

BASES BIOLÓGICAS Y TERAPÉUTICAS DE LA FERTILIZACIÓN ASISTIDA

Gerardo BARROSO VILLA*
Alinne COLIN**

SUMARIO: I. *Introducción.* II. *Factores de infertilidad.*
III. *¿Qué son las técnicas de reproducción asistida?* IV. *Con-*
clusiones. V. *Fuentes.*

I. INTRODUCCIÓN

Han transcurrido más de tres décadas desde el nacimiento del primer recién nacido producto de la fertilización asistida y a pesar de ser un lapso de tiempo corto, si le comparamos con otros eventos médicos, el avance en los fundamentos biomoleculares y tecnológicos en el área ha sido avasallador.

En esta charla intentaré resumir los elementos biológicos y terapéuticos fundamentales en la era de la reproducción asistida.

La explosión demográfica a nivel mundial y en especial en países con las condiciones socioculturales como es el caso de México, se ha vinculado con la creación de grandes iniciativas para el control de la natalidad; pero por otro lado, es indiscutible que en los últimos 20 años los problemas de infertilidad en la

* Investigador en salud reproductiva en el Instituto Nacional de Perinatología.

** Investigadora en salud reproductiva en el Instituto Nacional de Perinatología.

especie humana se han visto exacerbados, y estas mismas condiciones sociales, culturales y económicas se convierten en un obstáculo que impide a la pareja tener siquiera acceso a una asesoría para un claro entendimiento de la falta de lograr un embarazo.

Dentro de este contexto se hacen indispensables las vías para el entendimiento de estos problemas reproductivos y el quehacer necesario para su diagnóstico oportuno y las posibilidades de tratamiento actual.

Parte de esta problemática se sustenta en el planteamiento tradicional, en el cual la fertilidad se ha establecido como un hecho; sin embargo, actualmente sabemos que la probabilidad de una pareja “sana” de lograr un embarazo es tan reducida como el 20% a 30% y se requieren de al menos doce meses para que el 85% de las parejas con estas condiciones alcance la obtención de una gestación.

Una vez establecido el panorama real de la fertilidad, empezaré por la definición de infertilidad, la cual se conceptualiza como la incapacidad para lograr un embarazo, después de un año de mantener relaciones sexuales sin protección, una vez que ha transcurrido este tiempo en una pareja cuyo miembro femenino sea menor de 35 años, o de seis meses en el caso que la mujer sea mayor de treinta y cinco años. Otro término comúnmente empleado es la fecundabilidad, el cual es la probabilidad de lograr el embarazo durante un ciclo menstrual.

Aclarado este concepto, la siguiente interrogante es ¿quiénes pueden padecer esta enfermedad?, y nuevamente nos encontramos que condiciones tan globales como son el incremento en la esperanza de vida, los cambios en el estilo de vida y el retraso en la formación de la familia, hacen que este problema sea cada vez más frecuente y en muchas ocasiones la responsable de este hecho, es la edad, así nos encontramos que en la actualidad un 30% de las mujeres de 30 años cursa con infertilidad y más de la mitad de las mujeres de 40 años, no podrá lograr un embarazo; del mismo modo encontramos un vínculo directo entre la edad y la pérdida de embarazo.

En el caso del hombre, hoy es reconocido que la mitad de los problemas de infertilidad son causados por alteraciones en el factor masculino. Por razones de orden multifactorial el hombre se ha convertido en motivo de estudio en la falla de fertilidad en las parejas. Por diversas condiciones que aún permanecen desconocidas, el conteo espermático en el hombre ha ido disminuyendo en los últimos 50 años y por la tanto la posibilidad de procrear. Esto en una sociedad como la nuestra muestra un gran conflicto, ya que por muchas décadas jamás se pensó que el hombre pudiera ser causa de este tipo de problemas, y sin embargo, actualmente hay que lidiar dentro de un orden social, familiar y para el mismo individuo.

II. FACTORES DE INFERTILIDAD

Ante este panorama se vuelve indispensable el realizar una evaluación exhaustiva para evidenciar la causal de la falta de embarazo y es aquí donde inicia nuestro recorrido de los factores que pueden estar interviniendo. Entendiendo que las causas de la infertilidad siempre serán múltiples, el abordaje diagnóstico deberá ser integral y del mismo modo lo tratamientos deberán tener un enfoque totalmente personalizado. Los procesos fisiológicos relacionados al ámbito reproductivo se desenvuelven de una manera dinámica, de tal manera que el estudio en la pareja infértil debe ser complementario y valorar diversos factores que pudieran actuar en forma aislada o como un grupo de alteraciones que impiden el embarazo.

De esta manera trataremos de definir algunas de las causas tradicionales más frecuentes. Con la finalidad de facilitar el estudio del área, se ha dividido el abordaje diagnóstico por factores: 1) factor endocrino-ovárico, 2) factor cervical, 3) factor uterino, 4) factor tuboperitoneal, y 5) factor masculino. Entendiendo de antemano que todos estos factores deben contar con una integridad e interacción perfecta para lograr el objetivo reproductivo. A la par que estudiaremos estos factores, iremos

comprendiendo las implicaciones biológicas de su funcionamiento y las posibles estrategias para su corrección.

Una de las condiciones que con mayor frecuencia nos encontramos es la falla en el proceso de ovulación, y lo definimos como *factor endocrino-ovárico*. La evolución en el estudio de la fisiología nos ha llevado a conocer que el hipotálamo debe producir la hormona llamada estimulante de la liberación de gonadotropinas GnRH, la cual estimulará a la glándula hipófisis para que esta sea capaz de secretar la hormona luteinizante y la hormona foliculoestimulante, de modo que esta última actué sobre el ovario, logrando que este lleve a cabo un reclutamiento, selección y maduración ovocitaria con la consecuente producción de estradiol; así tenemos que si una de estas partes no funciona en cantidad o temporalidad adecuada, se producirá una alteración en la producción de un óvulo capaz de ser fecundado en el proceso de la concepción. Si ya de por sí este proceso resulta complejo, existen muchas otras hormonas producidas tanto a nivel central como periférico cuyo aumento o deficiencia se verá vinculado con el fracaso reproductivo.

Una vez que contamos con el material genético femenino contenido en el óvulo, es necesario que el gameto masculino pueda acceder a este óvulo, así tenemos que en el recorrido del espermatozoide es de vital importancia la integridad del tracto genital femenino, siendo uno de los primeros obstáculos el factor conceptualizado como cervical, en el que se incluye desde la integridad anatómica de este segmento, es la parte más externa y en comunicación directa con la cavidad uterina, y tenemos que esta integridad anatómica se puede ver mermada por factores genéticos (ausencia de formación embrionaria del mismo), mecánicos (amputación del mismo con fines terapéuticos ante procesos malignos) e infecciosos siendo éstos los más susceptibles no solamente de ser tratados sino de ser prevenidos, ya que como sabemos las infecciones de transmisión sexual son de las causas más frecuentes de consulta ginecológica, sin embargo su merma en el potencial se ha visto menospreciada.

Posteriormente nos encontramos con el *factor uterino*, en el que se vuelve imprescindible la búsqueda de alteraciones funcionales o anatómicas (pólipos, miomas, etcétera) que impidan la entrada de los gametos masculinos, la adecuada receptividad del endometrio al óvulo fecundado y la posibilidad del crecimiento y desarrollo del producto de la concepción.

Una vez alcanzada la cavidad uterina, el gameto masculino debe acceder a las tubas uterinas donde se encontrará con el óvulo y tendrá lugar la fertilización, así que se vuelve importante evaluar las características anatómicas y de permeabilidad de las tubas. Lo anterior se consigue estudiando: el *factor tubo-peritoneal*, para precisar la integridad y el libre paso a través de las trompas uterinas, que permiten tanto a los espermatozoides como al óvulo transitar y encontrarse libremente, para que una vez fusionados, emprendan su camino de vuelta a la cavidad uterina, la cual deberá estar libre de cuerpos extraños, de modo que la integridad y receptividad endometrial, permita que tenga lugar la implantación de la nueva célula ahora llamada cigoto.

Dentro de las *alteraciones del factor masculino*, en buena medida es la menor cantidad de espermatozoides, o bien, la alteración en su movilidad, vitalidad o morfología. Por ello se evalúan los factores: infeccioso, obstructivo, hormonal, metabólico, inmunológico, psicosomático y/o genético, cuya traducción como se ha mencionado, resulta en la adecuada calidad y/o cantidad de gametos masculinos.

FRECUENCIA DE LOS FACTORES DE INFERTILIDAD

| | | |
|---------------------|-----------------|--------|
| Factor Masculino | 50% | |
| Factor Femenino 50% | Ovárico | 20-30% |
| | Tuboperitoneal | 20-30% |
| | Uterino | 5% |
| | Cervico/vaginal | 5% |

La intervención médica a este respecto se sugiere sea idealmente establecida por el especialista en biología de la reproducción; profesional capacitado en el correcto abordaje diagnóstico y terapéutico no sólo de la mujer o del hombre, sino de la pareja con infertilidad.

Como el derecho a la vida es uno de los principios básicos del ser humano, la medicina de hoy cuenta con técnicas diversas para la reproducción asistida de las parejas con infertilidad, las cuales para fines didácticos se clasifican en: *a)* técnicas de baja y *b)* técnicas de alta complejidad.

III. ¿QUÉ SON LAS TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA?

Las técnicas de reproducción asistida (TRA) son todos aquellos procedimientos que facilitan la interacción entre gametos (masculino y femenino) y que incrementan la posibilidad del embarazo. Estas se dividen en dos:

Las *Técnicas de baja complejidad* incluyen la hiperestimulación ovárica controlada (HOC), a manera de no sólo asegurar el crecimiento y desarrollo del gameto femenino “óvulo”, sino de favorecer la probabilidad de éxito del embarazo, incrementando el número de óvulos potencialmente fecundables por ciclo. Lo anterior puede ser acompañado del *coito programado* en los días periovulatorios “fértiles” o bien, de la *inseminación artificial* en la que los espermatozoides del varón son seleccionados, centrifugados y colocados en un medio líquido óptimo, a manera de capacitarlos para favorecer su movilidad, para posteriormente depositarlos dentro de la cavidad uterina. De esta forma, libremente los gametos masculinos prosiguen su camino hacia la porción distal de las trompas uterinas, donde se encontraran con el óvulo.

Las *Técnicas de alta complejidad* incluyen a la *fertilización in vitro* (FIV), en la que a diferencia de las estrategias antes mencionadas, no sólo se realizan la HOC y la capacitación de los espermatozoides, sino que se obtienen los óvulos directamente de cada ovario por medio de la punción y aspiración vaginal con guía ultraso-

nográfica y se realiza la fertilización en el laboratorio. Una vez evaluada la calidad de los embriones, estos son introducidos, a través de un catéter, dentro del útero en el paso tradicionalmente denominado “transferencia embrionaria” (FIVTE).

Cuando el factor masculino está alterado en mayor grado, se agrega a esta FIV la *micromanipulación de los gametos* en el laboratorio, realizando en forma directa la introducción de un espermatozoide de calidad óptima al interior del óvulo, para posteriormente evaluar el desarrollo del o los embriones y transferirlos al interior del útero; este procedimiento es conocido como ICSI (inyección intracitoplásmica del espermatozoide).

Avances recientes han conseguido en busca de la fertilidad: 1) la obtención directa del espermatozoide inmaduro por medio de la punción directa del testículo, para casos donde no hay espermatozoides en el eyaculado, y por otro lado y con diferentes grados de eficacia, 2) la criopreservación de gametos, embriones y gónadas. Esto último se aplica en la actualidad de un modo diferente en cada país, según sea su propia legislación y la perspectiva ética, moral y/o creencia religiosa de cada paciente.

A pesar de todos los avances en RA aún existen múltiples factores que pueden condicionar una falla en el proceso, las cuales condicionan que no se pueda llevar a cabo la fertilización, entre estos factores sobresalen los siguientes:

1. *Defectos en el metabolismo ovocitario*

Una vez identificado el factor responsable de la infertilidad y habiéndose decidido la técnica de reproducción a utilizar, uno de los problemas a enfrentar es la falla en la fertilización, la cual, y en el menor de los casos, puede deberse a deficiencias técnicas o bien a defectos intrínsecos de los gametos. La fertilización es el proceso esencial para la reproducción que implica la fusión entre el gameto masculino y el femenino.

Previo a la fertilización, ambos gametos se hallan metabólicamente quiescentes y la unión de ambos permite que el ovocito

se transforme en un ente dinámico ahora denominado cigoto; uno de los eventos claves para este proceso es la elevación del calcio intracelular cuya homeostasis puede ser regulada por el sequestro mitocondrial del mismo y se ha sugerido que el calcio es la liga funcional que provee un mecanismo para acoplar la producción y demanda del ATP. También se ha identificado un factor espermático participante en la regulación del calcio y con ello en la activación del ovocito, este factor es una forma de fosfolipasa C denominada PLC zeta.

Estos mecanismos llevarán a la activación del ovocito, con la consecuente conclusión de la meiosis que junto con la exocitosis de gránulos corticales constituyen los eventos visibles más tempranos de activación ovocitaria. Así como el ovocito, el espermatozoide es esencial en el proceso, ya que en la fertilización contribuye al menos con tres componentes críticos que son el genoma haploide paterno, la señal para la activación metabólica del ovocito y el centrosoma que permitirá la formación del huso mitótico que será necesario para el desarrollo del cigoto. En la fisiología del espermatozoide se ha reconocido la gran influencia que desempeña la membrana del ovocito, induciendo en este una serie de cambios en su configuración que le permitirán llevar a cabo la fertilización, para lo cual deberá pasar por un proceso de capacitación, reconocimiento, unión a la zona pelúcida y por la reacción acrosomal (RA).

Una vez que el espermatozoide penetra al ovocito deben ocurrir una serie de eventos que incluyen la incorporación, maduración del ovocito con conclusión de la meiosis y salida del segundo cuerpo polar, activación metabólica y descondensación y migración de los pro-núcleos.

2. Deficiencia en el componente espermático

Se ha señalado que alteraciones en alguno de los dos gametos conllevarán a falla en la fertilización. En el caso del gameto masculino las deficiencias funcionales pueden resultar en una po-

bre interacción con la zona pelúcida, disminuyendo la capacidad de unión y con ello impidiendo la RA. Los cambios más significativos por los que pasa el espermatozoide son reconocimiento de antígenos de membrana, cambios en la permeabilidad de la membrana, incremento en concentración de segundos mensajeros así como de la fosforilación de diversas proteínas.

Es reconocido en los últimos años que el componente morfológico en el espermatozoide está directamente relacionado con falla en los procesos de interacción ovocitaria, lo cual no sólo implica a las características funcionales (en el momento de la activación de los eventos de fertilización), sino también pueden afectar en la transmisión de factores intrínsecos en el ámbito genético, falla en los procesos de empaquetamiento, expresión temprana de impronta y la activación de mecanismos de muerte celular. Todo esto impactará en las condiciones de desarrollo embrionario y el proceso pre-implantatorio.

Posteriormente, para la unión de los pro-núcleos se deben llevar a cabo tanto eventos bioquímicos como morfológicos, uno es la formación del áster espermático, el cual permitirá que el pro-núcleo masculino tenga acceso al femenino, para este último se ha identificado un sistema de movimiento que mediante la dineína permite alcanzar la unión genómica. La incorporación de ADN y cromatina es la aportación más significativa que realiza el espermatozoide durante la fertilización, sin embargo el factor de activación ovocitario y el centriolo también resultan esenciales ya que sin estas contribuciones no se podría llevar a cabo la embriogénesis.

Las fallas en los procesos paternos para la fertilización se han dividido en tempranas y tardías; las primeras incluyen las disfunciones relacionadas con el factor de activación ovocitario, el centrosoma y el cito-esqueleto, por lo que al presentarse alguna de ellas, la consecuencia podrá ser la obtención de un cigoto deficiente y/o disminución en el clivaje; los efectos tardíos se manifestarán por un pobre desarrollo que concluirá en falla en la implantación; estos últimos efectos se han asociado con una in-

cidencia incrementada de fragmentación del ADN espermático, este efecto se conoció a través de la observación de espermatozoides de hombres infértiles en los que se encontró una cantidad variable de alteraciones nucleares que incluían estructura anormal de la cromatina, aneuploidías, microdeleciones y fragmentación de ADN en oligonucleótidos.

Asimismo, la expresión ectópica y la inactivación de genes relacionados con la apoptosis han demostrado causar una espermatogénesis anormal, ya que como es conocido de forma fisiológica, un número de células germinales deberá morir mediante el proceso de apoptosis; sin embargo y bajo influencia de agentes agresores externos, la apoptosis puede ocurrir de forma desequilibrada y encontrarse incluso en el espermatozoide eyaculado, pudiendo ser el resultado de diversas causas entre las que se encuentran las testiculares (deficiencia hormonal, radiación, tóxicos, químicos, calor), del epidídimo (por mediadores inflamatorios) y las seminales (a través de formación de radicales libres y falta de anti-oxidantes).

Para los fines de la reproducción asistida, la importancia de la apoptosis radica en que es un fenómeno no reconocido por las técnicas que se emplean de forma habitual y que su presencia puede llevar a falla en la fertilización o incluso al aporte de un genoma dañado que resultará en un desarrollo embrionario deficiente, pérdida de la gestación o en la formación de un producto con anomalías.

Conociendo las principales alteraciones que pueden ocurrir durante el proceso de fertilización, ya en la práctica de la reproducción asistida y mediante análisis de inmunofluorescencia en pacientes sometidas a FIV se observó que las causas de falla en la fertilización se distribuían de la siguiente forma: falta de penetración espermática (55.5%), falla en la activación del ovocito (15.1%), defectos en la aposición de los pro-núcleos (19.2%); en el caso del ICSI los hallazgos fueron los siguientes: activación incompleta del ovocito (39.9%), defectos en la aposición de los pronúcleos (122.6%) y falla en la penetración (13.3%).

IV. CONCLUSIONES

La consecuencia del uso de estas técnicas reproductivas es dar solución puntual a los problemas de fertilidad. Sin embargo, el valor diagnóstico alcanzado perfecciona las herramientas de implementación que han facilitado la ruta terapéutica, y que rompe con el dogma de escalonización, con una verticalización de procesos, favoreciendo la solución del problema de fertilidad a corto plazo. En medicina, la generación del conocimiento ha requerido un avance sustentado a largo plazo, en algunos casos objetivos y con una pretensión de medir cada una de las variables para tener una aplicación práctica y resolutive en materia de salud.

En medicina reproductiva el avance en el conocimiento ha sido diametral y exponencialmente acelerado en las dos últimas décadas, lo que modifica no sólo las tendencias en la aplicación del conocimiento sino también, nuevos esquemas en la resolución de problemas, lo que pondera el valor terapéutico de cada uno de los procesos que hoy en día se llevan a cabo.

Es muy probable que en diez años tengamos acceso a una tecnología más simplificada con éxito en los factores de predicción que nos permitirá solucionar problemas de fertilidad en forma expedita, pero aún queda pendiente comprender en su totalidad fenómenos biológicos tan complejos como es el de la implantación y metabolismo embrionario, con la finalidad de mejorar los resultados reproductivos. Aún falta mucho por hacer en lo que respecta al avance científico y tecnológico del área; sin dejar de lado que en un medio como nuestro país una parte muy importante y de la que nos debemos ocupar, es el de buscar estrategias que faciliten el acceso a todas estas técnicas de reproducción a todos los estratos sociales ya que ante su condición de enfermedad, la infertilidad es un problema de todos.

V. FUENTES

- AVENDAÑO, C. *et al.*, “Fragmentation of DNA in morphologically normal human spermatozoa”, *Fertil Steril*, vol. 91, 2009.
- BARROSO, G. *et al.*, “Analysis of DNA fragmentation, plasma membrane translocation of phosphatidylserine and oxidative stress in human spermatozoa”, *Hum Reprod*, vol. 15, 2000.
- *et al.*, “Influencia de los factores intrafoliculares a nivel ovárico durante el desarrollo óvulo/embrionario”, *Ginecol Obstet Mex*, Aug, 69, 2001.
- CHEN, Z., “The relationship between, human semen characteristics and sperm apoptosis: a pilot study”, *J Androl*, vol. 27, 2006.
- *et al.*, “Seasonal variation and age-related changes in human semen parameters”, *J Androl*, vol. 24, 2003.
- CHIA, S. *et al.*, “Factors associated with male infertility: a case-control study of 218 infertile and 240 fertile men”, *BJOG*, vol. 107, 2000.
- COHEN-BACRIE, P. *et al.*, “Correlation between DNA damage and sperm parameters: a prospective study of 1,633 patients”, *Fertil Steril*, 2008 (In Press).
- DE VOS, A. *et al.*, “Influence of individual sperm morphology on fertilization, embryo morphology, and pregnancy outcome of intracytoplasmic sperm injection”, *Fertil Steril*, vol. 79, 2003.
- DUBEY, A. *et al.*, “Failed fertilization after intracytoplasmic sperm injection: the extent of paternal and maternal chromatin decondensation”, *Fertil Steril*, vol. 68, 1997.
- EDI-OSAGIE, E. *et al.*, “Characterizing the endometrium in unexplained and tubal factor infertility: A multiparametric investigation”, *Fertil Steril*, vol. 82, 2004.
- EZRA, Yossef y SCHENKER, J., “Appraisal of in vitro fertilization”, *Eur J Obst Gynecol Reprod Biol*, vol. 48, 1993.
- FUMERO, S., “Nuestros resultados en ICSI con espermatozoides congelados y frescos obtenidos por TESE”, *Revista Internacional de Andrología*, vol. 4, 2006.

- GREGORIOU, O. *et al.*, “Pregnancy rates in gonadotrophin stimulated cycles with timed intercourse or intrauterine insemination for the treatment of male subfertility”, *European Journal of Obstetrics & Gynaecology and Reproductive Biology*, vol. 64, 1996.
- HAAGEN, E. *et al.*, “Subfertility guidelines in Europe: the quantity and quality of intrauterine insemination guidelines”, *Hum Reprod*, vol. 21, 2006.
- HASSAN, M. y KILLICK, S., “Effect of male age on fertility: evidence for the decline in male fertility with increasing age”, *Fertil Steril*, vol. 79, 2003.
- HOURLVITZ, A., “Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) using cryopreserved sperm from men with malignant neoplasm yields high pregnancy rates”, *Fertil Steril*, vol. 90, 2008.
- KIDD, S. *et al.*, “Effects of male age on semen quality and fertility: a review of the literature”, *Fertil Steril*, vol. 75, 2001.
- KIRBY, C. A. *et al.*, “A prospective trial of intrauterine insemination of motile spermatozoa versus timed intercourse”, *Fertil Steril*, vol. 56, 1991.
- LASS, A., “Monitoring of in vitro fertilization-embryo transfer cycles by ultrasound versus by ultrasound and hormonal levels: a prospective, multicenter, randomized study”, *Fertil Steril*, vol. 80(1), 2003.
- LOH, S. *et al.*, “The influence of body mass index, basal FSH and age on the response to gonadotrophin stimulation in nonpolycystic ovarian syndrome patients”, *Hum Reprod*, vol. 17, 2002.
- LOPES, S. *et al.*, “Sperm Deoxyribonucleic Acid Fragmentation is Increased in Poor-Quality Semen Samples and Correlates with Failed Fertilization in Intracytoplasmic Sperm Injection”, *Fertil Steril*, vol. 69, 1998.
- MIN, J. K. *et al.*, “What is the most relevant standard of success in assisted reproduction? The singleton, term gestation, live birth rate per cycle initiated: the BESST endpoint for assisted reproduction”, *Hum Reprod*, vol. 19, 2004.
- NASR-ESFAHANI, M. *et al.*, “Failed fertilization after ICSI and spermogenic defects”, *Fertil Steril*, vol. 89, 2008.

- NICE (NATIONAL INSTITUTE FOR CLINICAL EXCELLENCE) FERTILITY, "Assessment and treatment for people with fertility problems", *Clinical guideline*, RCOG press, 2004.
- NIKOLAOU, D. y TEMPLETON, A., "Early ovarian ageing: a hypothesis. Detection and clinical relevance", *Hum Reprod*, vol. 18, 2003.
- NYGREN, K. G. y ANDERSEN, A. N., "Assisted reproductive technology in Europe, 1999. Results generated from European registers by ESHRE", *Hum Reprod*, vol. 17(12), 2002.
- O'BRIEN, J. y ZINI, A., "Sperm and DNA integrity and male infertility", *Urology*, 65, 2005.
- OMBELET, W., "Semen quality and intrauterine insemination", *Reprod Bio Med Online*, vol. 7(4), 2003.
- ROUX, T. y FOLTZ, K., "Signal transduction at fertilization: The Ca²⁺ release pathway in echinoderms and other invertebrate deuterostomes", *Sem Cell Develop Biol*, vol. 17, 2006.
- SUTTER, Petra de, "Rational diagnosis and treatment infertility", *Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*, vol. 20, 2006.
- THE PRACTICE COMMITTEE OF THE AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE, "Definition of 'infertility'", *Fertil Steril*, vol. 86, 2006.
- UBALDI, F. M. *et al.*, "Management of poor responders in IVF", *Reprod Biomed Online*, vol. 10, 2005.
- VERHOEVE, H. R. *et al.*, "Diagnostic tests in reproductive medicine", *Reviews in Gynaecological and Perinatal Practice*, vol. 6, 2006.
- WILDING, M. *et al.*, "Preimplantation genetic diagnosis for the treatment of failed in vitro fertilization-embryo transfer and habitual abortion", *Fertil Steril*, vol. 81, 2004.