



VNIVERSITAT  
DE VALÈNCIA

DEPARTAMENT DE PEDIATRIA, OBSTETRÍCIA I GINECOLOGIA  
FACULTAT DE MEDICINA I ODONTOLOGIA

TESIS DOCTORAL

**VALORACIÓN ACTUAL ECOGRÁFICA DE LA  
RECEPTIVIDAD ENDOMETRIAL**

Presentada por:

**CRISTINA RUIZ AGUILAR**

**Licenciada en Medicina**

Dirigida por:

**Prof. Dr. D. FERNANDO BONILLA MUSOLES**

**Prof. Dr. FRANCISCO RAGA BAIXAULI**

**Dr. MIGUEL DOLZ ARROYO**

**Valencia, 2012**



**Prof. Dr. D. FERNANDO BONILLA MUSOLES**, Catedrático de Obstetricia y Ginecología de la Facultad de Medicina de la Universitat de València

**Prof. Dr. D. FRANCISCO RAGA BAIXAULI**, Profesor Asociado del Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología de la Facultad de Medicina de la Universitat de València

**Dr. D. MIGUEL DOLZ ARROYO**, especialista en Obstetricia y Ginecología. Jefe del Área de Reproducción Asistida. Hospital Clínic Universitari de València

**CERTIFICAN:** Que bajo su dirección **Dña. CRISTINA RUIZ AGUILAR** ha realizado el trabajo "Valoración actual ecográfica de la receptividad endometrial"

y para que conste a los efectos legales oportunos firman la presente en Valencia a 10 de Diciembre de 2012

Prof. Dr. D. Fernando Bonilla Musoles

--

Prof. Dr. D. Francisco Raga Baixauli

--

Dr. D. Miguel Dolz Arroyo

--



## **AGRADECIMIENTOS**

*Nunca me imaginé lo costoso que podría llegar a ser realizar una tesis doctoral. Una vez concluida sientes la felicidad del trabajo bien hecho, de aquél que te ha llevado un gran esfuerzo y dedicación. Son muchos los agradecimientos que ésta merece. Creo no haber olvidado a nadie.*

*Gracias...*

*A mi jefe, Don Fernando, por la extrema insistencia y paciencia mostrada todos y cada uno de los días desde que comencé este proyecto. Porque sus ganas infinitas de trabajar son referencia única de este trabajo y de mi profesión.*

*Al Prof. Francisco Raga por toda la calma y ayuda prestada durante este tiempo.*

*Al Dr. Miguel Dolz y a todo el personal de Área de Reproducción Asistida del Hospital Clínic Universitari de València por facilitarme la información necesaria para la realización de esta tesis.*

*A mis adjuntas, adjuntos, amigas y amigos del Hospital Clínic Universitari de València que han oído hablar de esta tesis día tras día y de los que siempre he recibido palabras de ánimo. Gracias a todos porque, además, sin vosotros no sería la persona que soy ahora: Eduardo, Roberto, Carmen Nicolás, José Luis, Víctor, Ximo, Antón, Rencho, Carmen Ruiz, Magardel, María Hueso, María Sánchez, Pocheta, Fran, César y Fernando.*

*A todos los resis y los que algún día lo fuimos por haberos convertido en mi otra familia, Roser, Elena, Toni, Cris, Magda, Belen, Lorena, Rosa, Ana, Miriam, Adela, Elia, Carol, Ange, David, Antonio, Mireia, Lolo, María, Noemi, Mari Pepa, Maite, Ana, Ángel, Norman y Carol. A mis co-erres, Pepe y Nuria, de manera especial por ser mi sincero e incondicional apoyo todos estos años.*

*A mi madre, Amparo. Por facilitarme las cosas, por darme la oportunidad de ser lo que soy y cómo lo soy, por quererme tanto.*

*A mi padre, Vicente, por ser el verdadero impulsor del esta tesis doctoral. Porque un padre es el único que deja atrás sus preocupaciones para encargarse de las tuyas. Por transmitirme su perfeccionismo y sus ganas de hacer las cosas bien sin conformarse con cualquier cosa. Sin su ayuda esto hubiese sido imposible.*

*A Josevi por aguantar día a día las idas y venidas de este proyecto tan largo. Por darme la fuerza necesaria y no permitirme desistir nunca pese a las dificultades.*

*A mi pequeña Laia, porque su risa y las ganas de estar juntas son el gran motor para haber concluido este trabajo.*

*València, Diciembre 2012*

## **INDICE**

---

---

## ÍNDICE DE CAPÍTULOS

PÁGINA

<b>1.- INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>1.1.- MARCO TEÓRICO</b> .....	3
1.1.1.- ESTERILIDAD E INFERTILIDAD. CAUSAS .....	3
1.1.1.1.- EDAD DE LOS PROGENITORES.....	4
1.1.1.2.- FACTOR FEMENINO .....	6
1.1.1.3.- FACTOR MASCULINO .....	14
1.1.1.4.- FACTOR MIXTO .....	16
1.1.2.- REPRODUCCIÓN ASISTIDA .....	16
1.1.2.1.- INSEMINACIÓN ARTIFICIAL.....	16
1.1.2.2.- FECUNDACIÓN IN VITRO. INYECCIÓN INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDES .....	17
1.1.2.3.- DONACIÓN DE OVOCITOS .....	18
<b>1.2.- DATOS EPIDEMIOLÓGICOS</b> .....	20
<b>1.3.- FISIOLÓGÍA DE LA FECUNDACIÓN Y DE LA IMPLANTACIÓN</b> .....	22
1.3.1.- INTRODUCCIÓN.....	22
1.3.2.- IMPLANTACIÓN EMBRIONARIA .....	24
1.3.2.1.- FASES DE LA IMPLANTACIÓN .....	25
A) PERIODO PRE-IMPLANTATORIO .....	25
a) PREPARACIÓN DEL ENDOMETRIO .....	25
b) PREPARACIÓN DEL BLASTOCISTO .....	28

B) PERIODO IMPLANTATORIO .....	28
a) APOSICIÓN Y ORIENTACIÓN .....	28
b) ADHESIÓN.....	29
c) INVASIÓN .....	29
1.3.2.2.- REGULACIÓN DE LA IMPLANTACIÓN.....	31
1.3.2.3.- ASPECTOS INMUNOLÓGICOS DE LA IMPLANTACIÓN .....	32
1.3.2.4.- PATOLOGÍA DE LA IMPLANTACIÓN. IMPLICACIONES CLÍNICAS .....	34
<b>1.4.- MÉTODOS DE ESTUDIO DE LA RECEPTIVIDAD ENDOMETRIAL.....</b>	<b>36</b>
1.4.1.- INTRODUCCIÓN .....	36
1.4.2.- BIOPSIA ENDOMETRIAL.....	37
1.4.3.- HISTEROSCOPIA.....	37
1.4.4.- GENÉTICA ENDOMETRIAL.....	38
1.4.5.- ECOGRAFÍA. ASPECTOS ECOGRÁFICOS DEL ENDOMETRIO RELACIONADOS CON LA RECEPTIVIDAD ENDOMETRIAL .....	40
1.4.5.1.- MORFOLOGÍA ENDOMETRIAL.....	41
1.4.5.2.- ESPESOR ENDOMETRIAL .....	51
1.4.5.3.- VOLUMEN ENDOMETRIAL .....	55
1.4.5.4.- DELIMITACIÓN .....	62
1.4.5.5.- CONTRACTILIDAD MIOMETRIAL.....	64
1.4.5.6.- PERFUSIÓN UTERINA .....	65
A) EVALUACIÓN BIDIMENSIONAL .....	65
B) EVALUACIÓN TRIDIMENSIONAL.....	67
<b>2.- JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.....</b>	<b>73</b>
2.1.- ANÁLISIS BIBLIOMÉTRICO .....	75
2.2.- JUSTIFICACIÓN .....	79
<b>3.- OBJETIVOS DEL ESTUDIO .....</b>	<b>81</b>
3.1.- OBJETIVOS GENERALES .....	83
3.2.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	84

<b>4.- POBLACIÓN Y MÉTODOS</b> .....	85
4.1.- DISEÑO DEL ESTUDIO .....	87
4.2.- POBLACIÓN .....	88
4.3.- PROTOCOLO DEL ESTUDIO .....	89
4.3.1.- EVALUACIÓN INICIAL .....	90
4.3.2.- INTERVENCIONES .....	93
4.3.3.- SEGUIMIENTO.....	97
4.4.- VARIABLES .....	97
4.4.1.- VARIABLES PREDICTIVAS .....	97
4.4.1.1.- CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LAS PACIENTES .....	98
4.4.1.2.- VARIABLES ECOGRÁFICAS .....	99
4.4.1.3.- VARIABLES DE INTERVENCIÓN .....	104
4.4.2.- VARIABLES OBJETIVO .....	104
4.4.2.1.- DIAGNÓSTICO BIOQUÍMICO DE EMBARAZO .....	104
4.4.2.2.- DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE EMBARAZO.....	105
4.5.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	106
<b>5.- RESULTADOS</b> .....	109
5.1.- CARACTERÍSTICAS DESCRIPTIVAS DEL GRUPO DE ESTUDIO .....	111
5.1.1.- MUESTRA .....	111
5.1.2.- CAUSAS DE ESTERILIDAD.....	111
5.1.3.- VARIABLES ECOGRÁFICAS .....	114
5.1.4.- VARIABLES DE INTERVENCIÓN (FIV/ICSI) .....	117
5.1.5.- VARIABLES OBJETIVO .....	121
5.2.- PREDICTORES DE DIAGNÓSTICO BIOQUÍMICO DE EMBARAZO .....	124
5.2.1.- ANÁLISIS UNIVARIANTE.....	124
5.2.1.1.- EDAD Y VARIABLES CLÍNICAS.....	124
5.2.1.2.- VARIABLES ECOGRÁFICAS .....	126
5.2.1.3.- VARIABLES DE INTERVENCIÓN (FIV/ICSI).....	129
5.2.2.- ANÁLISIS MULTIVARIANTE .....	130
5.3.- PREDICTORES DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE EMBARAZO .....	132

5.3.1.- ANÁLISIS UNIVARIANTE .....	132
5.3.1.1.- EDAD Y VARIABLES CLÍNICAS .....	132
5.3.1.2.- VARIABLES ECOGRÁFICAS.....	134
5.3.1.3.- VARIABLES DE INTERVENCIÓN (FIV/ICSI).....	136
5.3.2.- ANÁLISIS MULTIVARIANTE .....	137
<b>6.- DISCUSIÓN .....</b>	<b>141</b>
6.1.- DISEÑO DEL ESTUDIO.....	143
6.2.- VARIABLES PREDICTIVAS.....	146
6.3.- VARIABLES OBJETIVO.....	148
6.4.- RESULTADOS.....	149
<b>7.- CONCLUSIONES .....</b>	<b>161</b>
<b>8.- BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>163</b>

# **1.- INTRODUCCIÓN**

---

## 1.- INTRODUCCIÓN

La esterilidad y la infertilidad son dos caras de un problema creciente que cada vez exige un mayor conocimiento de los procedimientos diagnósticos y terapéuticos para su abordaje.

Desde el nacimiento de Louise Brown, la primera niña de la historia conseguida tras una fecundación *in vitro* el 25 de Julio de 1978 en la Clínica Bourn Hall de Londres, la medicina reproductiva y más concretamente la reproducción asistida, ha sido uno de los campos de la ginecología de mayor crecimiento e innovación en los últimos años.

El tratamiento de la infertilidad mediante las técnicas de reproducción asistida y específicamente la fertilización *in vitro* (FIV) y la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) ha sido objeto de importantes avances, siendo de destacar los esfuerzos para el desarrollo de procedimientos que mejoren la selección de embriones con potencial implantación óptima, aumenten la eficacia de la transferencia de un solo embrión y reduzcan el riesgo de gestaciones múltiples (Huang y Rosenwaks, 2012).

Los determinantes de éxito de las técnicas de FIV y de ICSI (FIV/ICSI) son numerosos y no del todo conocidos y los métodos diagnósticos disponibles en la actualidad no han alcanzado todavía la sensibilidad suficiente para predecir con seguridad el éxito de implantación y embarazo. La identificación de factores

embrionarios y endometriales con capacidad predictiva de implantación podrían incrementar las probabilidades de éxito en la FIV/ICSI.

Son numerosos los estudios que atribuyen la responsabilidad del resultado reproductivo a la calidad del embrión (Alikani et al, 1999; Min et al, 2006; Stylianou et al 2012) y a la presencia de un endometrio receptor propicio. (Simon et al, 2000; Achache y Revel, 2006; Strowitzki et al, 2006; Revel, 2012). El conocimiento actual sobre las características embrionarias es sensiblemente superior a los marcadores de receptividad endometrial y a su potencial contribución al proceso de implantación. Este hecho se atribuye a las dificultades de estudio clínico del endometrio y a la baja sensibilidad de los parámetros ecográficos habituales a la hora de demostrar con seguridad la probabilidad de implantación (Friedler et al, 1996; Puerto et al, 2003; Abdallah et al, 2012).

La condición endometrial requiere, por tanto del desarrollo de técnicas diagnósticas y terapéuticas que tengan como fin último conseguir el mejor endometrio que albergue a aquel embrión de mayor calidad (Mercé et al, 2008).

La evaluación ecográfica del endometrio con equipos de alta resolución, la incorporación de nuevos parámetros ultrasonográficos 2D, 3D y los estudios vasculares endometriales mediante Doppler abren nuevas perspectiva al conocimiento de la receptividad endometrial, de modo que sea posible identificar las condiciones endometriales más adecuadas y con valor predictivo de cara al éxito potencial de la reproducción asistida (Schild et al, 2001; Chien et al, 2002; Järvelä et al, 2011; Singh et al, 2011; Salzillo et al 2012).

Este trabajo de investigación se plantea por la necesidad de incrementar las aportaciones al conocimiento de la receptividad endometrial. Se evalúan los resultados de los estudios ecográficos actuales en modos bidimensional y tridimensional, con el fin de determinar si estas pruebas pueden contribuir a la predicción de los resultados de FIV/ICSI en términos de diagnósticos bioquímico y clínico de embarazo.

## **1.1.- MARCO TEÓRICO**

---

### **1.1.1.- ESTERILIDAD E INFERTILIDAD**

Clásicamente la esterilidad se ha definido como la incapacidad de una pareja para la concepción natural en un determinado plazo de tiempo. La Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO), la *American Fertility Society* y la Organización Mundial de la Salud (OMS) consideran una pareja estéril cuando es incapaz de lograr la concepción espontánea tras un año de relaciones sexuales sin protección. Por contra, otras sociedades como la Sociedad Europea de Embriología y Reproducción (ESHRE) y la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia (FIGO) consideran un plazo de dos años para poder hablar de este término (Font y Bonilla-Musoles, 2009: 1-9).

En el estudio de estos problemas es importante diferenciar entre varios conceptos que se confunden en la práctica habitual con relativa facilidad. Así, el término esterilidad se refiere a la falta de concepción espontánea tras un año de relaciones sexuales sin protección, pudiéndose diferenciar entre esterilidad primaria si no se ha conseguido ningún tipo de gestación en el plazo descrito, y esterilidad secundaria si tras una gestación espontánea normal no se consigue una nueva concepción. Por otra parte, el término infertilidad hace referencia a la incapacidad de lograr un recién nacido viable tras dos gestaciones espontáneas consecutivas.

## CAUSAS DE ESTERILIDAD

### 1.1.1.1.- EDAD DE LOS PROGENITORES

Es evidente que el factor edad ejerce una influencia directa sobre la fertilidad y numerosos estudios han demostrado repetidamente que el aumento de la edad de los progenitores va acompañada de una reducción progresiva de las tasas de fertilidad.

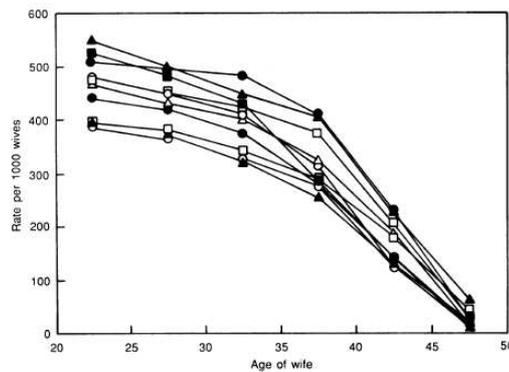


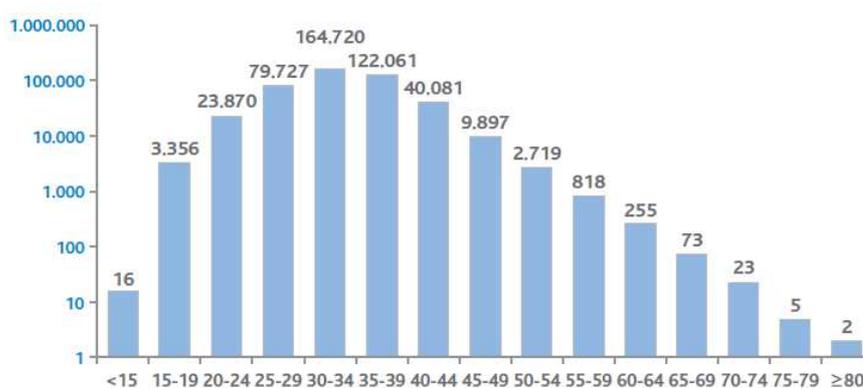
Fig. 1. Marital fertility rates by 5-year age groups (5). The ten populations (in descending order at age 20 to 24) are Hutterites, marriages 1921-30 (▲); Geneva bourgeoisie, husbands born 1600-49 (■); Canada, marriages 1700-30 (●); Normandy, marriages 1760-90 (○); Hutterites, marriages before 1921 (□); Tunis, marriages of Europeans 1840-59 (△); Normandy, marriages 1674-1742 (●); Norway, marriages 1874-76 (□); Iran, village marriages, 1940-50 (▲); Geneva bourgeoisie, husbands born before 1600 (○).

**Figura 1.- Tasas de fertilidad según la edad de la mujer  
Tomado de Menken et al (1986)**

En lo relativo a las cifras de fertilidad asociadas a la edad de la mujer, en el estudio de Henderson y Pratt (1982) se comprobaron tasas de embarazo del 86% en mujeres de 20 a 24 años; que descienden al 78% entre los 25 y 29 años; 63% de los 30 a 34 años y 52% de los 35 a los 40 años. En la misma línea, en el trabajo de Menken et al (1986) se demostraron, a partir de evidencias históricas, datos actuales y en poblaciones diversas, diferentes tasas de fertilidad relacionadas con la edad (Figura 1), observándose frecuencias de esterilidad del

10% entre los 20-29 años, 25% entre los 30-39 años, y 50% por encima de 40 años.

Dunson et al (2004) estudiaron en población europea las consecuencias del envejecimiento en el número de parejas aparentemente sanas, diferenciando situaciones de esterilidad cuando se demostraba incapacidad para concebir sin reproducción asistida o infertilidad en caso de no poder concebir dentro de un año de relaciones sexuales sin protección. Concluyeron que el aumento de la infertilidad con la edad es atribuible sobre todo a la disminución de las tasas de fertilidad más que a la esterilidad absoluta. Así, encontraron una frecuencia global de esterilidad del 1%, no asociada a la edad y porcentajes de infertilidad en el 8% de mujeres entre 19 y 26 años, 13-14% entre 27 y 34 años y 18% entre 35 y 39 años. Observaron también que partir de los 30 años, la edad del progenitor masculino ejerce una mayor influencia, de modo que en varones entre 35 y 40 años las cifras de infertilidad aumentaban en un 18-28% .



**Figura 2.- Hijos nacidos por grupo de edad del padre en España**  
Tomado de Matorras et al (2011)

Sin embargo, la influencia de la edad del progenitor varón en la esterilidad es poco conocida, aunque existen alteraciones de origen endocrinológico, testicular o anomalías morfológicas, funcionales y genéticas de los espermatozoides que pueden explicar el descenso de la fertilidad masculina a partir de los 35-40 años.

Estudios en población española (Matorras et al, 2011; Matorras y Crisol, 2011: 31-42) han demostrado que el número de nacimientos disminuye a partir de los 35 años del padre, con una pendiente constante (Figura 2) en torno a un 23% anual. Se trata de un descenso de la fertilidad desde el punto de vista demográfico, lo cual presumiblemente guarde relación con la disminución en la calidad seminal descrita en diferentes trabajos por numerosos autores, pero que también puede ser condicionada por factores sociales, como un mayor interés por la anticoncepción o biológicos “pararreproductivos” referidos a la edad del varón, menor frecuencia coital y mayor frecuencia de disfunción eréctil).

---

#### 1.1.1.2.- FACTOR FEMENINO

Existen diferentes causas de esterilidad femenina que pueden diferenciarse en los siguientes tipos:

##### **a) Esterilidad de origen tubárico**

La esterilidad de origen tubárico se define como aquella producida por una incorrecta permeabilidad de las trompas de Falopio que impide el paso de los espermatozoides a través de ellas (Bonilla-Musoles et al, 2009: 74-75) y que puede presentarse de diversas maneras. La más común de todas es la **salpingitis**, formando parte de la enfermedad pélvica inflamatoria. Ésta puede a su vez manifestarse de tres formas diferentes: aguda, subaguda y crónica.

- **Aguda.** Macroscópicamente las trompas aparecen eritematosas, congestivas y aumentadas de tamaño, grosor y rigidez. Su luz está dilatada y pueden eliminar por su orificio externo exudado purulento. Ecográficamente puede pasar desapercibida.
- **Subaguda.** En ella el exudado se hace más rico en monocitos y

células plasmáticas, siguiendo el camino hacia la cronicidad.

- **Crónica.** A su vez puede presentarse de tres formas: **piosálpinx** (el exudado purulento retenido determina una distensión variable pudiéndose observar en la ecografía una trompa dilatada en mayor o menor medida con contenido ecogris homogéneo), **hidrosálpinx** (consecuencia de la reabsorción del material purulento del piosálpinx quedando finalmente un líquido acuoso y claro, pudiéndose observar ecográficamente una trompa dilatada con material econegativo en su interior) e **intersticial crónica** (trompa dilatada a expensas del engrosamiento de sus paredes, quedando las fimbrias normalmente ocluidas y adheridas a órganos vecinos).

Otras patologías menos frecuentes pueden también ser origen de este tipo de esterilidad. Entre ellas destacan papilomas, pólipos, adenomas, endometriosis, linfangiomas, hemangiomas, tumores adenomatoides, leiomiomas, lipomas, condromas, osteomas, dermoides o anomalías congénitas consecuencia de la falta de desarrollo de los conductos de Müller.

## **b) Endometriosis**

La endometriosis se define en función de la presencia de estroma y glándulas endometriales, tejido similar al endometrial, fuera de la cavidad uterina, produciendo una reacción inflamatoria crónica (Bonilla-Musoles et al, 2009: 74-75; Raga et al, 2009: 89).

Actualmente la endometriosis es una enfermedad de difícil diagnóstico debido a diversas peculiaridades, como son su gran abanico sintomático; la posibilidad de un curso subclínico o incluso asintomático; su carácter progresivo a lo largo del tiempo; las limitaciones que encuentran los métodos diagnósticos no invasivos sobre todo en las primeras fases de la enfermedad y la dificultad de implantación de métodos diagnósticos invasivos, como es la laparoscopia y biopsia, por su importante impacto económico y el riesgo asociado que conlleva,

aunque sigue siendo el método fundamental para el diagnóstico de esta enfermedad (Bonilla-Musoles F et al, 2001). De esta manera el diagnóstico de la endometriosis implica la conjunción de una serie de hallazgos tanto clínicos como los que resultan de las técnicas de imagen o del análisis de determinados biomarcadores, encontrándose estos últimos en continuo desarrollo.

Clínicamente la endometriosis engloba varias características definitorias: infertilidad; dolor pélvico crónico, en forma de dismenorrea, dolor intermenstrual, dispareunia; alteraciones en la defecación y/o micción o incluso hemorragias uterinas disfuncionales.

La exploración física de las pacientes con endometriosis en estadios muy tempranos puede ser anodina y de muy poca utilidad. Si no es así, se pueden encontrar numerosos hallazgos como son, entre otros: movilidad reducida del útero; anexos fijados en el útero o en la pared pélvica; palpación de masas blandas, nódulos o fibrosis; visualización de implantes púrpura-rojizos mediante un espéculo.

El estudio ecográfico es el método de imagen más comúnmente utilizado para la evaluación de esta enfermedad. La caracterización típica de los implantes endometriósicos incluye alguno de los siguientes signos: imagen en cristal esmerilado con ecos de bajo nivel, pared gruesa e irregular pero bien definida, movilidad ovárica reducida y/o fijación interovárica.

Desde el punto de vista anatomopatológico la endometriosis se caracteriza por: estroma endometrial, glándulas endometriales, epitelio endometrial y macrófagos cargados de hemosiderina. Sin embargo, aunque los hallazgos histológicos confirman el diagnóstico, la inexistencia de estas lesiones no lo excluye (Raga et al, 2009: 91).

En el año 2005 se publicó la guía clínica para el diagnóstico y tratamiento de la endometriosis realizada por la ESHRE (*ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis*) (Kennedy et al, 2005). Esta guía se revisa

---

regularmente y la última actualización se publicó en Junio de 2010 (Leyland et al, 2009). Los puntos clave que recogen estas guías son los siguientes:

- Las pacientes con sintomatología sugestiva de endometriosis precisan de una laparoscopia diagnóstica como técnica *gold standard* para su confirmación diagnóstica.
- La presencia de una sintomatología sugestiva de esta enfermedad puede ser tratada sin que se confirme por un diagnóstico definitivo.
- En pacientes con dolor asociado a la enfermedad y diagnóstico confirmado vía laparoscópica es útil la supresión ovárica durante 6 meses con tratamiento hormonal.
- La ablación de las lesiones endometriósicas reduce el dolor asociado.
- En endometriosis leves, la supresión hormonal ovárica no mejora el pronóstico reproductivo. En cambio sí que se consigue mediante ablación laparoscópica de las lesiones o la adhesiolisis.
- No existe suficiente evidencia para afirmar que la opción quirúrgica en endometriosis moderada-severa mejore el pronóstico reproductivo.
- Si coexisten otras causas de esterilidad o tratamientos alternativos no han ofrecido resultados positivos, estas pacientes requieren de técnicas de reproducción asistida para conseguir gestación.

### **c) Síndrome de Ovarios Poliquísticos (SOP)**

El SOP es la alteración endocrina más común en la mujer, caracterizada por un incremento en la producción de andrógenos y una alteración en la síntesis de gonadotropinas que termina provocando anovulación crónica (Dolz M, 2010: 99-103; González A, 2008: 63-73).

Tal y como se consensuó en 2003 (Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored

PCOS Consensus Workshop Group, 2004) la confirmación diagnóstica de este síndrome requiere de la presencia de dos de los siguientes tres síntomas:

- Oligo o anovulación, definida por la existencia de uno de los siguientes:
  - Menos de 9 menstruaciones anuales.
  - Ciclos menores de 24 días o mayores de 35 días.
- Hiperandrogenismo clínico y/o analítico.
  - Clínico: hirsutismo, acné, alopecia.
  - Analítico:
    - Elevación de LH y del cociente LH/FSH por encima del percentil 95 respecto a la normalidad.
    - Elevación de testosterona y/o androstendiona.
    - Disminución de la globulina transportadora de hormonas sexuales (SHBG).
    - DHEA-S elevada, sin llegar a los niveles en los que se encuentra en la hiperplasia suprarrenal.

Existe una limitación importante a la hora de definir un exceso de andrógenos; no obstante, la medida de la testosterona libre o el índice de testosterona libre son aparentemente los métodos más sensibles para catalogar un hiperandrogenismo de forma analítica. La única medida de la testosterona total no supone un marcador muy sensible del hiperandrogenismo. Sólo una pequeña porción de pacientes con SOP tendrá una elevación de la DHEA-S. Finalmente existen pocos datos acerca de la elevación de la androstendiona en el SOP, aunque parece que su elevación es más útil para el

diagnóstico del déficit de 21-hidroxilasa.

- Ovario poliquístico ecográfico, definido al menos en uno de los dos ovarios por las siguientes características:
  - Volumen ovárico mayor de 10 ml.
  - Presencia de más de 11 folículos entre 2 y 9 mm de diámetro en cada ovario.

Esta definición no es aplicable a las mujeres que toman anticonceptivos orales ya que el uso de éstos modifica notablemente la morfología ovárica.

En el estudio del SOP deben tenerse en cuenta las siguientes recomendaciones técnicas a la hora de realizar la ecografía:

- Utilización de medios técnicos adecuados así como de un personal especializado y entrenado.
- A ser posible, uso de ecografía transvaginal, especialmente en pacientes obesas.
- Las pacientes con menstruaciones regulares se examinarán en fase folicular temprana (entre los días 3 y 5 del ciclo). Las pacientes con oligo-amenorrea se examinarán entre el tercer y quinto día tras la privación previa con progestágenos. Si en alguno de los dos ovarios aparece un folículo dominante (diámetro mayor de 10 mm) o un cuerpo lúteo, el examen ecográfico deberá posponerse, igualmente que si aparece una tumoración quística no fisiológica.
- El volumen ovárico se calculará de manera simplificada con el cálculo del volumen de una elipsoide ( $0.5 \times \text{longitud} \times \text{altura} \times \text{profundidad}$ ).
- El recuento folicular se estimará en dos secciones, longitudinal y antero-posterior.

Además de los datos ecográficos, existen otros hallazgos que pueden encontrarse en el SOP y que no están recogidos en los criterios diagnósticos. Entre los más importantes se encuentran los siguientes:

- Obesidad, definida como una medida de circunferencia abdominal mayor de 88 cm.
- Resistencia insulínica, definida como una disminución de la utilización de la glucosa mediada por la insulina. Actualmente no existe una prueba *gold standard* para su diagnóstico pero puede ser puesta de manifiesto en base a las siguientes determinaciones analíticas:
  - Cociente glucemia/insulina mayor de 4.5.
  - Insulinemia en ayunas mayor de 10-15 U/ml.
  - Insulinemia postprandial, dos horas después de la ingesta de 75 gramos de glucosa, mayor o igual de 60 mg/ml.
  - Test de tolerancia a la glucosa. Tras la ingesta de 75 gramos de glucosa, con previo ayuno de 12 horas, se determina la glucemia basal y a los 120 minutos. Se consideran patológicos valores mayores de 140 mUI/ml a los 120 minutos. o mayores de 200 mUI/ml en cualquier momento de la prueba.
  - HOMA (*Homeostasis Assessment Model*). Se considera anormal si se encuentra por encima de 3.8.
- Dislipemia. En forma de hipertrigliceridemia (mayor o igual de 150 mg/dl) y/o disminución de HDL (menor de 50 mg/dl).
- Elevación de la presión arterial por encima de 130/85 mm Hg.

El diagnóstico diferencial del SOP se ha de realizar con otros síndromes endocrinos que pueden cursar también con hiperandrogenismo, como son:

hiperprolactinemia, hipotiroidismo, hiperplasia suprarrenal congénita, síndrome de Cushing o tumores suprarrenales.

#### d) Fallo ovárico oculto (FOO)

En 2011 se establecieron las pautas diagnósticas del FOO o “pacientes bajo respondedoras” en los denominados criterios de Bolonia (Ferraretti et al, 2011). Según dichos criterios, al menos dos de las siguientes características son necesarias para establecer este diagnóstico:

<b>Tabla 1. Criterios ESHRE para definir una paciente como pobre reponedora (Tomado de Carvajal et al, 2012 )</b>
A) Dos episodios previos de pobre respuesta ovárica ( $\leq 3$ ovocitos recuperados en un esquema convencional) en ausencia de edad materna avanzada o test de baja reserva ovárica
B) Al menos dos de los siguientes: <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Edad materna <math>&gt; 40</math> años o cualquier otro factor de riesgo de baja reserva ovárica (sd. Turner, sd X frágil, galactosemia, quimioterapia, radioterapia pévica, cirugías ováricas, síndromes pluriglandular, etc.)</li> <li>2. Un ciclo previo con pobre respuesta ovárica (<math>\leq 3</math> ovocitos recuperados en un esquema convencional)</li> <li>3. Test de reserva ovárica alterados (recuento de folículos antrales <math>&lt; 6</math>; FSH día 3 <math>&gt; 10</math> mU/ml; estradiol día HCG <math>&lt; 500</math> pg/ml; test clomifeno alterado; test de luprón alterado; AMH <math>&lt; 0,5-1,1</math> ng/ml)</li> </ol>
El criterio A) ó B) son válidos para la definición

También si coinciden más de dos episodios de baja respuesta ovárica tras estimulación ovárica máxima se puede definir a una paciente como baja respondedora en ausencia de edad materna avanzada o test de reserva ovárica alterado.

#### e) Otras causas

Dentro de este apartado se agrupan diversas causas de esterilidad que

consideradas de manera individual son de baja prevalencia pero cuantitativamente son importantes si se valoran en conjunto.

Destacan en este apartado: patología cervical, patología uterina (miomas, pólipos, adenomiosis), fallo ovárico precoz, insuficiencia de cuerpo lúteo, alteraciones del eje hipotálamo-hipofisario.

#### **f) Idiopática**

De las parejas que no pueden concebir sin una causa identificable, el 30% se define como idiopática. No existe una definición uniforme para este diagnóstico y varía en la literatura en función de la duración de la infertilidad y la edad de la mujer (Ray et al, 2012).

En todo caso, la esterilidad de causa idiopática se considera como la ausencia de cualquiera de las causas descritas anteriormente.

---

#### **1.1.1.3.- FACTOR MASCULINO**

El estudio de mayor valor para el diagnóstico de la esterilidad de causa masculina es el seminograma o espermiograma.

El semen posee dos características importantes: el número total de espermatozoides, que refleja su producción por parte de los testículos, y el volumen total de fluido, que refleja a su vez la actividad secretora de las glándulas accesorias. La naturaleza de los espermatozoides, su vitalidad, movilidad y morfología y las características del líquido seminal también son importantes para la evaluación de la función seminal.

En el año 2010 se publicaron los valores normalizados para el espermograma (WHO, 2010; Cooper et al, 2010). Estos valores sustituyen a los valores de referencia anteriores, consensuados y utilizados desde 1999. En la tabla 2 se recoge los valores actuales.

<b>Tabla 2. Límites inferiores para las diferentes características seminales (percentil 5; IC 95%)</b>	
<b>Parámetro</b>	<b>Límite inferior</b>
Volumen semen (ml)	1.5 (1.4–1.7)
Número total espermatozoides ( $10^6$ por eyaculado)	39 (33–46)
Concentración espermática ( $10^6$ por ml)	15 (12–16)
Movilidad total (PR + NP, %)	40 (38–42)
Movilidad progresiva (PR, %)	32 (31–34)
Vitalidad (espermatozoides vivos, %)	58 (55–63)
Morfología espermatozoides (formas normales, %)	4 (3.0–4.0)

En la tabla 3 pueden observarse las diferencias entre ambos criterios diagnósticos (Sarabia et al, 2011).

<b>Tabla 3. Valores previos (1999) y actuales (2010) del límite de referencia inferior en espermograma. Entre paréntesis se muestra el intervalo de confianza del 95% (Tomado de Sarabia et al, 2011)</b>		
<b>Parámetro</b>	<b>1999, 4ª ed.</b>	<b>2010, 5ª ed</b>
Licuefacción	Total a los 60 min	Total a los 60 min
pH	7,2-7,8	$\geq 7,2$
Volumen	2,0 mL	1,5 mL (1,4-1,7)
Concentración espermática	20 x $10^6$ /mL	15 x $10^6$ /mL (12-15)
Concentración total	40 x $10^6$	39 x $10^6$
Motilidad total (progresivos + no progresivos)	No detallada	40%
Motilidad progresiva	50%	32%
Viabilidad	75%	58%
Formas normales	15%	4%
Leucocitos	< 1 x $10^6$ /mL	< 1 x $10^6$ /mL
Mar test	< 50 % esp. unidos a partículas	< 50 % esp. unidos a partículas
“Immunobeads”	< 50 % esp. unidos a partículas	< 50 % esp. unidos a partículas

De esta manera, la esterilidad de causa masculina puede definirse en base a cualquier alteración en algún valor del espermiograma, constatada en al menos dos muestras diferentes, tomadas en momentos diferentes y espaciadas una de la otra un intervalo adecuado de tiempo.

---

#### **1.1.1.4.- FACTOR MIXTO**

El factor mixto se define como la coexistencia de las dos alteraciones descritas con anterioridad.

---

#### **1.1.2.- REPRODUCCIÓN ASISTIDA**

Se define como técnica de reproducción asistida todo aquel acto médico, biológico y/o quirúrgico encaminado a la consecución de una gestación que no ha sido posible de manera natural durante un determinado plazo de tiempo.

Actualmente se dispone de tres grandes grupos de tratamientos (Alamá y Remohí, 2011: 43-51).

---

##### **1.1.2.1.- INSEMINACIÓN ARTIFICIAL**

Técnica mediante la cual se deposita a través de una cánula intrauterina semen previamente capacitado dentro del fondo uterino.

El número total de ciclos de inseminación que se suelen realizar es de 4 en el caso de semen de su pareja y hasta 6, en el caso de que el semen sea de un banco de donantes. El número de inseminaciones en cada ciclo suele ser de una o dos.

Son condiciones de esta técnica:

- La mujer precisa tener las trompas permeables, canal genital normal, y el varón tener un seminograma con un recuento de espermatozoides móviles progresivos postcapitación mayor de 3 millones.
- Previamente a la realización de la inseminación, la mujer recibe un tratamiento de estimulación generalmente con gonadotropinas, con la finalidad de obtener 1 o 2 folículos de adecuado tamaño, aunque esta técnica puede realizarse también en el transcurso de un ciclo natural.

---

#### **1.1.2.2.- FECUNDACIÓN *IN VITRO*. INYECCIÓN INTRACITOPLASMÁTICA DE ESPERMATOZOIDES (FIV/ICSI)**

Técnicas de reproducción asistida mediante las cuales la unión de ambos gametos tiene lugar en el laboratorio. Los embriones resultantes son transferidos finalmente al útero para conseguir una gestación.

La fecundación *in vitro* se realiza siguiendo una serie de fases

- Obtención de ovocitos. El éxito de las técnicas de reproducción se incrementó cuando se introdujeron fármacos que permitieron estimular el ovario de manera controlada para aumentar la respuesta ovárica.
  - Análogos de GnRH (hormona liberadora de gonadotropina): antagonistas o agonistas.
  - Gonadotropinas: FSH recombinante o urinaria, HMG, LH.

- Inductores de la ovulación: letrozol o citrato de clomifeno.
- Origen de los ovocitos. Con la incorporación de las técnicas de vitrificación (congelación) de ovocitos se ha optimizado la estimulación ovárica. De este modo, cuando se va a realizar una FIV/ICSI, los ovocitos pueden proceder de un ciclo estimulado en fresco o bien haber sido vitrificados en estimulaciones previas.
- Una vez producida la inseminación de los ovocitos, los embriones resultantes son finalmente transferidos en diferentes estadios de desarrollo: embriones en estadio de células (día 2 o día 3 de desarrollo) o embriones en estadio de blastocisto (día 4 o 5 de desarrollo).

---

### **1.1.2.3.- DONACIÓN DE OVOCITOS**

Es la técnica de reproducción asistida más aceptada por sus buenos resultados. Los ovocitos proceden de una mujer distinta a la que va a resultar gestante.

Para la donación de ovocitos, existen tres pasos:

- Estimulación de la mujer que será la donante de óvulos.
- Donación. Consiste en la inseminación por semen de la pareja de los óvulos obtenidos tras la punción folicular.
- Preparación endometrial por parte de la receptora de los embriones para conseguir un endometrio adecuado con capacidad implantación. Puede ser:
  - En un ciclo natural sin medicación.

- En un ciclo sustituido con estrógenos y análogos de la GnRH (tanto agonistas como antagonistas). Para poder conseguir una quiescencia ovárica que permita mantener el endometrio receptivo durante un largo periodo de tiempo.

La incorporación de la vitrificación de ovocitos de mujeres donantes ha permitido la creación de bancos de ovocitos que han supuesto una mejora en la sincronización entre donantes y receptoras, así como un aumento de la calidad del programa de donación. El banco de ovocitos ha permitido, desde el punto de vista logístico, una mejor programación y reducción del tiempo de espera de la donación de manera significativa, disminuyendo la tasa de cancelación de receptoras.

## 1.2.- DATOS EPIDEMIOLÓGICOS

La esterilidad es un problema clínico muy común en la actualidad. La prevalencia de la esterilidad depende de la definición que se utilice de la misma, siendo muy difícil de evaluar debido a la falta de consenso a la hora de definir este término por las distintas entidades científicas, como ha quedado expuesto previamente. Además, la esterilidad supone una entidad de la que no es fácil obtener información ya que es un problema que implica la intimidad más personal de una pareja.

En términos generales, la especie humana tiene una capacidad reproductiva baja con una gran cantidad de factores que influyen sobre ella. En parejas sin problemas para concebir se estima que un 50-60% conseguirán embarazo tras tres meses de relaciones sexuales sin protección, un 60-70% lo conseguirán después de seis meses y un 75-80% lo habrán logrado tras un año completo (Font y Bonilla-Musoles, 2009: 1-8).

Metodológicamente los estudios epidemiológicos sobre esterilidad pueden realizarse sobre muestras poblacionales o sobre muestras clínicas. Los estudios clínicos suelen infraestimar la prevalencia de este problema ya que tan sólo incluyen aquellas parejas que solicitan una intervención médica (Irvine, 1998). Los estudios poblacionales ofrecen datos muy dispares, encontrando prevalencias entre 3.5-16.7% en países más desarrollados, y cifras algo menores (6.9-9.3%) en países menos desarrollados (Boivin et al, 2007).

Sin embargo, y pese a las dificultades metodológicas descritas previamente, se considera con bastante seguridad que las cifras de prevalencia de este problema alcanzan el 10-15% de las parejas que buscan una gestación, suponiendo estas cifras de 50 a 80 millones de personas en todo el mundo (Irvine DS, 1998; Boivin et al, 2007; Font V y Bonilla-Musoles F, 2009: 1-8; Juul S et al, 1999; Karmaus W y Juul S, 1999; Wilkesa S et al, 2009).

En algunos estudios (Juul S et al, 1999; Karmaus W y Juul S, 1999) se ha analizado también la distribución geográfica de este problema. Comparando las diferencias en los datos de fecundidad en varios países europeos, han encontrado las máximas tasas de fecundidad en el sur de Italia y norte de Suecia, mientras que éstas eran sensiblemente inferiores en el centro-este de Alemania. Los autores atribuyen estas diferencias a variaciones genéticas y de comportamiento entre las poblaciones integrantes del estudio, más que a otros factores como tabaquismo, elevado índice de masa corporal o edad avanzada. En el trabajo de Karmaus W y Juul S (1999) se indican cifras globales europeas de 23.4% de infertilidad siendo un 18.6% el porcentaje atribuible a España.

Según los datos del estudio Delphi publicados por Matorras R (2011: 315-329) la prevalencia de la infertilidad/esterilidad en España se sitúa actualmente entre un 15% y un 25%, afectando aproximadamente a 800.000 parejas. Se estima que estas cifras tenderán a incrementarse en los próximos 10 años, fundamentalmente por causa femenina y por el impacto de determinados factores de riesgo, principalmente por la edad avanzada. La prevalencia se situará en 2020 entre el 18% y el 25% de las parejas en edad fértil y la incidencia anual se estima para esa fecha en torno a los 18.500 casos/año. En la actualidad se considera que existe una tasa de 23/1000 mujeres en edad fértil como demandantes de tratamientos para conseguir un embarazo. Consecuentemente, y a la vista de estos datos la demanda de asistencia para el tratamiento de la infertilidad aumentará en la misma línea en los próximos años.

## **1.3.- FISIOLÓGÍA DE LA FECUNDACIÓN Y DE LA IMPLANTACIÓN**

---

### **1.3.1.- INTRODUCCIÓN**

En una mujer fértil, el ciclo ovárico se repite de forma periódica dando lugar a una serie de cambios en todo su aparato reproductor que hacen factible una gestación. Tras la ovulación los ovocitos son captados a través de las fimbrias de las trompas y, por determinados movimientos activos de sus cilios y de su tejido muscular, son transportados a través de ellas. El sitio usual de la fecundación es la porción ampular de la trompa, su porción más larga y amplia. Si el ovocito no es fecundado, pasa lentamente a lo largo de toda la trompa y una vez llega al útero se degenera y reabsorbe. Si por el contrario el ovocito es fecundado por el espermatozoide, éste alcanzará el útero en unos tres o cuatro días después en fase de mórula y se implantará ya en fase de blastocisto. Una vez la mórula entra en la cavidad uterina es transportada al lugar de la implantación por las propias contracciones uterinas.

Se consideran dos factores primordiales en el éxito reproductivo: la calidad ovocitaria y la receptividad endometrial. El proceso de la implantación embrionaria es considerado uno de los pasos más críticos para conseguir el embarazo e implica la coordinación de una serie de complejas interacciones entre el blastocisto en desarrollo y el endometrio materno (Jayapracasan K y Rainen-Fenning N, 2010).

La evidencia de tasas de embarazo similares entre mujeres de diferentes edades después de tratamientos de reproducción asistida, especialmente cuando se emplean ovocitos donados, sugiere que la calidad del embrión es el factor más importante del éxito de la implantación (Van Voorhis, 2007). Sin embargo, una proporción significativa de fallos de implantación debe relacionarse con el

endometrio y no ser simplemente la consecuencia de un desarrollo anormal o subóptimo del embrión (Senturk LM y Erel CT, 2008).

El término “receptividad uterina”, también denominado en ocasiones como “receptividad endometrial”, se define como aquel estado dependiente de los esteroides ováricos en el cual el endometrio permite al blastocisto la aposición, penetración y la consecuente inducción de cambios en su estroma que finalizan en la implantación embrionaria (Raga et al, 1999).

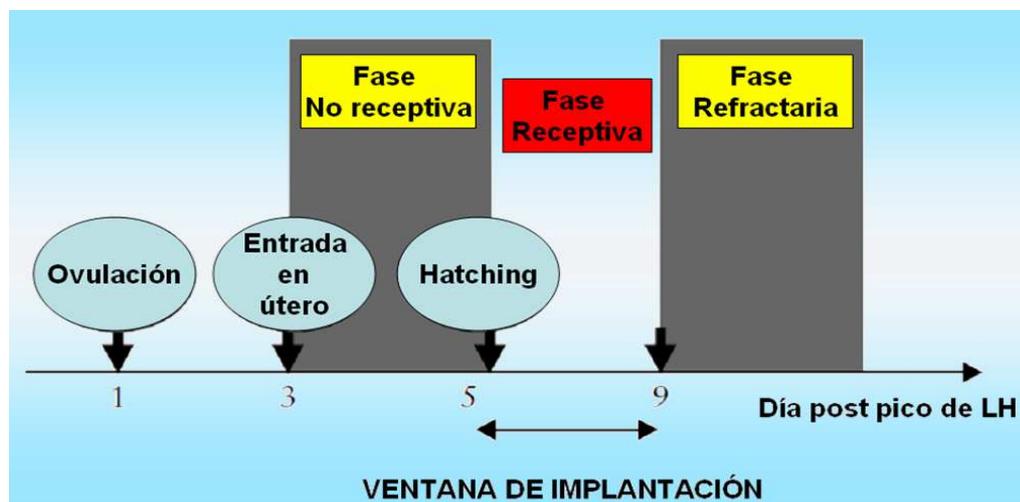


Figura 3: Ventana de implantación

La receptividad endometrial está claramente relacionada con el concepto de la “ventana de implantación” o, también llamada en la literatura anglosajona, “*window of implantation*” (WOI) (figura 3) que sugiere que el endometrio sólo admite la implantación del embrión durante una pequeña ventana de tiempo, que coincide con unos 6 a 9 días tras el pico ovulatorio (días 20 a 24 del ciclo menstrual), es decir, 4 a 6 días tras la transferencia de un embrión de cuatro células en el caso de los procedimientos de reproducción asistida (Makker A y Singh MM, 2006). Fuera de este período específico, el embrión, independientemente de su calidad, sería supuestamente incapaz de implantarse (Ma et al, 2003). De esta manera, una receptividad endometrial reducida aparece

en un porcentaje importante y creciente de esterilidades de causa a priori desconocida (Lessey BA, 2011).

---

### **1.3.2.- IMPLANTACIÓN EMBRIONARIA**

Tal como se ha comentado anteriormente, la implantación embrionaria, o nidación consiste en la fijación del blastocisto al útero cuando éste se encuentra en fase receptiva. Este proceso es en realidad un hecho único en el que dos organismos con diferente dotación genética e inmunológica, el embrión y la madre, son capaces no sólo de comunicarse, sino de establecer una relación de la cual va a depender la continuidad de la especie.

Existen tres aspectos preceptivos en el proceso de la implantación embrionaria: la consolidación de un endometrio receptor competente, la existencia de un embrión viable y el establecimiento de un diálogo sincronizado entre ambos.

La implantación consta de tres fases distintas, relacionadas y consecutivas, denominadas: aposición, adhesión e invasión. Estas tres fases están precedidas por un periodo denominado preimplantatorio durante el cual se producen en el endometrio una serie de cambios en toda su estructura básica que harán posible la nidación del blastocisto. En términos muy generales, durante la aposición las células trofoblásticas en su polo embrionario se orientan hacia el epitelio endometrial superficial. En la fase de adhesión, se produce el contacto directo entre el epitelio endometrial y el trofoectodermo del blastocisto, gracias a la aparición de unas microprotusiones en la superficie del epitelio uterino denominadas pinópodos. Ambas fases ocurren entre el sexto y el séptimo día después de la fertilización. Finalmente, durante el proceso de la invasión, el trofoblasto embrionario penetra y desplaza el epitelio luminal hacia el estroma

endometrial, destruyendo en su paso la membrana basal y estableciéndose así una relación vascular materno-embrionaria (Rashid et al, 2011).

---

### 1.3.2.1.- FASES DE LA IMPLANTACIÓN

#### A) PERIODO PRE-IMPLANTATORIO

---

##### a) PREPARACIÓN DEL ENDOMETRIO

El endometrio está formado por cuatro componentes básicos: epitelio superficial, epitelio glandular, estroma y el compartimento vascular. Así, existen diferentes tipos de células que interactúan para conseguir finalmente un endometrio preparado para la implantación embrionaria.

- **Compartimento epitelial**

El contacto entre blastocisto y endometrio se producirá en el epitelio superficial endometrial. La receptividad de las células epiteliales incluye cambios estructurales en la membrana citoplasmática y en su citoesqueleto (Murphy CR, 1993; Murphy CR y Shaw TJ, 1994) que ocurren simultáneamente al proceso de decidualización o preparación del estroma endometrial.

Se dispone de dos marcadores de receptividad epitelial, uno morfológico y otro bioquímico.

El marcador morfológico más importante de la adaptación epitelial es la presencia de unas formaciones saculares en la porción apical de las células epiteliales denominadas **pinópodos**. Las primeras observaciones de estas protrusiones epiteliales se realizaron en ratones (Nilsson O, 1958) y ratas (Warren RH y Enders AC, 1964), aunque fue Nilsson O (1966) quien publicó la primera

discusión e ilustración extensa de estas proyecciones apicales, pese a que inicialmente sólo les atribuyó una función apocrina. Más tarde él mismo en una publicación en 1972 (Nilsson O, 1972) propuso que estas estructuras tendrían una función de absorción de los componentes que se encuentran en la porción luminal epitelial, produciendo la coalescencia de las paredes endometriales y la consecuente aposición del blastocisto en su superficie. Enders AC y Nelson DM (1973) acuñaron a estas estructuras el nombre de *pinópodos*, manteniéndose esta nomenclatura hasta la actualidad. Así, las células epiteliales pierden sus microvillis y desarrollan estas estructuras que aparecen fugazmente en el día 20 del ciclo y permanecen de 24 a 48 horas, transcurridas las cuales regresan. En estudios con microscopía electrónica del endometrio se puede percibir que estas formaciones se forman de manera rápida y breve durante uno o dos días que coinciden aproximadamente con el día 6 tras el pico ovulatorio (día 20 del ciclo) en mujeres con ciclos regulares, aunque puede haber variaciones inter e intraindividuales de alrededor de 5 días. La demostración de la anormalidad cuali o cuantitativa de los pinópodos en mujeres con dificultades para conseguir embarazo sugiere que ésta podría ser una importante causa de esterilidad femenina (Adams et al, 1986).

Complementariamente a este marcador morfológico, el marcador bioquímico más aceptado es la existencia de un patrón de **integrinas** adecuado en las células endometriales. Las integrinas son glicoproteínas heterodiméricas compuestas por una cadena  $\alpha$  y una cadena  $\beta$ , conociéndose la existencia de al menos 15 subunidades  $\alpha$  y 8 subunidades  $\beta$ . Están situadas en la membrana celular y su dominio extracelular tiene la función de fijación de dichas células a diversos componentes de la matriz extracelular como son la fibronectina, colágeno laminina, vitronectina, fibrinógeno, factor von Willebrand, osteopontina, tenascina o entactina (Albelda SM y Buck CA, 1990). La mayoría de estos componentes comparten la secuencia tripeptídica arginina-glicina-aspártico (RGD) (Ruoslahati E, 1991) lugar de reconocimiento específico en la matriz extracelular. Las únicas integrinas que se expresan de manera permanente en las células endometriales son las  $\alpha 2 \beta 1$ ,  $\alpha 3 \beta 1$  y  $\alpha 6 \beta 4$ . Por el contrario, muchas de ellas

muestran una expresión ciclo-dependiente, como es el caso de  $\alpha v \beta 3$ , receptor de la vitronectina, considerada una de las integrinas más importante en el proceso de la implantación embrionaria, ya que aparece de manera brusca entre el quinto y el sexto día post-ovulatorio, en el seno de la ventana de implantación (Lessey BA et al, 1994).

- **Compartimento del estroma**

La decidualización es el proceso mediante el cual las células del estroma endometrial sufren cambios morfológicos y funcionales preparándose para la llegada del blastocisto. En humanos, durante la fase secretora de un ciclo hormonal normal, acontecen una serie de cambios estructurales que caracterizan la decidualización y que ocurren independientemente de que exista una gestación. Este proceso está regulado por la progesterona producida por el cuerpo lúteo y afecta a todos los tipos celulares que conforman el endometrio. (Strowitzki et al, 2006). Las células del estroma detienen su proliferación a favor del proceso de diferenciación e inician la síntesis y secreción de proteínas como la prolactina o la proteína fijadora del factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGFBP-I) (Christian et al, 2001). El endometrio y la decidua se ven infiltrados por una gran variedad de células derivadas de la médula ósea, mayoritariamente de linfocitos NK, células T y macrófagos (Simón C y Herrero R, 1997; Strowitzki et al, 2006).

- **Compartimento vascular**

La primera respuesta del endometrio al blastocisto es un aumento de la permeabilidad capilar en el lugar en que se producirá la adhesión, respuesta objetivable 24 horas antes del contacto real entre ambas estructuras y está desencadenada por moléculas locales como las prostaglandinas (Simón C y Herrero R, 1997).

## **b) PREPARACIÓN DEL BLASTOCISTO**

El embrión llega a la cavidad uterina en fase de mórula, formado por unas 16 a 32 células, rodeado aún de su zona pelúcida. La mórula continúa su división mitótica hasta convertirse en el blastocisto, formado entonces por unas 100 células. Es en este momento cuando se produce la rotura de la zona pelúcida o "*hatching*", hecho indispensable para la implantación. El blastocisto es capaz de romper la zona pelúcida (ZP) en el interior del útero, *in vitro* o en lugares ectópicos lo que indica que no necesita la participación obligada del endometrio. La rotura de la ZP no significa capacidad de adhesión instantánea. Esta capacidad debe ser adquirida en un período que oscila entre minutos y horas. (Simón C y Herrer R, 1997; Hernández ER et al, 2009).

## **B) PERIODO IMPLANTATORIO**

(Simón C y Herrer R, 1997; Hernández ER et al, 2009).

---

### **a) APOSICIÓN Y ORIENTACIÓN**

Durante esta fase, alrededor del día 6 post ovulación, la conexión morfológica entre blastocisto y endometrio aún no se ha producido. El blastocisto humano mide aproximadamente 300  $\mu\text{m}$  y la luz uterina se ha estrechado siendo prácticamente virtual gracias a la actuación de los pinópodos citados anteriormente.

El blastocisto se posiciona habitualmente en una zona determinada del útero, normalmente en el fundus y tercio superior de la cara posterior uterina, zonas que posteriormente determinarán la localización de la placenta.

## **b) ADHESIÓN**

Consiste en la consecución del contacto directo entre el epitelio luminal endometrial y el trofoectodermo del blastocisto. El intervalo de tiempo entre adhesión e invasión varía desde inmediatamente hasta 24 horas.

El mecanismo molecular por el cual el trofoblasto y el epitelio endometrial parecen relacionarse es a través de las moléculas de adhesión, fundamentalmente mediante la unión de integrinas presentes en el endometrio con sus receptores situados en el blastocisto o a la inversa.

Algunas citoquinas son también factores fundamentales en la implantación embrionaria, su manipulación genética o farmacológica es capaz de bloquear la adhesión embrionaria en animales de experimentación. Un ejemplo de este hecho sería el caso del factor estimulante de colonias tipo 1 (CSF-I), que se encuentra genéticamente ausente en ratones osteopetróticos (*op/op*). Estos animales tienen múltiples defectos esqueléticos, disminución del número de macrófagos y son infértiles. Se ha comprobado que en estos animales los blastocistos son incapaces de adherirse al endometrio, pero si se les inyecta CSF-I, son capaces de implantar normalmente. Otros ejemplos serían el factor inhibidor de la leucemia (LIF) y el sistema de la interleuquina I (IL-I). Ratones transgénicos en los que se ha logrado mutar el gen que codifica dichas moléculas, son infértiles por su incapacidad de implantar debido a una alteración de la adhesión.

## **c) INVASIÓN**

Supone la penetración del endometrio materno por el trofoblasto embrionario. Tras atravesar la barrera epitelial, las células trofoblásticas del embrión invaden el estroma endometrial con el objetivo de anclarse firmemente en él e invadir los vasos sanguíneos maternos para crear un sistema circulatorio de baja presión para el traspaso de nutrientes materno-fetales. Así, esta penetración puede quedar reducida al epitelio, originando una placentación epiteliocorial, con lo que el intercambio maternofetal tiene que cruzar trofoblasto,

epitelio y endotelio, o, como en la mayoría de los mamíferos incluyendo el humano, el trofoblasto invade el estroma uterino estableciendo una placentación hemocorial, en la cual la sangre materna alcanza el espacio intervelloso estando así en contacto directo con el trofoblasto.

Las interacciones del trofoblasto invasor suceden fundamentalmente con los componentes de la matriz extracelular, sobre todo a través de proteasas unidas a la membrana del trofoblasto o secretadas al espacio extracelular. En el momento adecuado, estas proteasas serán anuladas por inhibidores específicos producidos tanto por la decidua como por el mismo embrión, limitando así la capacidad invasiva del trofoblasto. Algunos de los sistemas proteolíticos más importantes conocidos son:

- Activador del plasminógeno-uroquinasa (u-PA) ~ Inhibidor del activador del plasminógeno I (PAI-I) El trofoblasto produce u-PA y posee receptores para u-PA originando un efecto proteolítico justo en el frente de avance del trofoblasto. En modelos animales en los que se ha introducido una mutación en el gen que codifica esta enzima, la invasión trofoblásticas no se produce.
- Metaloproteinasas (stromalisina y colagenasa tipo IV) ~ Inhibidores tisulares de las metaloproteinasas (TIMP). Ambas enzimas son producidos por el trofoblasto y son esenciales para la degradación de la matriz extracelular localizada entre las células del estroma.
- Proteína relacionada con el receptor LDL (LRP). LRP es un receptor cuya acción es eliminar del espacio extracelular complejos proteasa-inhibidor. Este receptor se expresa en el momento de la invasión coincidente con la producción de uPA-PAI-I y su función es capturar, internalizar y reciclar los complejos inactivos uPA-PAI-I. En animales de experimentación en los que se ha introducido una mutación en el gen que codifica LDR y esta proteína no se expresa y su función de limpieza y reciclamiento no se realiza, la invasión y por lo tanto la

implantación no se produce.

- Factor transformante de crecimiento-B (*TGF-B*). *TGF-B* es producido por las células deciduales uterinas y es capaz de transformar citotrofoblasto invasor en sincitiotrofoblasto no invasor (diferenciación celular). También es capaz de inducir la producción de PAI-I y TIMP por el mismo trofoblasto, limitando la acción de las proteasas. *TGF-B* decidual es activado por la presencia de plasmina que es generada por la acción del u-PA trofoblástico. De esta forma, la acción controladora del útero es modulada por la acción invasiva del trofoblasto.

---

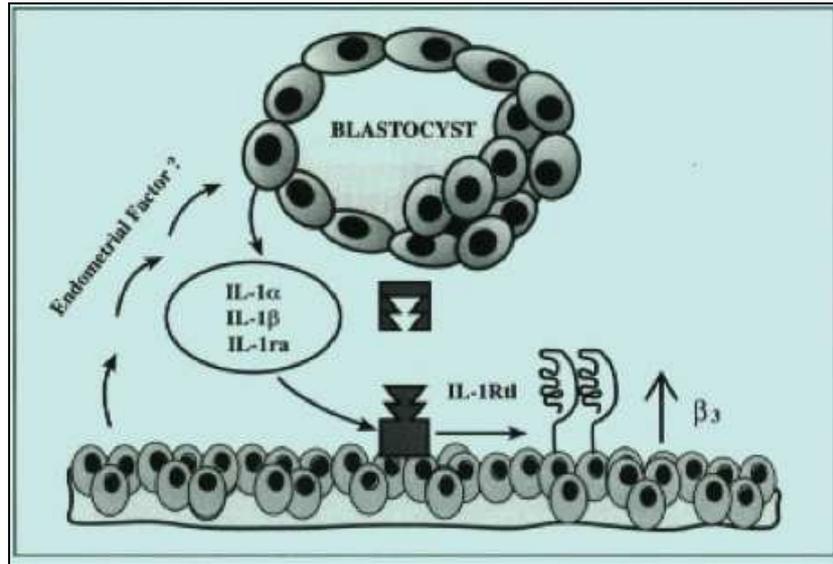
#### 1.3.2.2.- REGULACIÓN DE LA IMPLANTACIÓN

Los esteroides ováricos (estradiol y progesterona) actúan de forma sistémica regulando integrinas y citoquinas endometriales así como los pinópodos, preparando el endometrio para su período de máxima receptividad.

Una vez el endometrio detecta la presencia del embrión, va a liberar una serie de moléculas que actuarán sobre el embrión preimplantatorio haciéndole competente para implantar.

Para ello, el embrión humano, mediante la secreción de IL-I, actuará sobre el endometrio incrementando la presencia de integrina *B3* y favoreciendo de esta forma la adhesión embrionaria (figura 4).

Tras la adhesión, el trofoblasto desarrolla unos sistemas enzimáticos que le van a permitir la entrada del embrión dentro del estroma endometrial. Estos sistemas enzimáticos están regulados no sólo hormonalmente, sino también por citoquinas, moléculas de adhesión y, sobre todo, por el *TGF-B*.



**Figura 4: Regulación de la implantación. Tomado de Simón C y Herrer R (1997)**

El blastocisto implantado se comunica con el ovario materno mediante la producción de gonadotropina coriónica humana (hCG). Esta glicoproteína es sintetizada por el sincitiotrofoblasto y es detectable en plasma entre los días 8 y 10 tras el pico de LH, siendo el factor luteotrófico conocido más importante en la especie humana. Su función es estimular la producción de 17-a progesterona y estrógenos necesarios para mantener la integridad uterina y los mecanismos descritos de implantación, hasta que la placenta toma el relevo entre las semanas 10-15.

### 1.3.2.3.- ASPECTOS INMUNOLÓGICOS DE LA IMPLANTACIÓN

En la relación inmunológica entre madre y feto en el momento de la implantación existen dos hechos incontrovertibles:

- Madre y embrión poseen una dotación genética e inmunológica distinta.

- Durante el embarazo, la madre posee una inmunidad normal. La inmunidad celular y humoral son normales y la gestante puede desarrollar una respuesta inmunológica ante antígenos extraños incluyendo antígenos fetales.

El útero no es un órgano inmunológicamente privilegiado. En animales de experimentación, la inserción en el útero de material inmunogénicamente extraño como piel de otros animales o embriones de otras especies producen un rechazo inmediato. Sin embargo, cuando son transferidos los propios embriones, éstos implantan normalmente y se desarrollan.

La clave de este enigma parece estar en el trofoblasto. Los mecanismos descritos por los que el trofoblasto burla la vigilancia inmunológica materna son la ausencia de antígenos de transplante clásicos y/o la presencia de receptores cuyos ligandos son producidos por endometrio materno y embrión.

Todas las células nucleadas del organismo poseen los sistemas de histocompatibilidad (*major histocompatibility complex, MHC*) clase I (HLA-A, B, C) y clase II (HLA-DR, DQ, DP) y son los que van a proporcionar su identidad inmunológica.

Habitualmente un organismo necesita de 12 a 14 días para rechazar tejido con diferente HLA-I y 40 a 45 días con diferente HLA-II. El trofoblasto se encuentra entre madre y embrión durante todo el embarazo y carece de estos antígenos de transplante. Estas células sólo expresan unos tipos no clásicos denominados HLA-G y HLA-C y que no proporciona esa identidad y por lo tanto rechazo inmunológico. De esta manera la madre no reconoce al embrión como extraño o propio, simplemente no lo reconoce y no genera una reacción inmunológica contra él.

El segundo mecanismo descrito, consiste en que decidua y trofoblasto comparten idénticos receptores, como es el caso del IL-1R tI. Este receptor se localiza en el sincitiotrofoblasto justo en la interfaz materno fetal y su ligando IL-1  $\beta$  es producido por ambos, citotrofoblasto y células deciduales de forma que la

misma proteína producida por ambos, embrión y endometrio va a activar un único receptor situado justo entre ellos.

---

#### **1.3.2.4.- PATOLOGÍA DE LA IMPLANTACIÓN. IMPLICACIONES CLÍNICAS**

La receptividad endometrial y, con ella, la implantación embrionaria tienen un papel fundamental en la consecución de una gestación. No obstante, la alteración del mecanismo fisiológico de la implantación no sólo está implicado en este hecho principal sino que de forma posterior a éste puede relacionarse total o parcialmente con las siguientes entidades patológicas:

- **Aborto preclínico.**
- **Aborto de repetición.** Se define como la existencia de tres o más abortos consecutivos.
- **Acretismo placentario.** El acretismo consiste en una invasión anómala de la placenta con inserción de la misma en el miometrio. Se trata de una patología infrecuente pero con graves repercusiones clínicas. Esta patología está producida por una interacción defectuosa entre trofoblasto y endometrio en los primeros estadios de la implantación.
- **Preeclampsia y retardo de crecimiento intrauterino (RCIU).** Cambios fisiológicos inadecuados en las arterias espirales uterinas son causa de la aparición de preeclampsia y/o retardo de crecimiento intrauterino en pacientes normotensas. Durante la implantación, se produce una segunda oleada de trofoblasto invasor entre las semanas 14 y 20 de gestación que invadirá las arterias radiales situadas en el miometrio sustituyendo las células endoteliales por trofoblasto. Se

conoce que uno de los mecanismos implicados en estas dos entidades clínicas es el fallo de la segunda oleada de citotrofoblasto invasor.

- **Anticoncepción.** La posibilidad de manipular la implantación abre nuevas perspectivas a una nueva anticoncepción antiimplantatoria.

## **1.4.- MÉTODOS DE ESTUDIO DE LA RECEPTIVIDAD ENDOMETRIAL**

---

### **1.4.1.- INTRODUCCIÓN**

El estudio de la receptividad endometrial continua siendo hoy en día un misterio que permanece sin resolver pese a los importantes avances en el conocimiento de la fisiología del endometrio, sobre todo a nivel estructural, bioquímico y molecular. Así, se demuestra cada vez más la necesidad del control rutinario de la receptividad uterina, parámetro en constante revisión en medicina reproductiva, ya que los índices de implantación continúan siendo el mayor factor limitante del éxito en reproducción asistida y precisan ser mejorados. Además, los fallos en la implantación pueden tener consecuencias más allá de la infertilidad, como es el caso de la gestación ectópica, el aborto, la restricción del crecimiento intrauterino o la preeclampsia, entre otros.

Se describen a continuación los métodos disponibles en la actualidad para evaluar el estado de receptividad endometrial:

- Biopsia endometrial
- Histeroscopia
- Estudio genético endometrial
- Ecografía

---

#### **1.4.2.- BIOPSIA ENDOMETRIAL**

Los cambios histológicos y moleculares dependen en gran medida del tejido evaluado, siendo imprescindible disponer de una muestra para biopsia endometrial. La técnica *gold standard* para el estudio del endometrio es su análisis histológico a través de la biopsia endometrial, técnica ya descrita por Noyes en 1950 (Noyes RW, 1950).

Pese a que ha sido un método ampliamente utilizado, la biopsia endometrial no está exenta de controversia ya que, por una parte es una técnica invasiva y su uso es inconcebible en el contexto de una mujer bajo un tratamiento de reproducción asistida y por otra, y no menos importante, el endometrio se presenta como un tejido no uniforme pudiéndose demostrar una asincronía en su histología en cualquier momento del ciclo, dificultando así su estudio y la estandarización de los resultados. Se ha demostrado además una gran variabilidad intraobservador, interobservador e interciclos en el estudio histológico de las muestras endometriales (Coutifaris C et al, 2004; Murray MJ et al, 2004). A ello se suma que esta metodología ha sido hasta ahora incapaz de distinguir entre parejas fértiles e infértiles de forma rotunda y definitiva (Coutifaris C et al, 2004). Además, aunque los factores histológicos determinan de forma indudable el estado de receptividad endometrial, es muy improbable que cualquiera de ellos sea un determinante independiente y, por lo tanto, deberían evaluarse todos en su conjunto.

---

#### **1.4.3.- HISTEROSCOPIA**

El aspecto histeroscópico del endometrio en fase secretora media ha sido considerado en algunos estudios como un factor pronóstico más válido que cualquier determinación hormonal evaluada en este momento (Makker A y Singh

MM, 2006). Según estos estudios, se consideran “buenos” hallazgos histeroscópicos la aparición de aperturas glandulares en forma de anillo y la visualización de una secreción glandular máxima. Por el contrario, la aparición de venas varicosas en la superficie endometrial es considerado un hallazgo “pobre”.

Aún así, la histeroscopia no es uno de los métodos diagnósticos más utilizados en la actualidad para la evaluación endometrial en las técnicas de reproducción asistida.

---

#### **1.4.4.- GENÉTICA ENDOMETRIAL**

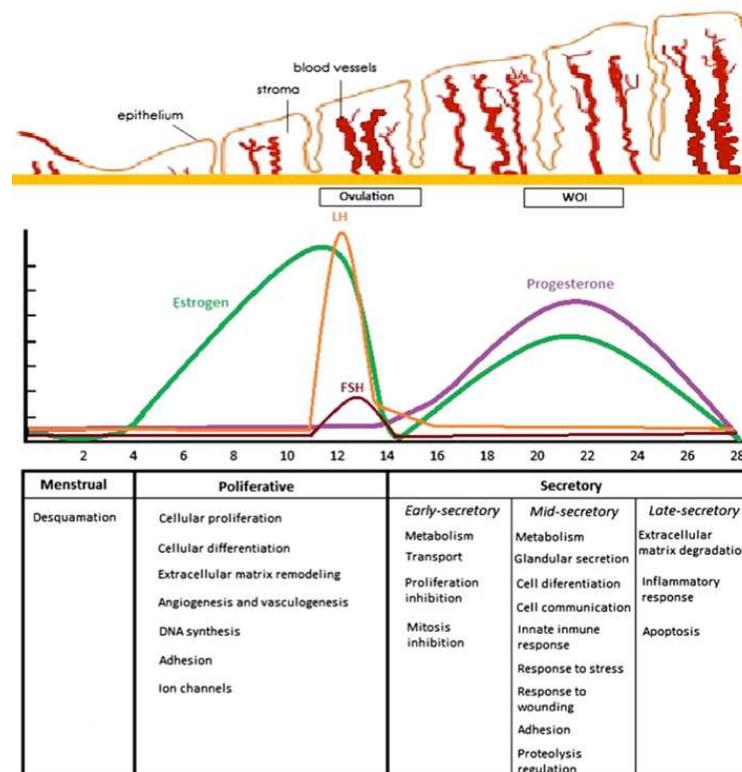
(Ruiz-Alonso et al, 2012 )

El diálogo sincronizado entre embrión y endometrio receptor es el resultado de complejas interacciones autocrinas, paracrinas y yuxtacrinas expresadas por ambas partes. En la “era genómica” en la que nos encontramos, una nueva frontera hacia el completo conocimiento de estos mecanismos pasa por el mapeo global de los mecanismos transcripcionales que subyacen la biología endometrial. La técnica más utilizada para este fin actualmente es el estudio de la expresión génica basada en *microarrays* o chips de ADN. Dichos chips de ADN son superficies sólidas, membranas de nylon o vidrio, a las cuales se une una colección de fragmentos de ADN. La técnica está basada en la complementariedad de la doble cadena de ADN y la capacidad que tiene una única cadena de unirse a las citadas superficies. Su funcionamiento consiste, básicamente, en medir el nivel de hibridación entre la sonda específica y la molécula diana, indicándose generalmente mediante fluorescencia y analizándose posteriormente el nivel de expresión del gen.

Los objetivos básicos de estos estudios transcriptómicos del endometrio son: identificar el perfil transcriptómico fisiológico de cada una de las fases del ciclo endometrial, comparar este perfil entre mujeres fértiles y mujeres infértiles,

comparar también este perfil entre mujeres sanas y mujeres con alguna patología endometrial y por último, estudiar el perfil genético endometrial en ciclos de estimulación ovárica.

En todos estos estudios las muestras se agrupan en función de la fase del ciclo a la cual pertenecen, concluyéndose con el estudio histológico de las mismas realizado por al menos dos patólogos. Referencia de este tipo de estudios son los trabajos de Ponnampalam AP et al (2004) y de Talbi S et al (2006). Ambos estudios concluyen que es posible identificar las diferentes fases del ciclo endometrial en función de su perfil de expresión genética (Giudice L.C, 2006). La figura 5 muestra los procesos metabólicos predominantes en cada una de las fases del ciclo menstrual. Según estas predominancias, cada fase presenta una sobreexpresión y a su vez una represión de la expresión de una determinada cantidad de genes.



**Figura 5.- Procesos metabólicos durante las fases del ciclo menstrual (Tomado de Ruiz-Alonso et al, 2012)**

En términos generales, la fase tradicionalmente más estudiada es la fase

secretora ya que durante la misma el endometrio adquiere la capacidad de implantación embrionaria, sobretodo en la subfase denominada medio-secretora (*mid-secretory*), siendo el perfil transcriptómico de la ventana de implantación la diana principal de este tipo de estudios.

La receptividad endometrial ha sido estudiada desde diferentes puntos de vista, pasando por su vertiente morfológica, celular, bioquímica y molecular. El objetivo último es la consolidación de posibles marcadores de receptividad endometrial que puedan ser aplicables en el diagnóstico y tratamiento a nivel clínico. Hasta la actualidad, ninguno de los marcadores propuestos se ha convertido en una herramienta diagnóstica válida probablemente porque una alteración de la receptividad uterina no estará únicamente relacionada con la anormalidad de una o un pequeño grupo de moléculas, sino que en ella entrarán en juego un gran número de factores. En el artículo de Diaz-Gimeno JA (2011) se describe el desarrollo de la primera herramienta genética de aplicación clínica para el estudio del endometrio. Acuñado con las siglas ERA (*Endometrial Receptivity Array*), este instrumento consiste en un *array* integrado por 238 genes, de los cuales 134 pertenecen a la fase implantatoria, que se expresan en el endometrio en las diferentes fases de un ciclo menstrual y que es capaz de identificar el grado de similitud en la expresión génica de las muestras a estudio endometriales consideradas como normales. Esta herramienta diagnóstica ha sido catalogada con una especificidad del 0.8857 y una sensibilidad del 0.99758.

---

#### **1.4.5.- ECOGRAFÍA. ASPECTOS ECOGRÁFICOS DEL ENDOMETRIO RELACIONADOS CON LA RECEPTIVIDAD ENDOMETRIAL**

Complementariamente a la biopsia endometrial, y de alguna forma para evitar sus riesgos e intentar suplir las deficiencias y dificultades de ésta, se encuentran las técnicas de diagnóstico por la imagen. Entre ellas, la que mayor utilidad tiene en la actualidad es la ecografía. Los estudios ecográficos se intentan

establecer, ya desde hace más de 25 años, como los procedimientos diagnósticos no invasivos de mayor interés para la ginecología general y por extensión, para la medicina reproductiva, estando en constante renovación y crecimiento y siendo numerosos los estudios de investigación sobre su aplicabilidad en este campo.

El uso clínico de la ecografía ha estado muy limitado hasta ahora al control de la monitorización del ciclo ovárico. Los parámetros ultrasonográficos del endometrio se han intentado introducir en la medicina reproductiva para predecir la receptividad uterina pero desafortunadamente hoy en día aún se carece de una técnica ideal, sensible y específica, que se establezca como el método no invasivo por excelencia o *gold standard* para este fin. Clásicamente se han utilizado varios parámetros en ecografía bidimensional para evaluar la receptividad uterina: su apariencia o patrón, el espesor endometrial máximo, la delimitación y la perfusión tisular medida mediante la técnica Doppler. Más recientemente, la ecografía tridimensional ha aportado grandes avances técnicos a la hora de explorar y visualizar las estructuras pélvicas femeninas. Destacan en este campo la capacidad para la medición del volumen total del endometrio, y no sólo su medida y visión en un único plano espacial, y el estudio de la vascularización tisular endometrial y subendometrial. Ambas aplicaciones son en este momento posibles gracias a los programas 3D Power-Doppler y VOCAL (*Virtual Organ Computer-aided Analysis*).

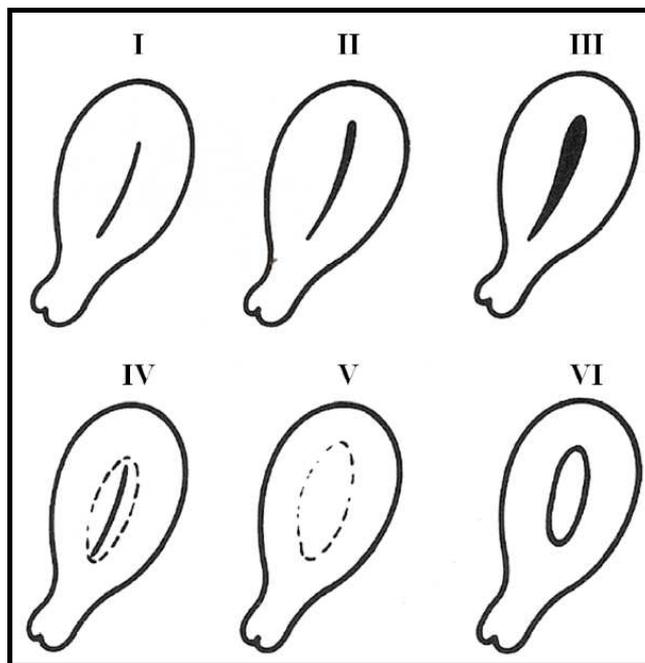
---

#### **1.4.5.1.- MORFOLOGÍA ENDOMETRIAL. APARIENCIA O PATRÓN**

Coincidente con los cambios hormonales y ováricos que se generan en el transcurso del ciclo menstrual, en el endometrio también acontecen una serie de cambios tisulares cíclicos que van haciendo que éste adopte unas determinadas características ultrasonográficas. A través de la ecografía vaginal se han podido comprobar estos cambios e identificar el momento del ciclo en el que cada mujer se encuentra.

Son muy numerosas las publicaciones aparecidas desde que Hackelöer (Hackelöer BJ et al, 1977; Hackelöer BJ, 1984) clasificara las imágenes ecográficas de la mucosa endometrial y las relacionara con la función ovárica y el resultado reproductivo (Bonilla-Musoles F y Pérez Gil M, 1981; Bonilla-Musoles F y Pérez Gil M, 1988). Pese a estar hoy en día probablemente obsoleta, sigue siendo una clasificación comprensible y adecuada, siendo a su vez una de las que más se equipara a la histología.

Hackelöer describió seis tipos de líneas endometriales según la fase del ciclo. Éstas quedan reflejadas en la figura 6.

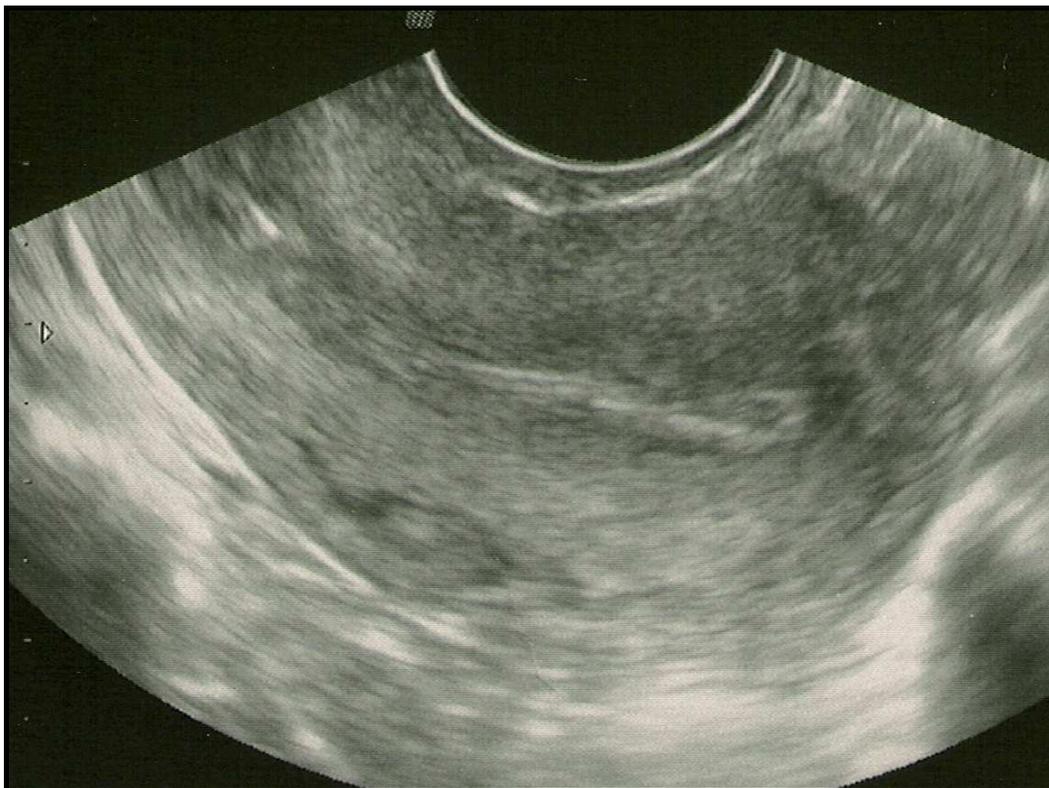


**Figura 6.- Esquema de Hackelöer de los tipos endometriales (Hackelöer BJ et al, 1977)**

La línea tipo 1 o línea endometrial proliferativa inicial aparece en ciclos no hormonales, como la menopausia, o durante el comienzo de la proliferación endometrial. Es una línea fina, alargada, fuertemente refringente y continua de fundus a cuello. Su refringencia y grosor van aumentando a medida que la proliferación es más activa (figura 7).



**Figura 7- Línea tipo I o proliferativa inicial**



**Figura 8.- Línea tipo 2 o proliferativa media**

La línea tipo 2 o línea proliferativa media es una línea más gruesa, prolongada y refringente. Junto a la línea endometrial y a su alrededor,

separándola del miometrio, aparece un fino halo econegativo perteneciente al edema (figura 8).

La línea tipo 3 o línea proliferativa avanzada es de mayor grosor y prolongada a cérvix. Su refringencia es muy similar a los tipos anteriores (figura 9).



**Figura 9- Línea tipo 3 proliferativa avanzada**

En la línea tipo 4, trilaminar o periovulatoria, se observa una imagen trilaminar, consistente en dos capas refringentes periféricas, correspondientes a la unión de la basal con el miometrio, y una central correspondiente a la cavidad uterina. Ésta última es hiperrefringente porque está tapizada por secreción mucosa. Las dos bandas hipoecoicas que aparecen entre ellas representan las capas funcionales esponjosas del endometrio compuestas por glándulas y vasos. Constituye el mejor momento de receptividad uterina (figura 10).



**Figura 10.- Línea 4, trilaminar o periovulatoria**

La línea tipo 5, también denominada secretora inicial o decidual, es una línea gruesa, menos refringente que los tipos 1 a 3, cuya refringencia aumenta desde la periferia al centro a medida que el proceso de decidualización avanza (figura 11).

La decidua completa se denomina línea tipo 6. Esta línea es gruesa, homogénea de centro a periferia, pero menos refringente. Corresponde al proceso completo de decidualización endometrial (figura 12).



**Figura 11.- Línea 5, secretora inicial o decidual**



**Figura 12.- Línea tipo 6 o decidia completa**

Realmente hoy en día pueden resumirse todas estas fases arriba mencionadas en tres únicas variedades: proliferativa (que abarca las clásicas 1 a 3), trilaminar (línea tipo 4), y secretora (líneas tipo 5 y 6).

Todos estos fenómenos son progresivos. El endometrio, visto como una única línea fina después de la menstruación (figura 6), se expande y desarrolla durante la fase folicular bajo la acción de los estrógenos adquiriendo finalmente una apariencia trilaminar (figuras 8, 9 y 10). Los tres primeros tipos, correspondientes a la fase estrogénica, hoy se agrupan bajo la denominación genérica de proliferación. El segundo tipo (línea tipo 4), actualmente denominada trilaminar, corresponde a la época periovulatoria. Está formado por una línea refringente central correspondiente a la luz del endometrio, y dos halos econegeativos periféricos, que corresponden al endometrio con inicio de edema y desarrollo glandular. Las dos líneas blanquecinas que lo delimitan periféricamente corresponden al inicio del endometrio decidualizado en su unión al miometrio adyacente. Después de la ovulación, el endometrio sufre cambios secretores producidos por la exposición a la progesterona. Aunque sólo hay un cambio sutil en su grosor, el endometrio se vuelve ecogénico progresivamente, comenzando en la periferia y progresando hacia el centro (figuras 11 y 12). Crea así, el tercer tipo, decidual o secretor, que abarca los clásicos 5 y 6, hoy llamado decidual o secretor. Durante la fase secretora y a medida que avanza, la decidualización y formación de la capa compacta hacen que ecográficamente el aumento de la refringencia vaya de proximidad de miometrio a superficie de la cavidad. De aquí que se diferenciara clásicamente entre tipo 5 y tipo 6.

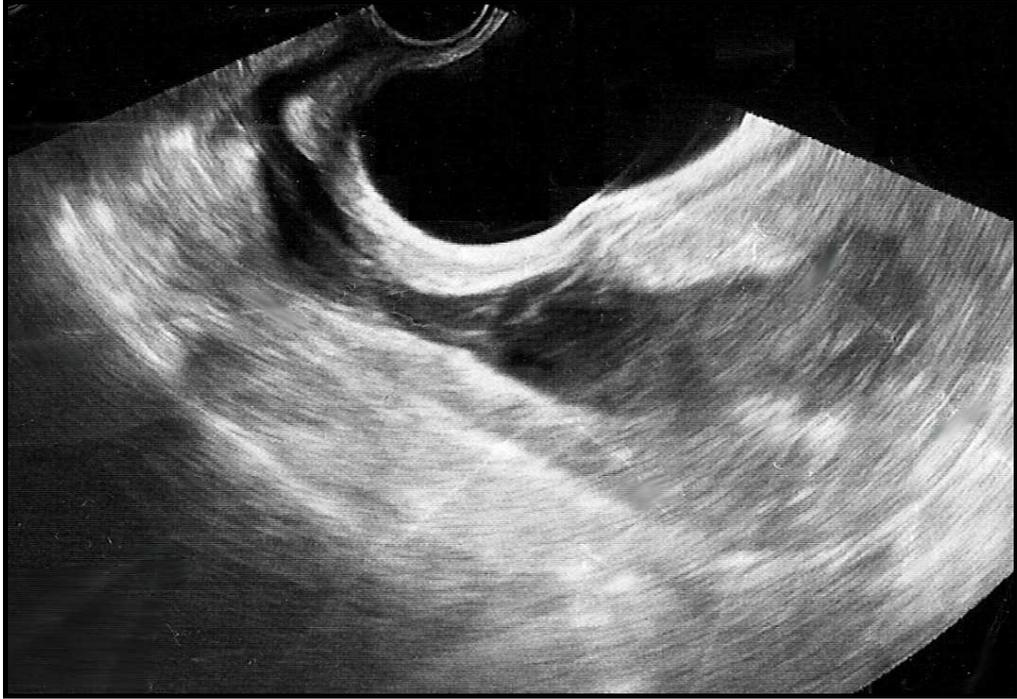
De esta manera, sólo los tipos trilaminar tipo 4 y secretor tipo 5 serían idóneos y predictivos de receptividad (figuras 10 y 11) ya que corresponden a la fase periovulatoria y secretora inicial respectivamente.

Para finalizar la ilustración gráfica de todo el ciclo endometrial, se observa que una vez se inicia la menstruación la sangre aparece en cavidad como una zona econegeativa central de delimitación y forma irregular (figura 13).



**Figura 13.-Inicio de la descamación endometrial. En el interior del endometrio aparece el hematometra**

A medida que ésta progresa puede observarse su salida a través de canal cervical (figura 13) Finalmente, la cavidad endometrial queda limitada a una fina capa dentro de un magma hemorrágico (figuras 14 y 15).



**Figura 14.-** Mitad de la menstruación. Cavity ocupada por material hemorrágico y cérvix abierto, con expulsión del mismo a través del canal cervical hacia vagina



**Figura 15.-** Final de la menstruación. Endometrio fino y persistencia de canal cervical moderadamente dilatado

Estos patrones morfológicos se han relacionado en múltiples estudios con la receptividad endometrial, considerando la implantación y el embarazo como resultado de una receptividad adecuada y demostrando de forma repetida que el patrón trilaminar es mejor que el hiperecogénico en el día de la ovulación o en el día de la administración de la gonadotropina coriónica humana en los ciclos de reproducción asistida (Cohen BM et al, 1992; Fanchin R et al, 2000; Killick SR, 2007). Mientras que algunos estudios basados en esta evaluación subjetiva de la ecogenicidad han aportado datos contradictorios sobre su relación con la posibilidad o no de gestación (Sher et al, 1991; Gonen Y y Casper RF, 1990; Al-Shawaf I et al, 1993) otros han intentado relacionar la receptividad endometrial con el aspecto ecográfico del endometrio a través de una valoración algo más objetiva del mismo mediante la aplicación de sistemas informáticos medidores de su ecogenicidad, como es el caso de Leibovitz et al (1999).

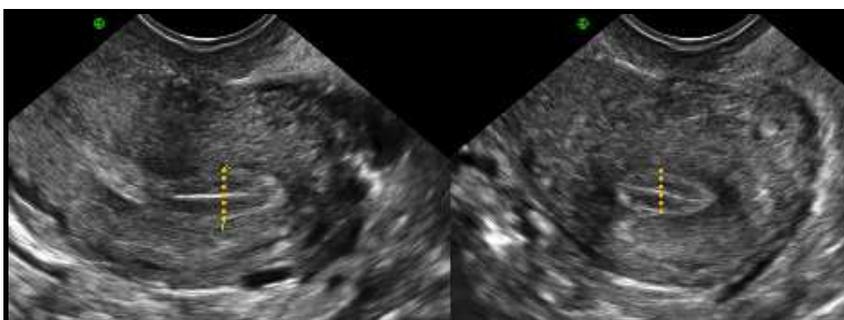
Un estudio de Friedler et al en 1996 (Friedler S et al, 1996) demostró que, mientras un endometrio homogéneo en el día de administración de la gonadotropina coriónica humana para desencadenar la ovulación en los ciclos de reproducción asistida tiene un valor predictivo negativo del 87,5% para conseguir quedar gestante, un patrón endometrial trilaminar el mismo día sólo tiene un valor predictivo positivo del 33,1 % y una especificidad del 13,7% para la predicción del embarazo. Así, la presencia de un endometrio trilaminar no parece garantizar un resultado exitoso, incluso cuando se obtengan embriones de buena calidad.

Además del aspecto morfológico del endometrio, también otras valoraciones más objetivas como el grosor y el volumen han sido evaluados como marcadores de la receptividad endometrial, existiendo aún importantes discrepancias sobre su valor predictivo en la literatura (Frydman R, 2011).

#### 1.4.5.2.- ESPESOR ENDOMETRIAL.

El espesor o grosor endometrial es el parámetro más evaluado del endometrio, aunque los resultados obtenidos sobre su relación con la receptividad endometrial siguen siendo también contradictorios. Una de las principales ventajas, y la razón por la que muchos autores lo han evaluado, es la relativa sencillez de su medida, así como por tratarse de un parámetro diferente e independiente del patrón endometrial (Fleischer et al, 1986; Dickey et al, 1992).

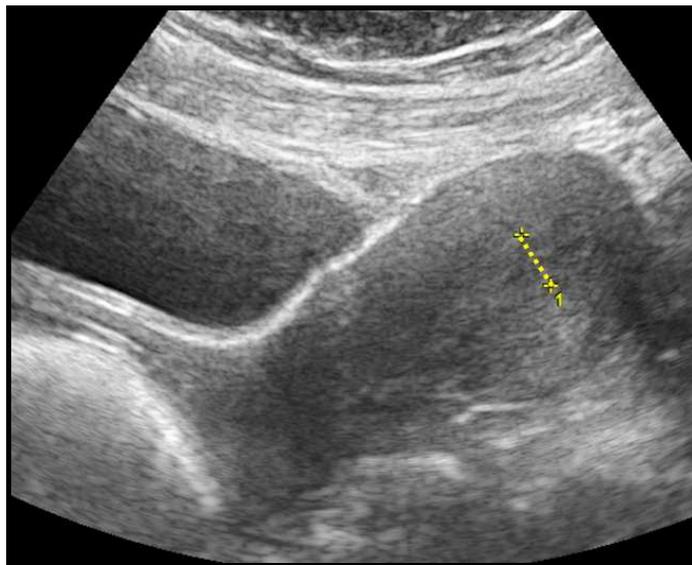
La medición del grosor endometrial se puede realizar vía vaginal en cortes longitudinales o transversales buscando siempre la zona media, próxima a fundus y de mayor grosor (figuras 16 y 17), o vía abdominal en una corte longitudinal, precisando en este caso una buena repleción vesical (figura 18) La mayoría de los estudios han medido el grosor máximo en plano longitudinal (Grandberg S et al, 1991; Saha et al, 2004; Sit AS, 2004) aunque otros muestran el grosor de la unión del tercio superior de la cavidad endometrial con los dos tercios inferiores (Friedler S et al, 1996; Raine-Fenning NJ et al, 2004) Cualquiera de estas formas de medida es válida. De inicio la vía vaginal es superior, pero en ocasiones, cuando hay alguna dificultad, como en el caso de úteros globulosos, adenomiosis, miomatosis, etc, y especialmente en la transferencia embrionaria, la medición vía abdominal con vejiga llena resulta idónea y más aclarativa.



**Figura 16.- Cortes 2D transvaginales en longitudinal (izquierda) y transversal (derecha) para la medición del grosor endometrial**



**Figura 17.- Ecografía 2D transvaginal en un corte longitudinal para la medición del grosor endometrial**



**Figura 18.- Corte longitudinal 2D con vejiga llena para medir grosor endometrial**

Hasta la actualidad hay publicados numerosos estudios que han tratado de establecer un límite inferior por debajo del cual la gestación resulta más dificultosa o incluso imposible, acuñándosele a éste límite el nombre genérico de

endometrio fino. Así, la consideración de un grosor endometrial fino ha variado mucho a lo largo de la literatura (tabla 4) (Frydman R, 2011).

<b>Tabla 4.- Criterios de grosor endometrial fino (Tomado de Frydman R, 2011)</b>	
<b>Grosor</b>	<b>Autores</b>
< 5 mm	DIX (2010)
< 6 mm	SOARES (2008)
< 6,3 mm	De GEYTER (2000)
< 7 mm	BASIR (2002) VERNAEVE (2007) BELLVER (2007) SHUFARO (2008) QUBLAH (2008) GLEICHER (2011)
< 8 mm	TAKASHI (2010) BONILLA-MUSOLES (2010)
< 9 mm	NOYES ( 2005) BORINI (1996) SHER (2002) ZHANG (2005)
< 10 mm	RINALDI (1996)

También hay estudios que muestran la frecuencia de grosores endometriales finos en la población general (tabla 5), parámetro también variable en la literatura (Frydman R, 2011).

<b>Tabla 5.- Grosor endometrial fino en población general (Tomado de Frydman R, 2011)</b>		
<b>Grosor</b>	<b>%</b>	<b>Autores</b>
< 3 mm	3,1%	NOYES (2001)
< 7mm	0,9%	SHUFARO (2008)
	12,8%	NOYES (2001)
	6,9%	AMIR (2007)

Un grosor endometrial entre 5 y 8 mm en el momento periovulatorio es el que se refiere como normal en la literatura, mientras que existe el consenso

según el cual un grosor endometrial de menos de 6 mm tiene un valor predictivo negativo muy elevado para predecir el embarazo (Gonen Y y Casper RF, 1990; Melo MA et al. 2006; Richter KS et al; 2007). Aunque conocemos que son posibles gestaciones con grosores muy pequeños incluso inferiores a 4 mm (Remohí J et al, 1997) según refiere Bonilla-Musoles F et al (2010) un grosor adecuado debe superar los 10 mm. No obstante, en una revisión de 25 trabajos que incluían 2.665 ciclos de tratamiento, Friedler S et al (1996) observaron que sólo en 8 estudios (1.203 ciclos) se encontraron diferencias significativas entre el grosor endometrial de los ciclos con embarazo y los que no lo conseguían. Los rangos para el grosor endometrial fueron similares para los ciclos con concepción (8,6-11,8 mm) y los ciclos sin embarazo (8,6- 11,9 mm) De modo parecido al patrón endometrial, incluso un grosor del endometrio superior a 10 mm tienen un valor predictivo y una especificidad bajos como predictores de embarazo, de 49 y 20% respectivamente. Contrariamente, un estudio de 1.294 ciclos de fertilización *in vitro* confirma una estrecha relación entre el grosor endometrial y la tasa de embarazo. En él, los autores cuestionan que, aunque no es una práctica infrecuente cancelar la transferencia de embriones con un endometrio delgado, con un endometrio que mida 6 mm se pueden alcanzar tasas de embarazo superiores al 50% (Raine-Fenning N et al, 2002).

En un reciente estudio de Zollner U et al (2012) analizaron la relación entre el espesor endometrial, medido el día de la transferencia embrionaria de embriones congelados, y la obtención de la gestación, tanto en ciclos artificiales como el ciclos espontáneos, no encontrando diferencias estadísticamente significativas.

Otro aspecto importante de esta práctica es que no existe ningún tratamiento basado en la evidencia científica que asegure que el endometrio puede aumentar su grosor en los siguientes ciclos y, además, las tasas de embarazo con embriones congelados son claramente más bajas que cuando se realiza la transferencia de embriones frescos.

En el campo de la reproducción asistida se observa además que ciertos protocolos de estimulación ovárica han mostrado un efecto deletéreo sobre el endometrio, como es el caso del clomifeno y de los antagonistas de la GnRH (Bonilla-Musoles F y Pérez Gil M, 1988). Estos tratamientos, fundamentalmente el empleo de antagonistas de la GnRH pueden producir una luteinización precoz con la consecuente elevación de los niveles de progesterona. El mecanismo por el cual niveles aumentados de esta hormona interfieren en la consecución de la gestación es hoy en día aún desconocido. Se postula que este aumento de la progesterona produce un endometrio “fuera de fase”, acelerando la maduración endometrial y su transformación hacia un endometrio secretor (Bosch E et al, 2003).

Algunos autores han analizado también la relación de este parámetro ecográfico con la fisiopatología posterior a la consecución de la gestación. Así, se ha observado que el espesor endometrial medido 14 días después de la transferencia embrionaria aumenta de forma estadísticamente significativa en las pacientes que quedaron gestantes respecto a las pacientes que no consiguieron gestación (Zohav E et al, 2008). Se ha analizado también la relación entre éste y otros parámetros ultrasonográficos como posibles predictores del nacimiento de un recién nacido vivo frente a la posibilidad de un aborto precoz, encontrándose datos dispares entre los diferentes estudios (Ng EH et al, 2007; Zohav E et al, 2008).

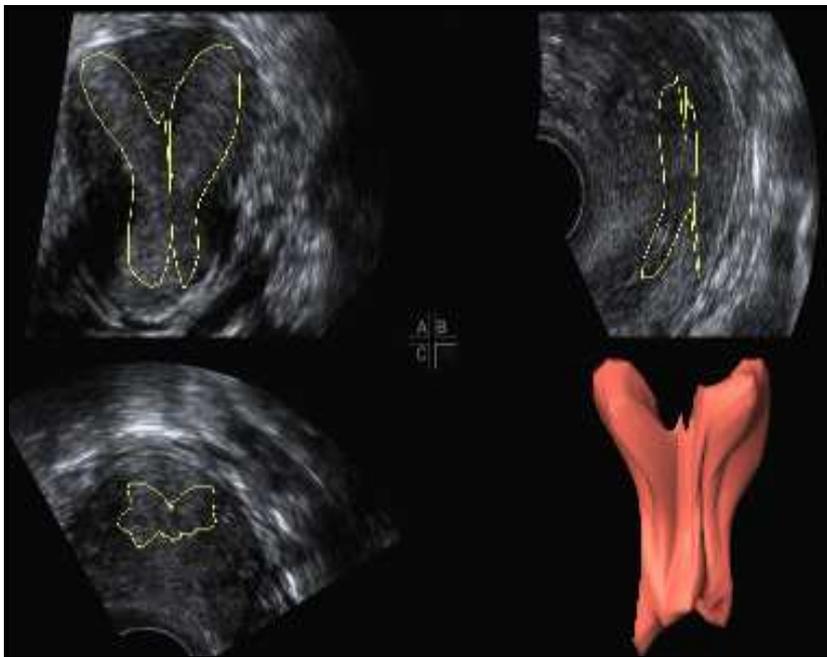
Aún así, el espesor endometrial sigue siendo hoy en día el parámetro ultrasonográfico más estudiado y más utilizado para el estudio de la receptividad endometrial en los ciclos de reproducción asistida.

---

#### **1.4.5.3.- VOLUMEN ENDOMETRIAL**

La medición fiable del volumen endometrial sólo ha sido posible gracias a la introducción de la ecografía tridimensional. Esta nueva tecnología permite

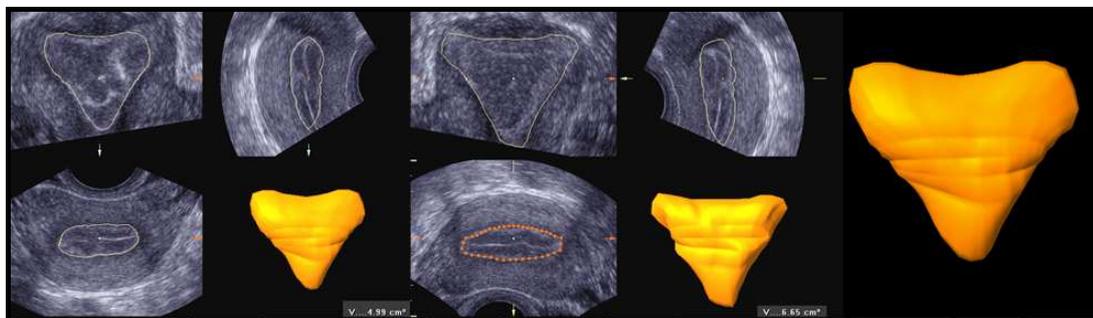
medir objetos irregulares y no emplea las clásicas fórmulas del elipsoide basadas en las medidas de la ecografía bidimensional que pueden aportar errores importantes. Concretamente un programa diseñado específicamente para la medida de volúmenes, es capaz de generar un modelo tridimensional del endometrio (figura 19) a través de la reconstrucción virtual de los mismos mediante la obtención de diversas secciones seleccionadas mediante un eje de rotación de un determinado plano del espacio (Schild RL et al, 1999).



**Figura 19.- Medición del volumen endometrial mediante sistema VOCAL**

La ecografía 3D dispone de un software informático que permite medir volúmenes de las diferentes estructuras que se observan en las imágenes. Este programa se denomina VOCAL, siglas que provienen de las palabras anglosajonas *Virtual Organ Computer-Aided anaLysis*, en castellano “análisis virtual de un órgano asistido por computador”. Este programa se fundamenta en el método rotacional, que permite delimitar volúmenes de una región de interés rotando los planos ortogonales que obtiene la sonda tridimensional, es decir

longitudinal, sagital o plano A, transverso, axial o plano B y horizontal, coronal o plano C (figura 20).



**Figura 20.- VOCAL de un endometrio aislado. A la izquierda y centro se muestra la forma de delimitar los planos espaciales. A la derecha se muestra el cálculo automático del volumen endometrial**

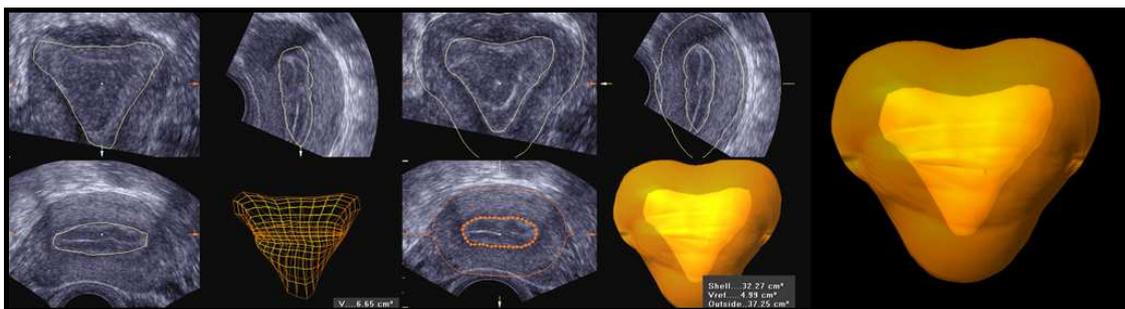
Las rotaciones pueden realizarse desde cualquier plano, no obstante, los giros sólo se realizan en el eje vertical u horizontal de la región de interés. Al escoger el plano A o B se realizan las rotaciones sobre un eje vertical de un semicírculo de  $180^\circ$ . Si se elige el plano C, las rotaciones se realizan sobre un eje horizontal que afecta a los planos C y A. Se puede escoger el número de pasos de cada rotación, lo que permite seleccionar diferentes cortes sobre la imagen bidimensional del plano seleccionado. A partir del trazado del contorno de estos cortes bidimensionales el programa es capaz de recomponer los cortes intermedios y generar el volumen de la región de interés sobre la que se está trabajando. El volumen en superficie se define por triangulación tridimensional de los contornos bidimensionales, lo que significa que cada punto del contorno del corte bidimensional o plano N es conectado por medio de un triángulo en forma de malla con los correspondientes puntos en el plano N+1 Y N-1.

Una vez trazado y representado el volumen de la región de interés, el programa permite conocer su volumen en milímetros. Las estructuras irregulares, como por ejemplo el endometrio, requieren un trazado manual de los contornos para calcular su volumen. (figura 21).

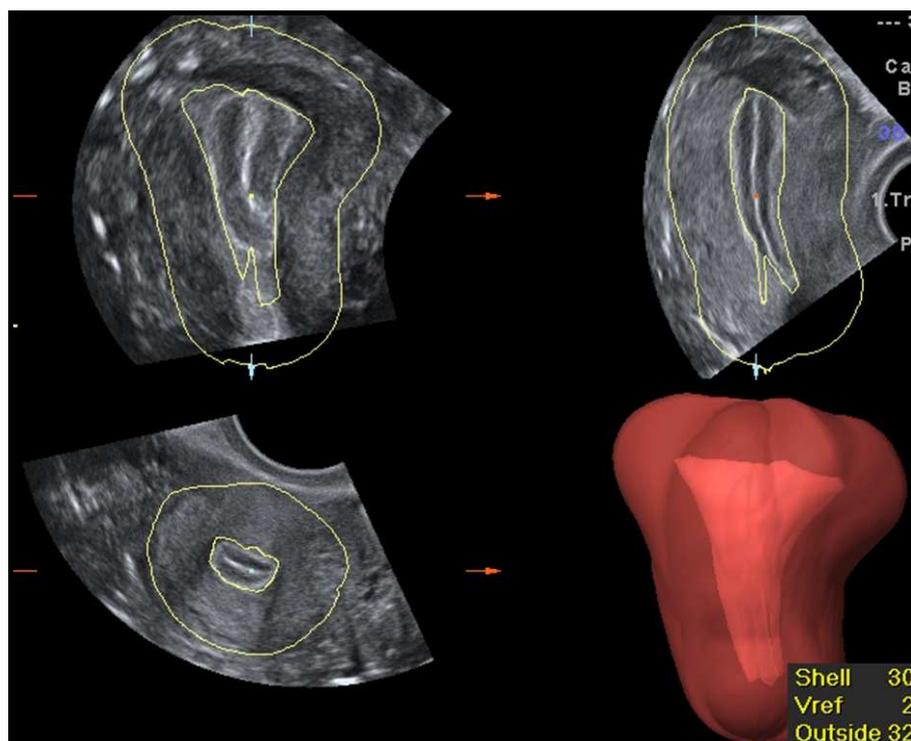


**Figura 21.- Sistema VOCAL para la valoración del volumen endometrial de un endometrio trilaminar**

Otra posibilidad que ofrece este programa es la definición y medición automática de un doble contorno virtual. A partir de la superficie de la región de interés, el programa VOCAL es capaz de generar contornos paralelos al de referencia. Estos caparazones pueden ser internos o externos al contorno de la estructura y pueden definirse diferentes grosores (figuras 22 y 23).



**Figura 22.-Medición caparazón interno y externo de un endometrio.**



**Figura 23.- Modo VOCAL, sistema “corteza” para conseguir una perfecta delimitación entre miometrio y endometrio**

El volumen endometrial ha sido estudiado por muchos investigadores como predictor de la receptividad uterina con hallazgos contradictorios de forma similar a lo expuesto anteriormente con la medida del grosor endometrial. El primer estudio realizado a estos efectos es el trabajo de Raga F et al (1999). Este estudio seleccionó 72 primeros ciclos de estimulación ovárica para posterior fecundación in vitro con el objetivo de evaluar el papel del cálculo del volumen endometrial, medido mediante ecografía tridimensional como predictor de receptividad endometrial en esta técnica de reproducción asistida. Se clasificaron los ciclos de acuerdo al volumen endometrial obtenido el día de la transferencia embrionaria en tres grupos: volumen menor de 2 ml, volumen entre 2 y 4 ml, y volumen mayor de 4 ml. Los índices de implantación y gestación fueron significativamente menores ( $p < 0.05$ ) en el grupo con volumen endometrial menor 2 ml, sin obtenerse ninguna gestación cuando el volumen fue menor de 1 ml. En los otros dos grupos no se encontraron diferencias significativamente estadísticas entre el grupo de embarazo y el de no embarazo. El volumen mínimo encontrado

con consecución de gestación fue de 1,2 ml. Este estudio concluye que la volumétrica 3D es un parámetro objetivo y preciso para predecir la receptividad endometrial.

Mientras que este primer estudio realizado (Raga F et al,1999), así como la mayoría de los que siguieron, sugieren que el volumen endometrial en el día de la administración de la hCG, el día de recuperación de ovocitos o el día de la transferencia de los embriones, es básico a la hora de los resultados reproductivos, otros no han hallado correlación con la posibilidad de embarazo en ciclos de fertilización in vitro (Yaman C et al, 2000; Kupesic S et al, 2001; Schild RL et al, 2000; Järvelä IY et al, 2005; Ng EH et al, 2006; Ng EH et al, 2007).

Muchos de los trabajos que estiman el volumen endometrial y su relación con la receptividad uterina valoran también el grado de perfusión endometrial y subendometrial mediante el uso de la aplicación ecográfica tridimensional Power-Doppler, punto que será descrito con posterioridad.

Un trabajo de Alcázar JL (2006) resume los resultados de un número considerable de estudios acerca del valor de la ecografía tridimensional, en sus variantes de cálculo de volumen y de medición de flujos endometriales y submndometriales, como predictores de la receptividad endometrial. Estos resultados quedan reflejados en la tabla 6.

**Tabla 6.- Revisión de publicaciones sobre el valor predictivo de ecografía 3D. (Tomado de Alcazar JL, 2006)**

Summary of data published about the role of 3D-ultrasound for predicting outcome in IVF program							
Author	N	Primary outcome	3D Method	Day 3D US	Sub endometrial area	Pregnancy rate (PR)	Findings
Raga (65)	72	Pregnancy rate	Multisllice	Embryo transfer		29.2%	No pregnancy if endometrial volume < 1 ml If endometrial volume ≥ 2 ml, no difference in PR
Schild (64)	47	Pregnancy rate	Multisllice	Oocyte retrieval		31.9%	No difference in endometrial volume between conception and non-conception cycles
Yaman (66)	65	Pregnancy rate	Multisllice	HCG		32.3%	No difference in endometrial volume between conception and non-conception cycles No pregnancy if endometrial volume < 2.5 ml
Zollner (67)	125	Pregnancy rate	Multisllice	Embryo transfer		27.2%	PR 35% if endometrial volume ≥ 2.5 ml PR 9% if endometrial volume < 2.5 ml
Schild (68)	96	Pregnancy rate	Multisllice	1 <sup>st</sup> day ovarian stimulation		20%	Subendometrial VI, FI and VFI lower in conception cycles
Kupesic (69)	89	Pregnancy rate	Multisllice	Embryo transfer	5 mm	31.5%	No difference in endometrial volume, subendometrial VI and VFI between conception and non-conception cycles Subendometrial FI higher in conception cycles
Wu (79)	54	Pregnancy rate	Multisllice	HCG	5 mm	50%	Subendometrial VFI higher in conception cycles. No differences in subendometrial VI and FI No differences in endometrial VI, FI and VFI
Jarvela (71)	35	Pregnancy rate	VOCAL	Before HCG and 36 hours after oocyte retrieval	10 mm	37%	No difference in endometrial volume, endometrial/subendometrial VI, FI and VFI
Ng (73)	451	Pregnancy rate	VOCAL	Oocyte retrieval	1 mm	20.8%	Endometrial VI and VFI lower in conception cycles. No differences in endometrial volume and subendometrial VI, FI and VFI

Mercé et al (2008) publicaron un estudio en el que evaluaban estos parámetros ecográficos tridimensionales en ciclos de fecundación in vitro el día de la administración de la hCG. Concluyeron que no había diferencias significativamente estadísticas entre el grupo de mujeres gestantes y no gestantes en cuanto al grosor endometrial y el patrón endometrial. Sin embargo, sí las obtuvieron en el caso de la valoración del volumen endometrial y el VI, FI y VFI endometriales, siendo éstos mayores en el caso de las pacientes que sí quedaron gestantes.

En el trabajo de Zollner U et al (2012) ya comentado con anterioridad en el caso del espesor endometrial, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas respecto al volumen endometrial como predictor de la gestación en

ciclos de transferencia de embriones congelados. Además, habla de volúmenes mínimos asociados a embarazo de 1.6 ml en el caso de ciclos espontáneos, frente a 2.1 ml para los ciclos artificiales.

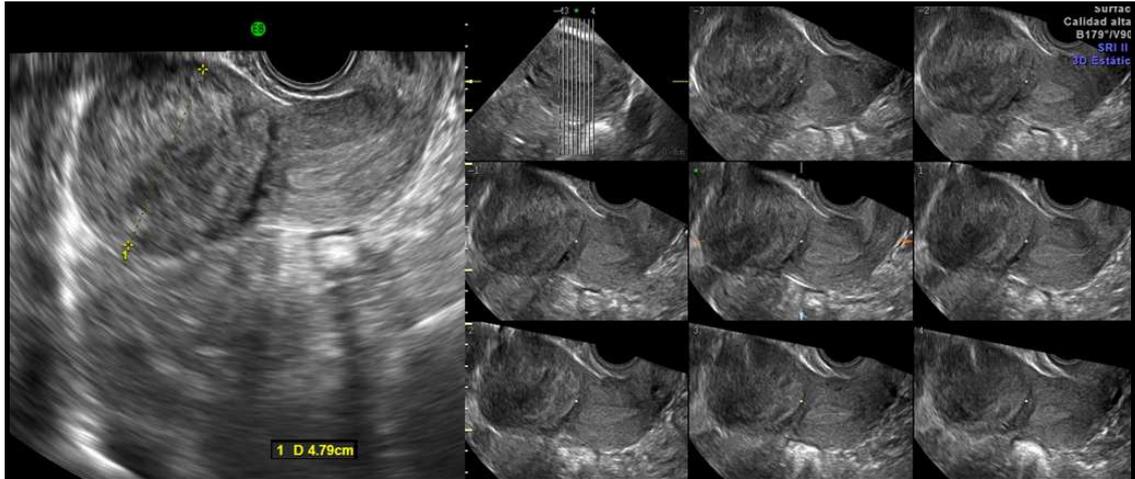
El volumen endometrial se ha relacionado también con resultados gestacionales sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas entre ciclos que obtuvieron un recién nacido vivo con ciclos que finalizaron en un aborto precoz (Ng EH et al, 2007; Zohav E et al, 2008). En el estudio de Zohav E et al encontraron además una probabilidad mayor de aborto precoz de forma estadísticamente significativa para volúmenes endometriales menores de 2 ml.

---

#### 1.4.5.4.- DELIMITACIÓN.

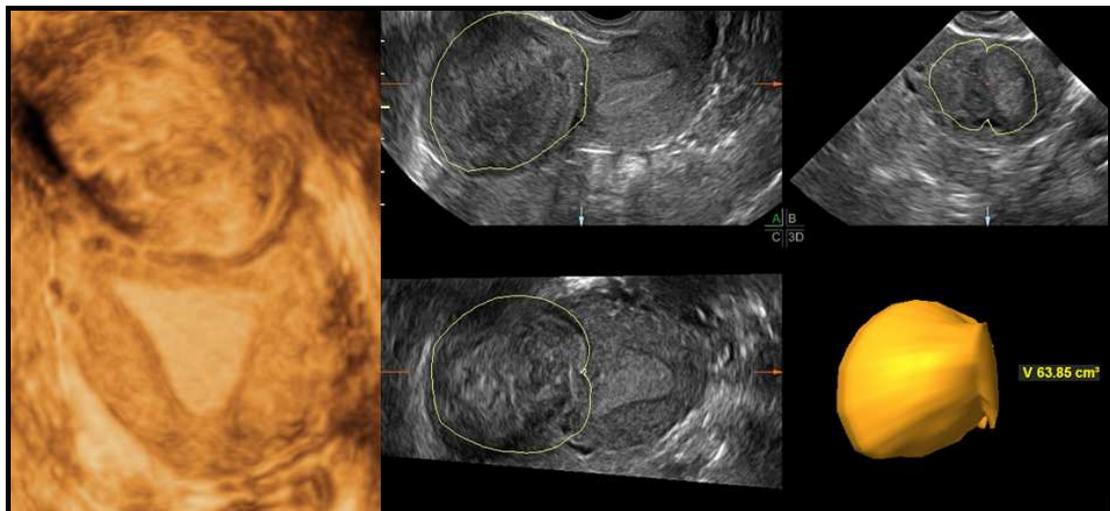
La delimitación endometrial es el grado de homogeneidad de la interfase entre endometrio y miometrio.

Una mala delimitación es propia de procesos patológicos de enorme importancia en reproducción, tales como la adenomiosis y adenofibromas, ambos muy relacionados con una baja tasa de implantación, o como los miomas, cuya afectación de la morfología de la cavidad es vital en pronóstico reproductivo y otras complicaciones ginecológicas (hipermenorreas, metrorragias).



**Figura 24.- Ecografía 2D vaginal y Tomographic ultrasound Imaging (TUI) de un mioma intramural-subseroso**

Para estudiar la delimitación propia de una línea endometrial o de cualquier proceso patológico que le compromete, resulta de gran utilidad la ecografía, tanto bidimensional como tridimensional, tal como se aprecia en las figuras 24 y 25.



**Figura 25.- Ecografía 3D y VOCAL del mioma de la figura 24**

#### **1.4.5.5.- CONTRACTILIDAD MIOMETRIAL.**

La contractilidad miometrial ha sido poco evaluada por la escasa reproductibilidad de los trabajos publicados, así como por la dificultad de obtener una medición fiable y objetiva de la misma.

Su interés fundamental aparece en el momento de la implantación embrionaria, bien sea de forma natural o bien durante la transferencia de embriones en el caso de los ciclos de reproducción asistida.

El útero tiene una actividad contráctil que varía durante el ciclo menstrual. Las contracciones uterinas son más frecuentes durante la fase folicular donde alcanzan un pico de 4-5 contracciones por minuto en la fase folicular tardía. La frecuencia disminuye durante la fase lútea en que el útero se vuelve quiescente (Lesny P et al, 1998; Abramowicz JS y Archer DF, 1990). Este patrón en la frecuencia de contracciones parece depender de las hormonas esteroides ováricas, aumentado de forma paralela al estradiol durante la fase folicular y disminuyendo con el aumento postovulatorio de la progesterona. El beneficio fisiológico de la actividad contráctil uterina se desconoce, pero la propagación de contracciones desde el cuello al fondo uterino durante el periodo periovulatorio puede favorecer el paso de los espermatozoides a través del útero hacia las trompas y la permanencia de los embriones transferidos (Fanchin R et al, 2001).

Los primeros estudios se realizaron midiendo la presión con sondas intrauterinas, pero debido a que era un procedimiento invasivo y que podía inducir contracciones no deseadas, fue sustituido por el almacenamiento de la actividad uterina captada por la sonda transvaginal en un vídeo digital y el estudio posterior de las grabaciones (Pusey J et al, 1980).

La quiescencia relativa durante la fase lútea se entiende fácilmente y se ha demostrado que aparece durante los tratamientos de reproducción asistida a

los siete días de la administración de hCG, en el momento de la transferencia de los blastocistos (Fanchin R et al, 1998) Por el contrario, una frecuencia de contracciones superior a 5 por minuto en el día de la transferencia de los embriones se asocia con una tasa de implantación muy baja comparativamente con una frecuencia de 1-3 contracciones por minuto (4% versus 21% respectivamente) (Lesny BA y Killick SR, 2004) Posteriores estudios han confirmado la asociación negativa de las contracciones uterinas con la posibilidad de embarazo tras los procedimientos de reproducción asistida (Fanchin R et al, 2001) Sería importante no sólo el aumento del número, sino el cambio de orientación ya que las contracciones van de cérvix a fundus, y se ha observado, en la transferencia de embriones, especialmente si se manipula el cérvix, que la liberación de prostaglandinas que acontece cambia la dirección de las mismas y se eliminan los cigotos transferidos (Bonilla-Musoles F et al, 2010). La administración precoz de progesterona vaginal disminuye la frecuencia de las contracciones uterinas en el momento de la transferencia embrionaria, aunque no se ha demostrado que aumente significativamente la tasa de embarazo (Lédée-Bataille N et al, 2005) y podría provocar una luteinización prematura si se administra muy pronto.

Lamentablemente, son muy pocas las publicaciones que han aparecido con posterioridad a las anteriormente citadas que reproduzcan estos resultados, por lo que apenas se emplea en el ámbito clínico.

---

#### **1.4.5.6.- PERFUSIÓN UTERINA**

##### **A) EVALUACIÓN BIDIMENSIONAL**

Como se ha mencionado en el capítulo de Implantación Embrionaria, los cambios cíclicos en la perfusión uterina y la angiogénesis endometrial desempeñan un papel crítico en el crecimiento endometrial y la implantación.

Convencionalmente, el Doppler pulsado y Doppler color han sido utilizados para evaluar el flujo sanguíneo de las arterias uterinas y sus ramas con objeto de determinar la contribución relativa de la perfusión uterina a la receptividad endometrial.

La mayoría de los estudios se han centralizado en la evaluación del flujo sanguíneo de la arteria uterina y casi todos ellos se han realizado en el día de la administración de hCG, el día de la recuperación de los ovocitos o el día de la transferencia de los embriones con objeto de predecir el resultado de los tratamientos eje reproducción asistida (Goswamy RK et al, 1988; Bonilla-Musoles F et al, 1992). Las ondas de velocidad de flujo de alta resistencia se han asociado en general a resultados adversos (Zaidi J et al, 1996; Engmann L et al, 1999), aunque otros autores no han podido demostrar esta asociación (Coulam CB et al, 1994). Diferentes límites del índice de pulsatilidad máximo de la arteria uterina, entre 2,5 y 3,6 concretamente, se han propuesto como predictores de que no se produzca la gestación o que ésta sea altamente improbable (Chien LV et al, 2002; Steer CV et al, 1995; Cacciatore B et al, 1996; Sterzik K et al, 1989; Ng EH et al, 2009). El hallazgo más consistente en todos los estudios es el alto valor predictivo negativo y la elevada sensibilidad, que es cercana al 100%. En la mayoría de ellos el valor predictivo positivo parece más alto que en el caso del grosor endometrial y del patrón endometrial, alcanzando un rango entre 44 y 56%, para una especificidad del 13 y 35% respectivamente (Friedler S et al, 1996).

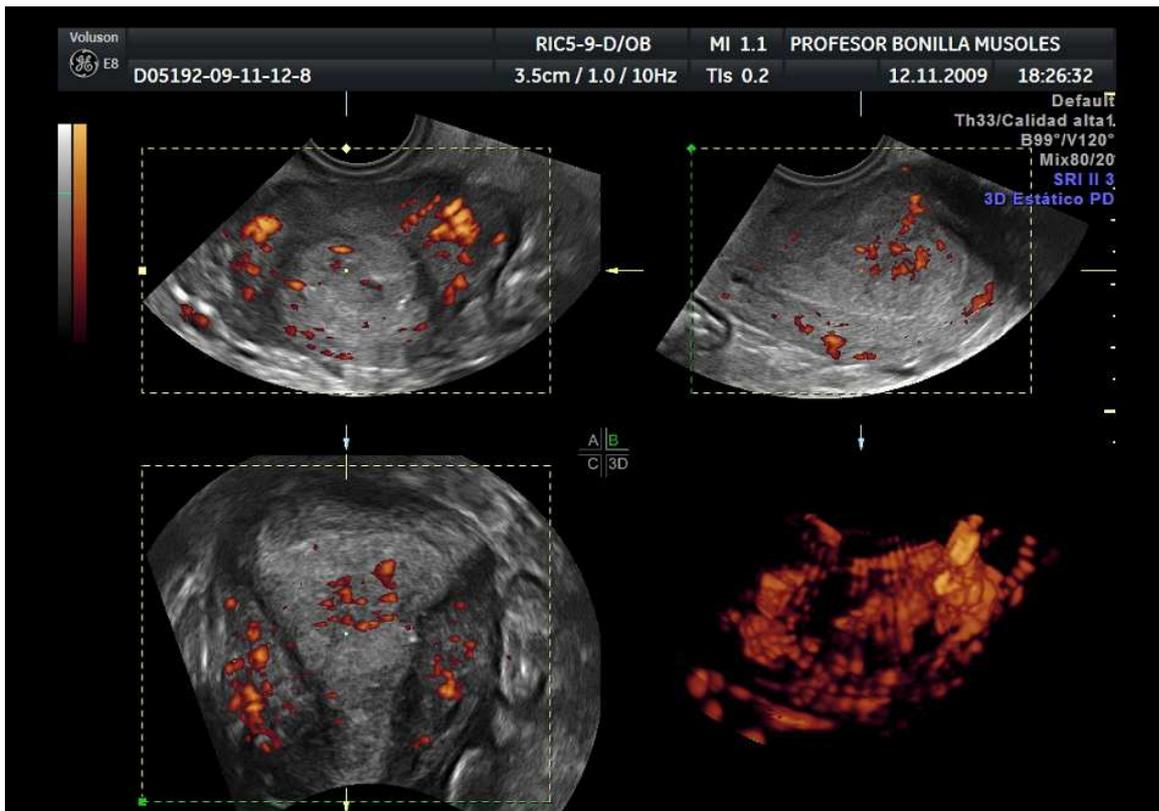
Complementariamente, algunos autores han asociado también la presencia de flujo diastólico en la arteria uterina en la fase lútea precoz y media con resultado de embarazo (Serafini P et al, 1994; Dickey RP, 1997) Por contra, un flujo diastólico reducido con aumento de la resistencia de la arteria uterina se asocia con ciclos en los que no se consigue embarazo (Dickey RP, 1997; Zaidi J et al, 1995).

A partir de estos estudios se puede consensuar que el flujo sanguíneo de la arteria uterina influencia el resultado de los ciclos de reproducción asistida y que el embarazo es menos probable que ocurra cuando el índice de pulsatilidad

de la arteria uterina esté por encima de 3,3 ó cuando el índice de resistencia de esta arteria sea superior a 0,95 durante el periodo más tardío de la estimulación ovárica y alrededor del tiempo de la recuperación ovular y transferencia de embriones (Chien LW et al, 2002)

## **B) EVALUACIÓN TRIDIMENSIONAL**

La aplicación de ecografía tridimensional Power-Doppler, también perteneciente al programa VOCAL, es capaz de calcular tres índices angiográficos: el índice de vascularización (IV), el índice de flujo (IF) y el índice de vascularización de flujo (IVF), los cuales representan el número de vasos venosos, el flujo sanguíneo y la perfusión endometrial, respectivamente. El índice de vascularización (IV) muestra el porcentaje de *voxels* coloreados respecto al número total de *voxels*. El índice de flujo representa la intensidad Power-Doppler media de todos los *voxels* coloreados. El índice de vascularización de flujo es un índice que deriva de la multiplicación de los dos índices previos y la división de este resultado entre  $10^6$ . Estos índices se han intentado asociar también con la receptividad endometrial. En la figura 26 puede observarse un ejemplo de la obtención de los mismos.



**Figura 26.- Angiografía Doppler energía 3D mostrando todos los vasos de la pelvis menor alrededor del útero (abajo izquierda), miometrio y endometrio (arriba). Abajo y derecha se muestra solamente la angiografía**

De hecho, una simple y subjetiva valoración del flujo sanguíneo dentro del área endometrial-subendometrial se ha correlacionado positivamente con las tasas de implantación y embarazo en los tratamientos de fertilización in vitro.

La observación de la señal Doppler color se ha asociado con la predicción de la implantación en los ciclos de fertilización in vitro, siendo muy poco probable que la gestación se produzca cuando no aparece una señal Doppler color subendometrial e intraendometrial (Zaidi J et al, 1995; Chien LW et al, 2002).

Chien LW et al (2002) valoraron de forma semicuantitativa la presencia de flujo sanguíneo dentro del endometrio y en el área subendometrial en 612 mujeres el día de la transferencia de embriones. Mientras la tasa de embarazo total fue de 28,4%, las tasas de implantación y de embarazo por transferencia en las

pacientes que presentaron flujo endometrial y subendometrial fueron de 47,8 y 24,2% respectivamente. Estos valores cayeron hasta 29,7 y 15,8% cuando sólo se evidenció flujo subendometrial y hasta 7,5 y 3,5% cuando no se detectó flujo mediante la señal color.

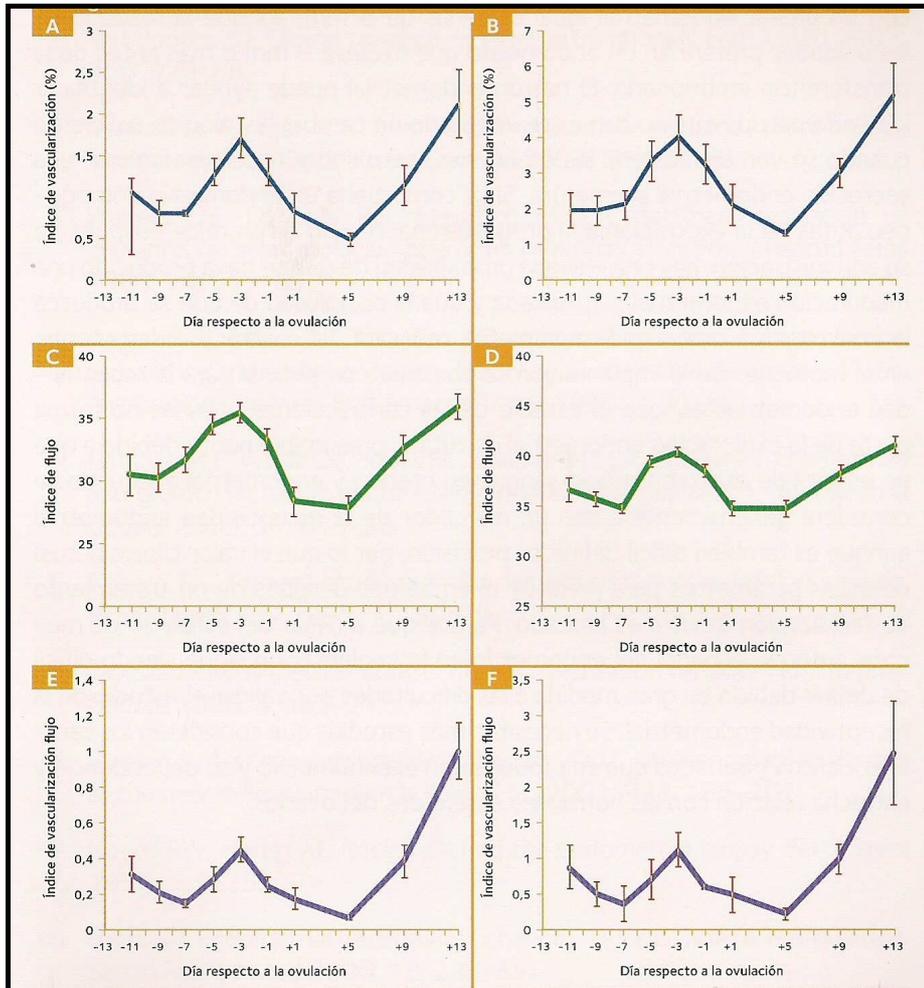
Kupesic S et al (2001) evaluaron a 89 pacientes con angiografía power Doppler 3D en el día de la transferencia de embriones. Demostraron un IF endometrial más alto en aquellos ciclos en los que la mujer quedó gestante, pero no encontraron diferencias para los valores de IV e IVF.

Wu HM et al (2003) también encontraron que la angiografía power Doppler 3D en el día de la administración de hCG es un factor esencial que determina la receptividad endometrial. En 54 pacientes sometidas a su primer ciclo de fertilización in vitro comprobó que el IVF subendometrial era el mejor predictor de gestación siendo superior al IV, IF y volumen endometrial cuando se analizaron mediante una curva operador - receptor (ROC).

La ecografía 3 D también se ha utilizado para evaluar la vascularización endometrial y determinar la receptividad endometrial antes de la estimulación ovárica. Concretamente Schild RL et al (2000) evaluaron estos índices el primer día de la estimulación ovárica controlada, encontrando valores de VI, Fi y VFI subendometriales menores en aquellos ciclos en los que se consiguió gestación.

La mayoría de estos estudios, utilizando ecografía 2D y 3D, han evaluado un solo momento y no han considerado las variaciones cíclicas que se producen a través del ciclo menstrual y durante la estimulación ovárica controlada, la cual puede ser un factor negativo para el desarrollo endometrial. Raine-Fenning NJ et al (2004) lo hicieron durante el ciclo menstrual normal de pacientes con subfertilidad no explicada (figura 27). Los cambios cíclicos en la vascularización endometrial y subendometrial se caracterizan por un pico preovulatorio y una caída máxima post-ovulatoria de los índices energía Doppler 3D en el momento de la ventana de la implantación. Un patrón similar se observó en mujeres con subfertilidad de causa desconocida, aunque estas mujeres tenían valores preovulatorios de los índices Power-Doppler 3D significativamente más bajos.

Estos resultados conducen a que los autores sugieran que el cambio cíclico del flujo sanguíneo puede ser un factor determinante de receptividad endometrial más importante que un valor aislado en un único momento.



**Figura 27.- Índice de vascularización endometrial (A) y subendometrial (B); índice de flujo endometrial (C) y subendometrial (D) e índice de vascularización flujo endometrial (E) y subendometrial (F) durante el ciclo menstrual (Tomado de Raine-Fenning 2004)**

Ng EH et al (2006) encontraron un IV e IVF endometriales más bajos en el día de la recuperación de los ovocitos en las mujeres que quedaban gestantes tras un ciclo de fertilización *in vitro* que un grupo similar pero que no quedó gestante, mientras que el IF endometrial y los IV, IF e IVF subendometrial y el

volumen endometrial fueron similares en ambos grupos. El valor predictivo de receptividad endometrial de los índices Power-Doppler 3D, sin embargo fue pobre, con un área bajo la curva próxima a 0,5 para todos los índices.

Se ha considerado el VI endometrial como el mejor parámetro predictor de la obtención de un recién nacido vivo frente a la aparición de un aborto precoz, con una sensibilidad del 80.7% y una especificidad del 42.9%. (Zollner U et al, 2012).

## **2.- JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO**

---

## **2.- JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO**

### **2.1.- ANÁLISIS BIBLIOMÉTRICO**

Las publicaciones científicas son un instrumento de los investigadores para comunicar y difundir el conocimiento científico. Representan el medio a través del cual se dan a conocer los resultados de la investigación y hacen posible que dicho conocimiento llegue a la comunidad científica. Por este medio se valida el conocimiento nuevo, se deposita, se difunde y se puede determinar la capacidad de progreso de la ciencia.

En los análisis bibliométricos estudiar la evolución cronológica de las publicaciones informa sobre el comienzo, crecimiento y situación de cualquier campo de la ciencia, así como del envejecimiento y obsolescencia de los campos científicos.

Con el objetivo de conocer, desde el punto de vista cuantitativo, la evolución del conocimiento sobre el que se ha planteado la presente tesis, se llevó a cabo una búsqueda bibliográfica en la base de datos MEDLINE utilizando

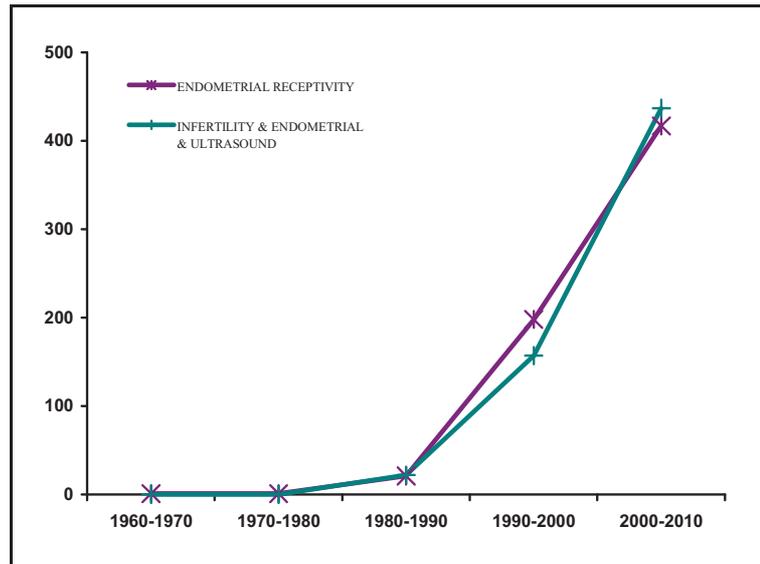
el sistema de búsqueda PubMed, desarrollado por la National Center for Biotechnology Information (NCBI) en la National Library of Medicine (NLM).

La estrategia de búsqueda para la recuperación de los documentos incluyó los términos del vocabulario controlado MeSH: “Infertility”; “Endometrial receptivity”, “Infertility & Ultrasound”, “Infertility & Endometr\*” y “Ultrasound & Endometr\*” en cualquiera de los campos de búsqueda, seleccionando el filtro “humans” y periodos de publicación desde su inicio hasta completar la década 2000-2010.

En la tabla 7 y figuras 28 y 29 se recoge el volumen total de información recuperada y la evolución por décadas y años de la década 2000-2010 en número de los artículos científicos relativos a los planteamientos de este estudio.

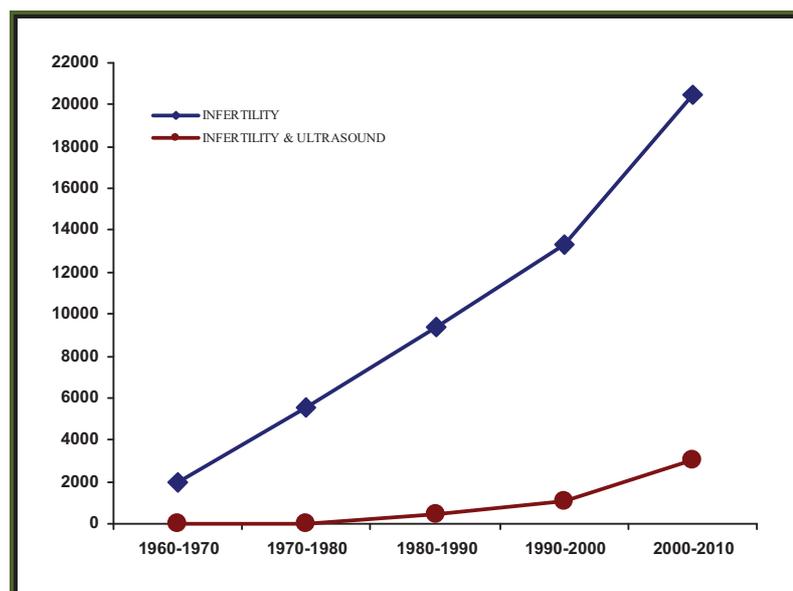
**TABLA 7.- Distribución cronológica del número de artículos recogidos en Medline sobre Infertilidad, Receptividad endometrial y Ultrasonografía**

PERIODO		Nº ARTICULOS (Medline, Humanos)							
DÉCADAS	AÑOS	INFERTILITY n (% incremento)		ENDOMETRIAL RECEPTIVITY		INFERTILITY & ULTRASOUND		INFERTILITY & ENDOMETRIAL & ULTRASOUND	
1961-1970		1980		1		0		0	
1971-1980		5548 (180%)		1		22 (22%)		0	
1981-1990		9406 (69,5%%)		21 (20%)		418 (1800%)		22 (22%)	
1991-2000		13306 (41,5%)		198 (842%)		1058 (153%)		157 (613%)	
2001-2010	2001	1439	20280 (52,4%)	31	417 (110%)	129	1575 (48,9%)	13	258 (64%)
	2002	1568		34		103		15	
	2003	1728		38		150		24	
	2004	1782		34		153		31	
	2005	1952		32		136		21	
	2006	2158		49		166		34	
	2007	2220		47		162		23	
	2008	2544		47		206		37	
	2009	2407		47		204		31	
	2010	2482		58		166		29	
TOTAL		50520		638		3073		437	



**Figura 27.- Evolución cronológica del número de artículos sobre “receptividad endometrial” y sobre “infertilidad & endometrio & ultrasonografía”**

La instrucción de búsqueda “Infertility” resulta en un total de 50.520 documentos incorporados a la base de datos entre los años 1960 y 2010. Supone el término con mayor número de artículos recuperados, de mayor antigüedad y con un crecimiento continuado en todo el periodo analizado, destacando el mayor incremento (180%) en la década de 1971 a 1980.



**Figura 28.- Evolución cronológica del número de artículos sobre “infertilidad” y sobre “infertilidad & ultrasonografía”**

El primer y único artículo de la década 1961-1970 sobre “Endometrial receptivity” recogido es el publicado por Bayot D. en 1966. Un único artículo aparece también en la década 1971-1980 y tan sólo 20 entre 1981 y 1990. El mayor crecimiento relativo (842%) se produce entre 1991 y 2000 con 198 trabajos y entre 2001 y 2010 se incluyen 417 artículos, lo que supone un 110% de incremento. En total se recogen 638 artículos.

Los términos encadenados de búsqueda “Infertility & Ultrasound” recuperan un total de 3.073 artículos que comienzan a publicarse en la década 1971-1980 (22 trabajos). El mayor incremento porcentual (1800%) se produce en la siguiente década con 418 artículos, aumenta un 153% entre 1991 y 2000 (1.058 artículos) y en la última década analizada se incluyen 1.575 trabajos determinando un relativo descenso del incremento porcentual inter década al 48%.

Los 437 artículos que relacionan “Infertility & Endometrial & Ultrasound” comienzan a incluirse en la base de datos en la década 1981-1990 (22 trabajos) aumentando un 613% (157 trabajos) en la siguiente década y un 64% (258 trabajos) entre 2000 y 2010.

Teniendo en cuenta que el análisis de la evolución cronológica de las publicaciones es un indicador cuantitativo y no cualitativo de la importancia científica de una determinada área, los resultados obtenidos hacen pensar que el patrón de crecimiento con tendencia exponencial de estos conocimientos, con mucha probabilidad se acompañe de un progresivo incremento de la calidad y del impacto de las publicaciones.

## 2.2.- JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, la infertilidad es uno de los problemas de la reproducción humana que ha mantenido desde su inicio su vigencia en la literatura científica (Makker A y Singh MM, 2006) con un interés creciente que tiene su reflejo en la evolución cronológica de las publicaciones. De la misma forma, la incorporación del diagnóstico ecográfico al ámbito clínico incrementó la producción de artículos dedicados al estudio ecográfico de la infertilidad en porcentajes similares a los trabajos sobre infertilidad

Como se indica en artículos recientes, la receptividad endometrial sigue siendo un misterio biológico no resuelto a pesar de los avances notables en el conocimiento de la fisiología del endometrio y de los importantes avances en los aspectos estructurales, bioquímicos y moleculares asociado a su desarrollo y función (Giudice LC, 1999). Esta situación se corresponde con un interés de los investigadores reflejado en el gran número de artículos publicados principalmente en la década 1991-2000 y su incremento progresivo en la siguiente década que alcanza en total un 110%.

Los artículos que asocian infertilidad, receptividad endometrial y diagnóstico ultrasónico también siguen, desde el punto de vista cronológico, patrones de crecimiento progresivo que demuestra el interés y la actualidad del desarrollo de cada uno de estos conocimientos y de las relaciones entre ellos.

Por tanto, la presente tesis se fundamenta en un tema cuya actualidad está plenamente demostrada y pretende aportar conocimientos al proceso de identificación de las variables que pueden determinar el éxito reproductivo en las técnicas de fertilización in vitro.

### **3.- OBJETIVOS DEL ESTUDIO**

---

### 3.- OBJETIVOS DEL ESTUDIO

El interés de la presente tesis doctoral deriva de la premisa previamente citada según la cual existe una necesidad de disponer de un método estándar para el estudio del endometrio en el campo de la medicina reproductiva que pueda ser aplicado para el conocimiento de la receptividad endometrial y contribuir de alguna forma a la mejora del éxito implantatorio y consecuentemente, del éxito reproductivo.

La ecografía ginecológica es una técnica no invasiva, útil y de fácil acceso, con un amplio campo de actuación e investigación que puede aportar, como se ha venido demostrando desde su aparición, continuas novedades y posibilidades de aplicación en el diagnóstico de los problemas que se plantean en el ámbito de la ginecología y de la medicina reproductiva.

Con la finalidad de evaluar la utilidad de los nuevos procedimientos ecográficos para el estudio de la receptividad endometrial y su influencia en los resultados de las técnicas de reproducción asistida se proponen los siguientes objetivos:

#### 3.1.- OBJETIVOS GENERALES

---

- Determinar si los actuales parámetros ecográficos de valoración endometrial en 2D y 3D -medidas histerométricas, aspecto ecográfico y volumen de la cavidad determinado por el *software Virtual Organ Computer-Aided AnaLysis (VOCAL)*- contribuyen a la predicción de los resultados diagnósticos de embarazo bioquímico (DBE) y clínico (DCE) en las pacientes sometidas a procedimientos de

fecundación *in vitro* o Inyección Intracitoplasmática de Espermatozoides (FIV/ICSI)

- Elaborar un modelo predictivo con las variables analizadas que aporte información que permita estimar la probabilidad de embarazo en pacientes infértiles bajo tratamiento mediante procedimientos de FIV/ICSI.

### **3.2.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

---

- Evaluar las características clínicas, ecográficas y de intervención en una población de mujeres sometidas a técnicas de reproducción asistida, bajo tratamientos de FIV/ICSI
- Determinar si existe relación entre variables clínicas -edad, factores de esterilidad y diagnósticos de esterilidad femenina- y la consecución de embarazo bioquímico y/o clínico en pacientes bajo tratamientos de FIV/ICSI
- Determinar si existe relación entre variables de evaluación ecográfica del endometrio -medidas histerométricas, aspecto ecográfico y volumen de la cavidad determinado por el software *Virtual Organ Computer-Aided AnaLysis (VOCAL)*- y la consecución de embarazo bioquímico y/o clínico en pacientes bajo tratamientos de FIV/ICSI
- Determinar si existe relación entre variables de intervención -protocolo de tratamiento para estimulación ovárica, número de ovocitos obtenidos en punción tras estimulación ovárica y número de embriones transferidos- y la consecución de embarazo bioquímico y/o clínico en pacientes bajo tratamientos de FIV/ICSI
- Determinar, de entre el conjunto de las variables estudiadas aquellas que contribuyen a la predicción de embarazo en pacientes bajo tratamientos de FIV/ICSI

## **4.- POBLACIÓN Y MÉTODOS**

---

## **4.- POBLACIÓN Y MÉTODOS**

### **4.1.- DISEÑO DEL ESTUDIO**

Teniendo en cuenta los objetivos propuestos se presenta un estudio analítico observacional y de carácter retrospectivo sobre todos los ciclos correspondientes a una cohorte de pacientes sometidas a ciclos de estimulación ovárica para posterior fecundación in vitro o inyección intracitoplásmica de espermatozoides (FIV/ICSI) atendidas en el área de Reproducción Asistida del Hospital Clínic Universitari de València entre los años 2001 y 2010.

Si bien se trata de un estudio retrospectivo, desde el momento en que se iniciaron los procesos de diagnóstico y tratamiento, las características clínicas, ecográficas, intervenciones y resultados reproductivos de las pacientes en cada uno de los ciclos se fueron recogiendo prospectivamente en una base de datos informatizada. La unidad donde se realiza el estudio dispone de una base de datos en la que se registran todos y cada uno de los datos correspondientes a los ciclos a que son sometidas las pacientes.

En los casos en que se consideró necesario, estos datos se complementaron con una revisión de las historias clínicas de los pacientes con el objeto de mejorar la calidad de la información obtenida.

Los aspectos metodológicos, éticos y legales del proyecto fueron evaluados y aprobados por el Comité Ético de Investigación del Hospital Clínic Universitari de València.

#### **4.2.- POBLACIÓN**

La población de estudio estaba integrada por pacientes con diversas causas de infertilidad sometidas a ciclos de estimulación ovárica para posterior FIV/ICSI, durante un periodo comprendido entre los años 2001 y 2010 en el Área de Reproducción Asistida del Hospital Clínic Universitari de València.

La inclusión de los casos en el estudio se realizó independientemente del número de ciclos realizados, de forma que una paciente podía ser incluida en cada uno de los ciclos a los que fue sometida

---

#### **CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

Se establecieron los siguientes criterios de inclusión

- Mujeres sometidas a ciclos de estimulación ovárica para posterior FIV/ICSI con edades comprendidas entre 18 y 40 años

## CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Se establecieron los siguientes criterios de exclusión:

- Pacientes mayores de 40 años.
- Pacientes sometidas a tratamientos de reproducción asistida tipo inseminación artificial, homóloga o de semen de donante.
- Pacientes sometidas a transferencias embrionarias de embriones congelados que no hubieran sido sometidas a tratamientos de estimulación ovárica previa a la misma.
- Pacientes que no dieron su consentimiento para participar en el estudio.

### 4.3.- PROTOCOLO DEL ESTUDIO

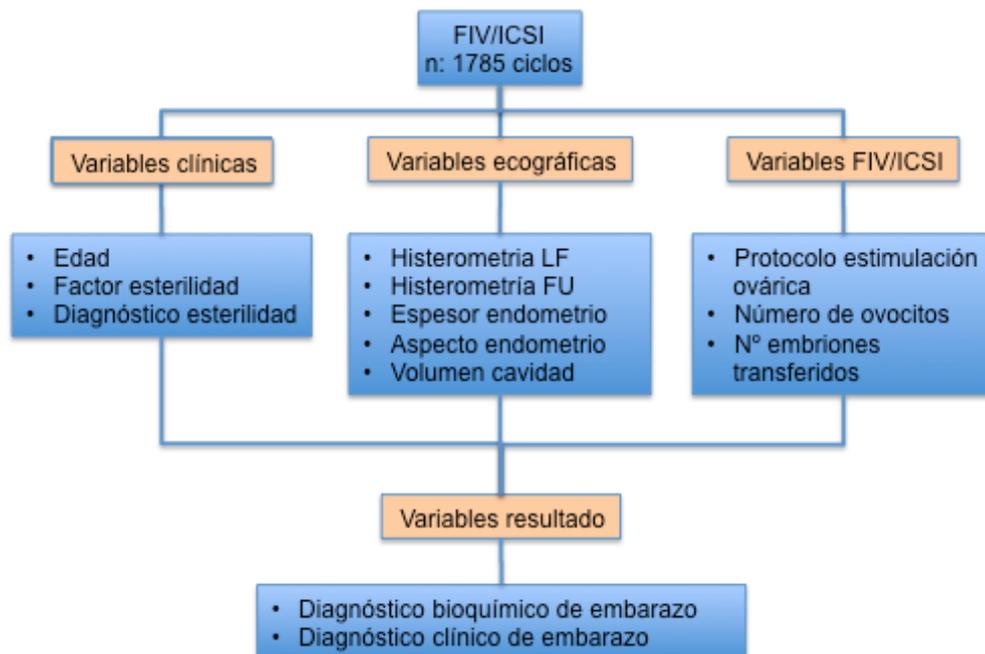


Figura 30.- Protocolo del estudio

### 4.3.1.- EVALUACIÓN INICIAL

Comprobados los criterios de inclusión y exclusión, durante de la primera visita se les realizó a todas las mujeres:

- a) **Anamnesis** completa que comprendía los siguientes datos:
- Datos sociodemográficos.
  - Antecedentes personales y familiares, tanto generales como de estirpe ginecológico-obtétrica.
- b) **Estudio básico de esterilidad.** En esta primera consulta se recogieron los resultados de las siguientes pruebas, en su mayor parte solicitadas desde atención primaria y siguiendo el protocolo de diagnóstico de la pareja estéril necesario para su remisión al centro hospitalario.
- Analítica sanguínea: hemograma y bioquímica básicas.
  - Serología para infecciones: VHC, VHB, VIH, sífilis (RPR).
  - Analítica hormonal obtenida el tercer día del ciclo menstrual: FSH, LH, estradiol, TSH, fracción libre de T4, prolactina.
  - Histerosalpingografía.
  - Seminograma.

Los datos analíticos fueron evaluados según el rango de valores propio del laboratorio. Por considerarse de mayor relevancia se muestran a continuación los valores correspondientes a la valoración hormonal tomada en el tercer día del ciclo menstrual (tabla 8).

<b>Tabla 8. Determinación analítica hormonal en fase folicular</b>	
<b>Hormonas</b>	<b>Valores</b>
FSH (mUI/mL)	3,5-12,5
LH (mUI/mL)	2,4-12,6
Prolactina (ng/mL)	29,9
Estradiol (pg/mL)	12,5-166

c) **Examen ginecológico** completo que incluyó:

- Exploración de genitales externos
- Especuloscopia, mediante la cual se valoraron las características de vagina y cérvix y sus posibles alteraciones.
- Ecografía transvaginal. Mediante ecógrafo General Electric Voluson Expert 730 (figura 31) se evaluó sistemáticamente:
  - Útero: tamaño, morfología y posible existencia de patología.
  - Anexos: tamaño, morfología y posible existencia de patología.
  - Otros hallazgos: existencia de líquido libre, alteraciones a nivel de asas intestinales y presencia de cavidades quísticas adherenciales.



**Figura 31.- Ecógrafo General Electric Voluson 730 Expert.**

#### **d) Histerosalpingografía**

Con la finalidad de evaluar la morfología de la cavidad uterina y la permeabilidad tubárica se practicó una histerosalpingografía coincidiendo con los primeros días del ciclo menstrual.

La histerosalpingografía es un procedimiento para la evaluación radiográfica de la cavidad uterina y las trompas de Falopio tras la inyección de un medio radioopaco a través del canal cervical. La información que esta prueba es capaz de aportar es la siguiente:

- La profundidad del canal cervical.
- El contorno de la cavidad uterina.

- La permeabilidad de las trompas de Falopio.
- La morfología sutil de alguna estructuras intraperitoneales (Baramki T, 2012).

No obstante, la función principal de la histerosalpingografía es la evaluación de la morfología y permeabilidad de las trompas de Falopio. En condiciones normales las trompas aparecen como dos estructuras tubulares a ambos lados del cuerpo uterino, cuya porción distal sufre un ligero ensanchamiento correspondiente a su porción ampular. La histerosalpingografía puede utilizarse también para evaluar anomalías en la cavidad uterina, tales como pólipos, miomas, hiperplasias endometriales, adherencias o septos, aunque para este fin esta prueba tiene una buena sensibilidad (60–98%) pero una baja y variable especificidad (15-80%). Así, para este último objetivo, la histeroscopia continúa siendo hoy en día la técnica de elección (Schankath AC et al, 2012).

---

#### 4.3.2.- INTERVENCIONES

Se describe a continuación el protocolo de intervención para el desarrollo completo del ciclo de reproducción asistida.

##### e) Desarrollo folicular

Los protocolos utilizados para la hiperestimulación ovárica controlada fueron los siguientes:

- **Protocolo agonistas.** Este protocolo se inicia con la administración de un agonista de la GnRH el día 21 del ciclo precedente mediante la inyección subcutánea de 0,1 ml al día de acetato de leuprolide. Con la aparición de la menstruación y comprobada la ausencia de

actividad folicular mediante ecografía (ausencia de folículos mayores de 10 mm el tercer día del ciclo) se inicia la estimulación ovárica controlada con FSH recombinante a dosis entre 37,5 y 300 UI/día durante los seis primeros días para posteriormente ajustar la dosis en función de la respuesta mediante controles ecográficos y determinación seriada de 17 beta estradiol sanguíneo. La administración del análogo continúa hasta el momento de inducir la ovulación.

- **Protocolo antagonistas.** Este protocolo suprime la administración de agonistas desde el ciclo previo administrándose en primer lugar la dosis adecuada de FSH recombinante de la misma manera que en el protocolo anterior. La administración del antagonista (Cetrorelix, Ganirelix) a dosis de 0,25 mg subcutánea al día, se realiza a partir de que el folículo mayor tenga de 14 a 16 mm y se mantiene hasta el día de la inducción de la ovulación.
- **Protocolo sin agonistas ni antagonistas.** Este último protocolo sólo contempla la utilización de estimulación ovárica con FSH recombinante prescindiendo del uso de agonistas o antagonistas para supresión hipofisaria.

La elección de uno u otro protocolo se estableció de forma individualizada según las características de cada paciente y siguiendo de los criterios establecidos en la unidad. El protocolo sin agonistas ni antagonistas fue de elección en el caso de pacientes en las que se había iniciado el tratamiento con FSH recombinante para estimulación ovárica controlada para posterior inseminación artificial y que presentaron una respuesta folicular más elevada de lo esperado por lo que pasaron a protocolo FIV.

#### f) Ovulación

El desencadenamiento de la ovulación se realizó con la administración de un vial único subcutáneo de 250 µg de

coriogonadotrofina alfa al alcanzar un tamaño folicular entre 18 y 20 mm en al menos dos folículos.

#### **g) Preparación de la muestra de semen**

La recogida de la muestra de semen se realizó por masturbación el mismo día de la punción folicular.

La preparación del semen para FIV se realizó mediante una técnica basada en la centrifugación de la muestra en diferentes gradientes de densidad. De esta manera los espermatozoides se seleccionan en función de su capacidad para vencer la dificultad que les presentan estos gradientes en base a su movilidad.

Por el contrario, la preparación de la muestra de semen para ICSI se realizó mediante la técnica *swim up* a través de la cual se seleccionan los espermatozoides de mayor movilidad centrifugando la muestra para posteriormente situarla en un medio de cultivo específico.

#### **h) Punción ovárica**

La punción ovárica para la obtención de ovocitos se realizó entre las 36 y 38 horas después de la administración de la coriogonadotrofina alfa, bajo sedación anestésica superficial. La vía elegida para la punción ovárica fue la vaginal guiada ecográficamente. La punción se realizó a través del fondo de saco vaginal posterior utilizando una aguja de punción de diámetro entre 17 y 18 G conectada a un sistema de aspiración (160–180 mmHg) que termina en un tubo colector del líquido folicular.

#### **i) Fertilización in Vitro / Inyección intracitoplasmática de espermatozoides (FIV/ICSI)**

Ambas son técnicas pertenecientes al ámbito del laboratorio de reproducción asistida, no pertenecientes al objeto del presente trabajo.

**j) Transferencia embrionaria**

La transferencia embrionaria se realizó el día +2 o +3 (embriones de 4-8 células) o incluso el día +4 ó +5 en el caso de transferencia de blastocistos (embriones de aproximadamente 100 células). El número de embriones transferidos se consensuó con el laboratorio de forma individual en cada paciente teniendo en cuenta las circunstancias personales, clínicas y reproductivas de cada una de ellas.

Este paso se realizó vía vaginal, previa visualización y antisepsia de vagina y cérvix y evitando su manipulación excesiva. Se utilizó un catéter de plástico rígido sin guía en su interior. Éste dispone de medición centimétrica que se adapta a las mediciones uterinas y un pequeño engrosamiento en la punta que permite su perfecta visualización ecográfica. El movimiento del catéter a través del cérvix se controló mediante ecografía transabdominal, considerando el lugar óptimo para depositar los embriones superado al menos 1 cm del orificio cervical interno y no más cercano de 1 cm del fundus uterino.

**k) Tratamiento posterior**

Las siguientes consideraciones terapéuticas posteriores a la transferencia embrionaria se tuvieron en cuenta:

- Se suplementó la fase lútea con 200 mg cada 8 horas de progesterona micronizada por vía vaginal, que en el caso de embarazo se mantuvo hasta la finalización del primer trimestre.
- Se añadió valerianato de estradiol a dosis de 2 mg cada 12 horas vía oral desde el día de la punción hasta finalización del primer trimestre en el caso de las pacientes que quedaron gestantes si se objetivó un grosor endometrial el día de la transferencia embrionaria menor o igual a 10 mm.

---

### **4.3.3.- SEGUIMIENTO**

#### **a) Diagnóstico bioquímico de embarazo (DBE)**

El diagnóstico bioquímico de embarazo se realizó 14 días después de la transferencia embrionaria mediante análisis inmunocromatográfico de la existencia de HCG urinaria (test de embarazo convencional). Sólo en casos de resultado dudoso del test anterior se realizó determinación cuantitativa en muestra sanguínea de esta hormona.

Si la prueba bioquímica de embarazo fue negativa, se repitió en 48 horas. Si ésta persistió negativa se citó a la paciente para un nuevo ciclo de estimulación ovárica.

En caso de prueba positiva se citó a la paciente para realización de una ecografía vaginal una semana después para confirmar la integridad de la gestación.

#### **b) Diagnóstico clínico de embarazo (DCE)**

Se definió como aquella situación en la que se objetivó ecográficamente uno o varios sacos gestacionales con botón embrionario en su interior con frecuencia cardíaca presente.

---

## **4.4.- VARIABLES**

---

### **4.4.1.- VARIABLES PREDICTIVAS**

Las variables predictivas o independientes se seleccionaron de acuerdo con el marco teórico del estudio y se clasificaron en variables relativas a los pacientes, clínicas, ecográficas e intervenciones.

#### 4.4.1.1.- CARACTERÍSTICAS DE LAS PACIENTES Y DATOS CLÍNICOS

De entre las variables sociodemográficas y clínicas recogidas se seleccionaron aquellas relacionadas con los antecedentes médicos de las parejas que se consideraron de mayor interés para los objetivos del estudio

1. **Edad.** Se tuvo en cuenta la edad de la mujer, expresada en años cumplidos, en la primera consulta.
  
2. **Etiología de la esterilidad.** En función de los resultados de los estudios diagnósticos en ambos miembros de la pareja y según el trastorno diagnosticado, se clasificó la etiología de la esterilidad en las siguientes categorías
  - a) **Factor femenino.** Esterilidad de causa exclusivamente femenina, en el caso de que se comprobaran alteraciones tan sólo en la mujer.
  - b) **Factor masculino.** Esterilidad de causa exclusivamente masculina cuando se detectaron alteraciones solamente en el varón. La esterilidad de causa masculina se definió en base a cualquier alteración en algún valor del espermiograma, constatada en al menos dos muestras diferentes, tomadas en momentos diferentes y espaciadas una de la otra un intervalo razonable de tiempo.
  - c) **Factor mixto.** Esterilidad mixta o esterilidad en la que coexisten ambas causas.
  
3. **Causas específicas de esterilidad femenina**

La esterilidad de causa femenina se dividió a su vez en seis grandes grupos previamente descritos

- d) Esterilidad de origen tubárico.
- e) Endometriosis.
- f) Síndrome de Ovarios Poliquísticos.
- g) Fallo Ovárico Oculto.
- h) Esterilidad Idiopática.
- i) Esterilidad por otras causas.

---

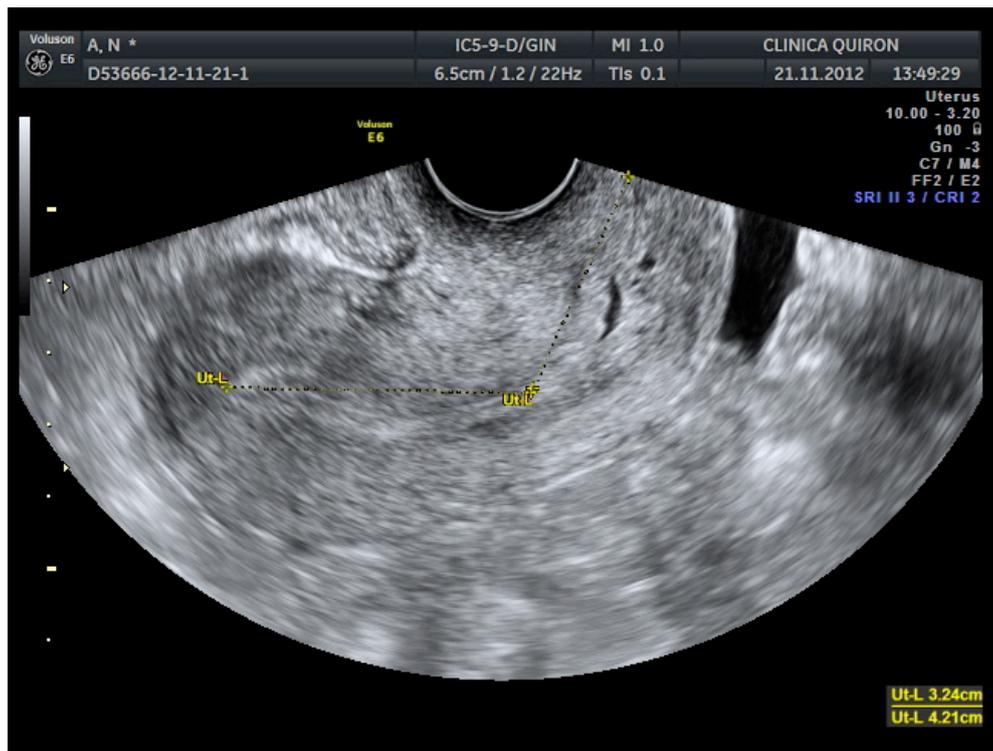
#### 4.4.1.2.- VARIABLES ECOGRÁFICAS

Todas las variables ecográficas se obtuvieron con el ecógrafo General Electric Voluson Expert 730 utilizando su sonda transvaginal (3,7-9,3 mHz) en aplicación bidimensional y tridimensional. Las imágenes se procesaron con el *software Sonoview (Kretz Technik, Zipf)*.

La actualización del *software* de análisis (VOCAL) durante el periodo en que se llevo a cabo el estudio permitió incorporar medidas ecográficas adicionales a un grupo reducido de las pacientes que quedan reflejadas en los análisis correspondientes.

##### **1. Histerometría medida hasta el límite fúndico del endometrio.**

Esta medición uterina, expresada en milímetros, se obtuvo mediante la aplicación bidimensional común. Visualizando un plano del útero en sentido longitudinal puro, en el que pudieran observarse correcta y completamente el cérvix y la línea endometrial, el *caliper* se situó en el inicio del cérvix (orificio cervical externo) hasta el final del endometrio en su zona fúndica.

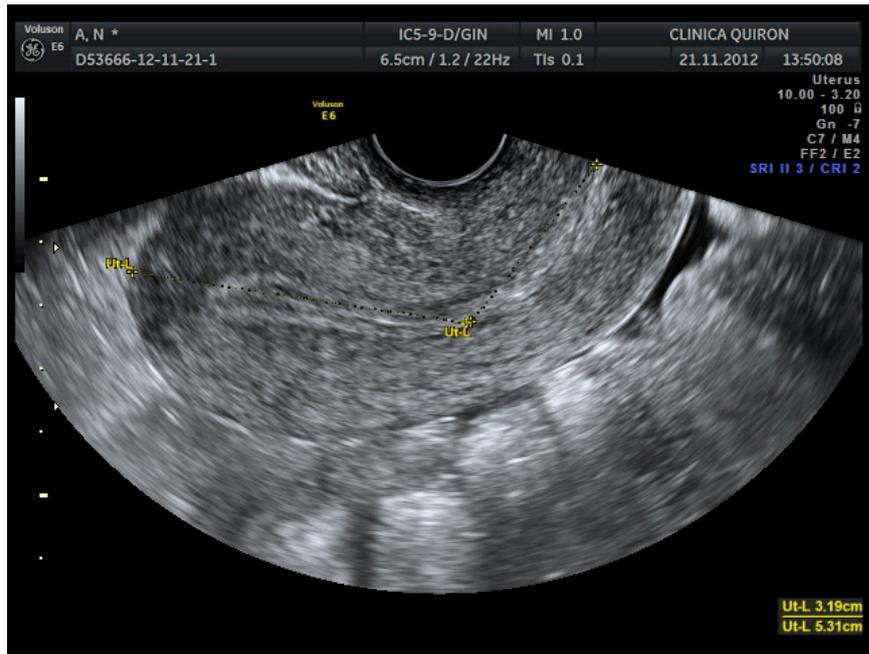


**Figura 32.- Histerometría hasta límite fúndico del endometrio mediante ecografía transvaginal 2D utilizando un corte longitudinal uterino**

En los casos en los que la curvatura uterina generada entre cérvix y cuerpo fue tal que, realizar esta medición de una vez infravalorase la medida real, se procedió a realizarla en dos o incluso tres pasos, según se muestra en la figura 32.

## **2. Histerometría medida hasta el fundus uterino**

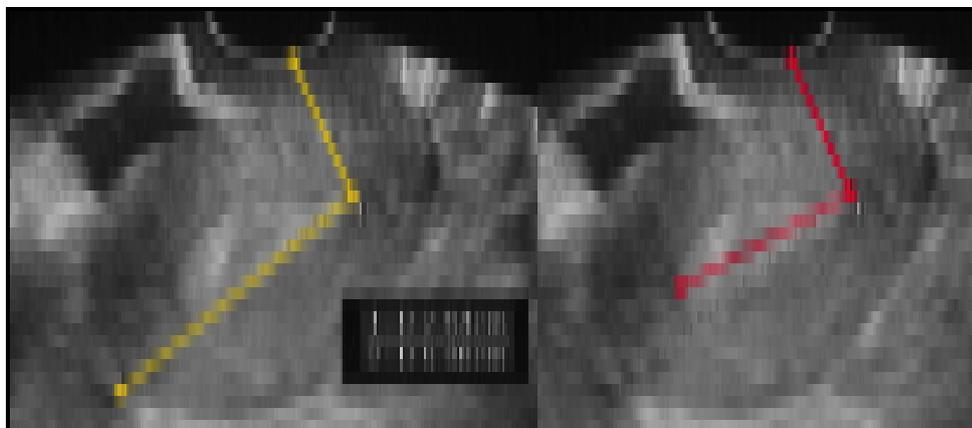
Esta medida, recogida también en milímetros se obtuvo de manera similar a la anterior pero estableciéndose como límite final el fundus uterino, según se muestra en la figura 33.



**Figura 33.- Histerometría hasta fundus uterino mediante ecografía transvaginal 2D utilizando un corte longitudinal uterino**

### **3. Diferencia entre ambas medidas histerométricas**

La diferencia entre las dos medidas anteriormente descritas surge de la mera diferencia entre ellas, según puede observarse en la figura 34. Esta medida coincide con el espesor miometrial en fundus, determinada también en milímetros.



**Figura 34.- La diferencia entre ambas medidas histerométricas determina el espesor endometrial en fundus uterino.**

#### 4. Espesor del endometrio

El grosor del endometrio en milímetros se determinó también mediante ecografía bidimensional. Obteniendo un plano longitudinal uterino similar al citado con anterioridad, esta medida se obtuvo en la porción de grosor máximo más cercana a fundus uterino (figura 35).

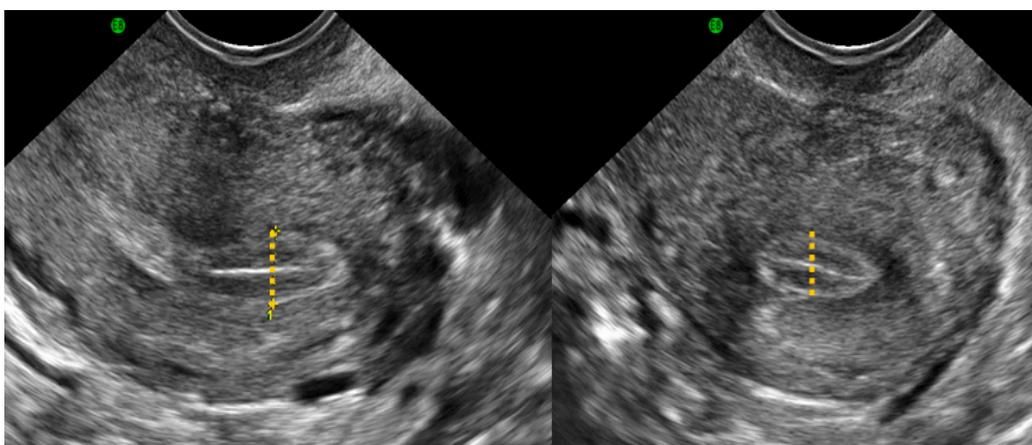


Figura 35.- Medidas de espesor endometrial mediante ecografía transvaginal 2D utilizando corte longitudinal uterino (izquierda) y corte transversal uterino (derecha).

#### 5. Aspecto ecográfico del endometrio

Según la descripción realizada previamente, los posibles aspectos del endometrio se clasificaron en tres tipos:

- a. Endometrio trilaminar
- b. Endometrio secretor
- c. Endometrio de transición

## 6. Volumen de la cavidad endometrial.

La obtención del volumen endometrial se realizó con la aplicación tridimensional VOCAL (*Virtual Organ Computer-Aided AnaLysis*).

La captura de imágenes tridimensionales puede realizarse de dos maneras: manual o automática. El modo manual requiere el movimiento manual, como su propio nombre indica, del transductor a través de todo el área o región de interés (RDI), área de la cual se pretende estimar el volumen. El modo automático, utilizado dicho sea de paso en el presente estudio, adquiere las imágenes a través de un transductor específico de 3D. Una vez seleccionados el programa VOCAL del *software* de ecografía 3D del ecógrafo para la obtención de volúmenes se selecciona el área de la cual se quiere conocer el volumen. En el caso del presente estudio, se obtuvo un plano longitudinal medio uterino en el que se visualizara el endometrio en su totalidad, desde cérvix hasta fundus. El área o región de interés (RDI), también denominada ROI (*Region Of Interest*) o *Volume box*, se seleccionó de forma manual abarcando la totalidad del útero. Estas imágenes fueron almacenadas y manipuladas con posterioridad al momento de la realización de la ecografía.

Para el procesado de las imágenes y cálculo de volumen se utilizó la aplicación *multiplanar display*. En ella quedan reflejadas en la pantalla imágenes de la RDI en los tres planos perpendiculares del espacio, axial, sagital y coronal. En el presente estudio se seleccionó el plano sagital o plano A. Situando el eje de rotación vertical en el punto medio del endometrio se generan rotaciones sobre él de 30°. En cada corte presentado se dibuja manualmente el contorno de la porción de endometrio visualizada. Una vez obtenidos todos los contornos en la totalidad de los planos se obtiene automáticamente el volumen total.

---

#### **4.4.1.3.- VARIABLES DE INTERVENCIÓN**

Se seleccionaron las siguientes variables de intervención relativas al proceso de FIV/ICSI

##### **1. Protocolo de estimulación ovárica.**

De acuerdo con la descripción previa, los protocolos de tratamiento aplicados se diferenciaron en:

- a. Antagonistas
- b. Agonistas
- c. Sin agonistas ni antagonistas (SIN)

##### **2. Número de ovocitos obtenidos en la punción ovárica.**

Esta variable corresponde a la cantidad de ovocitos obtenidos mediante punción ovárica y que resultaron de una selección de los más adecuados para su posterior fertilización.

##### **3. Número de embriones transferidos.**

Variable correspondiente a la cantidad de embriones transferidos. Según las características descritas previamente la transferencia embrionaria osciló entre 0 y 5 embriones.

---

#### **4.4.2.- VARIABLES OBJETIVO**

---

##### **4.4.2.1.- DIAGNÓSTICO BIOQUÍMICO DE EMBARAZO (DBE)**

El diagnóstico bioquímico de embarazo se realizó 14 días después de la transferencia embrionaria mediante análisis inmunocromatográfico de la

existencia de HCG urinaria (test de embarazo convencional). Sólo en casos de resultado dudoso del test anterior se realizó determinación cuantitativa en muestra sanguínea de esta hormona.

Si la prueba bioquímica de embarazo fue negativa, se repitió en 48 horas. Si ésta persistió negativa se citó a la paciente para un nuevo ciclo de estimulación ovárica. En caso de prueba positiva se citó a la paciente para realización de una ecografía vaginal una semana después para confirmar la integridad de la gestación.

En concreto, para esta variable de DBE se establecieron dos categorías:

- a. **Test bioquímico de embarazo positivo.** Prueba inmunocromatográfica de detección de gonadotropina coriónica humana en orina positiva.
- b. **Test bioquímico de embarazo negativo.** Prueba inmunocromatográfica de detección de gonadotropina coriónica humana en orina negativa.

---

#### 4.4.2.2.- DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE EMBARAZO (DCE)

Esta segunda variable resultado se estableció partiendo de la premisa de la existencia de una prueba bioquímica de embarazo positiva, según se ha descrito anteriormene. Se establecieron de esta manera dos categorías:

- a. **Embarazo clínico.** El embarazo clínico se definió como aquella situación en la que se objetivó ecográficamente uno o varios sacos gestacionales con botón embrionario en su interior con frecuencia cardíaca presente.
- b. **Ausencia de embarazo clínico.** La ausencia de embarazo clínico a su vez se estableció en base a los siguientes criterios:
  - **Aborto bioquímico:** Ausencia de saco gestacional ecográfico habiendo descartado previamente y con seguridad la existencia de una gestación extrauterina.

- **Aborto diferido:** Existencia de saco gestacional ecográfico con o sin botón embrionario, éste último sin frecuencia cardiaca presente más allá de las supuestas 6 semanas de gestación.
- **Gestación ectópica:** Presencia de determinación cuantitativa de BHCG en ausencia ecográfica de saco gestacional intrauterino. Se estableció el límite de 1500 Ui de esta hormona como cantidad máxima a partir de la cual era necesaria la visualización de un saco intraterino. No fue necesaria la confirmación ecográfica de la gestación extrauterina en todos los casos.

#### 4.5.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se registraron y procesaron en un *ordenador iMac con procesador 2,4 GHz Intel Core 2 Duo y Software Mac OS X Lion 10.7.4 (11E53)*. Para la introducción y gestión de los datos se diseñó una base de datos mediante la aplicación *File Maker Pro, Versión 6.0 Ev3 (1984-2002 FileMaker Inc)*. El análisis estadístico se realizó mediante el paquete estadístico *SPSS Statistics versión 19.0 (SPSS, Chicago, IL)*

Dado el tamaño de la muestra, la distribución de las variables continuas se evaluó mediante la prueba de Shapiro-Wilk. La variable edad se dicotomizó de acuerdo con el punto de corte que mejor predice los resultados diagnósticos mediante la curva *Receiver Operating Characteristic (ROC)*. Los resultados descriptivos se presentan en sus valores medios, desviación estandar y rango y para las variables cualitativas, el resumen de datos se realizó mediante su distribución en frecuencias absolutas y porcentajes. Se consideró significativo un valor de la p inferior a 0,05

El análisis univariado para determinar la asociación de las variables predictivas continuas (edad, parámetros ecográficos, número de ovocitos y número de embriones transferidos) con las variables objetivo (DBE y DCE) se realizó mediante la prueba t de Student para datos que demostraron una distribución

normal y el test U de Mann-Whitney para los datos asimétricos. Las variables cualitativas (causas de esterilidad, aspecto ecográfico del endometrio y protocolo de estimulación ovárica) se compararon con las variables objetivo mediante el test de la  $\chi^2$ . La asociación del protocolo de estimulación ovárica con el número de ovocitos obtenidos se analizó mediante ANOVA.

Para identificar los predictores independientes de los DBE y DCE se realizó un análisis multivariado mediante regresión logística binaria incluyendo aquellas variables que habían obtenido una  $p < 0,1$  en el análisis univariado. Se calcularon el odds ratio (OR), intervalo de confianza (CI) y el estadístico "C" a partir de los resultados del análisis de regresión logística.

Se evaluó la información aportada por el modelo multivariado final para la predicción de las variables de resultado mediante el estadístico C. Para el cálculo de este índice se cuantificó el área bajo la curva "*receiver operating characteristic*" (ROC) del modelo para predecir dicho diagnóstico.

## **5.- RESULTADOS**

---



## **5.- RESULTADOS**

### **5.1.- CARACTERÍSTICAS DESCRIPTIVAS DEL GRUPO DE ESTUDIO**

---

#### **5.1.1.- MUESTRA**

Se incluyeron en el estudio un total de 1785 ciclos de reproducción asistida tipo Fertilización *in vitro* o Inyección intracitoplasmática de espermatozoides (FIV/ICSI). La edad media de las mujeres estudiadas fue de  $33,5 \pm 3,7$  años con un rango de edades comprendidas entre 21 y 40 años.

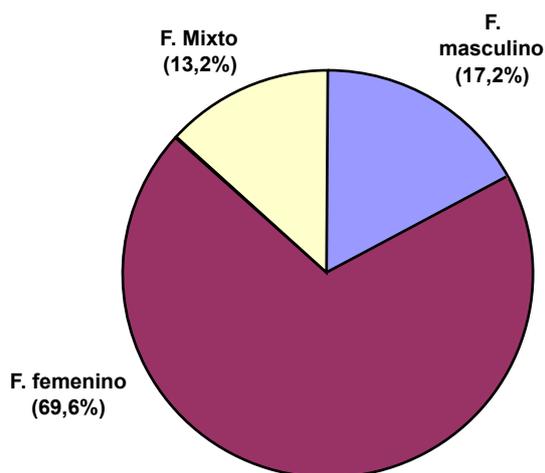
---

#### **5.1.2.- CAUSAS DE ESTERILIDAD**

La distribución de toda la muestra según las causas de esterilidad (tabla 9 y figura 36) permite diferenciar tres grupos: esterilidad de causa exclusivamente femenina, esterilidad de causa exclusivamente masculina y esterilidad en la que se comparten ambas causas.

<b>Tabla 9.- Distribución por casos del factor causante de esterilidad</b>		
<b>Factor</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Factor masculino	307	17,2
Factor femenino	1242	69,6
Factor mixto (femenino+masculino)	236	13,2
<b>TOTAL</b>	<b>1785</b>	<b>100</b>

En la mayor parte de los casos (1242 casos; 69,6%) el factor causante de esterilidad fue exclusivamente femenino; en 307 casos (17,2%) la causa identificada fue de origen masculino y en 236 casos (13,2%) se asociaron ambos factores.

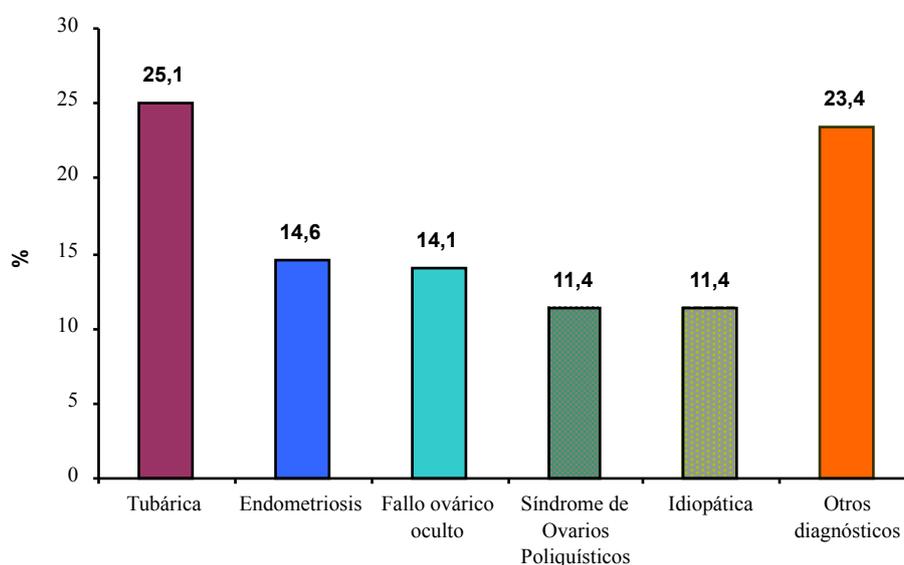


**Figura 36.- Distribución por casos del factor causante de esterilidad**

En lo relativo a las características clínicas (tabla 10 y figura 37) y teniendo en cuenta los diagnósticos causantes de esterilidad en las mujeres, bien de forma exclusiva, o bien coexistiendo junto con el factor masculino, la distribución de los 1478 casos fue la siguiente: 371 pacientes (25,1%) presentaban alteraciones tubáricas; en 216 casos (14,6%) el diagnóstico era endometriosis; 208 pacientes (14,1%) fueron

catalogadas como fallo ovárico oculto (FOO); 168 pacientes (11,4%) cumplían criterios diagnósticos del síndrome de ovarios poliquísticos (SOP) y 169 casos (11,4%) correspondían a causa idiopática de esterilidad. Se agruparon también 346 pacientes (23,4%) en el grupo previamente descrito de otros diagnósticos.

<b>Tabla 10.- Distribución por casos de los diagnósticos causantes de esterilidad femenina</b>		
<b>Diagnósticos de esterilidad</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Tubárica	371	25,1
Endometriosis	216	14,6
Fallo ovárico oculto	208	14,1
Síndrome de Ovarios Poliquísticos	168	11,4
Idiopática	169	11,4
Otros diagnósticos	346	23,4
<b>TOTAL</b>	<b>1478</b>	<b>100</b>



**Figura 37.- Distribución por casos de los diagnósticos causantes de esterilidad femenina**

### 5.1.3.- VARIABLES ECOGRÁFICAS

Como se ha comentado con anterioridad, los valores correspondientes a las variables ecográficas se obtuvieron el día de la transferencia embrionaria y previamente a la misma. Los resultados se recogen en la tabla 11.

Se ha de señalar que no en todos los casos se pudieron obtener los parámetros ecográficos con suficiente precisión. Asimismo, la incorporación de las medidas de histerometría fundus uterino y volumen de la cavidad endometrial se llevó a cabo tan solo en 103 casos, completándose con fiabilidad todas las medidas en 87 casos.

<b>Tabla 11.- Resultados de los parámetros ecográficos</b>			
<b>Parámetro</b>	<b>n (%)<sup>*</sup></b>	<b>Media (±DS)</b>	<b>Rango</b>
Grosor línea endometrial (mm)	1459 (81,7%)	12,1 (3,1)	4-27
Histerometría límite fúndico (mm)	1695 (95%) 87 <sup>**</sup> (4,9%)	72,7 (8,9) 65,9 (7,4)	41-110 52,7-86,7
Histerometría fundus uterino (mm)	95 (5,3%) 87 <sup>**</sup> (4,9%)	76,2 (8,9) 76 (8,2)	47,6-105 59-99
Diferencia medidas histerométricas	87 <sup>**</sup> (4,9%)	10,2 (4,3)	1-24
Volumen cavidad endometrial (ml)	87 <sup>**</sup> (4,9%)	3,9 (2,4)	0,8-11,3
<sup>*</sup> N° de casos y porcentaje sobre el total			
<sup>**</sup> Resultados correspondientes a los casos en que se obtuvieron las dos medidas histerométricas y se calculó el volumen de la cavidad endometrial			

El grosor de la línea endometrial determinado ecográficamente mediante ecografía 2D se pudo obtener con seguridad en el 81,7% de los casos. El valor medio fue de 12,1 ± 3,1 mm, con un grosor mínimo de 4 mm y un grosor máximo de 27 mm.

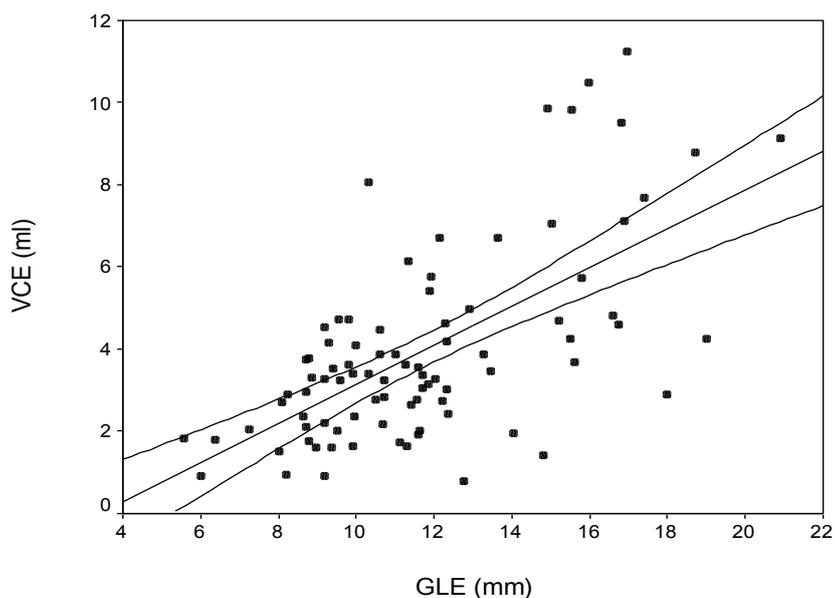
La medición ecográfica de la histerometría medida hasta el límite fúndico del endometrio fue posible en 1695 casos (95%) y sus valores oscilaron entre un mínimo de 41 mm y un máximo de 110 mm, siendo su valor medio de  $72,7 \pm 8,9$ .

Durante el desarrollo del estudio y debido a la incorporación de nuevas posibilidades de evaluación ecográfica se incluyeron parámetros ecográficos adicionales a un total de 103 casos. Los resultados de estas determinaciones se resumen también en la tabla 37.

Si se toma como medida de histerometría hasta el fundus uterino, en los 95 casos en que se obtuvo, el valor medio fue de  $76,2 \pm 8,9$ , siendo la histerometría mínima encontrada de 47,6 mm y la máxima de 105 mm. No obstante, las dos medidas de histerometría (hasta límite fúndico de endometrio y hasta fundus uterino) se determinó con fiabilidad en 87 casos. Los valores medios correspondientes a la histerometría límite fúndico de este grupo ( $65,9 \pm 7,4$ ) resultaron inferiores a los encontrados en el total de la muestra.

También en estos mismos casos se calculó, mediante ecografía tridimensional, el volumen de la cavidad endometrial, cuyo valor medio fue de  $3,9 \pm 2,4$  ml con un volumen mínimo de 0,8 ml y un volumen máximo de 11,3 ml.

El análisis de estas medidas ecográficas confirmó una elevada correlación entre el grosor de la línea endometrial y el volumen de la cavidad endometrial ( $r= 0,637$ ;  $p<0,001$ ) (Figura 38)



**Figura 38.- Correlación entre volumen de cavidad endometrial (VCE) y grosor de la línea endometrial (GLE)**

De la misma forma mediante ecografía bidimensional en 96 casos de dicho grupo (5,4% del total) se determinó el patrón endometrial, cuyos resultados se resumen en la tabla 12. En su mayor parte (84,4%) se observó un endometrio con características secretoras, en un 6,3% de las pacientes (6 casos) se observó un endometrio trilaminar y por último, en un 9,4% (9 casos) pudo objetivarse un endometrio de características de transición.

<b>Tabla 12.- Distribución del patrón endometrial</b>		
<b>Patrón endometrial</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Secretor	81	84,4
Trilaminar	6	6,3
Transición	9	9,4
<b>Total</b>	<b>96</b>	<b>100</b>

#### 5.1.4.- VARIABLES DE INTERVENCIÓN CORRESPONDIENTES AL PROCESO DE FIV/ICSI

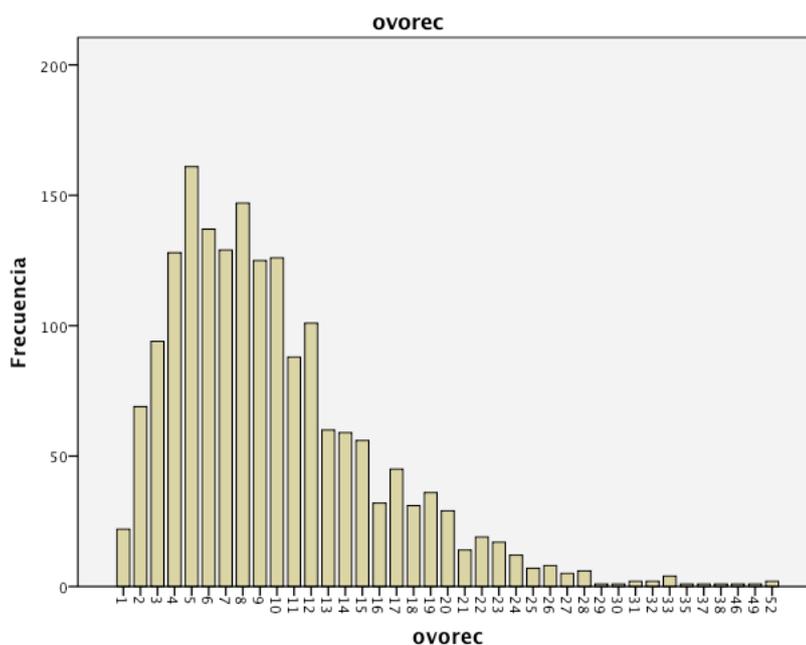
##### A) PROTOCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA

Los protocolos de estimulación ovárica que se llevaron a cabo en las pacientes se recogen en la tabla 13. Un 40,6 % (725 casos) recibieron el protocolo antagonistas para estimulación ovárica frente a un 50% (892 casos) que recibieron el protocolo agonistas. En 168 casos (9,4%) se aplicó el protocolo SIN.

<b>Tabla 13.- Distribución por casos de los protocolo de estimulación ovárica</b>		
<b>Protocolo</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
• Sin	168	9,4
• Antagonistas	725	40,6
• Agonistas	892	50
<b>TOTAL</b>	<b>1785</b>	<b>100</b>

##### B) OVOCITOS OBTENIDOS POR PUNCIÓN OVÁRICA

Los ovocitos obtenidos durante la punción ovárica se resumen en la figura 39. La cifra media fue de  $9,8 \pm 6,2$  con un rango entre 1 y 52 ovocitos



**Figura 39.- Distribución del número de ovocitos obtenidos mediante punción ovárica**

### **C) RELACIÓN ENTRE LOS PROTOCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA Y EL NÚMERO DE OVOCITOS OBTENIDOS**

El número de ovocitos obtenidos según los diferentes protocolos de estimulación ovárica se distribuyó de la siguiente forma: la cifra media de ovocitos en las pacientes sometidas al protocolo SIN fue de 8,9 ( $\pm 6$ ). En el grupo de pacientes con protocolo de antagonistas de la GnRH fue de 9,6 ( $\pm 6,4$ ) ovocitos y en los casos con protocolo agonistas de la GnRH el número medio fue superior (10,2  $\pm 6$ ). Estas diferencias resultaron significativas ( $p < 0,016$ ), como se muestra en la tabla 14.

<b>Tabla 14.- Número de ovocitos según protocolo de estimulación ovárica (ANOVA)</b>			
<b>Protocolo</b>	<b>n</b>	<b>N° ovocios (Media ± DS)</b>	<b>IC al 95%</b>
• SIN	168	8,9 (± 6)	8 - 9,8
• Antagonistas	725	9,6 (± 6,4)	9,1 - 10
• Agonistas	892	10,2 (± 6)	9,8 - 10,6
IC: Intervalo de confianza al 95%			
p = 0,016			

En la tabla 15 se presentan los resultados de las pruebas post hoc al ANOVA demostrando que las diferencias fueron significativas entre los protocolos SIN y agonistas.

<b>Tabla 15.- Comparaciones entre el número de ovocitos según protocolos de estimulación ovárica</b>	
<b>Protocolos</b>	<b>p</b>
• SIN versus antagonistas	0,537
• SIN versus agonistas	0,033
• Agonistas versus antagonistas	0,144

#### **D) RELACIÓN ENTRE LOS PROTOCOLOS DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA Y VARIABLES ECOGRÁFICAS**

Mediante el test ANOVA se analizaron las diferencias del grosor endometrial en función de los diferentes protocolos de estimulación ovárica (tabla 16).

<b>Tabla 16.- Grosor de la línea endometrial según protocolo de estimulación ovárica (ANOVA)</b>			
<b>Protocolo</b>	<b>n</b>	<b>Media (± DS)</b>	<b>IC al 95%</b>
• SIN	151	11,8 (± 3,2)	11,3 - 12,3
• Antagonistas	707	11,6 (± 2,8)	11,4 - 11,8
• Agonistas	601	12,6 (± 3,4)	12,3 - 12,9
IC: Intervalo de confianza p = <0,001			

Se encontraron diferencias altamente significativas ( $p < 0,001$ ) a expensas de valores superiores del protocolo agonistas frente a la estimulación con antagonistas ( $p < 0,001$ ) o mediante el protocolo SIN ( $p = 0,011$ ), ambos con valores muy próximos sin diferencias significativas (tabla 17).

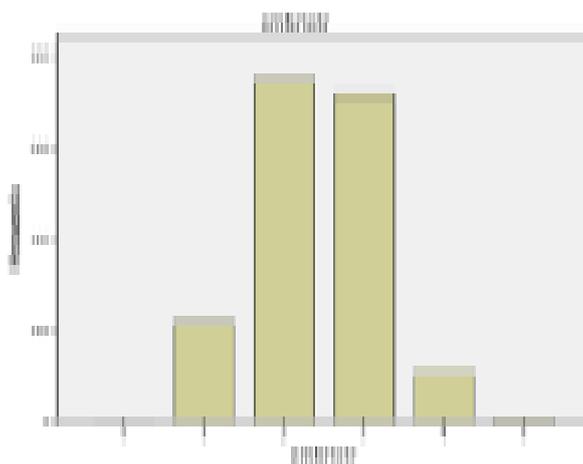
<b>Tabla 17.- Comparaciones entre el grosor de la línea endometrial según protocolos de estimulación ovárica</b>	
<b>Protocolos</b>	<b>p</b>
• SIN versus antagonistas	1
• SIN versus agonistas	0,011
• Agonistas versus antagonistas	<0,001

## **E) EMBRIONES TRANSFERIDOS**

El número de embriones transferidos se resume en la tabla 18 y figura 40. Fueron transferidos una media de  $2,4 \pm 0,8$  embriones (rango 0–5) con la siguiente distribución: en un 0,1% de las pacientes (2 casos) no se consiguió realizar transferencia alguna por problemas diversos que no son objeto del presente estudio, un 12,1% (216 pacientes) recibieron un único embrión. En la mayor parte (41,6% de los casos correspondientes a 742 pacientes) se transfirieron dos embriones; en 711 casos (39,8% de la muestra) se transfirieron un total de tres embriones;

cuatro embriones se transfirieron a 107 pacientes (6%) y a 7 pacientes (0,4%) cinco embriones.

Número medio ( $\pm$ DS)		2,4 (0,8)
Nº de embriones: n (%)	0	2 (0,1%)
	1	216 (12,1%)
	2	742 (41,6%)
	3	711 (39,8%)
	4	107 (6%)
	5	7 (0,4%)



**Figura 40.- Distribución del número de embriones transferidos**

### **5.1.5 VARIABLES OBJETIVO**

Se han considerado como variables objetivo o de resultado aquellas situaciones en las que puede derivar el ciclo de reproducción asistida, bien hacia la consecución de la gestación, sea ésta evolutiva o no evolutiva, o, por el contrario, a la no consecución del ciclo de reproducción asistida. Así, serán variables dependientes las siguientes:

- Diagnóstico bioquímico de embarazo (DBE)
  - DBE positivo
  - DBE negativo
- Diagnóstico clínico de embarazo (DCE)
  - Embarazo clínico
  - Ausencia de embarazo clínico (en casos de aborto o embarazo ectópico)

### **DIAGNÓSTICOS BIOQUÍMICO DE EMBARAZO (DBE)**

---

Si se realiza una primera división de todos los ciclos según el DBE del embarazo en un 42,6% de los casos (761 casos) se evidencia un test de embarazo positivo; mientras que en un 57,4% de los mismos (1024 casos) el resultado fue negativo (tabla 17).

### **DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE EMBARAZO (DCE)**

---

El DCE se diferenció en dos posibilidades que se resumen también en la tabla 19. En primer lugar, el embarazo clínico se definió como la existencia de un embarazo inicialmente evolutivo, excluyendo por tanto el embarazo ectópico y el aborto. Esta situación pudo constatarse en un 64,4% de los casos con DBE positivo (27,5% del total). La ausencia de embarazo clínico, que incluye embarazo ectópico y aborto se dio en un 35,7% de los casos (15,2% del total).

<b>Tabla 19.- Distribución de casos según diagnóstico bioquímico de embarazo (DBE) y embarazo clínico (DCE)</b>		
	<b>DBE positivo n (%)</b>	<b>DBE negativo n (%)</b>
Diagn. bioquímico de embarazo (DBE)	761 (42,6%)	1024 (57,4%)
Diagnóstico clínico de embarazo (DCE)		
• Embarazo clínico	490 (64,4%)	
• Ausencia de embarazo clínico	271 (35,7 %)	
• Aborto	250 (32,9%)	
• Embarazo ectópico	21 (2,8%)	

## **SACOS GESTACIONALES**

Analizando ecográficamente cada una de las gestaciones, según la visualización o no de saco gestacional intrauterino y sin evaluar si éste fue evolutivo o no, en 176 casos (23,1%) no se detecta ningún saco gestacional; aparece un único saco gestacional en 370 casos (48,6 % de las gestaciones), en 184 casos (24,2%) se visualizaban dos sacos gestacionales y tres sacos en 31 casos (4,1%) . (Tabla 20)

<b>Tabla 20.- Distribución de los casos según la visualización ecográfica de saco gestacional</b>		
<b>Nº de sacos gestacionales</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Ningún saco	176	23,1
Uno	370	48,6
Dos	184	24,2
Tres	31	4,1
<b>Total</b>	<b>761</b>	<b>100</b>

## **5.2.- PREDICTORES DE DIAGNÓSTICO BIOQUÍMICO DE EMBARAZO**

Se contrastaron las diferentes variables analizadas en el estudio con la posibilidad o no de embarazo, sin discernir en este primer análisis las posibilidades de embarazo clínico.

Tal como se recoge en la metodología del estudio, para analizar los predictores de DBE se incluyeron la totalidad de variables independientes previamente descritas.

Según lo descrito en la metodología, las variables categóricas se expresan como porcentajes y se comparan por la prueba de la  $\chi^2$ . Se utilizó la t de Student y tests no paramétricos para variables cuantitativas. Determinadas variables continuas se transformaron en variables categóricas, usando curvas ROC para definir el mejor punto de corte para predecir los resultados. El análisis multivariable se realizó por regresión logística binaria, incluyendo las variables que mostraron un valor de significación menor de 0,1 en el análisis del univariado. El valor p mínimo para estimar la significación estadística se estableció en 0,05.

---

### **5.2.1.- ANÁLISIS UNIVARIANTE**

#### **5.2.1.1- EDAD Y VARIABLES CLÍNICAS**

En la tabla 21 se presentan los resultados del análisis univariado correspondientes a la relación de la edad y variables clínicas con el diagnóstico exclusivamente bioquímico del embarazo.

<b>Tabla 21.- Diagnóstico bioquímico de embarazo (DBE) según edad y variables clínicas. Análisis univariado</b>			
<b>Variable</b>	<b>DBE positivo (n: 761 )</b>	<b>DBE negativo (n:1024 )</b>	<b>p</b>
Edad			
Años <sup>1</sup>	33 ( $\pm$ 3,6)	34 ( $\pm$ 3,8)	0,000
< 35 años <sup>2</sup>	490 (64,4%)	585 (57,1%)	0,001
$\geq$ 35 años <sup>2</sup>	271 (35,6%)	439 (42,5%)	
Causas de esterilidad <sup>2</sup>			
a) Según género			0,510
Factor femenino	539 (43,4%)	703 (56,6%)	
Factor masculino	129 (42%)	178 (58%)	
Factor mixto	93 (39,4%)	143 (60,6%)	
b) En la mujer			0,358
Tubárica	220 (59,3%)	111 (40,7%)	
Endometriosis	128 (59,1%)	88 (40,9%)	
SOP	121 (58%)	87 (42%)	
Idiopática	106 (62,9%)	62 (37,1%)	
Fallo ovárico oculto	104 (61,4%)	65 (38,6%)	
Otros	194 (56,1%)	152 (43,9%)	
<sup>1</sup> Valores expresados en media y desviación estándar			
<sup>2</sup> Valores expresados en números absolutos y porcentajes			
SOP: Síndrome ovario poliquístico			

La edad media de las pacientes que quedaron gestantes fue de 33 ( $\pm$  3,6) años y de 34 ( $\pm$  3,8) años para las pacientes que no gestaron. De esta manera, aún contando con la diferencia de tan sólo un año entre los grupos, este resultado se ha mostrado estadísticamente muy significativo ( $p < 0,001$ ).

De la misma forma, si se distribuyen los casos en dos grupos tomando como edad de corte 35 años, que resulta de la curva ROC, también se aprecian diferencias significativas entre ambos grupos ( $p=0,001$ ) que confirman la relación de la edad con las posibilidades de gestación de modo que el diagnóstico bioquímico de embarazo es sensiblemente superior en las mujeres menores de 35 años.

La distribución de los factores de esterilidad de orígenes masculino, femenino y mixto en la consecución del diagnóstico bioquímico embarazo positivo no ha establecido diferencias estadísticamente

significativa con la que se observa en el grupo de pacientes con diagnóstico negativo ( $p=0,510$ ).

En lo relativo a las causas específicas de esterilidad en la mujer, no se ha encontrado una diferencia estadísticamente significativa en la distribución de las patologías en los dos resultados posibles de diagnóstico bioquímico del embarazo ( $p=0,358$ )

### 5.2.1.2.- VARIABLES ECOGRÁFICAS

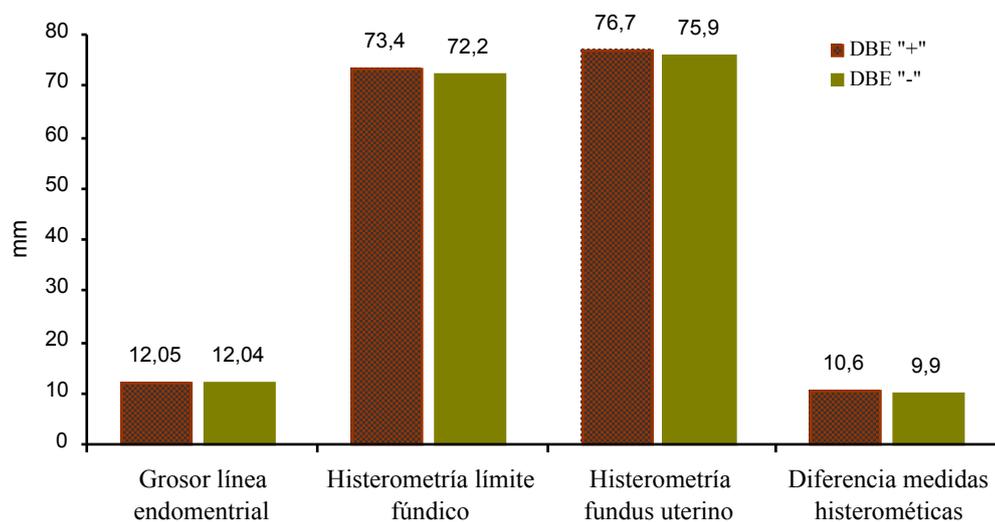
Todas las variables ecográficas han sido también relacionadas con la posibilidad o no de diagnóstico bioquímico de embarazo (tabla 22 y figura 41). Tal como se ha indicado previamente, la incorporación en el curso del estudio de nuevas medidas ecográficas, así como la existencia de casos con medidas no recogidas, principalmente por dificultades técnicas, determinan un número variable de casos en cada uno de los parámetros ecográficos que también se indican en la tabla.

<b>Tabla 22.- Diagnóstico bioquímico de embarazo (DBE) según parámetros ecográficos 2D y 3D. Análisis univariado</b>				
	<b>n</b>	<b>DBE positivo</b>	<b>DBE negativo</b>	<b>p</b>
<b>Parámetro ecográfico</b>				
Grosor línea endometrial (mm)	1459	12,05 ( $\pm 2,9$ )	12,04 ( $\pm 3,2$ )	0,984
Histerometría límite fúndico (mm)	1695	73,4 ( $\pm 9$ )	72,2 ( $\pm 9$ )	0,006
Histerometría fundus uterino (mm)	95	76,7 ( $\pm 7,8$ )	75,9 ( $\pm 9,7$ )	0,666
Diferencia medidas histerométricas (mm)	87	10,6 ( $\pm 3,7$ )	9,9 ( $\pm 4,6$ )	0,475
Volumen cavidad endometrial (cc)	87	4,35 ( $\pm 2,5$ )	3,66 ( $\pm 2,2$ )	0,179
Aspecto ecográfico del endometrio	96			
• Secretor	81	32 (84,2%)	49 (84,5%)	0,911
• Trilaminar	6	2 (5,3%)	4 (6,9%)	
• Transición	9	4 (10,5%)	5 (8,6%)	

Así, el valor medio del espesor endometrial en las pacientes que no consiguieron embarazo fue de 12,04 ( $\pm$  3,2) mm mientras que en las pacientes que consiguieron embarazo se evidenció un espesor medio de 12,05 ( $\pm$  2,9) mm. Estas cifras, prácticamente idénticas, no establecen diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0,984$ )

Por el contrario, el valor histerométrico determinado hasta la zona final y fúndica del endometrio fue significativamente superior ( $p= 0,006$ ) en el grupo de pacientes que alcanzaron un diagnóstico bioquímico de embarazo positivo (73,4  $\pm$  9 mm) frente a los casos en que este diagnóstico no fue posible (72,2  $\pm$  9 mm)

Sin embargo, los resultados correspondientes a la histerometría determinada hasta el fundus uterino, que se realizó en 95 casos, no fueron significativamente diferentes en ambos grupos ( $p= 0,666$ ). En el grupo con resultados positivos se obtuvo un valor medio de 76,7 ( $\pm$  7.8), mientras que en el de resultados negativos fue de 75,9 ( $\pm$  9,7)



**Figura 41.- Diagnóstico bioquímico de embarazo según parámetros ecográficos**

En los 87 casos en los que se consiguieron las dos medidas histerométricas (límite fúndico y fundus uterino) se calcularon las diferencias entre las dos medidas, que corresponderían al espesor miometrial en su porción fúndica. Con unas cifras medias ligeramente superiores en las pacientes con diagnóstico positivo ( $10,6 \pm 3,7$  mm) respecto a las obtenidas en el grupo con diagnóstico negativo ( $9,9 \pm 4,6$  mm) no se confirma significación estadística en estas diferencias ( $p=0,475$ )

Dentro de las variables ecográficas, se analizó también la relación entre el volumen de la cavidad endometrial determinado mediante la aplicación VOCAL con la consecución o no de diagnóstico bioquímico de embarazo. Esta medida que se obtuvo en los mismos 87 casos que la medida anterior, alcanzó un valor medio en las pacientes que consiguieron diagnóstico bioquímico de embarazo de  $4,35 \pm 2,5$  ml mientras que en las pacientes que no lo consiguieron fue de  $3,66 \pm 2,2$  ml. No obstante, estas diferencias no alcanzaron significación estadística ( $p=0,179$ )

La distribución de los diferentes aspectos ecográficos del endometrio, en su mayor parte de tipo secretor, resultó con valores similares en ambos grupos, sin apreciarse diferencias significativas ( $p=0,911$ ) que demostraran una influencia de las características endometriales en las posibilidades gestacionales.

Consecuentemente, de todas las variables ecográficas analizadas, únicamente los valores superiores resultantes de la histerometría límite fúndico permiten establecer diferencias estadísticamente significativas en el grupo de pacientes con diagnóstico bioquímico positivo de embarazo frente al grupo en las que el embarazo no se produjo.

### 5.2.1.3.- VARIABLES DE INTERVENCIÓN (FIV/ICSI)

Los resultados correspondientes a la distribución de las variables de intervención (FIV/ICSI) en función del diagnóstico bioquímico de embarazo se resumen en la tabla 23.

El protocolo de estimulación ovárica al que fueron sometidas las pacientes no ha establecido una distribución significativamente diferente en los casos de embarazo frente a los de no embarazo ( $p=0,543$ ). De este modo el protocolo utilizado para la estimulación ovárica no ha influido en el diagnóstico bioquímico de embarazo

<b>Tabla 23.- Diagnóstico bioquímico de embarazo (DBE) según variables de intervención. Análisis univariado</b>			
	<b>DBE positivo (n: 761 )</b>	<b>DBE negativo (n:1024 )</b>	<b>p</b>
Protocolo estimulación ovárica*			0,543
• Agonistas	391 (43,8%)	501 (56,2%)	
• Antagonistas	298 (41,1%)	427 (58,9%)	
• SIN	72 (42,9%)	96 (57,1%)	
Número de ovocitos**	10,5 ( $\pm$ 6,1)	9,3 ( $\pm$ 6,2)	<0,001
Número de embriones transferidos**	2,5 ( $\pm$ 0,7)	2,3 ( $\pm$ 0,9)	<0,001
* Total (%) ** Media $\pm$ DS			

La cifra media de ovocitos obtenidos durante la punción ovárica fue en los casos con diagnóstico bioquímico de embarazo positivo de  $10,5 \pm 6,1$  mientras que en los casos con diagnóstico negativo esta cifra fue inferior ( $9,3 \pm 6,2$ ). Desde el punto de vista estadístico, el mayor número de éxitos que se alcanzan en los casos con más ovocitos obtenidos en la punción ovárica, resulta altamente significativo con una  $p < 0,001$

En el mismo sentido, el número de embriones transferidos, aunque con valores medios bastante próximos en ambos grupos, con una

cifra media ligeramente superior ( $2,5 \pm 0,7$ ) en el grupo de pacientes con diagnóstico bioquímico de embarazo positivo frente a la que se obtiene de los casos con resultado negativo ( $2,3 \pm 0,9$ ), establece diferencias estadísticamente muy significativas ( $p < 0,001$ )

### 5.2.2.- ANÁLISIS MULTIVARIANTE

El análisis multivariado para la predicción de diagnóstico bioquímico de embarazo se efectuó aplicando modelos de regresión logística. Se incluyeron mediante el método "introducir" (*enter*), "paso a paso" (*stepwise*) aquellas variables que en el análisis univariado mostraron una  $p \leq 0,1$ : edad, rangos de edad ( $<35$  y  $>34$ ), histerometría límite fúndico, número de ovocitos recogidos y número de embriones transferidos. Se calcularon las odds ratio (OR) y los intervalos de confianza (IC) del 95% de las variables que demostraron ser independientes en la predicción diagnóstica

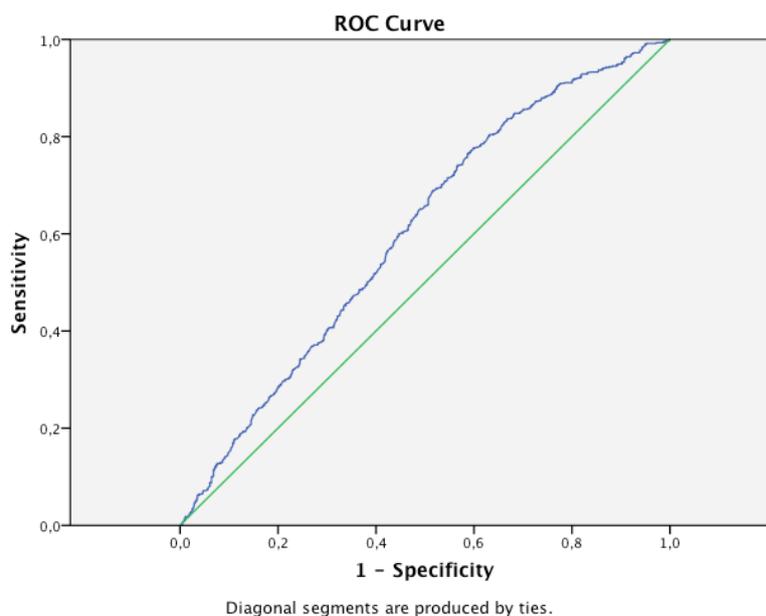
Variable	Análisis univariado			Análisis multivariado		
	DBE positivo	DBE negativo	p	OR	IC del 95%	p
Edad (años)	33( $\pm 3,6$ )	34( $\pm 3,8$ )	<0,001	0,942	0,917-0,967	<0,001
Histerometría LF (mm)	73,4( $\pm 9$ )	72,2( $\pm 9$ )	0,006	1,162	1,04-1,298	0,008
Nº embriones	2,5( $\pm 0,7$ )	2,3( $\pm 0,9$ )	<0,001	1,354	1,192-1,538	<0,001

Histerometría LF: Histerometría límite fúndico  
 OR: Odds ratio  
 IC: Intervalo de confianza del 95%

En la tabla 24 se presentan los resultados del análisis de regresión logística utilizando como variable dependiente el diagnóstico bioquímico de embarazo. Se observa que las únicas variables con

capacidad predictora del diagnóstico bioquímico de embarazo fueron: edad, histerometría límite fúndico y número de embriones transferidos

Se evaluó la información aportada por el modelo multivariado final para la predicción del diagnóstico bioquímico de embarazo mediante el estadístico C. Para el cálculo de este índice se cuantificó el área bajo la curva "receiver operating characteristic" (ROC) del modelo para predecir dicho diagnóstico. Se obtuvo un valor de área bajo la curva o estadístico C de 0,603 y el correspondiente intervalo de confianza al 95% de 0,576 - 0,629.



**Figura 42.- Análisis ROC de las variables predictoras de diagnóstico bioquímico de embarazo**

### **5.3.- PREDICTORES DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO DE EMBARAZO**

En este apartado, a diferencia del anterior, se analiza la influencia de las variables recogidas sobre el resultado reproductivo. Este resultado se ha considerado, en aquellas pacientes con diagnóstico bioquímico de embarazo positivo, como diagnóstico clínico de embarazo (DCE) y pueden darse dos situaciones:

- Embarazo clínico. Incorpora todos los casos en los que se consigue embarazo clínico positivo o evolutivo
- Ausencia de embarazo clínico. Se incluyen en esta categoría los casos que resultan en embarazo clínico negativo, considerando como tales el aborto o el embarazo ectópico.

---

#### **5.3.1.- ANÁLISIS UNIVARIABLE**

El análisis univariable que establece la relación de las diferentes variables analizadas con el resultado reproductivo ofrece los siguientes resultados:

---

##### **5.3.1.1.- EDAD Y VARIABLES CLÍNICAS**

En la tabla 25 se presentan los resultados del análisis univariado correspondientes a la relación de la edad y variables clínicas con el resultado reproductivo.

Sin que haya podido establecerse una diferencia significativa ( $p=0,154$ ), la media de edad de las pacientes del grupo con DCE positivo

fue de  $32,9 \pm 3,5$  años y de  $33,3 \pm 3,8$  para las pacientes del grupo en que no se obtuvo. Sin embargo, si se distribuyen los casos en dos grupos tomando como límite de edad 35 años, la diferente distribución en ambos grupos está en el límite de la significación estadística ( $p= 0,048$ ). Cabe destacar que, aunque los mayores porcentajes en los dos grupos corresponden a las pacientes más jóvenes, el DCE positivo (331 casos) es la situación predominante en los casos con DBE positivo, representado el 43% del total. Este resultado se alcanza con mayor frecuencia (67,6%) en las mujeres que pertenecen al grupo de edad inferior a 35 años.

<b>Tabla 25.- Diagnóstico clínico de embarazo (DCE) dependiendo de edad y variables clínicas. Análisis univariado</b>			
<b>Variable</b>	<b>DCE positivo (n: 490)</b>	<b>DCE negativo (n: 271)</b>	<b>p</b>
Edad			
• Años <sup>1</sup>	32,9 ( $\pm 3,5$ )	33,3 ( $\pm 3,8$ )	0,154
• < 35 años <sup>2</sup>	328 (66,9%)	162 (59,8%)	0,048
• $\geq 35$ años <sup>2</sup>	162 (33,1%)	109 (40,2%)	
Causas de esterilidad <sup>2</sup>			
a) Según género			0,022
• Factor femenino	331 (67,6%)	208 (76,8%)	
• Factor masculino	90 (18,4%)	39 (14,4%)	
• Factor mixto	69 (14,1%)	24 (8,9%)	
b) En la mujer			0,093
• Tubárica	118 (24,2%)	64 (23,6%)	
• Endometriosis	61 (12,5%)	46 (16,9%)	
• SOP	65 (13,3%)	27 (10,1%)	
• Idiopática	40 (8,1%)	43 (15,5%)	
• Fallo Ovárico Oculto	75 (15,3%)	25 (9,5%)	
• Otras	130 (26,6%)	66 (24,3%)	
<sup>1</sup> Valores expresados en media y desviación estándar			
<sup>2</sup> Valores expresados en números absolutos y porcentajes			
SOP: Síndrome ovario poliquístico			

La diferente distribución de los factores masculino, femenino y mixto en los resultados reproductivos también resulta estadísticamente significativa ( $p=0,022$ ). Se ha de destacar que el factor femenino como

causa de esterilidad es predominante en el total de la muestra y en ambos grupos, con un porcentaje superior (76,8%) en los casos con DCE negativo respecto a los casos en los que se consigue un embarazo inicialmente evolutivo (67,6%).

En referencia a las causas específicas de esterilidad en la mujer, la distribución entre los dos grupos de resultado reproductivo no alcanza diferencias estadísticamente significativas ( $p= 0,093$ ) apreciándose porcentajes similares en ambos grupos de aquellas causas más representativas, principalmente patología tubárica y el conjunto de patologías agrupadas en el apartado de "Otras".

### 5.3.1.2.-VARIABLES ECOGRÁFICAS

En la tabla 26 se presenta la relación de las variables ecográficas con el DCE.

<b>Tabla 26.- Diagnóstico clínico de embarazo (DCE) según parámetros ecográficos 2D y 3D. Análisis univariado</b>				
<b>Parámetro ecográfico</b>	<b>n</b>	<b>DCE positivo</b>	<b>DCE negativo</b>	<b>P</b>
Grosor línea endometrial (mm)	640	12 ( $\pm 3$ )	12,1 ( $\pm 2,9$ )	0,972
Histerometría límite fúndico (mm)	730	73,7 ( $\pm 9$ )	72,9 ( $\pm 9,2$ )	0,232
Histerometría fundus uterino (mm)	37	76 ( $\pm 8,3$ )	77,7 ( $\pm 6,9$ )	0,525
Dif. medidas histerométricas (mm)	34	10,1 ( $\pm 4,2$ )	11,4 ( $\pm 2,4$ )	0,307
Volumen cavidad endometrial (cc)	36	4,5 ( $\pm 2,6$ )	4,1 ( $\pm 2,3$ )	0,677
Aspecto ecográfico del endometrio	38			
• Secretor	32	19 (79,2%)	13 (93%)	0,448
• Trilaminar	2	2 (8,3%)	0	
• Transición	4	3 (12,5%)	1 (7%)	
Valores histerométricos expresados en media y desviación estándar				
Valores del aspecto endometrial expresados en números absolutos y porcentajes				

El valor medio del espesor de la línea endometrial ha resultado prácticamente el mismo en ambos grupos sin encontrarse diferencias significativas ( $p= 0,972$ ) entre los casos con DCE positivo ( $12 \pm 3$  mm) y aquellos con DCE negativo ( $12,1 \pm 2,9$  mm).

Los resultados de histerometría límite fúndico, a diferencia de lo que ocurre en los diagnósticos bioquímicos de embarazo, no han presentado diferencias significativas ( $p=0,232$ ), de modo que en el DCE negativo el valor medio de esta modalidad de histerometría ( $72,9 \pm 9,2$  mm) se aproxima al que presentan los casos con DCE positivo ( $73,7 \pm 9$  mm).

Al igual que en los análisis correspondientes al diagnóstico bioquímico de embarazo, en un reducido grupo de casos se incorporaron nuevos parámetros ecográficos, cuyos resultados, en lo referente al diagnóstico clínico de embarazo, se resumen a continuación.

En 37 casos en los que se determinó la histerometría fundus uterino la diferencia de los valores medios, tanto en los que se alcanzó éxito reproductivo ( $76 \pm 8,3$  mm) como cuando éste no fue posible ( $77,7 \pm 6,9$  mm), no alcanzaron significación estadística ( $p= 0,525$ ).

En el mismo sentido, y en 34 casos con las dos medidas histerométricas recogidas, tampoco se encontraron diferencias significativas ( $p=0,307$ ) en el valor medio del espesor miometrial (diferencia entre el valor en límite fúndico y el de fundus uterino) en los embarazos evolutivos ( $10,1 \pm 4,2$  mm) frente al que resulta de los casos con fracaso reproductivos ( $11,4 \pm 2,4$  mm).

El volumen medio de la cavidad endometrial calculado mediante técnica VOCAL también obtenido en 36 casos con diagnóstico bioquímico de embarazo positivo, fue de  $4,1 \pm 2,3$  ml en las pacientes que no consiguieron DCE positivo y de  $4,5 \pm 2,6$  ml en las pacientes que sí lo

consiguieron. Tampoco esta diferencia resultó estadísticamente significativa, siendo el valor  $p= 0,677$ .

Los diferentes aspectos ecográficos del endometrio, con un claro predominio del tipo secretor, se distribuyen también en ambos grupos sin alcanzar diferencias con significación estadística ( $p= 0,448$ )

### 5.3.1.3.- VARIABLES DE INTERVENCIÓN FIV/ICSI

En la tabla 25 se recogen los resultados que ponen en relación las variables de intervención con los resultados reproductivos.

La relación entre el protocolo de tratamiento utilizado para la estimulación ovárica previa a la punción ovárica y posterior transferencia embrionaria y el resultado reproductivo queda reflejada en la tabla 27.

<b>Tabla 27.- Diagnóstico clínico de embarazo (DCE) según variables de intervención. Análisis univariado</b>			
	<b>DCE positivo</b>	<b>DCE negativo</b>	<b>p</b>
Protocolo estimulación ovárica*			0,102
• Agonistas	262 (53,5%)	129 (47,6%)	
• Antagonistas	189 (38,6%)	109 (40,2%)	
• SIN	39 (8%)	33 (12,2%)	
Número de ovocitos**	10,4 ( $\pm 6$ )	10,6 ( $\pm 6,2$ )	0,711
Número de embriones transferidos**	2,6 ( $\pm 0,7$ )	2,4 ( $\pm 0,7$ )	0,004
* Total (%) ** Media $\pm$ DS			

La homogénea distribución de los protocolos de estimulación ovárica entre los dos grupos diferenciados por la consecución o no de embarazo clínico no determina diferencias que alcancen significación estadística ( $p= 0,102$ ). No obstante, el DCE positivo tiende a ser superior

en las pacientes sometidas a protocolo agonistas, alcanzando el 34% de los 761 casos con diagnóstico bioquímico positivo de embarazo.

El número de ovocitos extraído en la punción folicular, con cifras medias similares en los casos con DCE negativo ( $10,6 \pm 6,2$ ) y éxito ( $10,4 \pm 6$ ) tampoco establece diferencias con resultado significativo entre los dos grupos ( $p= 0,711$ ).

Finalmente, el número de embriones transferidos es la única variable de intervención que ofrece diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de resultado reproductivo. La cifra media de embriones transferidos que alcanzan embarazo evolutivo es de  $2,6 (\pm 0,7)$ , mientras que en los casos con DCE negativo la cifra media es de  $2,4 (\pm 0,7)$ , con un valor de la  $p$  de  $0,004$ .

---

### **5.3.2.- ANÁLISIS MULTIVARIANTE**

Al igual que en el diagnóstico bioquímico de embarazo, el análisis multivariado para la predicción de diagnóstico clínico de embarazo se efectuó aplicando modelos de regresión logística. Se incluyeron las siguientes variables: edad, rangos de edad ( $<35$  y  $\geq 35$ ), factor de esterilidad, diferenciando entre causas exclusivamente masculinas y femeninas (agrupando femeninas y mixtas) y diagnósticos de esterilidad en la mujer, también diferenciando entre causas tubáricas frente al resto de diagnósticos, histerometría límite fúndico, protocolo de estimulación ovárica y número de embriones transferidos, Se calcularon las odds ratio (OR) y los intervalos de confianza (IC) del 95% de las variables que demostraron ser independientes en la predicción diagnóstica

En la tabla 28 se presentan los resultados del análisis de regresión logística utilizando como variable dependiente el DCE. Se

observa que las variables con capacidad predictiva del DCE son el rango de edad y el número de embriones transferidos

Tabla 28.- Predictores de diagnóstico clínico de embarazo (DCE). Análisis multivariado						
Variable	Análisis univariado			Análisis multivariado		
	DCE positivo	DCE negativo	p	OR	IC del 95%	p
Rango edad (<35 años)	328(67%)	162(59,8%)	0,048	1,383	1,008-1,896	0,044
Nº embriones	2,6(±0,7)	2,4(±0,7)	0,004	1,413	1,12-1,78	0,003

OR: Odds ratio  
IC: Intervalo de confianza del 95%

Se evaluó también la capacidad del modelo para la predicción del diagnóstico clínico de embarazo mediante el estadístico C. Para el cálculo de dicho estadístico se empleó el modelo de regresión logística introduciendo el diagnóstico clínico de embarazo como variable dependiente y las variables que resultaron predictivas para estimar así la probabilidad de dicho diagnóstico.

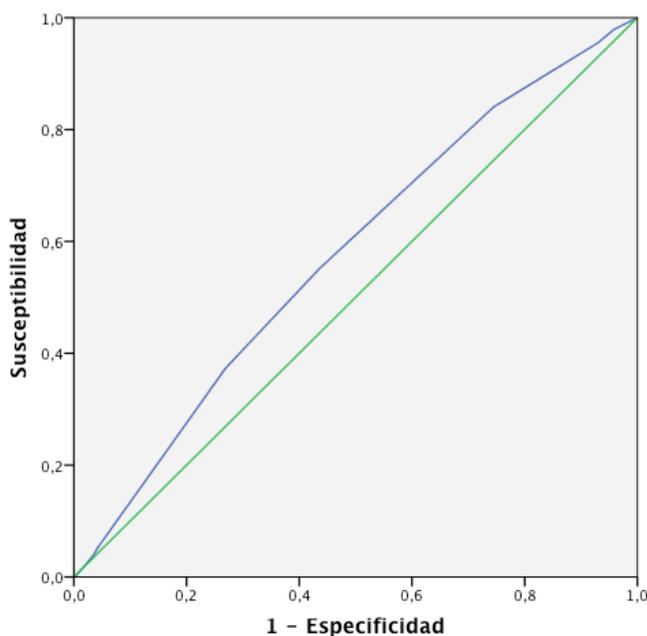


Figura 43.- Análisis ROC de las variables predictivas de diagnóstico clínico de embarazo

A continuación se enfrentó en una curva *receiver operating characteristic* (ROC) dicha probabilidad predictiva con la ocurrencia del diagnóstico clínico de embarazo, obteniéndose un valor de área bajo la curva o estadístico C de 0,576 con un intervalo de confianza al 95% de 0,534 - 0,619.

## **6.- DISCUSIÓN**

---

## **6.- DISCUSIÓN**

### **6.1.- DISEÑO DEL ESTUDIO**

El diseño del presente trabajo es de tipo analítico, observacional de carácter retrospectivo siendo ésta su primera dificultad, ya que no existe un control estricto sobre el tamaño de la muestra, datos y diseño. Bien es sabido que aquellos estudios que mayor evidencia aportan a la investigación científica son los estudios experimentales y, entre ellos, los ensayos clínicos controlados y aleatorizados. No obstante, también es conocida la dificultad para la proyección y ejecución de este tipo de estudios, partiendo de las limitaciones éticas para plantear un ensayo clínico en el ámbito de la esterilidad, ya que compete a parejas con una problemática de largo tiempo de evolución y en las que las oportunidades y el paso del tiempo juegan siempre en su contra. Por otra parte, estos estudios suponen un diseño, proyecto e implicación multipersonal muy directa y exhaustiva, condiciones no siempre al alcance de todas las instituciones.

Según el diseño del estudio fueron incluidos los ciclos de estimulación ovárica para posterior transferencia embrionaria, tras técnicas de FIV o ICSI, realizados en el Área de Reproducción Asistida del Hospital Clínic Universitari de València durante el periodo de tiempo anteriormente citado. Este hecho asegura en cierta medida una muestra suficientemente amplia pero también heterogénea

en cuanto a sus características basales, ya que los criterios de exclusión en el estudio fueron reducidos y muy concretos. A saber:

- Pacientes mayores de 40 años. Este criterio está de acuerdo con los *Criterios para la prestación de técnicas de Reproducción humana asistida en centros hospitalarios públicos de la Agència Valenciana de Salut*, publicado por la Conselleria de Sanitat, Dirección General de Ordenación y Asistencia Sanitaria el 13 de Julio de 2012.
- Pacientes sometidas a tratamientos de reproducción asistida tipo inseminación artificial, homóloga o de semen de donante. Estas pacientes se excluyeron por formar un grupo totalmente diferente al que fue objeto del presente estudio. Los ciclos de estimulación ovárica para inseminación artificial difieren de éstos en al menos los siguientes aspectos:
  - Las pacientes que se someten a uno u otro tratamiento podrían tener diferencias importantes respecto a características basales como la edad y la causa de esterilidad. Por ejemplo sería el caso del factor tubárico o el factor masculino severo, que eliminarían de entrada la posibilidad de realización de una inseminación artificial y conducirían a la necesidad de realizar un FIV o ICSI.
  - Los protocolos de tratamiento utilizados para la estimulación ovárica controlada, por consiguiente, son diferentes en cuanto a fármacos, dosificación y tiempo de administración. De la misma manera, la técnica de reproducción asistida en sí es completamente diferente.

En consecuencia, el análisis ecográfico y las demás variables en estos ciclos no son coincidentes con los estudiados en el grupo del presente trabajo.

- Pacientes sometidas a transferencias embrionarias de embriones congelados. Estas pacientes no reciben tratamiento alguno para la estimulación ovárica ya que ésta se ha realizado con anterioridad para obtener ovocitos y fecundarlos posteriormente para la formación del embrión. Así, sólo se les administra un protocolo farmacológico concreto para la preparación del endometrio receptor que difiere sustancialmente del expuesto en este estudio y que no las hace de esta manera objeto de este trabajo.
- Pacientes que no dieron su consentimiento para participar en el mismo.

En consecuencia la heterogeneidad de la muestra resultante tiene la desventaja de que probablemente no genere un grupo de estudio con unas características similares de las cuales puedan extraerse conclusiones más sólidas y no sesgadas por las variaciones interpersonales. Sin embargo, este hecho puede suponer una ventaja en tanto en cuanto, al tratarse de una población obtenida de un centro público con amplia cobertura sanitaria, sus resultados pueden ser representativos de la población total a la que éste hace referencia.

Las características clínicas de las pacientes se recogieron según una anamnesis normalizada y el protocolo de estudio de la esterilidad, que incluye la realización de dos espermigramas seriados en el caso del varón, una analítica general y serológica para ambos, y una histerosalpingografía y analítica hormonal de tercer día de ciclo, pertenece al protocolo básico para remisión de parejas con problemas de fertilidad desde atención primaria al centro hospitalario y sigue las directrices propuestas por la SEGO en 1999.

Los protocolos utilizados para ciclos FIV/ICSI del Área de Reproducción Asistida del Hospital Clínic Universitari de València. Estos protocolos están basados en los procedimientos diagnósticos y de tratamiento recomendados por la mayoría de autores y dado que son los que se llevan a cabo en la mayoría de

unidades de Reproducción Asistida permiten garantizar la reproducibilidad de los resultados del presente estudio

## 6.2.- VARIABLES PREDICTIVAS

Las variables elegidas han sido seleccionadas como posibles predictoras del éxito de la técnica de reproducción asistida en base a lo descrito en la bibliografía correspondiente. Cabe señalar que, en la línea de los estudios actuales con orientación similar, se han incorporado en este trabajo variables relativas al estudio ecográfico del endometrio por su posible relación con la receptividad endometrial y consecuentemente con los resultados reproductivos

La **edad** de la mujer es una de las variables más estudiadas en el campo de la esterilidad (Hendershot GE y Pratt WF, 1982; Menken J et al, 1986; Dunson DB et al, 2004; Matorras R et al, 2011; Liu K y Case A, 2011; Kimberly L et al, 2012) y en reproducción asistida se ha identificado como factor predictor del éxito reproductivo. El retraso en la edad para la búsqueda de la gestación, producido en su mayor parte por factores de tipo social, ha condicionado de manera extraordinaria el descenso en la capacidad reproductiva de las parejas. De esta manera, en el presente estudio no podía obviarse esta variable independiente a la hora de determinar su capacidad predictora del buen resultado del ciclo de reproducción asistida.

El **diagnóstico de la causa de la esterilidad**, bien considerado de forma agrupada (factor masculino, factor femenino o factor mixto) como diferenciada en los diferentes ítems de conforman las causas de esterilidad femenina (tubárica, endometriosis, SOP, FOO, idiopática, otras), se ha relacionado en múltiples estudios con el éxito de una técnica de reproducción asistida.

El estudio de las distintas **variables ecográficas del endometrio** y su posible relación con la situación de la receptividad endometrial y sus resultados en diagnóstico de embarazo es uno de los objetivos principales de la presente

tesis doctoral. Como se ha citado anteriormente en el apartado de Introducción, todas ellas han sido y continúan siendo ampliamente estudiadas, con resultados controvertidos y dispares. En el presente estudio se han tenido en cuenta todas en su conjunto, haciendo especial hincapié en las mediciones cuantitativas uterinas y endometriales, como la histerometría o el volumen endometrial, sin olvidar la clásica valoración de la apariencia o patrón endometrial.

El folículo es una estructura productora de hormonas, fundamentalmente de estrógenos por parte de las células de la aromatasa (Yong EL et al, 1992). El crecimiento folicular múltiple en ciclos de reproducción asistida se consigue mediante la administración de FSH. Este tratamiento produce concentraciones circulantes supranormales de esta hormona que inducen el crecimiento folicular según la cantidad de folículos sensibles a la misma. Se ha postulado que estos niveles elevados de hormonas podrían tener un efecto deletéreo sobre la receptividad endometrial, ya que la función endometrial está directamente regulada por las hormonas esteroideas (Kably A et al, 2008).

Muchos de los artículos sobre este tratamiento analizan la dosis total de FSH recombinante utilizada en cada ciclo (Raga F et al, 2009; Merce LT, 2008; , Järvelä IY et al, 2005; Chen SL et al, 2010), la duración en días de la estimulación ovárica (He RH et al, 2010) así como los resultados de individualizar los tratamientos frente a protocolos estandarizados (Popovic-Todorovic B et al, 2003; Olivennes F et al, 2009; La Marca A et al, 2012).

Por tanto, se ha considerado conveniente por sus implicaciones en los resultados el análisis, incluir el estudio el **protocolo de estimulación ovárica** recibido en su conjunto, teniendo en cuenta tanto el uso de FSH recombinante para la estimulación ovárica como el uso o no de fármacos supresores hipofisarios, como los agonistas o antagonistas de la GnRH.

Se analizó también la relación entre el **número de embriones transferidos** y el resultado reproductivo.

Existen en la bibliografía guías clínicas que resumen las recomendaciones

para la transferencia embrionaria como es el caso de JOINT SOGC-CFAS (2008). En todo caso es conocido que más que por la cantidad de embriones transferidos, el éxito reproductivo está condicionado por la calidad del embrión, aunque también es cierto que la transferencia de más de un embrión incrementa las tasas de gestación, aún a expensas de aumentar las tasas de embarazos múltiples. (Min JK et al, 2010; Pandian Z et al, 2009)

En el presente estudio se ha querido comprobar si el número de embriones que se transfieren, independientemente de la calidad y del tipo de embrión, está relacionada directamente con la consecución de la gestación, ya que es una práctica habitual intentar suplir las deficiencias cualitativas de los embriones con el aumento cuantitativo de los mismos en el momento de la transferencia embrionaria.

### **6.3.- VARIABLES OBJETIVO**

El objetivo final de una técnica de reproducción asistida es la consecución de una gestación evolutiva que derive en un recién nacido sano. La recopilación de la información necesaria acerca de la finalización de una gestación iniciada con una técnica de reproducción asistida es en muchos casos difícil de conseguir debido a que una vez diagnosticada una gestación inicialmente evolutiva es seguida y controlada en unidades diferentes al Área de Reproducción Asistida y, pese a disponer de un sistema de registro de esta información muchas veces no se consigue.

Como datos intermedios para este objetivo último se encuentra la obtención de un diagnóstico bioquímico de embarazo o la confirmación ecográfica de una gestación al menos inicialmente evolutiva. Obviamente estos diagnósticos no aseguran en ningún momento el objetivo primordial anteriormente citado. Aún así pueden considerarse como marcadores intermedios importantes del relativo éxito de una técnica de reproducción asistida. Conociendo y asumiendo estas

limitaciones, se han considerado dos variables objetivo, el diagnóstico bioquímico del embarazo, y el diagnóstico clínico inicial de embarazo a través de ecografía.

#### 6.4.- RESULTADOS

Teniendo en cuenta las limitaciones del carácter retrospectivo del estudio principalmente en lo que se refiere al control del tamaño de la muestra y a su diseño, el número de casos incluidos y los datos recogidos, le confieren, a priori, suficiente solidez y reproducibilidad a los resultados obtenidos.

La **edad** media de las mujeres estudiadas fue de 33.5 años, edad muy similar a la encontrada en diferentes estudios realizados hasta ahora y de índole similar (Raga F et al, 2009; Merce LT, 2008; , Järvelä IY et al, 2005; Raine-Fenning NJ et al, 2004) lo que a su vez lo hace comparable a todos ellos. Esta variable resultó predictora de manera estadísticamente significativa de la existencia de una prueba bioquímica de embarazo positiva, con una edad media para el grupo de DBE positivo de 33 años y de 34 para el grupo de DBE negativo. Algo similar ocurrió comparando los grupos de diagnóstico clínico de embarazo o ausencia de embarazo clínico pero en este caso sin alcanzarse la significación estadística. Estableciendo un punto de corte en 35 años se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de pacientes con DBE positivo y negativo y también entre aquellas en las que se constató una gestación clínica de las que no se constató.

Las mujeres en edad reproductiva deben conocer que durante los últimos años de las década de los 30 y en los 40, su capacidad reproductiva se encuentra mermada de manera importante, tanto de forma espontánea como incluso encontrándose en un programa de tratamiento de reproducción asistida. De esta manera, se ha considerado como límite de edad los 35 años para diferenciar dos grupos de estudio. Es más, algunos autores proponen que el inicio del estudio de una pareja estéril debe llevarse a cabo a partir de los 6 meses sin que se haya

producido la gestación espontánea en el caso de mujeres que superen esta edad. (Liu K y Case A, 2011; Kresowik JD y Sparks AE, 2012)

Clásicamente se ha establecido el límite de los 40 años en los centros públicos para desestimar un tratamiento de reproducción asistida, encontrándose ya muchas dificultades a partir de los 37 años. Este resultado arriba expuesto podría hacer reflexionar sobre un posible cambio en estas limitaciones.

La distribución de la muestra según las causas de esterilidad permite diferenciar tres grupos: un 17% de parejas estériles por factor exclusivamente masculino, un 69,6% debidas a causas femeninas y un 13,2% por una causa mixta. La SEGO habla de porcentajes algo diferentes a los anteriores, siendo un 40% la causa atribuible por igual al factor masculino y al factor femenino y un 20% a la causa mixta. La OMS sin embargo, describe que en países industrializados el factor femenino está presente en un 37% de las parejas, el factor masculino en un 8% y en un 35% puede observarse la coexistencia de ambos, dejando un 5% para la causa idiopática (WHO, 1992). Como puede observarse existe cierta disparidad en estos datos. Ya se ha comentado con anterioridad que las cifras de prevalencia de la infertilidad y esterilidad son en numerosas ocasiones difíciles de conocer con exactitud. Consecuentemente, algunas causas de esterilidad son fácilmente identificables mientras que en otras es muy difícil filiar exactamente el diagnóstico, siendo ésta una posible razón que explique estos hechos.

Desglosando la causa de esterilidad femenina en el presente estudio existe un predominio de la esterilidad de causa tubárica, seguida de la endometriosis, FOO, SOP, otros diagnósticos y por último la esterilidad de causa idiopática. Viene a ocurrir en este caso algo similar a lo expuesto en el párrafo anterior. Añadido a la complejidad de esta situación se suma una escasez en los estudios que avalen el valor predictivo de las pruebas diagnósticas de esterilidad utilizadas de manera estandarizada y con relativa frecuencia. Así, existen ocasiones en las que no se encuentra una relación directa en la causa de esterilidad y en la anormalidad o no de una determinada prueba diagnóstica (Kuohung W y Hornstein MD, 2012). Además, las causas de esterilidad no se

encuentran clasificadas por igual en todos los estudios, existiendo algunos diagnósticos agrupados bajo una única nomenclatura como es el caso por ejemplo de las alteraciones ováricas, que pueden englobar tanto el SOP, como el FOO o la endometriosis. En el presente estudio se ha preferido clasificar las causas de esterilidad anteriormente citadas por considerarla de mayor prevalencia y relevancia en la población objeto del estudio. Algunos estudios poblacionales sin embargo (Hull MG et al, 1985; Bhattacharya S et al, 2009) refieren un 26% de esterilidad de causa masculina, un 21% de disfunciones ovulatorias, un 14% de alteraciones tubárica, un 6% de endometriosis, un 6% de factores coitales, un 3% de factores coitales y un 28% de causa idiopática. Por último, la prevalencia de las diferentes causas de esterilidad está muy condicionada por la zona geográfica, como por ejemplo podría ser la enfermedad pélvica inflamatoria en África o el incremento de la edad para la gestación con la consecuente alteración ovulatoria en el casos de los países desarrollados. Todas estas diferencias pueden ser las causas de las discrepancias porcentuales haciendo necesaria una interpretación individualizada de los diferentes estudios.

El estudio de las causas de esterilidad como variable predictora resultó estadísticamente significativa de manera agrupada (factor masculino, factor femenino o factor mixto) en relación al diagnóstico de una gestación clínica, siendo el factor femenino el predominante en ambos grupos aunque con una diferencia mayor si cabe en el caso del grupo que no consiguió una gestación constatada clínicamente respecto al factor masculino o factor mixto. Este resultado puede explicarse por el hecho de que la esterilidad de causa femenina tiene a priori un peor pronóstico que la esterilidad de causa masculina, debido al mayor número de factores que en ella interfieren (edad materna, calidad del ovocito, endometrio) y a los superiores avances en el campo de la biología para la obtención de material espermático adecuado incluso con factor masculino severo.

Todos los datos ecográficos fueron recogidos el día de la transferencia embrionaria y previamente a la misma, tras la acción de los fármacos estimulantes ováricos y la administración de la coriogonadotropina humana para la inducción de la ovulación. Este hecho es la primera diferencia del presente

estudio respecto a otros (Mercé LT et al, 2008; Chen SL et al, 2010), ya que en muchos de ellos el estudio ecográfico se realizó el día de la administración de la coriogonadotropina humana, lo que corresponde a 3 días previos, encontrándose la paciente en un momento del ciclo totalmente diferente y en consecuencia, con una valoración ecográfica endometrial considerablemente distinta. En el presente trabajo se prefirió evaluar estos parámetros el día de la transferencia embrionaria ya que se consideró como el momento en el cual el endometrio se encuentra en una situación de receptividad óptima para la acoger al embrión.

El espesor medio de la línea endometrial encontrado en toda la muestra fue de 12,1 mm, dato que se encuentra en consonancia con los de otros estudios de características similares (Mercé LT et al, 2008; Chen SL et al, 2010, Järvelä IY et al, 2005). Este parámetro no resultó estadísticamente significativo como predictor de una posible gestación. Como se ha descrito ya en el capítulo de Introducción, existen muchos datos acerca de esta medida y su capacidad predictiva para la consecución de una gestación tanto en los ciclos naturales como en las técnicas de reproducción asistida. Así, con esta disparidad de resultados, se podría afirmar que no existe aún hoy en día un límite mínimo del espesor endometrial por debajo del cual sería imposible la concepción o al menos, indicativo de no realizar la transferencia embrionaria. Este límite, si cabe, vendría condicionado por la experiencia individual de cada Área de Reproducción Asistida y suele encontrarse en alrededor de los 6 mm. Al respecto, un estudio del Área de Reproducción Asistida del Hospital Clínic Universitari de València (Marcos C et al, 2006) relacionó la tasa de gestaciones ectópicas frente a las gestaciones evolutivas con el espesor endometrial, encontrando espesores significativamente menores en pacientes que desarrollaron un embarazo ectópico y espesores menores de 10 mm en el momento de la transferencia embrionaria en el 62% de las mujeres que tuvieron una gestación extrauterina.

La medición de la histerometría se realizó en este estudio de dos maneras diferentes. Partiendo ambas del orificio cervical externo, por una parte se midió finalizando en el límite fúndico de la cavidad endometrial y por otra en el fundus uterino, englobando también el miometrio fúndico. Esta última es la medida

clásicamente utilizada en la ginecología general para la determinar la longitud uterina. Sin embargo, la medida más utilizada en los estudios de esterilidad es la efectuada hasta el límite fúndico de la cavidad endometrial, ya que es el valor que en efecto resulta importante en el momento de la transferencia embrionaria y que se sitúa además como posible predictor del éxito de la misma. A propósito de este tema, existen también importantes controversias acerca de cual es el punto exacto ideal donde deben depositarse los embriones en esta transferencia. Algunos autores hablan de que el mejor lugar se situaría justo al traspasar el orificio cervical interno (Waterstone et al, 1991), otros lo sitúan en la zona media de la cavidad uterina (Woolcott R y Stranger J, 1997; Lesny P et al, 1998) y finalmente algunos autores hablan de una zona más superior, a 5 mm de fundus, como la zona óptima para este fin (Knutzen V et al, 1992). En un trabajo de Egbase PE et al (2000) se estudió la relación entre la posición uterina y la longitud de la cavidad endometrial en pacientes sometidas a ciclos de FIV/ICSI, encontrando diferencias, aunque no estadísticamente significativas, entre las diferentes histerometrías, siendo la tasa de gestaciones clínicas mayor en el grupo cuya medida se encontraba entre 7 y 9 cm. Además se encontraron tasas de gestaciones ectópicas mayores en el grupo con histerometrías menores a 7 cm, con diferencias estadísticamente significativas respecto a los otros grupos. En el presente estudio se obtuvo una histerometría media medida hasta el endometrio fúndico de 72,7 mm y una histerometría media medida hasta fundus uterino de 76,2 mm, encontrándose diferencias estadísticamente significativas en la primera de las medidas respecto al diagnóstico bioquímico de gestación, no observándose esta diferencia al comparar el diagnóstico clínico de la misma. Así, podría sugerirse este dato ecográfico, de fácil medida y aplicación, como una posible buena aproximación hacia el estudio de la receptividad uterina.

El volumen medio de la cavidad endometrial encontrado fue de 3,9 ml. En el estudio de Raga F et al (1999) sobre ciclos FIV/ICSI, pionero en este campo, se observó un volumen medio medido también el día de la transferencia embrionaria, de toda la muestra de 2,82 ml. En otros estudios, como es el caso de Zollner U et al (2012) se encuentran cifras medias más similares a las del presente trabajo. No

se encontraron diferencias estadísticamente significativas en relación con la gestación. Este parámetro resultó predictor de gestación en el caso de trabajos como el de Raga F et al (1999). En él se establecieron tres grupos de pacientes según el volumen endometrial siendo la tasa de gestación significativamente más baja en el grupo de pacientes con un volumen endometrial menor de 2 cc respecto a los grupos de 2-4 ml y mayor de 4 ml. En el trabajo de Mercé LT et al (2008), aunque si bien es cierto que el volumen endometrial se midió el día de la administración de la BHCG, también se encontraron diferencias estadísticamente significativas respecto a este parámetro en el grupo de las pacientes que quedaron gestantes frente a las que no lo quedaron. Sin embargo, en los trabajos de Järvelä IY et al (2005); Raine-Fenning N et al (2002); Zollner U et al (2012), aunque no todos evaluaron el volumen endometrial el mismo día de la transferencia embrionaria, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. De esta manera, en este parámetro ecográfico tal y como sucede en la mayoría de los descritos anteriormente, existe también bastante controversia a la hora de establecerse como un predictor de una buena receptividad endometrial.

El patrón endometrial ecográfico se evaluó de manera que en la mayoría de los ciclos se encontró un endometrio de características secretoras, hecho que concuerda con la fisiología de todo el proceso de la técnica de reproducción asistida, ya que la evaluación ecográfica se realizó el día de la transferencia embrionaria, así, una vez desencadenada ya la ovulación.

De esta manera, de todos los parámetros ecográficos, sólo la histerometría medida hasta el límite fúndico del endometrio resultó predictiva de la gestación, aunque con la limitación de que sólo pudo demostrarse una diferencia estadísticamente significativa en el caso de la prueba bioquímica de embarazo y no en la gestación inicialmente evolutiva. Las determinaciones ecográficas en el ámbito de la Reproducción Asistida son sencillas y de relativa fácil aplicación. Por ello, se han propuesto como buenas alternativas a todos aquellos procedimientos que requieran de una muestra endometrial para su procesamiento y diagnóstico. Aún así, hoy en día pueden considerarse unas buenas herramientas diagnósticas, orientativas, pero en ningún momento definitorias de la aplicación y del éxito de

una técnica de reproducción asistida. Probablemente se precisen nuevos estudios, con mejores y más exhaustivos diseños, para continuar en la investigación en este campo.

El protocolo de estimulación ovárica controlada fue utilizado con una frecuencia muy similar tanto con supresión hipofisaria con antagonistas de la GnRH como con agonistas de la GnRH, con una ligera predominancia de este último. El protocolo sin agonistas ni antagonistas fue utilizado con mucha menor frecuencia y se reservó en la mayoría de casos a ciclos que se habían iniciado para un tratamiento de inseminación artificial y que, por una respuesta folicular mayor a la esperada, se reconvirtieron hacia una FIV/ICSI. Actualmente el protocolo más utilizado es el que incluye la supresión hipofisaria con antagonistas de la GnRH, si bien es cierto que los datos del presente estudio fueron recogidos durante los años 2001-2010. Durante los primeros años de este periodo se utilizaba de manera más frecuente los protocolos con agonistas de la GnRH. Esta variable tampoco resultó predictiva de manera estadísticamente significativa con la posibilidad o no de gestación.

Al relacionar estos protocolos con el espesor endometrial que obtienen el día de la transferencia embrionaria, pudo observarse como se alcanzaron espesores endometriales significativamente menores con la utilización de antagonistas frente a los agonistas. La luteinización prematura es un factor desfavorable, que aparece hasta en el 33% de las estimulaciones ováricas. La introducción de los antagonistas de la GnRH en los tratamientos de estimulación folicular para FIV/ICSI estableció una marcada mejoría de los resultados al prevenir de forma eficaz este efecto secundario, estando actualmente incorporado en la mayoría de los protocolos (Ramón O et al, 2006). Los fármacos antagonistas de la GnRH surgieron en respuesta a una demanda de supresión hipofisaria que consiguiera tratamientos más cortos, que requiriesen menores dosificaciones e incluso pautas más bajas de análogos de la FSH, todo ello junto con resultados clínicos óptimos (Detti L et al, 2008). Aún así, una revisión de la Cochrane (Al-Inany HG et al, 2011) mostró tasas más bajas de gestaciones con el uso de estos fármacos comparados con los agonistas de la GnRH (Detti L et al, 2008),

hecho que parece ser debido, no a la calidad embrionaria conseguida, sino a la receptividad endometrial encontrada. A diferencia de los fármacos agonistas, los antagonistas producen un efecto supresor hipofisario más inmediato, evitando el efecto '*flare-up*' de los primeros, no precisando así de su administración como un protocolo largo iniciado en el ciclo previo. Un estudio de Simón C et al (2005) también analizó las diferencias del espesor endometrial en mujeres donantes de ovocitos tratadas previamente con fármacos agonistas y fármacos antagonistas en altas y bajas dosis, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas entre ambas.

El número medio de embriones transferidos fue de 2, con un rango entre 0 y 5. Actualmente estas cifras son inconcebibles, ya que no está autorizada la transferencia de más de 3 embriones, pero, como ya se ha justificado con anterioridad, algunos de los datos de este trabajo corresponden a periodos en los que que esta práctica, aunque no habitual, se realizaba con cierta frecuencia. Esta variable resultó predictiva de manera estadísticamente significativa respecto al diagnóstico tanto bioquímico como clínico de gestación. Es un hecho conocido que el aumento en el número de embriones transferidos se acompaña de un aumento en la tasa de gestaciones, a expensas de un incremento en las gestaciones múltiples. Éstas asocian una mayor patología obstétrica que las gestaciones únicas. Es por esto, que la transferencia de más de un embrión se debería reservar para aquellos casos seleccionados de peor pronóstico reproductivo, intentando aumentar la cantidad de transferencias de un único embrión hasta llegar a un equilibrio entre la obtención de buenas tasas de gestación y la reducción de los riesgos obstétricos que éstas generan.

El número medio de ovocitos obtenidos en la punción ovárica fue de 10, dato muy similar al encontrado en los trabajos de Raga F et al (2009) y Mercé LT et al (2008) pero algo menor al encontrado en los trabajos de Järvelä IY et al, (2005); Chen SL et al (2010) y He RH et al (2010) resultando estadísticamente significativo respecto a la gestación tan sólo en el trabajo de Mercé LT et al (2008). En este trabajo resultó también estadísticamente significativo, aunque únicamente respecto al diagnóstico bioquímico de embarazo, no pudiéndose comprobar esta

relación con el diagnóstico clínico del mismo. La hiperestimulación ovárica controlada tiene como consecuencia la obtención de niveles suprafisiológicos de estradiol. Este aspecto se ha propuesto en la literatura de forma controvertida como posible factor en detrimento de la implantación embrionaria (Forman R et al, 1988), mientras que otros autores no han encontrado estas diferencias (Amir W et al, 2007).

## **7.- CONCLUSIONES**

---



## 7.- CONCLUSIONES

De acuerdo con los objetivos planteados en este trabajo y los resultados obtenidos se formulan las siguientes conclusiones:

1. El perfil clínico de las pacientes sometidas a procedimientos de FIV/ICSI que constituyen la población estudiada se caracteriza por una media de edad de 33,5 años, con predominio del factor femenino como causa de esterilidad y etiología predominantemente tubárica, aunque si se consideran las alteraciones ováricas en su conjunto (SOP, FOO, endometriosis) superan en porcentaje a la anterior.
2. Las variables ecográficas uterinas (espesor de la línea endometrial, histerometría medida hasta el límite fúndico del endometrio, histerometría medida hasta el fundus uterino, volumen de la cavidad endometrial y patrón endometrial) en las pacientes estudiadas son equiparables a las encontradas en la bibliografía consultada.
3. En los ciclos de FIV/ICSI, el protocolo de estimulación ovárica con agonistas de la GnRH y la transferencia de dos embriones han sido las intervenciones realizadas con mayor frecuencia durante el periodo objeto del presente estudio.

4. El diagnóstico bioquímico de embarazo tras los ciclos de FIV/ICSI se consigue en el 43% de los casos. Cursan con un mayor número de gestaciones inicialmente evolutivas (diagnóstico clínico de embarazo), que abortos o embarazos ectópicos.
5. En los ciclos de FIV/ICSI estudiados el diagnóstico bioquímico de embarazo positivo es más frecuente en pacientes con edad inferior a 35 años y, comparativamente con los diagnósticos negativos, presentan valores superiores de la histerometría medida hasta el límite fúndico, así como un mayor número de ovocitos obtenidos en la punción ovárica y de embriones transferidos.
6. En los ciclos de FIV/ICSI estudiados el diagnóstico clínico de embarazo positivo es más frecuente en pacientes con edad inferior a 35 años y, comparativamente con los diagnósticos clínicos negativos, presentan un menor predominio de factor femenino como causa de esterilidad y un número superior de embriones transferidos
7. Con las variables analizadas se ha obtenido un modelo con reducida capacidad predictiva para estimar la probabilidad de diagnóstico bioquímico de embarazo en pacientes infértiles bajo tratamiento de FIV/ICSI que incluye la edad, el valor de la histerometría medida hasta el límite fúndico del endometrio y el número de embriones transferidos
8. De la misma forma, se ha obtenido un modelo también con reducida capacidad predictiva para estimar la probabilidad de diagnóstico clínico de embarazo en pacientes infértiles bajo tratamiento de FIV/ICSI que incluye únicamente la edad y el número de embriones transferidos
9. Los parámetros actuales que resultan del estudio ecográfico del endometrio, como posibles indicadores de receptividad endometrial no han demostrado una alta capacidad predictiva del éxito de las técnicas FIV/ICSI. Ello hace necesario el diseño de futuros proyectos de investigación que profundicen sobre las posibilidades de la ecografía ginecológica a la hora de estimar la receptividad endometrial y su influencia en los resultados de las técnicas FIV/ICSI.

## **8.- BIBLIOGRAFÍA**

---



## 8.- BIBLIOGRAFÍA

- Abdallah Y, Najj O, Saso S, Pexsters A, Stalder C, Sur S, Raine-Fenning N, Timmerman D, Brosens JJ, Bourne T. Ultrasound assessment of the peri-implantation uterus: a review. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2012;39(6):612-619
- Abramowicz JS, Archer DF. Uterine endometrial peristalsis a transvaginal ultrasound study *Fertil Steril.* 1990;54:451-454
- Achache H, Revel A. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. *Hum Reprod Update.* 2006;12:731–746
- Adams SM, Gayer N, Hoise MJ, Murphy CR. Human uterodomes (pinopods) do not display pinocytic function. *Hum Reprod* 2002;17:1980-1986
- Agència Valenciana de Salut. Criterios para la prestación de técnicas de Reproducción humana asistida en centros hospitalarios públicos de la Agència Valenciana de Salut, publicado por la Conselleria de Sanitat, Direcció General de Ordenació y Asistencia Sanitaria el 13 de Julio de 2012.
- Al-Shawaf I, Yang D, AL-Magid Y, Seaton A, Iketubosin F, Craft I. Ultrasonic monitoring during replacement of frozen/thawed embryos in and hormone replacement cycles. *Hum Reprod.* 1993;8:2068-2074

- Alamá P, Remohí JA. Los estudios y tratamientos de la infertilidad En: Matorras Weinig R (Ed). Libro blanco sociosanitario. La infertilidad en España. situación actual y perspectivas. Madrid: Imago Concept & Image Development; 2011. p. 43-51
- Albelda SM, Buck CA Integrins and other cell adhesion molecules. *FASEB J.* 1990;4(11):2868-2880
- Alcázar JL. Three-dimensional ultrasound assessment of endometrial receptivity: a review *Reprod Biol Endocrinol.* 2006;9(4):56
- Alikani M, Cohen J, Tomkin G, Garrisi J, Mach C, Scott RT. Human embryo fragmentation in vitro and implications for pregnancy and implantation. *Fertil Steril.* 1999;71:836-42
- Al-Inany HG, Youssef MA, Aboulghar M, Broekmans F, Sterrenburg M, Smit J, Abou-Setta AM. GnRH antagonists are safer than agonists: an update of a Cochrane review. *Hum Reprod Update.* 2011;17(4):435.
- Amir W, Micha B, Ariel H, Liat LG, Jehoshua D, Adrian S. Predicting factors for endometrial thickness during treatment with assisted reproductive technology. *Fertil Steril.* 2007;87(4):799-804
- Baramki T. Hysterosalpingography Uptodate [en línea]. <<http://www.uptodate.com/contents/hysterosalpingography>> [Consulta: 01 diciembre 2012]
- Bayot D. Endometrial receptivity to ovulation inhibitors of estrogenic content. *Bull Soc R Belge Gynecol Obstet.* 1966;36(3):217-31
- Bhattacharya S, Porter M, Amalraj E, Templeton A, Hamilton M, Lee AJ, Kurinczuk JJ. The epidemiology of infertility in the North East of Scotland. *Hum Reprod.* 2009;24(12):3096-3107
- Boivin J, Bunting L, Collins JA, Nygren KG. International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for

infertility medical care. Hum Reprod. 2007;22(6):1506-1512

- Bonilla Musoles ,F Sanz Cortés M, Caballero O, Dolz M, Raga F. Patología Tubárica y reproducción. En: Bonilla-Musoles F, Dolz Arroyo M, Moreno Marí J, Raga Baixauli F. Reproducción Asistida. Abordaje en la práctica clínica. Madrid: Panamericana; 2009: p. 74-75
- Bonilla-Musoles F, Ballester MJ, Carrera JM. Doppler color transvaginal. Barcelona: Masson-Salvat.Ed;1992
- Bonilla-Musoles F, Blanes J, Bailao LA, Osborne N, Raga F, Machado LE, Bonilla F, Vergara F, Casañ E. Endometriosis y adenomiosis. En: Bonilla Musoles F. Ecografía vaginal (Doppler y tridimensión). Madrid: Panamericana; 2001: p 409-429
- Bonilla-Musoles F, Dolz M, Moreno J, Raga F. Reproducción Asistida: manejo clínico. Madrid: Panamericana; 2010
- Bonilla-Musoles F, Perez Gil M. Ecografía transvaginal en Obstetricia y Ginecología. Barcelona: Salvat;1988
- Bonilla-Musoles F, Perez Gil M: Ecografía Obstétrico-Ginecológica y Mamaria. Barcelona: Jims Ed;1981
- Bosch E, Valencia I, Escudero E, Crespo J, Simón C, Remohí J, Pellicer A. Premature luteinization during gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles and its relationship with in vitro fertilization outcome. Fertil Steril. 2003;80:1444-1449
- Cacciatore B, Simberg N, Fusaro P, Tiitinen A. Transvaginal Doppler study of uterine artery blood flow in in vitro fertilization-embryo transfer cycles. Fertil Steril. 1996;66:130-134
- Carvajal R, Alba JF, Cortínez A, Carvajal A, Miranda C, Romero C, Vantman D. Niveles de hormona antimülleriana y factor neurotrófico derivado del cerebro como predictores de función ovárica. Rev Hosp Clín

Univ Chile. 2012;23:159 - 67

- Cohen BM, Berry L, Roethemeyer V, Smith D. Sonographic assessment of late proliferative phase endometrium during ovulation induction. *J Reprod Med.* 1992;37:685-690
- Cooper TG, Noonan E, von Eckardstein S, Auger J, Baker HW, Behre HM, Haugen TB, Kruger T, Wang C, Mbizvo MT, et al. World Health Organization reference values for human semen characteristics. *Hum Reprod Update* 2010;16:231-245
- Coulam CB, Bustillo M, Soenksen DM, Britten S. Ultrasonographic predictors of implantation after assisted reproduction. *Fertil Steril.* 1994;62:1004-1010
- Coutifaris C, Myers ER, Guzick DS, Diamond MP, Carson SA, Legro RS, McGovern PG, Schlaff WD, Carr BR, Steinkampf MP, Silva S, Vogel DL, Leppert PC; NICHD National Cooperative Reproductive Medicine Network. Histological dating of timed endometrial biopsy tissue is not related to fertility status. 2004;82(5):1264-1272
- Chen SL, Wu FR, Luo C, Chen X, Shi XY, Zheng HY, Ni YP. Combined analysis of endometrial thickness and pattern in predicting outcome of in vitro fertilization and embryo transfer: a retrospective cohort study. *Reprod Biol Endocrinol.* 2010;8:30-31
- Chien LW, Au HK, Chen PL, Xiao J, Tzeng CR. Assessment of uterine receptivity by the endometrial-subendometrial blood flow distribution pattern in women undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril.* 2002; 78:245-251
- Christian M, Marangos P, Mak I, McVey J, Barker F, White J, Brosens JJ. Interferon-gamma modulates prolactin and tissue factor expression in differentiating human endometrial stromal cells. *Endocrinology.* 2001;142(7):3142-3151

- Detti L, Yelian FD, Kruger ML, Diamond MP, Puscheck EE. Endometrial thickness dynamics and morphologic characteristics during pituitary downregulation with antagonists in assisted reproductive technology cycles. *J Ultrasound Med.* 2008;27(11):1591-1596.
- Diaz-Gimeno, J.A. Horcajadas, J.A. Martinez-Conejero, F.J. Esteban, P. Alama, A. Pellicer, C. Simon, A genomic diagnostic tool for human endometrial receptivity based on the transcriptomic signature, *Fertil. Steril.* 2011; 95 (50–60): 60.e1–15
- Dickey RP, Olar TT, Curole DN, Taylor SN, Rye PH. Endometrial pattern and thickness associated with pregnancy outcome after assisted reproduction technologies. *Hum Reprod.* 1992;7:418-421.
- Dickey RP. Doppler ultrasound investigation of uterine and ovarian blood flow in infertility and early pregnancy. *Hum Reprod Update.* 1997;3:467-503
- Dolz M. Síndrome de Ovarios Poliquísticos I. Fisiopatología y diagnóstico. En: Bonilla-Musoles F, Dolz M., Moreno J, Raga F. Reproducción asistida. Abordaje en la práctica clínica. Madrid: Panamericana: 2010: p 99-103
- Dunson DB, Baird DD, Colombo B. Increased infertility with age in men and women. *Obstet Gynecol.* 2004;103(1):51-56
- Egbase PE, Al-Sharhan M, Grudzinskas JG. Influence of position and length of uterus on implantation and clinical pregnancy rates in IVF and embryo transfer treatment cycles. *Hum Reprod.* 2000;15(9):1943-1946
- Enders AC, Nelson DM. Pinocytic activity of the uterus of the rat. *Am J Anat* 1973;138:277-229
- Engmann L, Sladkevicius P, Agrawal R, Bekir J, Campbell S, Tan SL. The pattern of changes in ovarian stromal and uterine artery blood flow velocities during in vitro fertilization treatment and its relationship with outcome of the cycle. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1999;13:26-33

- Fanchin R, Ayoubi JM, Righini C, Olivennes F, Schonauer LM, Frydman R. Uterine contractility decreases at the time of blastocyst transfers. *Hum Reprod.* 2001;16:1115-1119
- Fanchin R, Righini C, de Ziegler D, Olivennes F, Ledee N, Frydman, R. Effects of vaginal progesterone administration on uterine contractility at the time of embryo transfer. *Fertil Steril.* 2001;75:1136-1140
- Fanchin R, Righini C, Olivennes F, Taylor S, de Ziegler D, Frydman, R. Uterine contractions at the time of embryo transfer alter pregnancy rates after in vitro fertilization. *Hum Reprod.* 1998;13:1968-1974
- Fanchin R, Righini e, Ayoubi JM, Olivennes F, de Ziegler D. Frydman R. New look at endometrial echogenicity: objective computer-assisted measurements predict endometrial receptivity in in vitro fertilization embryo transfer. *Fertil Steril.* 2000;74:274-281
- Ferraretti AP, La Marca A, Fauser BC, Tarlatzis B, Nargund G, Gianaroli L; ESHRE working group on Poor Ovarian Response Definition. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. *Hum Reprod.* 2011;26(7):1616-1624
- Fleischer AE, Herbert CM, Sacks GA, Wentz Ae, Entman SS, James AE Jr. Sonography of the endometrium during conception and nonconception cycles of in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril.* 1986;46:442-447
- Font Sastre V, Bonilla Musoles F. Estudio de la pareja estéril En: Bonilla-Musoles F, Dolz Arroyo M, Moreno Marí J, Raga Baixauli F. Reproducción Asistida. Abordaje en la práctica clínica. Madrid: Panamericana; 2009: p.1-8
- Forman R, Fries N, Testart J, Belaisch-Allart J, Hazout A, Frydman R. Evidence for an adverse effect of elevated serum estradiol concentrations on embryo implantation. *Fertil Steril.* 1988;49(1):118-122.

- Friedler S, Schenker JG, Herman A, Lewin A. The role of ultrasonography in the evaluation of endometrial receptivity following assisted reproductive treatments: a critical review. *Hum Reprod Update*. 1996;2(4):323-335
- Frydman R. Impact of thick endometrium on IVF. En: Abstracts The 4th International IVI Congress, (Valencia 7-9 Abril 2011) p. A11-A12
- Giudice LC, Application of functional genomics to primate endometrium: insights into biological processes, *Reprod Biol Endocrinol*. 2006;4 Suppl 1: S4
- Giudice LC. Potential biochemical markers of endometrial receptivity in clinical practice. *Human Reprod*. 1999;14(Suppl 2):3-16
- Gonen Y, Casper RF. Prediction of implantation by the sonographic appearance of the endometrium during controlled ovarian stimulation for in vitro fertilization (IVF). *J In Vitro Fert Embryo Transf*. 1990;7:146-152
- González A. El SOPQ, una enfermedad endocrina y metabólica. Criterios diagnósticos y tratamiento. En: García-Velasco JA (ed). Cuadernos de Medicina Reproductiva. Ovario poliquístico: situación actual. Madrid. Aladalia; 2008: p 63-73
- Goswamy R K, Williams G, Steptoe PE. Decreased uterine perfusion-a cause of infertility. *Hum Reprod*. 1988;3:955-959
- Granberg S, Wikland M, Karlsson B, Norström A, Friberg LG. Endometrial thickness as measured by endovaginal ultrasonography for identifying endometrial abnormality. *Am J Obstet Gynecol*. 1991;164:47-52
- Hackelöer BJ, Nitschke S, Baume E, Sturm G, Buchholz R. Ultraschalldarstellung von Ovarveränderungen bei Gonadotropinstimulierung. *Geburtshilfe Frauenheilkd*. 1977;37(3):185-90
- Hackelöer BJ. The role of ultrasound in female infertility management. *Ultrasound Med Biol*. 1984;10:35-50

- He RH, Gao HJ, Li YQ, Zhu XM. The associated factors to endometrial cavity fluid and the relevant impact on the IVF-ET outcome. *Reprod Biol Endocrinol.* 2010;8: 46.
- Hendershot GE, Pratt WF. Infertility and age: An unresolved issue. *Fam Plan Perspect* 1982;14: 287-289
- Hernández ER, Nieto M, Gómez Palomares JL. Fecundación e implantación embrionaria. En: Bajo Arenas JM, Coloreu Lletget B (Eds). *Fundamentos de reproducción.* Madrid, SEGO; 2009: p 36-40
- Huang JYJ, Rosenwaks Z. In vitro fertilisation treatment and factors affecting success. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology.* 2012;26:777–788
- Hull MG, Glazener CM, Kelly NJ, Conway DI, Foster PA, Hinton RA, Coulson C, Lambert PA, Watt EM, Desai KM. Population study of causes, treatment, and outcome of infertility. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1985 14;291(6510):1693-1697
- Irvine DS. Epidemiology and aetiology of male infertility. *Hum Reprod.* 1998;13 Suppl 1:33-44
- Järvelä IY, Sladkevicius P, Kelly S, Ojha K, Campbell S, Nargund G. Evaluation of endometrial receptivity during in-vitro fertilization using three-dimensional power Doppler ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2005;26(7):765-769
- Jayapracasan K, Raine-Fenning N. Marcadores ecográficos de la receptividad endometrial. En: Mercé LT. *Marcadores Ecográficos en Reproducción.* Madrid: Schering-Plough Ed. 2010. p.111-130
- JOINT SOGC-CFAS. Guidelines for the number of embryos to transfer following in vitro fertilization No. 182, September 2006. *Int J Gynaecol Obstet.* 2008;102(2):203-16

- Juul S, Karmaus W, Olsen J. Regional differences in waiting time to pregnancy: pregnancy-based surveys from Denmark, France, Germany, Italy and Sweden. The European Infertility and Subfecundity Study Group. *Hum Reprod.* 1999;14(5):1250-1254
- Kably A, Estévez S, Carballo E. Estradiol sérico el día de la administración de hCG como factor pronóstico de fertilización in vitro con transferencia de embriones. *Ginecol Obstet Mex.* 2008;76(4):197-201
- Karmaus W, Juul S. Infertility and subfecundity in population-based samples from Denmark, Germany, Italy, Poland and Spain. *Eur J Public Health* . 1999;9(3):229-235
- Kennedy S, Bergqvist A, Chapron C, D'Hooghe T, Dunselman G, Greb R, Hummelshoj L, Prentice A, Saridogan E; ESHRE Special Interest Group for Endometriosis and Endometrium Guideline Development Group. ESHRE guideline for the diagnosis and treatment of endometriosis. *Hum Reprod.* 2005;20(10):2698-2704
- Killick SR. Ultrasound and the receptivity of the endometrium. *Reprod Biomed Online.* 2007;15:63-67
- Kimberly L, Case A, Cheung AP, Sierra S, AlAsiri S, Carranza-Mamane B, Case A, Dwyer C, Graham J, Havelock J, Hemmings R, Lee F, Liu K, Murdock W, Senikas V, Vause TD, Wong BC. Advanced reproductive age and fertility. *Int J Gynaecol Obstet.* 2012;117(1):95-102.
- Knutzen V, Stratton CJ, Sher G, McNamee PI, Huang TT, Soto-Albors C. Mock embryo transfer in early luteal phase, the cycle before in vitro fertilization and embryo transfer: a descriptive study. *Fertil Steril.* 1992;57(1):156-62
- Kresowik JD, Sparks AE. Clinical factors associated with live birth after single embryo transfer. *Fertil Steril.* 2012;98(5):1152-1156
- Kuohung W, Hornstein MD. Overview of infertility Uptodate [en línea].

<<http://www.uptodate.com/contents/overview-of-infertility>> [Consulta: 01 diciembre 2012]

- Kupesic S, Bekavac I, Bjelos O, Kurjak A. Assessment of endometrial receptivity by transvaginal color Doppler and three-dimensional power Doppler ultrasonography in patients undergoing in vitro fertilization procedures. *J Ultrasound Med.* 2001;20:125-134
- La Marca A, Papaleo E, Grisendi V, Argento C, Giulini S, Volpe A. Development of a nomogram based on markers of ovarian reserve for the individualisation of the follicle-stimulating hormone starting dose in in vitro fertilisation cycles. *BJOG.* 2012;119(10):1171-9.
- Lédée-Bataille N, Bonnet-Chea K, Hosny G, Dubanchet S, Frydman R, Chaouat G. Role of the endometrial tripod interleukin-18, -15, and -12 in inadequate uterine receptivity in patients with a history of repeated in vitro fertilization-embryo transfer failure. *Fertil Steril.* 2005;83(3):598-605
- Leibovitz Z, Grinin V, Rabia R, Degani S, Shapiro I, Tal J, Eibschitz I, Harari O, Paltieli Y, Aharoni A, Zeevi J, Ohel G. Assessment of endometrial receptivity for gestation in patients undergoing in vitro fertilization, using endometrial thickness and the endometrium-myometrium relative echogenicity coefficient. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1999;14:194-199
- Lesny P, Killick SR, Tetlow RL, Robinson J, Maguiness SD. Uterine junctional zone contractions during assisted reproduction cycles. *Hum Reprod Update.* 1998;4:440-445
- Lesny P, Killick SR, Tetlow RL, Robinson J, Maguiness SD. Embryo transfer can we learn anything new from the observation of junctional zone contractions?. *Hum Reprod.* 1998;13(6):1540-1546
- Lesny P, Killick SR. The junctional zone of the uterus and its contractions. *BJOG.* 2004;111:1182-1189
- Lessey BA, Castelbaum AJ, Buck Ca, Lei Y, Yowell CW, Sun J. Further

characterization of endometrial integrins during the menstrual cycle and in pregnancy. *Fertil Steril.* 1994;62:497-506

- Lessey BA. Assessment of endometrial receptivity. *Fertil Steril.* 2011;96(3):522-9
- Leyland N, Casper R, Laberge P, Singh S. Endometriosis: Diagnosis and Management. *J Obstet Gynaecol Can.* 2010;32(7):S1-S28
- Liu K, Case A. Advanced reproductive age and fertility. Reproductive Endocrinology and Infertility Committee; Family Physicians Advisory Committee; Maternal-Fetal Medicine Committee; Executive and Council of the Society of Obstetricians. *J Obstet Gynaecol Can.* 2011;33(11):1165-75.
- Ma WG, Song H, Das SK, Paria BC, Dey SK. Estrogen is a critical determinant that specifies the duration of the window of uterine receptivity for implantation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100(5):2963-2968
- Makker A, Singh MM. Endometrial receptivity: clinical assessment in relation to fertility, infertility and antifertility. *Med Res Rev.* 2006;26(6):699-746
- Makker A, Singh MM. Endometrial receptivity: clinical assessment in relation to fertility, infertility, and antifertility. *Med Res Rev.* 2006; 26(6):699-746
- Marcos C, Dolz M, Abad L, Bonilla-Musoles F. Influencia del grosor endometrial en la aparición de gestación ectópica tras un procedimiento de fecundación in vitro-TE. *Rev Iberoam Fert.* 2006; 23(6): 349-354
- Matorras R, Crisol L. Fertilidad e infertilidad humanas. En: Matorras Weinig R (Ed) Libro blanco sociosanitario. La infertilidad en España. situación actual y perspectivas. Madrid: Imago Concept & Image Development 2011: p 31-42

- Matorras R, Matorras F, Expósito A, Martínez L, Crisol L: Decline in Human Fertility Rates with Male Age: A Consequence of a Decrease in Male Fecundity with Aging?. *Gynecol Obstet Invest* 2011;71:229-235
- Matorras R. El Escenario Futuro de la Asistencia a la Infertilidad en España. *Horizonte 2020: Estudio DELPHI*. En: Matorras Weinig R (Ed) Libro blanco sociosanitario. La infertilidad en España. Situación actual y perspectivas. Madrid: Imago Concept & Image Development 2011: p 315-329
- Melo MA, Meseguer M, Garrido N, Bosch E, Pellicer A, Remohi J. The significance of premature luteinization in an oocyte-donation programme. *Hum Reprod*. 2006; 21:1503-1507
- Menken J, Trussell J, Larsen U. Age and infertility. *Science* 1986; 233:1389-1394
- Mercé LT, Barco MJ, Bau S, Troyano J. Are endometrial parameters by three-dimensional ultrasound and Power Doppler angiography related to in vitro fertilization / embryo transfer outcome?. *Fertil Steril*. 2008,89:111-117
- Min JK, Claman P, Hughes E. Guidelines for the number of embryos to transfer following in vitro fertilization. *J Obstet Gynaecol Can*. 2006;28(9):799-813
- Min JK, Hughes E, Young D, Gysler M, Hemmings R, Cheung AP, Goodrow GJ, Senikas V, Wong BC, Sierra S, Carranza-Mamane B, Case A, Dwyer C, Graham J, Havelock J, Lee F, Liu K, Vause T Elective single embryo transfer following in vitro fertilization. *J Obstet Gynaecol Can*. 2010;32(4):363-377.
- Murphy CR The plasma membrane of uterine epithelial cells: structure and histochemistry. *Prog Histochem Cytochem*. 1993;27(3):1-66
- Murphy CR, Shaw TJ. Plasma membrane transformation: a common response of uterine epithelial cells during the peri-implantation period. *Cell*

Biol Int. 1994;18(12):1115-1128

- Murray MJ, Meyer WR, Zaino RJ, Lessey BA, Novotny DB, Ireland K, Zeng D, Fritz MA. A critical analysis of the accuracy, reproducibility, and clinical utility of histologic endometrial dating in fertile women. *Fertil Steril.* 2004;81(5):1333-1343
- Ng EH, Chan CC, Tang OS, Yeung WS, Ha PC. The rate of endometrial and subendometrial blood flows measured by three-dimensional power Doppler ultrasound in the prediction of pregnancy during IVF treatment. *Hum Reprod.* 2006;21:164-170
- Ng EH, Chan CC, Tang OS, Yeung WS, Ha pc. The role of endometrial blood flow measured by three-dimensional power Doppler ultrasound in the prediction of pregnancy during in vitro fertilization treatment. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2007;135:8-16
- Ng EH, Chan CC, Tang OS, Yeung WS, Ho PC. Endometrial and subendometrial vascularity is higher in pregnant patients with livebirth following ART than in those who suffer a miscarriage *Hum Reprod.* 2007; 22(4):1134-1141
- Ng EH, Yeung WS, Ho PC. Endometrial and subendometrial vascularity are significantly lower in patients with endometrial volume 2,5ml or less. *Report Biomed Online.* 2009,18:262-268
- Nilsson O. Structural differentiation of luminal membrane in rat uterus during normal and experimental implantations. *Zeitschrift fur Anatomie und Entwicklungsgeschichte.* 1966;125:152-15
- Nilsson O. Ultrastructure of mouse uterine surface epithelium under different estrogenic influences. 2. Early effect of estrogen administered to spayed animals. *Ultrastruct Res.* 1958;2(1):73-95
- Nilsson O. Ultrastructure of the process of secretion in the rat uterine epithelium at preimplantation. *J Ultrastruct Res.* 1972;40:572-580

- Noyes RW, Herting AT, Rock J. Dating the endometrial biopsy. *Fertil Steril.* 1950;1:3-25
- Olivennes F, Howles CM, Borini A, Germond M, Trew G, Wikland M, et al. Individualizing FSH dose for assisted reproduction using a novel algorithm: the CONSORT study. *Reprod Biomed Online* 2009;18:195–204.
- Pandian Z, Bhattacharya S, Ozturk O, Serour G, Templeton A. Number of embryos for transfer following in-vitro fertilisation or intra-cytoplasmic sperm injection. *Cochrane Database Syst Rev.* 2009;15(2):CD003416.
- Ponnampalam AP, Weston GC, Trajstman AC, Susil B, Rogers PA. Molecular classification of human endometrial cycle stages by transcriptional profiling. *Mol Hum Reprod.* 2004;10(12):879-893
- Popovic-Todorovic B, Loft A, Bredkjaer HE, Bangsbøll S, Nielsen IK, Andersen AN. A prospective randomized clinical trial comparing an individual dose of recombinant FSH based on predictive factors versus a 'standard' dose of 150 IU/day in 'standard' patients undergoing IVF/ICSI treatment. *Hum Reprod* 2003;18:2275–2282.
- Puerto B, Creus M, Carmona F, Civico S, Vanrell JA, Balasch J. Ultrasonography as a predictor of embryo implantation after in vitro fertilization: a controlled study. *Fertil Steril.* 2003;79:1015-1022
- Pusey J, Kelly WA, Bradshaw JM, Porter DG. Myometrial activity and the distribution of blastocysts in the uterus of the rat: interference by relaxin. *Biol Reprod.* 1980;23:394-397
- Raga F, Bonilla-Musoles F, Casañ EM, Klein O, Bonilla F. Assessment of endometrial volume by three-dimensional ultrasound prior to embryo transfer: clues to endometrial receptivity. *Hum Reprod* 1999;14:2851-2854
- Raga F, Casañ EM, Bonilla F (Jr), Castillo JC, Caballero O, Bonilla-Musoles F. Endometriosis y reproducción. En: Bonilla-Musoles F, Dolz Arroyo M, Moreno Marí J, Raga Baixauli F. *Reproducción Asistida. Abordaje en la*

práctica clínica. Madrid: Panamericana; 2009: p. 89-91

- Raine-Fenning N, Campbell B, Collier J, Brincat M, Johnson L. The reproducibility of endometrial volume acquisition and measurement with the VOCAL-imaging program. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2002;19:69-75
- Raine-Fenning NJ, Campbell BK, Clewes JS, Kendall NR, Johnson IR. Defining endometrial growth during the menstrual cycle with three-dimensional ultrasound. *BJOG.* 2004;111:944-949
- Raine-Fenning NJ, Campbell BK, Kendall NR, Clewes JS, Johnson IR. Endometrial and subendometrial perfusion are impaired in women with unexplained subfertility. *Hum Reprod.* 2004;19:2605-2614
- Raine-Fenning NJ, Campbell BK, Kendall NR; Clewes JS, Johnson IR. Quantifying the changes in endometrial vascularity throughout the normal menstrual cycle with three-dimensional power Doppler angiography. *Hum Reprod.* 2004;19:330-338
- Ramón O, Corcostegui B, Mendoza R, Etxanojauregui AD, Matorras R. Impacto del empleo de antagonistas GnRH en la tasa de embarazo en inseminación intrauterina conyugal. *Rev Iberoam Fert.* 2006;23(4):225-232
- Rashid NA, Lalitkumar S, Lalitkumar PG, Gemzell-Danielsson K. Endometrial receptivity and human embryo implantation. *Am J Reprod Immunol.* 2011;66 Suppl 1:23-30
- Ray A, Shah A, Gudi A, Homburg R. Unexplained infertility: an update and review of practice. *Reprod Biomed Online.* 2012;24(6):591-602.
- Remohi J, Ardiles G, García-Velasco J, Gaitán P, Simón C and Pellicer A. Endometrial thickness and serum oestradiol concentrations as predictors of outcome in oocyte donation. *Hum Reprod* 1997; 12:2271-2276
- Revel A. Defective endometrial receptivity. *Fertil Steril.* 2012;97(5):1028-32
- Richter KS, Bugge KR, Bromer JG, Levy MJ. Relationship between

endometrial thickness and embryo implantation, based on 1,294 cycles of in vitro fertilization with transfer of two blastocyst-stage embryos. *Fertil Steril.* 2007; 87:53-59

- Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2004;81(1):19-25
- Ruiz-Alonso M, Blesa D, Simón C. The genomics of the human endometrium. *Biochim Biophys Acta.* 2012;1822(12):1931-1942
- Ruoslahati E. Integrins. *J Clin Invest.* 1991;87:1-5
- Saha TK, Amer SA, Biss J, Thakare H, Williams S, Farrell CT, Calvert J. The validity of transvaginal ultrasound measurement of endometrial thickness: a comparison of ultrasound measurement with direct anatomical measurement. *BJOG.* 2004;111(12):1419-1424.
- Salzillo PL, Salzillo ME, Iannella I, Cobellis L, Colacurci N. Sonographic aspects in the study of endometrial receptivity in women undergoing in vitro fertilization. *Minerva Ginecol.* 2010;62(4):267-275
- Sarabia L, Munuce MJ. Nuevos valores para el espermiograma OMS 2010 *Rev Med Chile* 2011;139: 548-549
- Schankath AC, Fasching N, Urech-Ruh C, Hohl MK, Kubik-Huch RA. Hysterosalpingography in the workup of female infertility: indications, technique and diagnostic findings. *Insights Imaging.* 2012;3(5):475-483
- Schild RL, Holthaus S, d'Alquen J, Fimmers R, Dorn C, van Der Ven H, Hansmann M Quantitative assessment of subendometrial blood flow by three-dimensional-ultrasound is an important predictive factor of implantation in an in-vitro fertilization programme. *Hum Reprod.* 2000;15(1):89-94
- Schild RL, Indefrei O, Eschweiler S, Van der Ven H, Fimmers R, Hansmann

- M. Three-dimensional endometrial volume calculation and pregnancy rate in an in vitro fertilization programme. *Hum Reprod* 1999;14:1255-1258
- Schild RL, Knobloch C, Dorn C, Fimmers R, van der Ven H, Hansmann M. Endometrial receptivity in an in vitro fertilization program as assessed by spiral artery blood flow, endometrial thickness, endometrial volume, and uterine artery blood flow. *Fertil Steril*. 2001;75(2):361-366
  - SEGO. Estudio básico de infertilidad. [en línea]. <<http://www.prosego.com/index.php?option=content&task=view&id=13>> [Consulta: 01 diciembre 2012]
  - Senturk LM, Erel CT. Thin endometrium in assisted reproductive technology. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2008;20:221-228
  - Serafini P, Batzofin J, Nelson J, Olive D. Sonographic uterine predictors of pregnancy in women undergoing ovulation induction for assisted reproductive treatments. *Fertil Steril*. 1994;62:815-822
  - Sher G, Herbert C, Maassarani G, Jacobs MH. Assessment of the late proliferative phase endometrium by ultrasonography in patients undergoing in vitro fertilization and embryo transfer (IVF/ET). *Hum Reprod* 1991;6:232-237
  - Simón C, Herrero R. La implantación embrionaria. *Cuad Med Reprod*. 1997; 3(1), 41-54
  - Simon C, Martin JC, Pellicer A. Paracrine regulators of implantation. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2000;14:815–826
  - Simon C, Oberyé J, Bellver J, Vidal C, Bosch E, Horcajadas JA, Murphy C, Adams S, Riesewijk A, Mannaerts B, Pellicer A. Similar endometrial development in oocyte donors treated with either high- or standard-dose GnRH antagonist compared to treatment with a GnRH agonist or in natural cycles. *Hum Reprod*. 2005;20(12):3318-3327.

- Singh N, Bahadur A, Mittal S, Malhotra N, Bhatt A. Predictive value of endometrial thickness, pattern and sub-endometrial blood flows on the day of hCG by 2D doppler in in-vitro fertilization cycles: A prospective clinical study from a tertiary care unit. *J Hum Reprod Sci.* 2011;4(1):29-33
- Sit AS, Modugno F Hill LM, Martin J, Weissfeld JL. Transvaginal ultrasound measurement of endometrial thickness as a biomarker for estrogen exposure. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2004;13:1459-1465
- Steer CV, Tan SL, Dillon D, Mason BA, Campbell S. Vaginal color Doppler assessment of uterine artery impedance correlates with immunohistochemical markers of endometrial receptivity required for the implantation of an embryo. *Fertil Steril.* 1995;63:101-108
- Sterzik K, Grab D, Sasse V, Hutter W, Rosenbusch B, Terinde R. Doppler sonographic findings and their correlation with implantation in an in vitro fertilization programs. *Fertil Steril.* 1989; 52:825-828
- Strowitzki T, Germeyer A, Popovici R, von Wolff M. The human endometrium as a fertility-determining factor. *Hum Reprod Update.* 2006;12(5):617-630
- Stylianou C, Critchlow D, Brison DR, Roberts SA. Embryo morphology as a predictor of IVF success: an evaluation of the proposed UK ACE grading scheme for cleavage stage embryos. *Hum Fertil (Camb).* 2012;15(1):11-17
- Talbi S, Hamilton AE, Vo KC, Tulac S, Overgaard MT, Dosiou C, Le Shay N, Nezhat CN, Kempson R, Lessey BA, Nayak NR, Giudice LC Molecular phenotyping of human endometrium distinguishes menstrual cycle phases and underlying biological processes in normo-ovulatory women. *Endocrinology.* 2006;147(3):1097-1121
- Van Voorhis BJ. Clinical practice. In vitro fertilization. *N Engl J Med* 2007;356:379-386
- Warren RH, Enders AC. An electron microscopic study of the rat

endometrium during delayed implantation. *Anat Rec.* 1964;148:177-195

- Waterstone JJ, Curson RR, Parsons JJ. Embryo transfer to low uterine cavity. *Lancet* 1991; 337(8754):1413
- WHO. World Health Organization Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. Geneva: World Health Organization; 2010
- Wilkesa S, Chinn D, Murdoch A, Rubina G. Epidemiology and management of infertility: a population-based study in UK primary care. *Family Practice.* 2009;26(4):269-274
- Woolcott, R. Stanger J. Potentially important variables identified by transvaginal ultrasound-guided embryo transfer. *Hum. Reprod.* 1997;12: 963–966
- World Health Organization. Report of a WHO Scientific Group. Recent advances in medically assisted conception. *World Health Organ Tech Rep Ser.* 1992;820:1-111.
- Wu HM, Chiang CH, Huang HY, Chao AS, Wang HS, Soong YK. Detection of the subendometrial vascularisation flow index by three-dimensional ultrasound may be useful for predicting the pregnancy rate for patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 2003;79:507-511
- Yaman C, Ebner T, Sommergruber M, Polz W, Tews G. Role of three-dimensional ultrasonographic measurement of endometrium volume as a predictor of pregnancy outcome in an IVF-ET program: a preliminary study. *Fertil Steril.* 2000;74:797-801
- Yong EL, Baird DT, Yates R, Reichert LE Jr, Hillier SG. Hormonal regulation of the growth and steroidogenic function of human granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;74:842-849.

- Zaidi J, Pittrof R, Shaker A, Kyei-Mensah A, Campbell S, Tan SL. Assessment of uterine artery blood flow on the day of human chorionic gonadotropin administration by transvaginal color Doppler ultrasound in an in vitro fertilization programs. *Fertil Steril.* 1996;65:377-381
- Zaidi J. Campbell S, Pittrof R, Tan SL. Endometrial thickness, morphology, vascular penetration and velocimetry in predicting implantation in an in vitro fertilization programs. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1995;6:191-198
- Zohav E, Bar-Hava I, Meltzer S, Rabinson J, Anteby EY, Orvieto R. Early endometrial changes following successful implantation: 2 and 3-dimensional ultrasound study. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2008;35(4):255-256
- Zollner U, Specketer MT, Dietl J, Zollner KP. 3D-endometrial volume and outcome of cryopreserved embryo replacement cycles. *Arch Gynecol Obstet.* 2012;286(2):517-523