárico (anovulación, hiperandrogenismo funcional ovárico, síndrome de ovario poliquístico, resistencia a la insulina, disfunción tiroidea, hiperprolactinemia), tubo-peritoneal, endometriosis severa, factor masculino, factor mixto (más de un factor alterado) y con infertilidad de causa no identificada.

Antes de iniciar el tratamiento propuesto, a todas las pacientes se les realizó el siguiente protocolo de estudio: prueba de capacitación espermática, determinación de concentraciones basales (días 3 a 5 del ciclo) de hormona folículo estimulante (FSH), hormona luteinizante (LH), estradiol (E2), prolactina (PRL), pruebas de funcionamiento tiroideo, perfil viral en ambos (TORCH, hepatitis B y C y VIH), histerosalpingografía, sonohisterografía, laparoscopia diagnóstica o quirúrgica (en los casos requeridos), cultivo de exudado cérvico-vaginal, espermocultivo, determinación de *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma* (en la pareja).

Los varones con alteración en los parámetros seminales se evaluaron y trataron en el departamento de Andrología.

Con el afán de establecer la mejor dosis de inicio según los resultados en cada grupo de estudio, se consideraron como variables primarias de estudio: dosis total de FSHr o hMG, incremento de dosis durante el ciclo de hiperestimulación ovárica controlada, número de ovocitos capturados, de embriones disponibles el día de la transferencia y de embriones vitrificados.

Como variables secundarias se consideraron, principalmente: duración de la hiperestimulación ovárica controlada y la tasa de embarazo clínico. Otras variables estudiadas fueron: edad, tipo de infertilidad (primaria o secundaria), causa de la infertilidad (factor alterado), tiempo de infertilidad en años, índice de masa corporal (IMC), concentraciones de FSH y de estradiol el día de la aplicación de hCG, conteo folicular antral basal, número de días con antagonistas de GnRH, de folículos totales al final de la hiperestimulación ovárica controlada y de folículos maduros, grosor del eco endometrial al final de la hiperestimulación ovárica controlada, tasa de fertilización, técnica de fertilización (FIV/ICSI/PICSI), número y calidad de embriones transferidos, tasa de embarazo bioquímico y clínico, resultado obstétrico (aborted, embarazo ectópico, embarazo de término, embarazo pretérmino) y porcentaje de cancelación del ciclo por grupo de estudio.

En la población de estudio se asignaron las siguientes definiciones operativas:

Edad: años cumplidos al momento del ingreso al protocolo.

Tipo de infertilidad: primaria o secundaria, pareja que al momento de ingreso al estudio no había logrado el embarazo o lo había logrado, respectivamente.

Tiempo de infertilidad: años durante los que la pareja hubiera estado buscando el embarazo.

Causa de la infertilidad: factor alterado que pudiera explicar la infertilidad. Causa mixta cuando hubo más de un factor alterado en la pareja. Con respecto a la endometriosis sólo consideramos la grado III-IV de acuerdo con la clasificación de la *American Society for Reproductive Medicine*.

IMC: peso entre talla al cuadrado.

Conteo folicular antral el día de inicio de la estimulación: número de folículos observados el día del inicio de la hiperestimulación ovárica controlada (día 2 o 3 del ciclo menstrual).

Número de días de dosis de FSH recombinante o MHG: número de días durante el ciclo de hiperestimulación ovárica controlada, días requeridos para lograr los criterios de aplicación de hCG.

Dosis total de FSH recombinante o MHG: cantidad total de UI que la paciente utilizó en el ciclo de hiperestimulación ovárica controlada.

Días de aplicación de antagonista: días que la paciente utilizó en el ciclo de hiperestimulación ovárica controlada.

Número de folículos totales: cantidad de folículos observados al final de la estimulación ovárica.

Número de folículos maduros: cantidad de folículos ≥ 18 mm al final de la hiperestimulación ovárica controlada.

Eco endometrial: grosor del endometrio medido a un centímetro del fondo de la cavidad, en sentido antero-posterior, expresado en milímetros (mm).



Número de ovocitos capturados: cantidad de ovocitos obtenidos 36 horas posteriores a la administración de ovidrel mediante punción transvaginal.

Número de ovocitos fertilizados: cantidad de ovocitos fertilizados por un espermatozoide ya sea por FIV, ICSI o PICSI.

Porcentaje de fertilización: porcentaje de ovocitos fertilizados.

Número de embriones el día de la transferencia: cantidad de embriones disponibles el día de la transferencia embrionaria.

Número de embriones transferidos: cantidad de embriones transferidos (3-5 días posteriores a la captura).

Tasa de embarazo bioquímico: el embarazo se definió como β -hCG cuantitativa positiva (≥ 50 mUI/mL) 14 días posteriores a la transferencia embrionaria.

Tasa de embarazo clínico por paciente: calculada como porcentaje, número de pacientes que lograron el embarazo entre el número total de pacientes analizadas en el estudio. El embarazo se diagnosticó a las seis semanas de la transferencia de embriones mediante la visualización del saco gestacional y embrión con latido cardíaco.

Tasa de cancelación: porcentaje de pacientes en quienes se canceló el ciclo por grupo de estudio.

Resultados obstétricos: aborto, embarazos: ectópico, de término y pretérmino.

Tasa de embarazo múltiple: porcentaje de pacientes en quienes el embarazo se dio con más de un embrión con latido cardíaco por grupo de estudio.

Protocolo de estimulación ovárica: todas las pacientes se trajeron con al menos un ciclo previo de anovulatorios orales combinados antes del inicio del ciclo de estimulación ovárica con 0.15 mg de levonorgestrel y 0.03 mg de etinodiol-estradiol (Microgynon®, Schering, Alemania).

El día 2 o 3 del ciclo se evaluaron las concentraciones séricas de FSH, LH y estradiol y a partir del día 8 de la hiperestimulación ovárica controlada se midieron: LH, estradiol y P4 en cada seguimiento folicular. Se efectuó un ultrasonido endovaginal basal con un aparato de ultrasonido marca General Electric, Logic 5 Expert (General Electric, Estados Unidos) con transductor multifrecuencia de 6.0, 8.0 y 10.0 MHz y, cuando no se encontró afectación ovárica, uterina o de las salpinges (miomas submucosos o que distorsionaron el contorno endometrial, quistes ováricos mayores de 12 mm, endometriomas o hidrosalpinx de cualquier diámetro que contraindicaran el inicio de la estimulación ovárica) se inició la estimulación ovárica con FSH recombinante o hMG (Gonal F®, Serono, Londres, Merapur HP® Ferring, España) a dosis iniciales de 150, 225 o 300 IU al día por vía subcutánea. Se efectuó seguimiento folicular el día 8 del ciclo y se realizaron evaluaciones cada 24 o 48 horas y, dependiendo del tamaño folicular, se aumentó o disminuyó la dosis de FSH recombinante o hMG en 75 o 150 UI/día. Cuando se encontraron uno o más folículos de 14 mm se inició el antagonista de GnRH a dosis de 250 mcg/día SC.

Cuando se encontraron tres o más folículos \geq de 18 mm de diámetro se indicó la aplicación de 250 mcg de hCG recombinante (Ovidrel®, Serono, Italia). La recuperación de los ovocitos se realizó por vía transvaginal, guiada por ultrasonido 34 a 36 horas después de la aplicación de la hCG.

Técnica de fertilización y clasificación ovocitaria-embrionaria

Se realizaron tres técnicas de fertilización de ovocitos, dependiendo de los factores alterados en la pareja y de ciclos de reproducción asistida previos: fertilización in vitro (FIV), inyección intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI) e inyección fisiológica intracitoplasmática de espermatozoide (PICSI). Los ovocitos se incubaron en fluido tubario humano complementado con suero sintético sustituto al 10% (Irvine Scientific, Santa Ana, CA), en cajas de cuatro pozos (Falcon, Becton Dickinson, NJ), a 37°C y en 5% de bióxido de carbono. Se inseminaron con aproximadamente 50,000 espermatozoides móviles por ovocito (FIVTE) y 16 a 20 horas después se corroboró la fertilización mediante la identificación de dos pronúcleos. Después de corroborar la fertilización, los preembriones se cultivaron en cajas de Petri (Falcon, Becton Dickinson, NJ), en gotas de 40 microlitros del mismo medio con aceite mineral. Se valoró la segmentación cada 24 horas hasta su transferencia.¹⁴ Para la realización de ICSI se hizo limpieza de los ovocitos e inyección de los mismos después de 4 a 6 horas de incubación y se inyectaron con la técnica habitual.

La técnica de PICSI se realizó de la siguiente manera: después de la capacitación espermática se colocan en una caja para PICSI (Midatlantic diagnostics, USA) 3 gotas de un material sintético similar al ácido hialurónico. La caja (placa) se prepara en el momento de ser empleada para que el medio similar al ácido hialurónico no pierda su actividad. La técnica consiste en colocar 10 mL de GMOPS PLUS (VitroLife, USA) o medio de capacitación espermática en cada gota del ácido, al lado de éstas se colocan 10 mL de PVP (VitroLife, USA) y la placa se prepara de manera similar a la de la caja para la realización de un ICSI; así mismo, se preparan las gotas de medio GMOPS PLUS (10 mL) en donde se colocan los ovocitos a inyectar y se cubre todo con 10 mL

de aceite mineral de parafina (Ovoil, VitroLife, USA).

En las gotas de ácido hialurónico se colocan, aproximadamente, de 1-5 mL de muestra espermática capacitada, se selecciona el espermatozoide que se adherirá a la placa (ácido hialurónico) siempre y cuando tenga movimiento el flagelo, se aspira con la pipeta de microinyección, se lleva al PVP para su inmovilización y se realiza el ICSI de forma habitual.¹⁵

Previo a la transferencia embrionaria se evalúan los embriones y se clasifican según su morfología.¹⁶ De acuerdo con la calidad se clasifican en embriones top (embriones calidad 1 y 2) y non-top (embriones 3, 4 y 5).

La preparación del semen para la inseminación de los ovocitos se efectuó mediante la técnica de dos gradientes de concentración Isolate upper-lower (Irvine Scientific, Santa Ana, CA) (gradientes 40 y 90%, respectivamente). La muestra seminal se colocó, volumen a volumen, con el fluido tubario humano y se complementó con suero sintético sustituto al 8.5% sobre los gradientes de isolate. Se centrifugó a 1,600 revoluciones por minuto durante 10 minutos y se retiró el sobrenadante. Despues, se efectuó el lavado mediante centrifugado a 1,800 rpm durante cinco minutos, se eliminó el sobrenadante y la muestra se ajustó a 1 mL para obtener los espermatozoides del sobrenadante mediante la técnica de Swim-up.

La transferencia embrionaria se efectuó 72 horas después de la recuperación ovocitaria y se utilizó el catéter de Cook con punta ecogénica (Cook Medical, Indiana, USA).

El soporte de fase lútea se indicó a partir del día de la recuperación de los ovocitos, mediante la administración de progesterona natural micronizada por vía vaginal (Geslutin®, Florida, EUA) a dosis de 200 mg cada 12 horas.



El diagnóstico de embarazo se realizó mediante la determinación sérica cuantitativa de la fracción beta de la hormona gonadotrofina coriónica humana (β -hCG) 15 días después de la transferencia embrionaria. El embarazo clínico se diagnosticó a las seis semanas de la transferencia de embriones mediante la visualización del saco gestacional y el embrión con latido cardíaco.

Análisis de las hormonas

Las concentraciones séricas de FSH, LH, E2, P4 y β -hCG se determinaron mediante el ensayo de inmunoquimioluminiscencia (IMMULITE 2000, Siemens), con coeficientes de variación interensayo de 4.1 a 7.9%, de 7.1 a 23.9%, de 7.1 a 16%, de 9.5 a 21.7%, 4.8 a 7.4% e intraensayo de 2.9 a 3.1%, de 3.5 a 13.1%, de 4.9 a 9.9%, de 7 a 17.4%, de 2.5 a 6.6% para la FSH, LH, E2, P4 y β -hCG, respectivamente.

Análisis estadístico

Las características sociodemográficas de la población se analizaron con estadística descriptiva. La distribución de las variables cuantitativas se evaluó con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. La diferencia de las proporciones entre variables se evaluó con la prueba χ^2 . La diferencia de las medias entre los grupos se evaluó con prueba T de Student para muestras independientes o con U de Mann-Whitney según su distribución. Se consideraron significativos los resultados con una p menor de 0.05. Se utilizó el programa estadístico SPSS versión 20.

RESULTADOS

Se incluyeron 245 ciclos y se analizaron 231 porque 14 se cancelaron por falta de respuesta al tratamiento.

Las características demográficas de los ciclos se muestran en el Cuadro 1. El promedio de edad de

las pacientes fue de 31.2 años, con diferencia significativa entre los grupos de estudio. Hubo mayor porcentaje de pacientes menores de 30 años en el grupo I y mayor porcentaje de pacientes de más de 30 años en el grupo II ($p=0.00$). La mayoría de las pacientes (58.4%) tenía sobrepeso u obesidad. En el grupo II se encontró mayor porcentaje de pacientes con sobrepeso versus las del grupo I (55.3 vs 44.4%); el porcentaje de pacientes con obesidad fue de 0 vs 9.4% para el grupo I y II, respectivamente ($p=0.00$). Del total de pacientes, 31% (n=72) inició con una dosis de 150 UI de FSH (grupo I) y 69% (n= 159) con 225 UI o más de FSH (grupo II). La causa más frecuente de infertilidad fue el factor mixto en ambos grupos (29.2% para el grupo I y 57.9% para el grupo II), seguido del factor tuboperitoneal (25% para el grupo I y 25.2% para el grupo II). La media de la FSH basal fue de 6.1 ± 2.39 UI para el grupo I y de 7.14 ± 3.49 para el grupo II ($p=0.01$). Se observa una tendencia a mayor porcentaje de pacientes con FSH basal mayor de 10 en el grupo II vs el I (6.9 vs 15.1%, respectivamente). El conteo folicular antral fue significativamente mayor en el grupo I vs el II (10.9 vs 9).

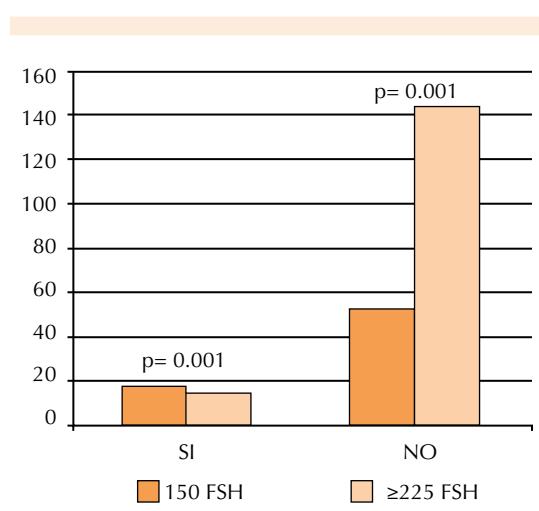
Resultados de las variables primarias de estudio

Con respecto a la dosis total de FSH o hMG, el grupo II recibió una dosis superior a la del grupo I (2096.0 vs 1447.9, $p=0.000$). El porcentaje de pacientes en quienes se incrementó la dosis durante la hiperestimulación ovárica controlada fue significativamente superior en el grupo I en comparación con el grupo II (26.4 vs 9.1%, $p=0.001$) (Figura 1). La media del número de ovocitos capturados fue similar en el grupo I vs grupo II (10.5 vs. 10.2, $p=0.76$). En cuanto al número de embriones disponibles el día de la transferencia, éste fue de 6.73 para el grupo I y 6.08 para el grupo II, $p=0.97$. Por último, el número de embriones vitrificados fue de 1.5 y de 1.3 para el grupo I y II, respectivamente, $p=0.820$. (Cuadro 2)

Cuadro 1. Características demográficas y de infertilidad por grupo de estudio

	Total (n= 231)	150 (n=72)	≥225 (n=159)	p
Edad (años) a	31.23±3.01	30.01±3.43	31.92±2.60	0.000 ^c
< 30	58 (25.1%)	31 (43.1%)	27 (17.0%)	0.000 ^e
30-35	173 (74.9%)	41 (56.9%)	132 (83%)	
IMC (kg/m ²) ^a	25.22±3.29	24.24±2.86	25.63±3.40	0.003 ^c
Peso normal ^b	96 (41.6%)	40 (55.6%)	56 (35.2%)	0.000 ^e
Sobrepeso ^b	120 (51.9%)	32 (44.4%)	88 (55.3%)	
Obesidad ^b	15 (6.5%)	0 (0%)	15 (9.4%)	
Infertilidad (años) ^a		6.15±2.39	1.81±0.39	0.000 ^d
Primaria ^b	152 (65.8%)	48 (66.7%)	104 (65.4%)	0.488 ^e
Secundaria ^b	79 (34.2%)	24 (33.3%)	55 (34.6%)	
Causas de infertilidad ^b				
Factor endocrino ovárico	27 (11.7%)	14 (19.4%)	13 (8.2%)	0.000 ^e
Factor tuboperitoneal	58 (25.1%)	18 (25%)	40 (25.2%)	
Factor masculino	3 (1.3%)	2 (2.8%)	1 (6%)	
Endometriosis III y IV	6 (2.6%)	2 (2.8%)	4 (2.5%)	
Mixto	113 (48.9%)	21 (29.2%)	92 (57.9%)	
No determinada	24 (10.4%)	15 (20.8%)	9 (5.7%)	
FSH basal (UI) ^a	6.83±3.21	6.15±2.39	7.14±3.49	0.013 ^d
≤10 ^b	202 (87.4%)	67 (93.1%)	135 (84.9%)	0.060
>10 ^b	29 (12.65%)	5 (6.9%)	24 (15.1%)	
CFA ^a	9.60±4.89	10.92±5.26	9.00±4.67	0.008 ^d
< 6 ^b	42 (18.2%)	10 (13.9%)	32 (20.1%)	0.170
≥ 6 ^b	89 (81.8%)	62 (86.1%)	127 (79.9%)	

a= media, desviación estándar, b= frecuencia, porcentaje, c= prueba de t Student para muestras independientes, d= prueba de U Mann-Whitney e= prueba de χ^2

**Figura 1.** Incremento de dosis por grupo de estudio.

Resultados de las variables secundarias de estudio: con respecto a los días de estimulación ovárica, la duración media fue de 8.9 para el grupo I y de 8.4 para el grupo II, con una p=0.028. El grupo I tuvo una tasa de embarazo bioquímico de 41.7% mientras que en el grupo II fue de 42.1%, con una p= 0.53. La tasa de embarazo clínico general fue de 39.3% (n=91) y de 41.6 y 37.7% para el grupo I y II, respectivamente.

El Cuadro 3 muestra las características del tratamiento por grupo. Se observa que el día de la aplicación de la hCG a los dos grupos (19.0 vs 16.5 y 6.6 vs 6.4 para folículos totales y maduros, respectivamente) no hubo diferencia significativa en el número de folículos totales, ni en el de

**Cuadro 2.** Variables primarias por grupo de estudio

	Total (n=231)	150 (n=72)	≥225 (n=159)	p
Dosis total ^a	1894.05±621.83	1447.92±483.87	2096.07±70.87	0.000 ^d
≤ 1500 ^b	65 (28.1%)	50 (69.4%)	15 (9.4%)	0.000 ^e
> 1500 ^b	166 (71.9%)	22 (30.6%)	144 (90.6%)	
Incremento de dosis ^b				
Si	34 (14.7%)	19 (26.4%)	15 (9.1%)	
No	197 (85.3%)	53 (73.6%)	144 (90.6%)	0.001 ^e
Ovocitos capturados				
(No.) ^a	10.37±6.51	10.56±6.71	10.28±6.46	0.769 ^c
≤ 3	28 (12.6%)	4 (9.8%)	18 (13.6%)	0.208 ^e
> 3	202 (87.4%)	37 (90.2%)	114 (86.4%)	
Embriones disponibles n ^a	6.28±4.23	6.73±4.65	6.08±4.03	0.971 ^d
Embriones vitrificados (n) ^a	1.39±2.23	1.50±2.37	1.34±2.17	0.820 ^d

a= media, desviación estándar, b= frecuencia, porcentaje, c= prueba de t Student para muestras independientes, d= prueba de U Mann-Whitney, e= prueba de χ^2

Cuadro 3. Características de la hiperestimulación ovárica controlada por grupo de estudio

	Total (n=231)	150 (n=72)	≥225 (n=159)	p
Días de estimulación ovárica	8.63±1.63	8.94±1.59	8.47±1.64	0.028 ^c
Uso de cetrotide (días) ^a	4.42±1.13	4.21±1.21	4.25±1.10	0.165 ^d
≤ 4 días ^b	138 (59.7%)	49 (68.1%)	89 (56%)	0.055 ^e
> 4 días ^b	93 (40.3%)	23 (31.9%)	70 (44%)	
Estradiol el día del disparo ^a	1804.77±1413.76	2154.47±1936.8	1646.42±1068	0.993 ^d
< 2000	170 (73.6%)	51 (70.8%)	119 (74.8%)	0.311 ^e
≥ 2000	61 (26.4%)	21 (29.2%)	40 (25.2%)	
Folículos totales el día de la captura (n) ^a	17.33±10.22	19.06±10.59	16.55±9.92	0.151 ^c
≤ 7	32 (13.9%)	6 (8.3%)	26 (16.4%)	0.073 ^e
> 7	199 (86.1%)	66 (91.7%)	133 (83.6%)	
Folículos maduros el día de la captura (n) ^a	17.33±10.22	6.64±4.63	6.42±40.04	0.323 ^d
≤ 3 ^b	54 (23.4%)	14 (19.4%)	40 (25.2%)	0.218 ^e
> 3 ^b	177 (76.6%)	58 (80.6%)	119 (74.8%)	
Eco endometrial ^a	10.56±2.39	10.32±1.98	10.66±2.55	0.428 ^d
≤ 8 ^b	37 (16.0%)	12 (16.7%)	25 (15.7%)	0.498 ^e
> 8 ^b	194 (84.0%)	60 (83.3%)	134 (84.3%)	

a= media, desviación estándar, b= frecuencia, porcentaje, c= prueba de t Student para muestras independientes, d= prueba de U Mann-Whitney, e= prueba de χ^2

folículos maduros. Tampoco se encontró alguna diferencia significativa en las concentraciones séricas de estradiol el día de la aplicación de la hCG.

Por lo que se refiere a la tasa de fertilización, no se encontraron diferencias entre los grupos (70 vs 70 para el grupo I y II, respectivamente) ni en cuanto al método de fertilización empleado (FIVTE, ICSI y PICSI). El número de embriones transferidos en los grupos I y II fue de 2.3 y 2.4, respectivamente ($p=0.85$) (Cuadro 4).

En cuanto a los resultados obstétricos, la tasa de embarazo a término fue de 36.7 y 34.4% en los grupos I y II, respectivamente; y la frecuencia de embarazo gemelar fue de 22.6% en la población de estudio, sin diferencia estadística significativa entre los grupos de tratamiento (Cuadro 5).

Por último, 8.3 y 5.0% de los ciclos en los grupos I y II se cancelaron por falta de respuesta al tratamiento. Es importante el análisis de ciertas

variables de acuerdo con los grupos de estudio y edad. Para esto se estratificó la edad por grupo de estudio en pacientes menores de 30 años y de 30 a 35 años (Cuadro 6).

El IMC persistió significativamente elevado en las pacientes de 30-35 años en ambos grupos de estudio. Se encontró un porcentaje significativamente mayor de pacientes con FSH basal mayor de 10 en el grupo II en mujeres menores de 30 años, observándose la misma tendencia en mujeres de 30-35 años del grupo II. Al estratificar los grupos de estudio por edad no se observaron diferencias significativas en la duración de la hiperestimulación ovárica. Hubo un aumento significativo en el porcentaje de pacientes de 30-25 años en quienes se incrementó la dosis de gonadotrofinas (grupo I) con persistencia de la tendencia en pacientes menores de 30 años en el mismo grupo de estudio. Entre los grupos de estudio y por edad no se observaron diferencias significativas en el número de ovocitos recuperados, de embriones disponibles a ser transferidos ni de embriones criopreservados.

Cuadro 4. Resultados de la hiperestimulación ovárica controlada por grupo de estudio

	Total (n=231)	150 (n=72)	≥225 (n=159)	p
Ovocitos fertilizados (n) ^a	7.32±4.85	7.37±4.71	7.29±4.93	0.795 ^d
Tasa de fertilización (%) ^a	70.67±26.78	70.67±27.16	70.67±26.70	0.922 ^d
≤ 50	48 (21.1%)	12 (29.3%)	23 (18.9%)	0.435 ^e
> 50	178 (78.9%)	29 (70.7%)	107 (81.1%)	
Método de fertilización ^b				
FIVTE	146 (64.0%)	47 (67.1%)	99 (63.1%)	0.822 ^e
ICSI	72 (31.5%)	20 (28.6%)	52 (33.1%)	
PICSI	9 (4.5%)	3 (4.3%)	6 (3.8%)	
Embriones transferidos (n) ^a	2.39±0.93	2.33±0.93	2.41±0.93	0.850 ^d
Calidad de embriones ^b				
I y II	185 (85.6%)	54 (80.6%)	131 (87.9%)	0.360 ^e
III y IV	31 (14.4%)	13 (19.4%)	18 (12.1%)	
Tasa de embarazo bioquímico ^b				
Sí	97 (42%)	30 (41.7%)	67 (42.1%)	0.532 ^e
No	134 (58%)	42 (58.3%)	92 (57.9%)	

a= media, desviación estándar, b= frecuencia, porcentaje, c= prueba de t Student para muestras independientes, d= prueba de U Mann-Whitney, e= prueba de χ^2

**Cuadro 5.** Resultados obstétricos por grupo de estudio

	Total (n=231)	150 (n=72)	≥225 (n=159)	p
Resultado obstétrico ^b				
Aborto	27 (27.8%)	5 (16.6%)	22 (32.8%)	0.305 ^c
Ectópico	1 (1%)	1 (3.4%)	0 (0%)	
Embarazo a término	35 (36%)	13 (43.3%)	22 (32.8%)	
Embarazo pretérmino	34 (35.2%)	11 (36.7%)	23 (34.4%)	
Número de gestaciones ^b				
Único	73 (75.4%)	23 (76.6%)	50 (74.6%)	0.822 ^e
Gemelar	22(22.6%)	7 (23.4%)	15 (22.4%)	
Triple	2 (2%)	0 (0%)	2 (3%)	

a= media, desviación estándar. b= frecuencia, porcentaje. c= prueba de t-student para muestras independientes. d= prueba de U Mann-Whitney. e= prueba de χ^2

Cuadro 6. Variables de la población y de la hiperestimulación ovárica controlada estratificadas por grupo y edad

	Menor de 30 años		p	30 a 35 años		p
	150	≥225		150	≥225	
IMC (kg/m^2) ^a	23.87±3.16	25.63±3.45	0.048 ^c	24.53±2.62	25.66±3.40	0.032 ^c
Peso normal ^b	18 (58.1%)	12 (44.4%)	0.077 ^e	22 (53.7%)	44 (33.3%)	0.020 ^e
Sobrepeso ^b	13 (41.9%)	12 (44.4%)		19 (46.3%)	76 (57.6%)	
Obesidad ^b	0 (0%)	3 (11.1%)		0 (0%)	12 (9.1%)	
FSH basal						
(UI) ^a	5.80±2.18	6.97±3.57	0.133 ^c	6.41±2.54	7.17±3.47	0.199 ^c
≤10 ^b	30 (96.8%)	21 (77.8%)	0.042 ^e	37 (90.2%)	114 (86.4%)	0.360 ^e
>10 ^b	1 (3.2%)	6 (22.2%)		4 (9.8%)	18 (13.6%)	
Días de estimulación ovárica ^b						
	8.80±1.53	7.92±2.61	0.811 ^d	9.04±1.64	8.59±1.35	0.078 ^c
Dosis total ^a	1371.77±442.09	2000.21±530.7	0.048 ^c	1505.49±510.97	2115.52±578.68	0.000 ^d
≤ 1500 ^b	24 (77.4%)	3 (11.1%)	0.000 ^e	26 (63.4%)	12 (9.1%)	0.000 ^e
> 1500 ^b	7 (22.6%)	24 (88.9%)		15 (36.6%)	120 (90.9%)	
Incremento de dosis ^b						
Si	6 (19.4%)	1 (3.7%)	0.108 ^e	13 (31.7%)	14 (10.6%)	0.002 ^e
No	25 (80.6%)	26 (96.3%)		28 (68.3%)	118 (89.4%)	
Ovocitos totales (no) ^a						
≤ 3	11.62±7.49	10.67±8.00	0.685 ^c	9.85±6.27	10.20±6.11	0.223 ^c
> 3	1 (3.2%)	5 (22.2%)	0.063 ^e	4 (9.8%)	18 (13.6%)	0.363 ^e
	30 (96.8%)	21 (66.7%)		37 (90.2%)	114 (86.4%)	
Embriones disponibles (no) ^a						
	6.93±5.00	6.41±4.99	0.922 ^d	6.59±4.43	6.02±3.82	0.890 ^d
Embriones congelados ^a	1.63±2.52	1.85±2.61	0.875 ^d	1.40±2.2	1.24±2.06	0.961 ^d
Tasa de embarazo ^c						
Si	11 (35.5%)	16 (59.3%)	0.444 ^e	19 (46.3%)	56 (42.4%)	0.395 ^e
No	20 (64.5%)	11 (40.7%)		22 (57.6%)	76 (57.6%)	

a= media, desviación estándar. b= frecuencia, porcentaje. c= prueba de t-student para muestras independientes. d= prueba de U Mann-Whitney. e= prueba de χ^2

En cuanto a la tasa de embarazo por grupo de estudio y edad no hubo diferencia significativa; sin embargo, hubo una tendencia a mayor tasa de embarazo en las pacientes menores de 30 años en el grupo II vs grupo I, pero no así en las de 30-35 años.

DISCUSIÓN

Se encontró una diferencia significativa en la edad de las pacientes de los grupos de estudio, con mayor porcentaje de las mayores de 30 años en el grupo II (83 vs 56.9% para grupo II y I, respectivamente). De la misma manera sucedió con el IMC que fue significativamente mayor en las pacientes del grupo II; todas las pacientes con obesidad (15 pacientes) estuvieron en este grupo. Como está sustentado en la bibliografía, la edad y el IMC son dos de los factores determinantes de la dosis de inicio de cualquier protocolo de estimulación ovárica.¹⁷

En nuestro estudio hubo una clara tendencia a ubicar en el grupo II a las pacientes mayores de 30 años y con IMC mayor de 25. Así mismo, otra razón de asignación de las pacientes a una dosis de inicio de 225 UI fue el antecedente de una respuesta no adecuada a la hiperestimulación ovárica controlada con dosis de inicio de 150 UI en un ciclo previo. The Latin-American Puregon IVF Study Group¹⁷ y Yong P y colaboradores¹³ reportaron en sus estudios un promedio de IMC de 23 y 22.9 kg/m², respectivamente, que fue diferente al sobrepeso reportado, en promedio, en nuestra población (IMC 25.2 kg/m²).

En ambos grupos la principal causa de infertilidad fue el factor mixto, seguido del factor tubo-peritoneal, características que contrastan con lo reportado por otros autores^{13,18,19} en cuyos estudios la principal causa de infertilidad fue el factor masculino. Hubo una diferencia estadísticamente significativa en la concentración de FSH basal entre ambos grupos (6.1 vs 7.1, p=0.013)

que no explica la diferencia de respuesta a la hiperestimulación ovárica controlada en los grupos de estudio porque de cualquier manera el promedio de FSH fue menor de 10; sin embargo, se observó una tendencia a mayor porcentaje de pacientes con FSH basal mayor de 10 en el Grupo II. Ehy N y su grupo⁸ compararon dosis de inicio de 100 y 200 UI y tampoco observaron diferencia en la FSH basal. Respecto al conteo folicular antral fue mayor en las pacientes del grupo I. Jayaprakasan y su grupo,²⁰ en su estudio prospectivo que comparó 225 vs 300 UI de FSH recombinante, no reportaron diferencia significativa alguna en la concentración de FSH basal (7.3 vs 6.8) ni en el conteo folicular antral (14.2 vs 15.4).

Si bien por las características de nuestro estudio no puede hablarse de eficacia o eficiencia con alguna de las dos dosis de inicio, la mayor parte de los estudios prospectivos tiende a señalar la dosis de inicio más eficiente en términos de cantidad de ovocitos recuperados y su relación con la cantidad de embriones disponibles el día de la transferencia, la de embriones disponibles para ser vitrificados y la tasa de embarazo.^{12,13,18,19,21}

El objetivo principal al establecer la dosis de inicio en una hiperestimulación ovárica controlada es optimizar la respuesta folicular en términos del número de ovocitos obtenidos, de embriones criopreservados y tasa de embarazo y, a su vez, minimizar los riesgos de síndrome de hiperestimulación ovárica sin el riesgo de cancelación del ciclo. Aunque muchos artículos publicados no encuentren importante la cantidad de embriones disponibles a vitrificar, porque los costos de los ciclos en fresco son apoyados por la seguridad social, en nuestro medio la situación es muy diferente. Las pacientes son quienes deben financiar la totalidad de los gastos de cada ciclo que se les realice; de aquí la importancia de que de cada ciclo, a partir de la dosis de inicio, se busque la obtención del mayor número de ovocitos, de



embriones totales y de embriones disponibles para criopreservar; de esta manera disminuyen los costos en el segundo ciclo y se mantiene la posibilidad de embarazo.

De lo anterior parte la importancia en nuestro medio de establecer la dosis óptima de inicio, aunque los protocolos de estimulación moderada (Mild stimulation) parezcan en principio efectivos.³ Por lo anterior, para el análisis de los resultados en este estudio, se determinaron las variables primarias.

La dosis total de FSH aplicada fue significativamente superior en el grupo II (649 UI de FSH más, p=0.013). Dos estudios prospectivos que compararon las mismas dosis de inicio que las de nuestra investigación, reportaron igualmente diferencias significativas en las dosis total de FSH; se usaron 10 y 7.5 ámpulas más en el grupo de 225 UI, como lo reportan Yong y su grupo¹³ y Wikland y colaboradores.¹⁸

Debido a que en este estudio se recurrió a protocolos flexibles de hiperestimulación ovárica controlada, el grupo II tuvo un incremento de la dosis durante la estimulación significativamente menor que el grupo I (9.1 vs. 26.4%), según lo reportado por otros autores.¹⁸ La mayor parte de los estudios reportados en la bibliografía con protocolos fijos de estimulación con respecto a la dosis de inicio no señalan esta variable en sus resultados.^{13,17,18}

Por lo general se acepta que el mayor número de ovocitos predice una probabilidad mayor de embarazo porque refleja una buena respuesta ovárica a la estimulación.² Esto permite que la selección de embriones de buena calidad sea mejor el día de la transferencia y, a su vez, haya más embriones disponibles para la vitrificación.

En nuestro grupo de estudio encontramos una media de ovocitos capturados en el grupo I vs

II de 10.5 vs 10.2; de acuerdo con lo reportado por The Latin-American Puregon IVF Study Group,¹⁷ quienes compararon 150 vs 250 UI de FSH, no encontraron diferencia significativa en el número de ovocitos capturados entre los grupos (8.9 vs 10.2, p>0.07). Otros estudios que compararon 150 vs 225 UI de FSH demostraron que la captura de ovocitos fue significativamente mayor con la dosis de 225 UI.^{13,18} De la misma manera lo demuestra el metanálisis de 10 estudios prospectivos que compararon diferentes dosis de inicio.¹²

El número disponible de embriones el día de la transferencia y de embriones vitrificados no fue significativamente diferente en nuestros grupos (6.7 vs 6.0 y 1.5 vs 1.3, respectivamente). Steffenburg y sus colaboradores¹² reportaron en su metanálisis 1952 ciclos en donde compararon 100 vs 200 UI y 150 vs 200 UI, cantidad significativamente menor de embriones disponibles para la criopreservación con 100 vs. 200 UI pero similar entre 150 y 200 UI. Sin embargo, Ehy N y colaboradores⁸ compararon 100 vs 200 UI y encontraron una diferencia estadísticamente significativa en el número de embriones transferibles y vitrificados entre los grupos.

Por último, la tasa de embarazo clínico no mostró diferencias significativas entre los grupos. Estos resultados concuerdan con lo reportado en la mayor parte de los estudios publicados por otros autores.^{8, 9, 12, 13, 17, 18-21}

CONCLUSIÓN

En las variables primarias de este estudio no se observaron diferencias significativas entre dos dosis de inicio de estimulación ovárica (150 vs ≥225 UI) para el número de ovocitos capturados, embriones disponibles el día de la transferencia y para criopreservar. Sólo se observaron diferencias significativas en la dosis total de FSH utilizada y en el incremento de la

dosis. Debido a la naturaleza de la investigación, que lleva implícitas situaciones de sesgo, será conveniente realizar estudios prospectivos. Sin embargo, el valor de nuestro trabajo consiste en que, con base en la motivación de encontrar una dosis ideal de inicio en los protocolos de hiperestimulación ovárica controlada, resalta variables que claramente se relacionan con la eficacia de una dosis de inicio.

De lo reportado en la bibliografía no puede inferirse que es totalmente aplicable a nuestra población porque existen diferencias en factores relacionados con el éxito de un protocolo de hiperestimulación ovárica controlada atribuibles al propio centro de reproducción, como: la eficacia de sus protocolos de fertilización y vitrificación y la tasa de éxito en las transferencias de embriones frescos vs congelados, así como en las dinámicas económicas y características de la población tratada.

Sin duda que la realización de un estudio prospectivo dará la oportunidad de medir la verdadera eficacia y eficiencia de las diferentes dosis de inicio de la hiperestimulación ovárica controlada con FSHr o menotropinas y así poder establecer un costo-beneficio para las pacientes.

REFERENCIAS

1. Macklon N, Stouffer R, Giudice L, Fauser B. The Science behind 25 Years of Ovarian Stimulation for in vitro fertilization. *Endocrine Reviews* 2006;27:170-207.
2. Zarek S and Muasher S. Mild/minimal stimulation for in vitro fertilization: an old idea that needs to be revisited. *Fertility and Sterility* 2011;95:2449-2455.
3. Nargund G, Fauser B, Macklon N , Ombelet W, et al. The ISMAAR proposal on terminology for ovarian stimulation for IVF. *Human Reproduction* 2007;22:2801-2804.
4. Barros J, Fiszman R, Santibañez A, Sánchez V, y col. Resultados preliminares del estudio de eficacia de dos esquemas de hiperestimulación ovárica controlada con hormona folículo estimulante recombinante en ciclos de inseminación intrauterina. *Ginecol Obstet Mex* 2012;80:61-72
5. Howles C, Saunders H, Alam V and Engrand P. Predictive factors and a corresponding treatment algorithm for controlled ovarian stimulation in patients treated with recombinant human follicle stimulating hormone (folli-tropin alfa) during assisted reproduction technology (ART) procedures. An analysis of 1378 patients. *Current Medical Research and Opinion* 2006;22:907-918.
6. Loutradis D, Drakakis P, Vomvolaki E, Antsaklis A. Different ovarian stimulation protocols for women with diminished ovarian reserve. *J Assist Reprod Genet* 2007;24:597-611.
7. Van Tilborg T, Eijkemans M, Laven J, Koks C, et al. The OPTIMIST study: optimization of cost effectiveness through individualized FSH stimulation dosages for IVF treatment. A randomized controlled trial. *BMC Women's Health* 2012;12:3-7.
8. Ehy N, Yeung et W, Ho P. Comparison of two dosages of recombinant human follicle-stimulating hormone in Chinese women undergoing controlled ovarian stimulation: Prospective randomized double-blind study. *HKMJ* 2000;6:368-374.
9. Asian Puregon Study Group, Hoomans E and Mulder B. A Group-Comparative, Randomized, Double-Blind Comparison of the Efficacy and Efficiency of Two Fixed Daily Dose Regimens (100- and 200-IU) of Recombinant Follicle Stimulating Hormone (rFSH, Puregon®) in Asian Women Undergoing Ovarian Stimulation for IVF/ICSI. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 2002;19:470-476.
10. Out H, D Ishay, Ron-El R, Friedler S, et al. A randomized, double-blind clinical trial using fixed daily doses of 100 or 200 IU of recombinant FSH in ICSI cycles. *Human Reproduction* 2001;16:1104-1109.
11. Hoomans E, Nyboe A, Loft A, Leerentveld A, et al. A prospective, randomized clinical trial comparing 150 IU recombinant follicle stimulating hormone (Puregon) and 225 IU highly purified urinary follicle stimulating hormone (Metrodin-HP) in a fixed-dose regimen in women undergoing ovarian stimulation. *Human Reproduction* 1999;14: 2442-2447.
12. Sterrenburg M, Veltman-Verhulst S, Eijkemans M, Hughes E, et al. Clinical outcomes in relation to the daily dose of recombinant follicle- stimulating hormone for ovarian stimulation in in vitro fertilization in presumed normal responders younger than 39 years: a meta-analysis. *Human Reproduction* 2011;17:184-196.
13. Yong P, Brett S, Baird D and Thong J. A prospective randomized clinical trial comparing 150 IU and 225 IU of recombinant follicle-stimulating hormone (Gonal-F*) in a fixed-dose regimen for controlled ovarian stimulation in in vitro fertilization treatment. *Fertility and Sterility* 2003;79:308-315.
14. Barros J, Alvarado L, Gorbea V, Villalobos S, et al. Resultados perinatales de embarazos por fertilización in vitro con transferencia de embriones (FIVTE): un estudio de casos y controles. *Ginecol Obstet Mex* 2006;74:626-39.
15. Parmegiani L, Cognigni G, Bernardi S, Trolio E, et al. Physiologic ICSI: hyaluronic acid (HA) favors selection of spermatozoa without DNA fragmentation and with normal



- nucleus, resulting in improvement of embryo quality. *Fertil Steril* 2010;93:598-604.
- 16. Veeck L. An Atlas of Human Gametes and Concept uses, an illustrated Reference for Assisted Reproductive Technology. Parthenon Publishing Groups 1999;1113-1136.
 - 17. The Latin-American Puregon IVF Study Group. A double-blind clinical trial comparing a fixed daily dose of 150 and 250 IU of recombinant follicle-stimulating hormone in women undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2001;76:950-956.
 - 18. Wiklund M, Bergh C, Hillensjo T, Hoewles, et al. A prospective, randomized comparison of two starting doses of recombinant FSH in combination with cetrorelix in women undergoing ovarian stimulation for IVF/ICSI. *Human Reproduction* 2001;16:1676-1681.
 - 19. Out H, Rutherford A, Fleming R, Tayet C, et al. A randomized, double-blind, multicenter clinical trial comparing starting doses of 150 and 200 IU of recombinant FSH in women treated with the GnRH antagonist ganirelix for assisted reproduction. *Human Reproduction* 2004;19:90-95.
 - 20. Jayaprakasan K, Hopkisson J, Campbell B, Johnson I, et al. A randomized controlled trial of 300 versus 225 IU recombinant FSH for ovarian stimulation in predicted normal responders by antral follicle count. *International Journal of Obstetrics and Gynaecology* 2010;853-852.
 - 21. Rombauts L. Is there a recommended maximum starting dose of FSH in IVF? *J Assist Reprod Genet* 2007;24:343-349.