

Fe de erratas:

En el Nº 2 de la revista, al publicar la monografía premiada sobre PGD, el orden de los autores debería haber sido: Jorge Pedrueza, Sergio García Ercoli y Camilo Mercado. Rogamos a los autores y a los socios disculpar el error.

Riesgo de transmisión del HIV en parejas serodiscordantes en tratamiento de fertilidad

Mariel Ruibal, José Sad Larcher

Reproducción 2009; 24: 115-127

Introducción

La infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) y el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) han constituido desde la aparición misma de la enfermedad un gran desafío para el equipo de salud. La evolución de los conceptos médicos, los avances en los tratamientos y los cambios socioculturales en la forma de concebir esta patología, junto a la mejoría en el pronóstico de los enfermos observada en los últimos años, ha llevado a muchas parejas con uno o ambos integrantes infectados a solicitar tratamientos de asistencia reproductiva. El objetivo de este trabajo es hacer una revisión de varios de los conceptos que intervienen en el riesgo de transmisión de este virus en parejas serodiscordantes en tratamiento de fertilidad.

En junio de 1981 la denuncia de varios casos de neumonía por pneumocystis carinii en cinco jóvenes de sexo masculino de comportamiento homosexual en Estados Unidos marcaba el comienzo de un nuevo desafío para la medicina moderna. Para 1982 ya se habían detectado centenas de casos semejantes en individuos heterosexuales que consumían drogas endovenosas, hemofílicos, pacientes que habían recibido transfusiones de sangre y hemoderivados, y niños nacidos de madres enfermas.¹

La reducción del número de linfocitos T auxiliares y la inmunosupresión dirigió la búsqueda etiológica hacia los retrovirus. En el año 1983 se aisló en Francia un nuevo retrovirus (virus asociado a linfadenopatía, LAV), el cual se mostró prácticamente idéntico al aislado posteriormente en Estados Unidos en el Instituto Nacional de Cáncer (HTLV-III) y en San Francisco (retrovirus asociado a SIDA, ARV). Estos virus, luego caracterizados, se conocen hoy como HIV-1. Los

estudios moleculares y seroepidemiológicos demostraron una clara correlación entre HIV-1 y su evolución a SIDA.

En el comienzo de la epidemia la presencia de virus en el semen y fluidos vaginales, la posibilidad de transmisión horizontal y vertical, la alta morbimortalidad de los futuros padres e hijos y el riesgo de transmisión al personal médico motivaron la negativa de los especialistas en reproducción asistida a realizar tratamientos de infertilidad en esta población.² En 1994 se observó una disminución importante en el riesgo de transmisión vertical con la administración de zidovudina (AZT). A partir de 1996, la patología presentó un cambio radical desde de la incorporación de las terapias antirretrovirales de gran actividad (HAART) y de la mejora en el enfoque terapéutico de las infecciones oportunistas. El HIV-SIDA pasaba así de ser una enfermedad con alta morbimortalidad a una infección crónica.³ Esto mejoró la calidad y expectativa de vida, incrementando el deseo de tener hijos en las parejas infectadas con el virus. Un estudio reveló que entre 1993 y 1995 la expectativa de vida para pacientes de 20 años era de 7 años, mientras que en 1999-2001 se incrementó a 21 años. En la década de 1990 Semprini y col presentan el procesamiento de lavado de semen para remover eficientemente las células infectadas del semen de varones HIV positivos. Para el año 2001 se estimaba que el riesgo de transmisión del HIV con inseminación intrauterina (IIU) y otras técnicas de reproducción asistida (TRA) desde varón reactivo a la mujer negativa era menor a 1 en 3.000, al mismo tiempo que con el aporte de otras drogas al AZT el riesgo de transmisión vertical era menor del 2%. Para el HIV y la infertilidad había llegado un nuevo tiempo, el "tiempo de tratar".⁴

Biología del virus HIV en relación a la reproducción

El semen de los varones HIV positivos puede tener altos niveles del retrovirus, ya sea en plasma seminal o en células no germinales.

El semen está formado por una fracción acelular (plasma seminal) y otra celular (espermatozoides, células germinales inmaduras, linfocitos, macrófagos y células epiteliales). En varios tipos de estas células se ha encontrado provirus de HIV, y se ha demostrado replicación viral en células germinales diferentes a espermatozoides.²

Pero en la actualidad no hay información convincente que señale que el espermatozoide pueda transmitir el retrovirus. Al no poseer receptores CD4 en superficie, el HIV no podría ingresar al espermatozoide e infectarlo.² Los espermatozoides tampoco expresan correceptores CCR5-CXCR4, que favorecen la fusión con células blanco.

Sin embargo, existe el riesgo potencial de transmisión a partir de la unión del virus con células positivas para HLA-DR. En las células germinales se pueden hallar provirus de ADN, aunque en secuencias defectuosas o incompletas, y se ha aislado progenoma de HIV en zooides inmóviles, pero no en móviles. No se ha demostrado replicación viral competente del virus en zooides móviles.²

En relación a la carga viral y su comparación entre plasma sanguíneo y plasma seminal, los estudios sugieren que éstos se comportarían como compartimentos diferentes, y los pacientes HIV tendrían una producción independiente del virus en el tracto genital. En el grupo de pacientes con carga viral no detectable en plasma sanguíneo se detecta carga viral en plasma seminal en un poco menos del 5% de los individuos.²

En relación al HIV y el tracto genital femenino, aunque varios estudios han demostrado una fuerte correlación entre el nivel de carga viral en plasma sanguíneo y fluido cérvico-vaginal, otros mostraron discrepancias en ese sentido, y así la polémica continúa sobre si se tratan de compartimentos diferentes o no. Se ha demostrado que la eliminación del virus a nivel cérvico-vaginal aumenta con diversas situaciones como la vaginosis,

tricomoniasis, candidiasis, papilomavirus humano e incremento del pH vaginal. En cerca del 47% de las mujeres la eliminación del virus sería intermitente, y se cree que la carga viral sería mayor luego de la ovulación en la segunda mitad del ciclo. No existe consenso sobre si la eliminación durante las menstruaciones aumentaría o no.

El ovocito no posee receptores CD4 y parece no ser susceptible al HIV. Tampoco se ha hallado carga viral en fluido folicular de mujeres con carga viral no detectable en plasma sanguíneo, pero sí se detectó en una paciente con carga viral sanguínea detectable, siendo importante destacar que el recién nacido no se infectó.⁵ Algunos autores creen que la zona pelúcida podría actuar como barrera para evitar la penetración del virus a la gameta femenina.²

La probabilidad de transmitir el HIV en el acto sexual vaginal de una pareja serodiscordante ha sido calculada en diferentes poblaciones, a partir de diferentes métodos. La probabilidad de transmisión en cada acto sexual o infectividad (γ) varía desde $\gamma=0,0001$ a $0,0014$ en Estados Unidos y Europa a $\gamma=0,002$ en Tailandia y $\gamma=0,0011$ en Uganda.^{2,6-9}

El riesgo reportado es mayor en otras situaciones. En contactos con prostitutas en Tailandia y Kenia el riesgo es de $\gamma=0,056 - 0,1$ por acto sexual, atribuible probablemente a la presencia concomitante de otras enfermedades de transmisión sexual (ETS) y cualquier tipo de úlceras genitales.² Otros factores que aumentan el riesgo de transmisión son las relaciones anales, la carga viral elevada y la menor edad de los integrantes de la pareja. Muchos estudios reflejan mayor riesgo de transmisión hombre a mujer, que mujer a hombre, aunque también se ha observado lo inverso en algunos estudios.^{2,6-9}

Epidemiología

La dimensión alcanzada por el SIDA en el mundo torna indiscutible su importancia. Según estimaciones de ONUSIDA, el número total de personas infectadas en diciembre de 2004 en el mundo era de 39,4 millones, estimándose la denuncia por día de 14 mil nuevos infectados. A su

vez la epidemia impacta con más fuerza en áreas sociales, política y económicamente más vulnerables, observándose en los últimos años los mayores crecimientos en Asia Oriental, Europa Oriental y Asia Central.^{1, 10-13} Aún así, el África subsahariana continúa siendo la principal región afectada del mundo con 25,4 millones de infectados. Allí viven el 64% de las personas y el 76% de las mujeres infectadas del mundo (Figura 1).¹

En América existen más de 1,7 millones de infectados (4,3% del total mundial), siendo la prevalencia de infección del Caribe la segunda más alta del mundo.¹

En Argentina se diagnosticaron los primeros casos en 1982. Hasta septiembre de 2005 se habían notificado en nuestro país 29.960 casos, con una incidencia total de 700.1 casos por millón de habitantes.¹³ Se cree que para ese año 127.000 personas se encontraban infectadas en Argentina, de las cuales el 60% desconocía su situación serológica. Al igual que en otros países del mundo, se produjo progresivamente una variación de la distribución por sexo que llevó a la relación hombre-mujer de 14.64 en 1988 a 2.21 en 2005. La mayor concentración de casos se da en la franja de los 25 a los 34 años, siendo el pico en los hombres entre los 30 y 34 años, y en las mujeres entre los 25 y 29 años. Se observa así una concentración importante de infectados en edad reproductiva.¹³

En los hombres la infección a partir de relaciones homosexuales o bisexuales fue predominante hasta comienzos de la década de 1990. A partir de allí predominó la transmisión por intercambio de agujas, y más recientemente la transmisión por relaciones heterosexuales ganó amplio espacio e hizo penetrar la infección en la comunidad general. En las mujeres la transmisión fue inicialmente a partir de intercambio de agujas y ya en la década del 1990, de manera progresiva, la transmisión heterosexual creció hasta alcanzar hoy más del 95% de los casos. Tal como ocurrió en otros países con acceso a terapias antirretrovirales adecuadas, también en Argentina pudo observarse el descenso en la tasa de incidencia por transmisión vertical (Gráfico 1).¹³

Figura 1. Número estimado de personas que vivían con HIV-SIDA en el mundo en el año 2004.¹³

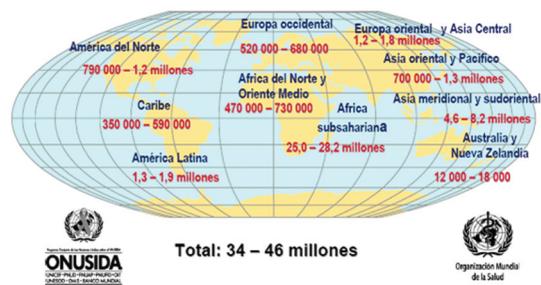
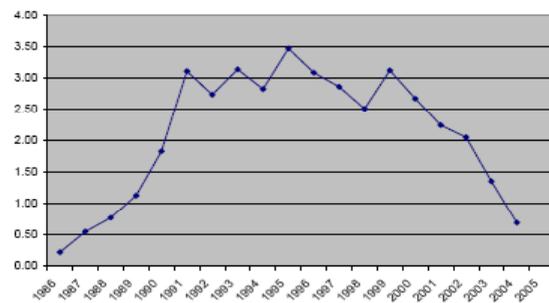


Gráfico 1. Evolución de la tasa de incidencia de HIV en Argentina por transmisión vertical, años 1986-2005.¹³



Laboratorio

Con la implementación de la HAART han mejorado las expectativas y la calidad de vida de los pacientes con SIDA, haciendo posible a estos individuos, en su mayoría en edad reproductiva, tener hijos propios. Incluso algunas parejas entrevistadas están dispuestas a conseguir embarazos aun con la exposición no protegida de algunos de sus miembros si no existen otras alternativas.¹⁴

El coito no protegido en parejas serodiscordantes no es aconsejable debido al riesgo potencial de transmisión a la pareja. Al respecto, algunos autores reportan índices de seroconversión de 4.3% (Mandelbrot, 1997), mientras que Mastro y Vicentini en 1996 reportan un riesgo de 0,1 a 0,2% por coito sin protección.

Publicaciones más recientes señalan un riesgo bajo de seroconversión cuando el integrante infectado se encuentra bajo HAART y con carga viral negativa; sin embargo este riesgo no es nulo y la posibilidad de transmisión vertical persiste.¹⁵

En pacientes bajo HAART se ha objetivado un descenso de aproximadamente el 80% en la trans-

misión heterosexual del HIV independientemente de otros factores que afectan la transmisión.¹⁶ Si bien se ha observado una disminución significativa de la presencia del HIV en semen en pacientes que reciben HAART, un porcentaje de ellos (4%) persiste con virus en semen a pesar de tener carga viral negativa en sangre.²

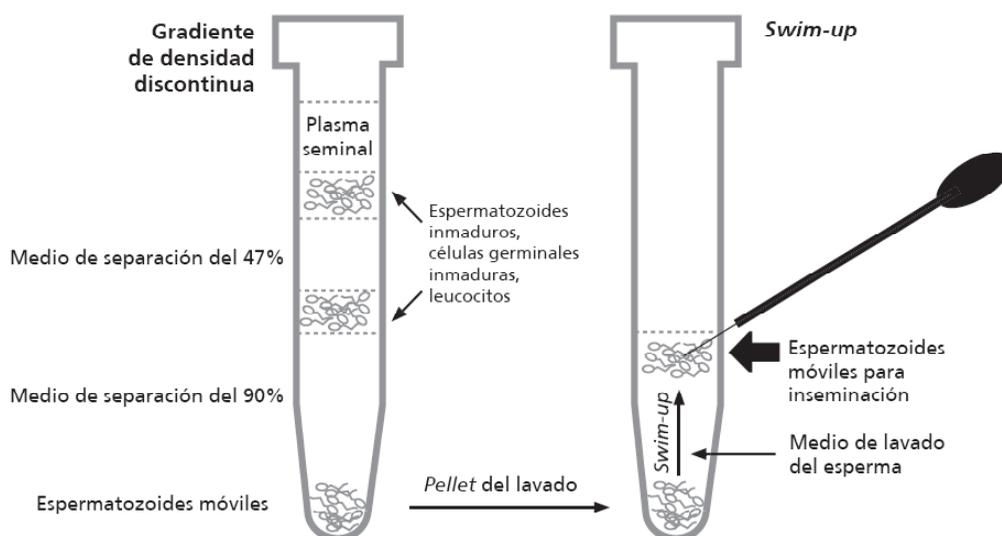
Otros grupos de trabajo han demostrado diferencia entre los niveles de carga viral en plasma-semen y carga viral en plasma-fluidos cérvico-vaginales en pacientes recibiendo distintos tipos de tratamientos antiretrovirales.¹⁷⁻¹⁹ Esto ha llevado a pensar que tanto el semen como los fluidos cérvico-vaginales funcionan como compartimientos diferentes, incluso se menciona al tracto genital masculino (próstata) como “santuarios” para el HIV.²⁰ Sin embargo, otros autores se oponen firmemente a estos concep-

tos con argumentos virológicos e inmunológicos consistentes.²¹

Como ya se mencionó en apartados anteriores el virus se encuentra en el líquido seminal y en las células no espermatozoides. Tampoco los ovocitos poseen receptores CD4. Hasta el presente no hay evidencias de que el HIV infecte células germinales, ya que no se ha demostrado replicación viral competente en ellas, sin embargo, estas afirmaciones son controvertidas.²²

Sobre la base de lo expuesto arriba el grupo de trabajo de Semprini y col ha sido pionero en la preparación y el lavado de semen de hombres HIV positivos para su uso en técnicas de reproducción asistida de baja y alta complejidad. Esta técnica consiste en aplicar a la muestra de semen un doble proceso de lavado: el gradiente de densidad y el *swim-up* (Figura 2).²³⁻²⁵

Figura 2. Procesamiento del semen mediante lavado seminal.²⁵



La muestra obtenida habitualmente se divide en varias partes para ser utilizada:

- Una parte para valoración mediante recuento, porcentaje de movilidad, etc.
- Otra parte para determinar la presencia del HIV-1 mediante PCR (reacción en cadena de polimerasa), que se aplica a los espermatozoides móviles obtenidos del lavado de semen (determina tanto partículas libres de ARN del virus como de la forma proviral ADN, es decir, virus integrado en el genoma de la célula infectada).

- El resto se usa para realizar el procedimiento de reproducción asistida que se hubiera indicado, en caso de que la PCR sea negativa. Existen en la actualidad distintos métodos comerciales para detectar la carga viral (CV). Las técnicas disponibles inicialmente detectaban solo a partir de 10.000 copias/ml. En la actualidad las técnicas de tercera generación consiguen detectar entre 20 y 50 copias/ml.²⁵

Diversos autores manifiestan la utilidad de PCR *nested* (variante de PCR convencional) a los

finde asegurar la eliminación del virus. La misma consiste en dos rondas de PCR.²⁶

Cuando se ha valorado la presencia del HIV en semen sin procesar y en semen post-procedimiento de lavado, se ha encontrado que:

- Queda probada la eficacia de la técnica del lavado de semen, la cual debe ser seguida por *swim-up*.

- El testeo de HIV-1 RNA/DNA con la PCR disponible debería hacerse en compartimientos seminales purificados.

- La técnica de PCR *in situ* no es útil para la detección del HIV en semen.²⁷

Actualmente la técnica del lavado de semen en conjunción con las técnicas de reproducción asistida constituyen una metodología segura para parejas serodiscordantes,²⁸ lo cual ha quedado demostrado en múltiples trabajos, independientemente del procedimiento de reproducción asistida utilizado, sea éste IUI o fecundación *in vitro* con o sin inyección intracitoplasmática de espermatozoides (FIV-ICSI).^{29, 30}

Un interesante informe español ya citado analizó la evidencia científica disponible en relación con la eficacia, efectividad y seguridad del lavado de semen hasta el año 2004, señalando que el lavado de semen en hombres seropositivos para su utilización en técnicas de reproducción asistida no ha producido hasta el presente ninguna seroconversión.²⁵

Si bien la mayoría de los autores consideran segura la técnica mencionada, algunos afirman que habiéndose realizado solo algunos cientos de ciclos de técnicas de reproducción asistida como indicación de prevenir la transmisión del virus, es aún muy pronto para demostrar que ésta elimina completamente el riesgo de contagio.³¹

Consideraciones éticas y legales

En el año 2001 aparece un editorial titulado "HIV e infertilidad: tiempo de tratar" en el cual se esgrimen argumentos que dan lugar al debate y a la concientización del problema. En dicho editorial se sostiene que no existe justificación para negar tratamiento a padres que son HIV positivos: el uso juicioso de la terapia antirretroviral en el embarazo y parto, el nacimiento por cesárea y el evitar la lactancia son medidas probadas que disminuyen el riesgo de transmisión vertical a menos del 2%.

El riesgo de malformaciones congénitas de un recién nacido de madre HIV negativa es de un 2,5% y éste se incrementa 4 veces si la madre es diabética insulino dependiente y 10 veces si tiene una malformación congénita significativa. Desde la mirada actual de la enfermedad como un padecimiento crónico en el cual la expectativa de vida desde el momento del diagnóstico, en pacientes que reciben tratamiento, supera los 20 años, se pone de relieve la necesidad de buscar opciones reproductivas para estos pacientes. Los autores concluyen que las parejas en que uno o ambos miembros están infectados deberían tener acceso a los mismos consejos y tratamientos que pacientes no infectados para permitirles concebir con un riesgo mínimo de contagio.³²

Las consideraciones éticas de las parejas afectadas por HIV que desean descendencia genética son complejas ya que involucran 3 individuos separados: madre, padre y niño por nacer. Deben aplicarse los principios éticos clásicos:

La autonomía: refleja la elección del paciente, luego de haber recibido una completa información, de continuar los tratamientos de infertilidad. Así, muchas parejas con enfermedades autosómicas recesivas (como fibrosis quística o *Tay-Sachs*) tienen 25% de riesgo de transmitir la enfermedad a sus hijos, pudiendo incluso estas enfermedades llevarlos a la muerte. Y siendo este riesgo muy superior al de HIV, se permite a estas parejas luego del apropiado consejo genético continuar su tratamiento de infertilidad.^{33, 34}

La beneficencia: se refiere a la intención del personal de salud de promover la salud y el bienestar de los pacientes. Los médicos pueden ayudar a disminuir la transmisión del virus a la pareja, y además asistir proveyendo bienestar psicológico a quienes desean tener un hijo genéticamente relacionado. Recordemos que sin cuidado prenatal adecuado el riesgo de transmisión vertical es del 20%, contra solo 1 a 2% en pacientes con tratamiento óptimo; esto sin olvidar el riesgo de seroconversión a la pareja negativa cuando no se utilizan las técnicas ya descriptas.^{33, 34}

Se sugiere en parejas seroconcordantes la opinión del equipo de infectología respecto del pronóstico a largo plazo de la pareja para documentar al menos buenas perspectivas en un miembro de la misma. Eso permite maximizar las posibilida-

des del niño de tener un padre hasta entrar en la adultez.

La justicia: aquí el derecho de la pareja de reproducirse se enfrenta a la perspectiva potencial de un niño que sufra las consecuencias de transmisión perinatal y los costos (económicos y sociales) de los cuidados del mismo que afrontaría la sociedad. El riesgo de transmisión de una enfermedad genética con efectos presumiblemente devastadores en la descendencia es una situación análoga.

La no maleficencia: se relaciona con elegir parejas afectadas con HIV que serían buenas candidatas, minimizando riesgos a la pareja seronegativa y descendencia, eligiendo la medicación antirretroviral con menor riesgo para reducir los efectos adversos potenciales para el feto y para no modificar el estado de enfermedad crónica con la llegada del embarazo.

Incluso en la mayoría de las instancias parecería que no intervenir para asistir a estas parejas las coloca en un riesgo potencialmente mayor de daño.

No debemos olvidar que pueden discutirse otras alternativas con las parejas como adopción, no tener hijos, donación de semen o útero subrogado (esto último particularmente controvertido).^{33, 34}

El Comité de Ética de la Sociedad Americana de Medicina Reproductiva (Birmingham, Alabama 2001) señala a modo de síntesis que la infección por HIV se clasifica hoy como una enfermedad crónica que es tratable, aunque aun no sea curable. Significativos avances en el tratamiento del HIV parecen haber demorado el comienzo del SIDA y sus consecuencias. El potencial de las personas HIV positivas de tener hijos no afectados y de no transmitir la enfermedad a sus parejas ha mejorado sustancialmente, aunque el éxito no está garantizado. Los pacientes y el equipo de salud comparten juntos la responsabilidad por la seguridad de la pareja seronegativa y de la descendencia. Cuando una pareja afectada requiere tratamiento debe sugerirse que asista a instituciones con infraestructura adecuada para proporcionar la evaluación, tratamiento y seguimiento más efectivos.³⁵

Respecto del HIV y el personal de salud, dicho comité puntualiza que si se toman las medidas estándar universales para prevenir la transmisión de enfermedades infecciosas, el riesgo para la transmisión de HIV al personal es muy pequeño, y no

es en sí mismo razón suficiente para negar servicios reproductivos a los infectados y sus parejas.³⁵

El Colegio Americano de Ginecología y Obstetricia en sus "Recomendaciones del Comité de Ética" texto publicado en diciembre de 2007, puntualiza que no es ético para el tocoginecólogo negarse a aceptar a un paciente o no continuar su cuidado solo por el hecho de que se sospeche o se confirme su condición de HIV positivo, y que la seropositividad para HIV no debería ser usada como una razón *per se* para negarse a proveer técnicas de reproducción asistida a una familia.³⁶

Desde lo legal, en la reunión anual de la Sociedad Americana de Medicina Reproductiva 2001 se discutió si los pacientes HIV positivo deberían ser tratados con FIV (simposio titulado "Controversias en ART"). Prácticamente todos los programas representados en dicha reunión no ofrecían tratamiento a afectados por HIV, aduciendo problemas médico-legales como la razón fundamental. Sin embargo, actualmente se piensa que el equipo de salud está en alto riesgo de problemas médico-legales si no ofrece atención a las parejas cuando las condiciones requeridas están presentes.³⁴

Desde el caso *Abbott vs Bragdon* queda establecida en Estados Unidos la obligación por parte de las personas del equipo de salud de tratar individuos infectados por HIV.³⁷

El precedente establecido en ADA (*American Disabilities Act*) sostiene el derecho de los pacientes afectados por HIV para recibir asistencia reproductiva, quedando fuera de la ley aquellos que no quieran prestarla.³⁸ Estos pacientes tendrían una incapacidad encubierta ya que la enfermedad limita de modo sustancial un derecho como es el de reproducirse. Sin embargo, los médicos no están obligados a ofrecer tratamiento y asistencia a todas las parejas afectadas por HIV. En los casos en que el equipo de salud considere que el procedimiento es médicamente inadecuado o existen riesgos excesivos atribuibles al tratamiento, o que éste no puede proporcionarse por razones de incapacidad institucional, no está obligado a impartirlo y debe considerarse la derivación a un centro apropiado con la correspondiente fundamentación.

El foco principal debería estar en que las parejas tengan información de los riesgos y consecuencias de cualquier procedimiento recomendado para concepción y que esto se plasme a través de la

firma del consentimiento informado. Los elementos básicos del mismo incluyen: diagnóstico, naturaleza y propósito de los tratamientos propuestos, riesgos y consecuencias de éstos, elección de alternativas al tratamiento, y riesgos y consecuencias de no tratar. Sería prudente crear un consentimiento que incluya expresamente los riesgos del HIV para los miembros de la pareja y el futuro niño.

En Argentina la Ley Nacional de SIDA (Ley Nacional N° 23.798) no contempla en ninguno de sus artículos la situación en discusión.³⁹

Las evaluaciones éticas y médico-legales de las parejas afectadas que desean concepción deben individualizarse, y debe ofrecerse un enfoque multidisciplinario para la información y el cuidado de estos pacientes, contando con infectólogos, endocrinólogos reproductivos, especialistas en medicina materno-fetal, psicólogos y psiquiatras.

Parejas serodiscordantes: hombre HIV positivo y mujer HIV negativa

Hasta hace algunos años a estas parejas se les recomendaba donación de semen, adopción o incluso abandonar la idea de tener niños. Los avances en el campo de la reproducción asistida asociados a las mejoras en el cuidado y los tratamientos para pacientes con HIV, permiten ahora a las parejas formar familias y permanecer saludables.

La mayoría de las parejas serodiscordantes están compuestas por hombre HIV positivo y mujer seronegativa; y las alternativas de tratamiento se ajustan al cuadro clínico, así en mujeres con fertilidad probada la IIU generalmente es efectiva. Cuando esta opción fracasa o ante parejas con un factor de infertilidad conocido se recurre a la alta complejidad (FIV/ICSI), utilizando siempre semen con el proceso ya descrito en apartados anteriores. Esa metodología ha demostrado bajo riesgo de seroconversión.^{25, 28-30}

a) IIU:

Una serie compuesta por 1.263 mujeres HIV negativas que fueron sometidas a 3.166 inseminaciones utilizando la técnica de lavado de semen de hombres HIV positivo mostró 393 nacimientos y ninguna seroconversión en la mujer ni en los niños.⁴⁰ Otra publicación relata estimulación ovárica e IIU en 581 parejas con un índice de embarazo por ciclo de 19% y un índice de embarazo por pareja del 78% con una incidencia de 4% de em-

barazos múltiples, sin seroconversiones.²⁹ La serie de Bujan y col mostró en 213 ciclos realizados a 56 parejas, 37 embarazos que resultaron en 33 nacimientos (embarazo por pareja del 66% y embarazo por ciclo del 17.4%), y ninguna mujer infectada. En otro trabajo que valora el pronóstico de las técnicas de reproducción asistida en pacientes infectados con HIV, se realizaron técnicas de alta y baja complejidad en 85 parejas, resultando en un índice de embarazo clínico por inseminación de 14.7%.⁴¹ Similares resultados se obtuvieron en un trabajo nacional en el que se realizaron 126 procedimientos de los cuales 102 fueron IIU, obteniéndose un índice de embarazo de 14.7% sin que se observara ninguna seroconversión.⁴²

Si bien hasta el presente no se han reportado casos de seroconversión en mujeres sometidas a IIU con semen adecuadamente preparado, debe advertirse a las parejas que no está probado que el riesgo sea cero o nulo.^{43, 44}

Respecto al efecto del virus HIV sobre los parámetros seminales y el pronóstico consecuente de la IIU luego de la técnica del lavado de semen, algunos investigadores sugieren un empeoramiento de los mismos. En una particular correlación con el recuento de CD4, el volumen eyaculado, la concentración espermática, el recuento total, la motilidad progresiva y la morfología normal fueron todos significativamente mayores en el grupo control que el grupo de hombres HIV positivos. No se observó correlación entre carga viral, años de diagnóstico de la enfermedad, uso de drogas antirretrovirales y duración de uso de las mismas y los parámetros seminales. Incluso en dicha publicación se concluye que la carga viral indetectable, así como el uso de antirretrovirales, mejoran el pronóstico de la inseminación con técnica del lavado de semen en pacientes positivos para el HIV.⁴³

b) FIV/ICSI:

Esta técnica puede ser utilizada cuando no hay suficiente espermatozoide para realizar IIU o teóricamente para reducir la exposición al virus.

La combinación de lavado de semen, PCR e ICSI ofrece ventajas potenciales:

- Proporciona la menor exposición al virus (un espermatozoide para cada ovocito).
- No se necesita recuperar un número importante de espermatozoides para conseguir índices adecuados de embarazo post-lavado (como en IIU).

- Los índices de embarazo son tres veces mayores que los obtenidos con IIU.
- El mayor éxito de gestación disminuye el número de intentos y de exposiciones.
- Las muestras negativas de semen para HIV están disponibles para ciclos futuros.
- Como la muestra se procesa antes de iniciar el ciclo, los mismos no se cancelan por resultados positivos.

Distintos trabajos realizados en parejas serodiscordantes para HIV-hepatitis C con hombre infectado señalan tasas acumulativas de embarazo de 51% sin caso alguno de seroconversión;⁴⁵ o tasas de embarazo por ciclo de 46% sin seroconversión, remarcándose que el procedimiento de lavado, *nested* PCR e ICSI constituyen una metodología efectiva para evitar contagio con tasas razonables de embarazo.⁴⁶

Un estudio retrospectivo evaluó la utilidad clínica de FIV/ICSI en parejas serodiscordantes en 133 ciclos consecutivos. De los mismos se cancelaron el 11.5% por baja respuesta, se obtuvo una tasa de embarazo clínico de 44% por embrión transferido con un índice de embarazo en curso/nacimiento de 36.5% por embrión transferido (con un índice de 57% de embarazos múltiples). Los autores concluyen que si bien este procedimiento es seguro para evitar la transmisión de la enfermedad, no está exento de las complicaciones propias de la alta complejidad (síndrome de hiperestimulación, embarazos múltiples) y señalan que las mejores candidatas parecen ser mujeres jóvenes sin factores de riesgo para hiperestimulación.⁴⁷

En el trabajo nacional ya citado se realizaron 13 ICSI en 11 pacientes y se consiguieron 5 embarazos (38.5%). No hubo seroconversión en la pareja ni en la descendencia.⁴²

Si bien el FIV/ICSI reduce la exposición femenina al virus, no es una técnica estándar para todas las parejas HIV serodiscordantes con mujer seronegativa. Se debe tener en cuenta los riesgos potenciales que trae aparejado el ICSI respecto a anomalías cromosómicas, complicaciones del procedimiento de punción (sangrado, infección, daño intestinal, lesión de vasos sanguíneos, etc) y la mayor frecuencia y riesgos asociados al embarazo múltiple. Minimizar el riesgo de transmisión en estas parejas es fundamental, pero éste no es el único riesgo que se corre.

Aunque los métodos propuestos de lavado de semen son relativamente simples y económicos, el testeo final del semen para asegurar la remoción del virus y la supervisión médica intensiva elevan el costo más allá de lo que algunas parejas pueden costear. A ello se suma que muchas parejas no tienen centros especializados a los cuales recurrir en su lugar de residencia. Así, en un estudio se observó que aproximadamente el 30% de las parejas no iniciaron tratamiento con IIU después del asesoramiento inicial, y otro 30% lo abandonó después de cierta cantidad de ciclos fallidos.⁴⁸ Sobre 500 parejas serodiscordantes que participaron de un programa de IIU en Milán, se verificó que casi la mitad de las parejas que no concibieron con IIU intentaron luego concepción a través de relaciones sin protección. Tampoco debe olvidarse que la mayoría de las parejas serodiscordantes habitan en zonas y países sin acceso a asesoramiento reproductivo. Debido a ello, algunos grupos sostienen que el asesoramiento a las parejas debe incluir medidas de reducción del riesgo de transmisión, aun conociendo que muchas de ellas poseen eficacia aún no demostrada científicamente. Estas medidas se dividen en cinco categorías:⁴⁸

1. Optimización de las chances de concepción, confirmando fertilidad en ambos miembros de la pareja y sugiriendo relaciones sin protección solo en la ventana fértil del ciclo de la mujer, momento identificado por el pico urinario de LH.
2. Supresión de la CV en hombres con cargas virales mayores a 1.000, con confirmación de RNA de HIV indetectable en plasma seminal, si es posible. Si la CV no puede ser suprimida, entonces se sugiere IIU.
3. Exclusión y/o tratamiento de infecciones y procesos inflamatorios del tracto genital de ambos miembros de la pareja, y evitar prácticas y productos que produzcan irritación del epitelio vaginal.
4. Tratamientos experimentales para reducir la susceptibilidad al contagio: profilaxis pre-exposición con tenofovir (*Viread*[™], *Gador*) (una tableta vía oral dos horas antes de la relación sexual sin protección), aplicación de estriol vaginal durante los primeros cinco días del ciclo menstrual.

5. Detener inmediatamente relaciones sin protección si se logra embarazo, debido a que la seroconversión durante el mismo aumenta mucho la tasa de transmisión vertical, y retestear a la pareja durante el embarazo.

Parejas serodiscordantes: hombre HIV negativo y mujer HIV positiva

De las personas jóvenes afectadas, la mitad son mujeres. La medicación antirretroviral ha mejorado la salud y expectativa de vida de ellas, llevándolas al deseo de procrear. Sin embargo, el riesgo de transmitir la enfermedad a su pareja seronegativa persiste. Inicialmente los tratamientos en las parejas serodiscordantes se limitaron a aquellas en las cuales la mujer era negativa y el hombre positivo, pero a partir del año 2001 se extendieron a las parejas con mujer positiva. Claramente el objetivo en este escenario es evitar el contagio del hombre de la pareja.^{1, 49-51}

Los procedimientos que se pueden llevar a cabo son inseminación intravaginal, IIU, FIV-IC-SI y ovodonación, evitando en todos ellos riesgo alguno de transmisión del virus al hombre seronegativo.^{2, 49-52}

El estado reproductivo, médico y preconcepcional debe ser cuidadosamente evaluado en la mujer seropositiva antes de iniciar el tratamiento de fertilidad.

En relación a su capacidad reproductiva, estas mujeres se encuentran en general en riesgo de subfertilidad. La enfermedad tubaria preexistente, debido a la alta prevalencia de otras ETS en individuos HIV positivos, es muy frecuente. La tasa de infecciones del tracto genital superior y sus secuelas es 10 veces más alta que en la población general. Es frecuente también la presencia de infertilidad por factor cervical, por historia previa de procedimientos quirúrgicos a ese nivel (conización, LEEP, laser). Se describen también para estas pacientes tasas más elevadas de anovulación y falla ovárica precoz, sobre todo en aquellas en las que se detectan bajos niveles de CD4 T.⁵³⁻⁵⁵

Idealmente el control óptimo de la carga viral y la salud materna deben ser logrados antes de obtener el embarazo. Una vez conseguido, se deberán iniciar una serie de medidas y procedi-

mientos para disminuir el riesgo de transmisión vertical, no descritos aquí en detalle por exceder los alcances del presente trabajo.⁵⁶⁻⁶¹ Pero en relación a ello resulta importante mencionar algunos conceptos:

- Para pacientes con acceso adecuado a terapia antirretroviral y nacimiento por cesárea la tasa de transmisión materno-fetal es <1%.
- En las pacientes asintomáticas en las que la infección está bien controlada el embarazo no agrava el HIV.
- En muchas series de casos el deseo de fertilidad se transformó en excelente oportunidad para optimizar el control de la enfermedad en esas mujeres.

En relación a la eficacia de los procedimientos de fertilización asistida, si se comparan al escenario en el cual el hombre es positivo y la mujer negativa, las tasas de embarazo suelen ser menores, atribuible principalmente a la coexistencia de múltiples factores de infertilidad en las mujeres HIV positivas. Estos hallazgos, junto con otros como la necesidad de utilizar dosis más altas de gonadotrofinas para lograr tasas equivalentes de recuperación de oocitos, han llevado a algunos grupos a plantear la existencia de un efecto negativo de la infección por HIV sobre la función ovárica. Si el virus, la terapia antirretroviral o ambos tienen un impacto específico negativo sobre el ovario, ello no ha podido ser aclarado.⁶² Algunos autores refieren que si bien la estimulación ovárica óptima suele ser más difícil de lograr en las pacientes HIV positivas, una vez logrados los objetivos de recuperación de oocitos, los resultados se equipararían a aquellas mujeres seronegativas de la misma edad y condiciones generales.^{50, 51, 62, 63}

Las mujeres HIV positivas se consideraron inicialmente ante un alto riesgo de aborto espontáneo. La introducción de la terapia antirretroviral y del HAART principalmente parece haber disminuido ese riesgo.⁶³

En cuanto a la elección de los métodos de asistencia reproductiva, la IIU suele ser el primer procedimiento considerado en las parejas en las que no existe factor masculino severo ni factor tuboperitoneal presente. Al evitar el contacto del varón con las secreciones vaginales, se evita todo riesgo de infección. Si existen en la pareja algunos

de los factores antes mencionados o si la IIU falla, se puede proponer entonces FIV o ICSI de acuerdo a los protocolos habituales.

De cualquier manera la elección de las técnicas va a variar de acuerdo a la experiencia del centro, sus criterios de inclusión en los programas y las características específicas de la pareja.⁵⁰⁻⁵² En muchos centros el procedimiento más frecuentemente realizado es ICSI. Debido a la imposibilidad de usar altas dosis de gonadotropinas en la inducción de ovulación para IIU (para disminuir el riesgo de embarazo múltiple), a muchas parejas se les propone inicialmente alta complejidad, ofreciendo así tasas más altas de embarazo con la posibilidad de transferir un solo embrión. A su vez, dentro de las técnicas de alta complejidad, ICSI es lo que más se propone. Eso es para evitar fallas de fertilización en FIV que retrasen el tratamiento en mujeres que a veces han suspendido o readecuado su terapia antirretroviral y para las que un retraso en la concepción no es lo ideal.^{50, 51, 62}

La atención por evitar los embarazos múltiples debe ser extrema en esta población. Para las pacientes HIV positivas los embarazos múltiples no son lo ideal, ya que la prematuridad y las complicaciones obstétricas aumentan el riesgo de transmisión vertical.^{50, 51, 64-67} A su vez, el HAART, sobre todo aquel que utiliza inhibidores de proteasa, puede aumentar el riesgo de prematurez. Así, muchos grupos proponen la transferencia de un solo embrión en todas las pacientes menores de 40 años independientemente de la calidad embrionaria y aún ante fallas de FIV previas. Para mujeres mayores de 40 años estos grupos sugieren la transferencia de dos embriones. En el caso de embriones congelados se llega a sugerir la transferencia de un embrión en la primera transferencia, y si falla, reconsiderar la transferencia de uno versus dos embriones en el segundo intento. Cuando se presentan las series en la bibliografía se observa que en la experiencia actual de los centros que realizan estos procedimientos el número promedio de embriones por transferencia suele ser cercano a dos.^{50, 51}

A pesar de la complejidad y esfuerzo multidisciplinario que implica su manejo, los resultados obtenidos con estas pacientes pueden considerarse favorables.⁵⁰

Condiciones de ingreso a programas de reproducción asistida para pacientes HIV positivos

De acuerdo a las consideraciones mencionadas en apartados anteriores, un centro de asistencia reproductiva debe determinar criterios de inclusión para el ingreso de una pareja con estas características a tratamiento. Así, algunos países como Francia determinan algunos de estos requerimientos con leyes específicas para ello.⁶² Se consideran mínimos los siguientes, sin exclusión de otros complementarios:

1. Consentimiento informado.
2. Alta motivación para la paternidad.
3. Ausencia de progresión de la enfermedad con recuento CD4 estable ($>200/\text{mm}^3$).
4. Adherencia al tratamiento antirretroviral superior al 90%.
5. Carga viral indetectable en suero y semen (menos a 50-100 copias/ml).
6. Estudios a realizar a la pareja: Serologías: hepatitis B, C, VDRL, FTA-abs, CMV. Cultivo de flujo para gérmenes comunes, chlamydia, mycoplasma, ureaplasma.
7. Valoración de parámetros de fertilidad de pareja.

Conclusiones

La maternidad y paternidad son impulsos muy fuertes con profundas motivaciones biológicas y humanas. En el pasado los individuos afectados con HIV se encontraban ante el dilema de una expectativa de vida limitada y el fuerte deseo de reproducción. A eso debían sumarle el riesgo de transmitir la enfermedad a sus parejas y descendientes. Aun así muchas parejas optaban por relaciones sin protección para concebir.⁴⁸

El progreso en el tratamiento y los cambios radicales en la situación social del enfermo HIV positivo han hecho posible que los tratamientos de reproducción asistida sean hoy una realidad. Estos tratamientos son así realizados con el doble propósito de minimizar el riesgo de transmisión a la pareja y brindar la posibilidad de tratar la esterilidad de alta prevalencia en este grupo poblacional.

Referencias

1. Chequer P, Novaes Ramos J. Epidemiología de la infección en el mundo. En: Benetucci JA. SIDA y enfermedades asociadas. Tercera edición. Buenos Aires: FUNDAI, 2007. Pág. 21-41.
2. Jáuregui Rueda H, Monticelli MA, Pasqualini S. Reproducción asistida en parejas con HIV. En: Benetucci JA. SIDA y enfermedades asociadas. Tercera edición. Buenos Aires: FUNDAI, 2007. Pág. 671-683.
3. International Perinatal HIV Group. The mode of delivery and the risk of vertical transmission of human immunodeficiency virus type-1: a metaanalysis of 15 prospective cohort studies. *N Eng J Med* 1999;340:977-987.
4. Semprini AE. HIV and fertility: time to treat. *BMJ* 2001;332:566-567.
5. Bertrand E, Zissis G, Marissens D, et al. Presence of HIV-1 in follicular fluids, flushes and cumulus oophorus cells of HIV-1 seropositive women during assisted-reproduction technology. *AIDS* 2004;18(5):823-825.
6. Royce RA, Sena A, Cates W, et al. Sexual transmission of HIV. *N Eng J Med* 1997;336:1072-1078.
7. De Vincenzi I, for the European Study Group in Heterosexual Transmission of HIV. A longitudinal study of human immunodeficiency virus transmission by heterosexual couples. *N Eng J Med* 1994;331(6):341-346.
8. Mastro TD, Satten GA, Nopkesorn T, et al. Probability of female-to-male transmission of HIV-1 in Thailand. *Lancet* 1994;343(8891):204-207.
9. Gray RH, Wawer MJ, Brookmeyer R, et al. Probability of HIV-1 transmission per coital act in monogamous, heterosexual, HIV-1 serodiscordant couples in Rakai, Uganda. *Lancet* 2001;357(9263):1149-1153.
10. Hamers FF, Infuso A, Alix J, et al. Current situation and regional perspective on HIV/AIDS surveillance in Europe. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003;32(Suppl 1):S39-S48. Erratum in: *J Acquir Immune Defic Syndr* 203;32(4):467.
11. Hamers FF, Downs AM. The changing face of the HIV epidemic in Western Europe: what are the implications of public health policies? *Lancet* 2004;364(9428):83-94.
12. Benetucci A, Benetucci J. Epidemiología en la Argentina. En: Benetucci JA. SIDA y enfermedades asociadas. Tercera edición. Buenos Aires: FUNDAI, 2007. Pág. 43-58.
13. Ministerio de Salud. Programa Nacional de Lucha contra los Retrovirus Humanos, SIDA y ETS. Boletín sobre VIH/SIDA en la Argentina. Septiembre de 2005, año XI; No 24.
14. Klein J, Peña JE, Thornton MH, et al. Understanding the Motivations, Concerns, and Desires of Human Immunodeficiency Virus1 –Serodiscordant Couples Wishing to Have Children Through Assisted Reproduction. *Obstet Gynecol* 2003;101:987-994.
15. Barreiro P, del Romero J, Leal M, et al. Natural pregnancies in HIV-serodiscordant couples receiving successful antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006;43(3):324-326.
16. Castilla J, Del Romero J, Hernando V, et al. Effectiveness of highly active antiretroviral therapy in reducing heterosexual transmission of HIV. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;40(1):96-101.
17. Ghosn S, Chaix ML, Peytaving G, et al. Penetration of enfuvirtide, tenofovir, efavirenz and proteasa inhibitors in the genital tract of HIV-1 infected men. *AIDS* 2004;18(14):1958-1961.
18. Min SS, Corbelt AH, Resk N, et al. Proteasa inhibitors and nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor concentration in the genital tract of HIV-1 infected woman. *J AIDS* 2004;37(5):1577-1580.
19. Cu-Uvin S, Snyder B, Hogan J, et al. Paired plasma and cervicovaginal HIV-1 RNA expression over 36 month. Eleventh Conference of retroviruses and Opportunistic infections; San Francisco, EEUU, 2004. Abstract 954.
20. Smith DM, Kingery JD, Wong JK, et al. The prostate as a reservoir of HIV-1. *AIDS* 2004;18(11):1600-1602.
21. Lowe SH, Sankatsin SUC, Repping S, et al. Is the male genital tract really a sanctuary site for HIV? Arguments that it is not. *AIDS* 2004;18(10):1353-1362.
22. Bendivdekav AM, Velhal SM, Rghavan VP. Identification of CD4 independent HIV receptors on spermatozoa. *Am J Reprod Immunol* 2003;50(4):322-327.
23. Semprini AE, Levi-Setti P, Bozzo M, et al. Insemination of HIV-negative women with processed semen of HIV(+) partners. *Lancet* 1992;340:1317-1319.
24. Kato S, Hanabusa H, Kaneko S, et al. Complete removal of HIV-1 RNA and proviral DNA from semen by the swim-up method: assisted reproduction technique using spermatozoa free from HIV-1. *AIDS* 2006;20(7):967-973.
25. Informe Técnico. Lavado de semen en parejas VIH serodiscordantes para su uso en técnicas de reproducción humana asistida. IN 03/2004 Septiembre de 2004 Agencia d'Avaluació de Tecnologia Recerca Mediques. <http://www.aatrm.net>
26. Meseguer M, Garrido N, Gimeno C, et al. Comparison of polymerase chain reaction-dependent methods for determining the presence of human immunodeficiency virus and hepatitis C virus in washed sperm. *Fertil Steril* 2002;78(6):1199-1202.
27. Persico T, Savasi V, Ferrazzi E, et al. Detection of human immunodeficiency virus-1 RNA and DNA by extractive and in situ PCR in unprocessed semen and seminal fraction insolated by semen-washing procedure. *Human Reprod* 2006;21(6):1525-1530.
28. Semprini A, Fiore S. HIV and reproduction. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2004;16(3):257-262.
29. Savasi V, Ferrazzi E, Lanzani C, et al. Safety of sperm washing and ART outcome in 741 HIV-1 serodiscordant couples. *Hum Reprod* 2007;22(3):772-777. Epub 2006 Nov 15.
30. Bujan L, Pasquier C, Labeyrie E, et al. Insemination with Isolated and Virologically Tested Spermatozoa is a Safe Way for Human Immunodeficiency Type 1 Virus-Serodiscordant Couples with an Infected Male Partner to Have a Child. *Fertil Steril* 2004;82(4):857-862.
31. Englert Y, Lesaje D, VanVooren JP, et al. Medically assisted reproduction in the presence of chronic viral disease. *Hum Reprod Update* 2004;10(2):149-162.
32. Gilling-Smith C, Smith JR, Semprini AE. HIV and infertility: time to treat. *BMJ* 2001;322:566-567.

33. Zutlevics T. Should ART be offered to HIV serodiscordant and HIV seroconcordant couples: an ethical discussion? *Hum Reprod* 2006;21(8):1956-1960.
34. Williams CD, Finnerty JJ. Reproduction in couples who are affected by human immunodeficiency virus: Medical, ethical and legal considerations. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189(2):333-341.
35. Ethics Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Human immunodeficiency virus and infertility treatment. *Fertil Steril* 2002;77(2):218-222.
36. American College of Obstetrics and Gynecology. ACOG Committee Opinion No. 389, December 2007. Human immunodeficiency virus. *Obstet Gynecol* 2007;110 (6):1473-1478.
37. Supreme Court of the United States. *Bragdon vs Abbott* 254 v 624118 S ct 2196 (1996). Cornell University Law School. <http://law.cornell.edu>
38. Americans with Disabilities Act of 1990. 104 stat 327 42 USC 12101 et seq (1990). <http://usdoj.gov/crt/ada>.
39. Ley Argentina de SIDA Ley Nacional de SIDA N° 23.798 y Decreto Reglamentario N° 1.244/91.
40. Politch JA, Anderson, DJ. Preventing HIV-1 infection in women. *Infertil Reprod Med Clin N Am* 2002;13:249(abstract).
41. Manigart Y, Rozenberg S, Barlow P. ART outcome in HIV-infected patients. *Hum Reprod* 2006;21(11):2935-2940.
42. Jauregui Rueda, H, Pasqualini S. 3° International AIDS Society Conference on HIV Pathogenesis and treatment. Rio de Janeiro, Julio 2005.
43. Nicopoulos S, Almeida P, Ramsay J. The effect of HIV on sperm parameters and the outcome of intrauterine insemination following sperm washing. *Hum Reprod* 2004;19(10):2289-2297.
44. Sauer MV, Denison R, Rankin T, et al. Roundtable discussion. What is the role of artificial insemination in HIV serodiscordant couples? *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;38(S1):39-45.
45. Mencaglia L, Falcone P, Lentini GM, et al. ICSI for treatment of HIV and hepatitis C virus- serodiscordant couples with infected male partner. *Hum Reprod* 2005;20(8):2242-2246.
46. Garrido N, Mesequer M, Belluer S. Report of the results of a 2 years programme of sperm wash and ICSI treatment for HIV and hepatitis C virus discordant couples. *Hum Reprod* 2004;19(11):2581-2586.
47. Peña JE, Thornton II MH, Sauer MV. Assessing the clinical utility of in vitro fertilization with intracytoplasmic sperm injection in human immunodeficiency virus type 1 serodiscordant couples: report of 113 consecutive cycles. *Fertil Steril* 2003;80(2):356-362.
48. Vernazza PL, Hollander L, Semprini A, et al. HIV-discordant couples and parenthood: how are we dealing with the risk of transmission? *AIDS* 2006;20(4):635-636.
49. Estes S, Ginsburg E. Infertility treatment and assisted reproduction in HIV infected couples. UpToDate version 15.3 January 2007.
50. Ohl J, Partisani M, Wittemer C, et al. Encouraging results despite complexity of multidisciplinary care of HIV-infected women using assisted reproduction techniques. *Hum Reprod* 2005;20(11):3136-3140.
51. Ohl J, Partisani M, Wittemer C, et al. Assisted reproduction techniques for HIV serodiscordant couples: 18 months of experience. *Hum Reprod* 2003;18(6):1244-1249.
52. Semprini AE, Vucetich A, Oneta M, et al. Sperm washing and ICSI for men with HIV infection wishing for a child. *Fertil Steril* 2001;76:S246-S247.
53. Sobel JD. Gynecologic infections in human immunodeficiency virus infected women. *Clin Infect Dis* 2000;31(5):1225-1233.
54. Clark RA, Mulligan K, Stamenovic E, et al. Frequency of anovulation and early menopause among women enrolled in selected adult AIDS clinical trials group studies. *J Infect Dis* 2001;184(10):1325-1327.
55. Harlow S, Schuman P, Cohen M, et al. Effect of HIV infection on menstrual cycle length. *J AIDS* 2000;24(1):68-75.
56. Coll O, Fiore S, Florida M, Giaquinto C, et al. Pregnancy and HIV infection: A european consensus on management. *AIDS* 2002;16(2):S1-S18.
57. Cooper E, Charurat M, Mofenson L, et al. Combination antiretroviral strategies for the treatment of pregnant HIV-1-infected women and prevention of perinatal HIV-1 transmission. *J AIDS* 2002;29(5):484-494.
58. European Collaborative Study and the Swiss Mother + Child HIV Cohort Study. Combination antiretroviral therapy and duration of pregnancy. *AIDS* 2000;14(18):2913-2920.
59. Public Health Service Task Force (2003). Recommendations for use of antiretroviral drugs in pregnant HIV-1-infected women for maternal health and interventions to reduce perinatal HIV-1 transmission in the United States. AIDS info Website <http://AIDSinfo.nih.gov>
60. Weisser M, Rudin C, Battegay M, et al. Does pregnancy influence the course of HIV infection? Evidence from two large swiss cohort studies. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retroviral* 1998;17(5):404-410.
61. Thorne C, Patel D and Newell ML. Increased risk of adverse pregnancy outcomes in HIV-infected women treated with highly active antiretroviral therapy in Europe. *AIDS* 2004;18(17):2337-2339.

62. Terriou P, Auquier P, Chabert-Orsini V, et al. Outcome of ICSI in HIV-1-infected women. *Hum Reprod* 2005;20(10):2838-2843.
63. Massad S, Springer G, Jacobson L, et al. Pregnancy rate and predictors of conception miscarriage and abortion in US women with HIV. *AIDS* 2004;18(2):281-286.
64. Thurin A, Hausken J, Hillensjo T, et al. Elective single-embryo transfer versus double-embryo transfer in in vitro fertilization. *N Engl J Med* 2004;351(23):2392-2402.
65. Veleva Z, Vilska S, Hydén-Granskog C, et al. Elective single embryo transfer in women aged 36-39 years. *Hum Reprod* 2006;21(8):2098-2102.
66. Hydén-Granskog C, Unkila-Kallio L, Halttunen M, et al. Single embryo transfer is an option in frozen embryo transfer. *Hum Reprod* 2005;20(10):2935-2938.
67. De Sutter P, Delbaere I, Gerris J, et al. Birthweight of singletons after assisted reproduction is higher after single- than after double-embryo transfer. *Hum Reprod* 2006;21(10):2633-2637.