

¿Son peculiares los ciclos de fecundación in vitro con 100% de tasa de implantación?. Estudio comparativo

Are peculiar the IVF cycles with 100% of implantation rate?. A comparative study

Gilabert-Estéllles J, Romeu M, Monzó A, Gil-Raga F, Gil-Raga F, Gil F, Romeu A

Servicio de Ginecología (Reproducción Humana). Hospital Universitario La Fe. Valencia.

Resumen

Introducción: *Han sido identificados como factores pronóstico de gestación en FIV el número de ovocitos obtenidos y de embriones transferidos y la calidad embrionaria. La edad de la mujer, la respuesta a la estimulación la calidad del semen, la duración de la esterilidad, el número de intentos previos y la etiología de la esterilidad también han sido citados como factores que influyen en el resultado final de la fecundación in vitro, en términos de tasa de gestación. Obtener buenas tasas de embarazo y disminuir la tasa de gestaciones múltiples depende de la identificación de estos factores.*

Objetivos: *Identificar los factores pronósticos de implantación en ciclos de fecundación in vitro*

Diseño: *Estudio retrospectivo. Comparativo de cohortes.*

Ámbito: *Unidad de referencia de reproducción asistida en hospital universitario.*

Material y métodos: *Análisis comparativo de 1096 ciclos de FIV clasificados según la tasa de implantación: 91 con 100%, 72 con 0% y 933 con tasa de implantación variable. Protocolos habituales del centro. Parámetros considerados: edad de las pacientes, índice de masa corporal (IMC) y años de esterilidad, parámetros seminales (concentración y motilidad espermática en fresco y capacitado y REM), días de estimulación y dosis total de FSH utilizada, número de folículos preovulatorios desarrollados, diámetro del mayor de los folículos, espesor y patrón ecográfico del endometrio, relación estradiol/progesterona durante la fase lútea, número de ovocitos obtenidos, número de ovocitos metafase II y número de ovocitos atrésicos, número de embriones transferidos y porcentaje de embriones de buena calidad (grado 1 o 2) transferidos. Análisis estadístico: análisis de varianza y test de chi cuadrado.*

Resultados: *Edad de la paciente y calidad de los embriones a transferir se identifican como factores pronóstico de gestación. La relación estradiol/progesterona de los días 5 y 8 post-punción en los ciclos con gestación fue significativamente menor en los ciclos con gestación.*

Conclusiones: *La calidad embrionaria y un adecuado equilibrio hormonal durante la fase lútea favorecen la implantación. Edad y calidad embrionaria son factores predictores de implantación.*

Correspondencia: Dr. D. Alberto Romeu Sarrió
Servicio de Reproducción
Hospital U. La Fe
Avda de Campanar, 21
46009 Valencia
Correo electrónico: romeu_alb@gva.es

Palabras clave: FIV. Implantación. Gestación. Pronóstico. Edad. Calidad embrionaria. Relación estradiol/progesterona

Summary

Introduction: The number of oocytes as well as the number and quality of embryos obtained have been identified as prognosis factors of pregnancy in IVF. Age of patient, response to the stimulation and quality of semen sample, infertility duration, the number of previous attempts and the cause of infertility have also been referred as factors modifying the outcome of IVF in terms of pregnancy rates. To obtain good pregnancy rates and to diminish multiple pregnancy rates depends on the identification of such factors.

Objectives: To identify the implantation prognosis factors in IVF cycles

Desing: Retrospective comparative study.

Setting: Reference unit in University Hospital.

Material and methods: Comparative analysis of 1096 IVF cycles classified depending on the implantation rate: 91 with 100%, 72 with 0%, and 933 with variable pregnancy rate. Usual clinical protocols.

Considered protocols: age of the patients, body mass index, infertility duration, semen parameters (fresh and capacitated sperm count and motility and motile sperm recovered), days and IU of FSH needed for stimulation, number of developed follicles and leader follicle diameter, thickness and aspect of endometrium, estradiol/progesterone ratio in luteal phase, number of oocytes harvested, number of metaphase II and atretic oocytes recovered, number of transferred embryos and percentage of good quality embryos (grade 1 or 2) transferred. Statistical analysis: variance analysis and chi square test.

Results: Age of the patient and quality embryos to transfer are identified as prognosis factors for pregnancy. Estradiol/progesterone ratio on days 5 and 8 after ovum pick-up was significantly lower in cycles with pregnancy when compared to cycles without pregnancy.

Conclusions: Embryo quality and well adequate hormonal environment as well during luteal phase improve the embryo implantation. Age of the patient and embryo quality are prognosis factors of implantation.

Key words: IVF. Implantation. Pregnancy. Prognosis factors. Age. Embryo quality. estradiol/progesterone ratio.

INTRODUCCIÓN

La probabilidad de que se produzca una gestación como consecuencia de una transferencia embrionaria depende de numerosos factores, tanto intrínsecos a la pareja como relacionados con la respuesta ovárica a la estimulación o al número y a la calidad de ovocitos y embriones obtenidos.

Han sido identificados como factores pronóstico de gestación el número de ovocitos obtenidos y de embriones transferidos (1) y la calidad embrionaria (2). La edad de la mujer (3, 4), la respuesta a la estimulación (5) la calidad del semen (6), la duración de la esterilidad, el número de intentos previos y la etiología de la esterilidad (7) también han sido citados como factores que influyen en el resultado final de la fecundación in vitro, en términos de tasa de gestación.

Lamentablemente, existen numerosos factores de confusión que pueden modificar el resultado final en el tratamiento de cada pareja y ello impide obtener conclusiones válidas con facilidad.

Establecer un pronóstico respecto al resultado del tratamiento es importante no sólo para mejorar los resultados de los programas de reproducción asistida sino también para evitar su más frecuente complicación: las gestaciones múltiples de alto orden. En la actualidad, ya no se trata tanto de obtener gestaciones como de propiciar el nacimiento de fetos sanos y, para ello, conviene identificar factores pronósticos de implantación con el fin de evitar la implantación de múltiples embriones limitando el número de embriones en la transferencia. En otras palabras, sólo conocer los factores clínicos que pronostican la gestación y las características del embrión que pronostican la implantación

podrá permitir buenas tasas de embarazo con bajas tasas de gestación múltiple de alto orden.

Con el fin de intentar identificar estos factores, ha sido seleccionado un grupo de ciclos de FIV en las que se observó un 100% de implantación, es decir, en los que implantaron todos los embriones transferidos. En el presente trabajo, estos ciclos son comparados con aquéllos en los que implantó alguno de los embriones transferidos y con aquéllos en los que no lo hizo ninguno de los embriones.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio retrospectivo, comparativo, incluye 1096 ciclos de fecundación in vitro (FIV clásica e ICSI) que se llevaron a cabo en el Servicio de Reproducción del Hospital Universitario La Fe (Valencia), entre los años 1999 y 2002. El criterio de inclusión ha sido considerar que en la información de que se disponía no faltaba ninguno de los parámetros que se consideraba necesario analizar.

Entre estos ciclos, han sido identificados 91 (Grupo I) en los que la tasa de implantación fue del 100%, 72 ciclos en los que ninguno de los embriones transferidos implantó (Grupo II) y 933 ciclos en los que, produciéndose la gestación, la tasa de implantación fue variable (Grupo III).

La estimulación con gonadotropinas se inició el tercer día del ciclo menstrual bajo supresión hipofisaria por administración de un agonista de GnRH en protocolo largo, comprobadas la supresión hipofisaria ($E_2 < 50$ pg/mL) y la ausencia de patología o contraindicaciones. La práctica totalidad de los ciclos fueron estimulados con FSH altamente purificada o recombinante, a dosis inicial variable (150 a 450 UI/día), en función de las características de la paciente. Esta dosis pudo ser modificada en el curso de la estimulación en función de la respuesta individual.

El control de la estimulación se llevó a cabo mediante ecografías y determinaciones de estradiol seriadas.

Se indicó la administración de 5.000 a 10.000 UI de hCG cuando se comprobó mediante ecografía la existencia de, al menos, tres folículos de 19 mm de diámetro, siempre que no existieran criterios de cancelación.

La estimulación fue cancelada cuando se produjo alguna de estas situaciones: ausencia de respuesta (menos de 3 folículos en desarrollo después de 14 días de estimulación, niveles de estradiol superiores a 3.500 pg/mL u ovarios de tamaño superior a 70 mm,

La punción y aspiración folicular se llevó a cabo

bajo anestesia general, bajo control ecográfico. Fueron sistemáticamente puncionados y aspirados todos los folículos accesibles de diámetro mayor superior a 13 mm.

Los ovocitos obtenidos fueron clasificados según su estadio madurativo e inseminados o microinyectados (8) con semen o espermatozoides, respectivamente, una vez preparados mediante la técnica de swim-up, siempre que la muestra lo permitió.

La transferencia embrionaria fue practicada 48 ó 72 horas más tarde, siendo seleccionados los dos o tres embriones de mejor calidad morfológica, de acuerdo con la clasificación de Veeck (9).

La implantación fue evidenciada mediante la demostración de la presencia de uno o más sacos gestacionales por la exploración ultrasonográfica practicada en los 21 días siguientes al diagnóstico hormonal (BhCG positiva); los casos fueron considerados independientemente de su evolución ulterior.

Han sido considerados para el estudio los siguientes parámetros: edad, índice de masa corporal (IMC) y años de esterilidad, parámetros seminales (concentración y motilidad espermática en fresco y capacitado y REM), días de estimulación y dosis total de FSH utilizada, número de folículos preovulatorios desarrollados, diámetro del mayor de los folículos, espesor y patrón ecográfico del endometrio, relación estradiol/progesterona durante la fase lútea, número de ovocitos obtenidos, número de ovocitos metafase II y número de ovocitos atrésicos, número de embriones transferidos y porcentaje de embriones de buena calidad (grado 1 o 2) transferidos.

El estudio estadístico practicado se llevó a cabo mediante el programa SPSS 10.0: comprobación de la distribución normal, test de Anova, test de t de Student, test de Bonferroni, test de chi cuadrado y correlación de Pearson.

RESULTADOS

Los tres grupos resultaron ser homogéneos (datos no mostrados) para factores como consumo de tabaco, alcohol y otras drogas, así como para la causa fundamental de la esterilidad.

Las características clínicas consideradas (edad e índice de masa corporal de la mujer y años de evolución de la esterilidad) se recogen en la tabla 1. La edad de las mujeres incluidas en el Grupo I fue significativamente menor que la correspondiente a las mujeres incluidas en los Grupos II y III. No se observó una diferencia estadísticamente significativa al comparar este parámetro entre los grupos II y III.

Tabla 1

Características clínicas de las pacientes y resultado de la comparación entre los grupos estudiados. (IMC: índice de masa corporal; NS: no significativo)

	Grupo I	Grupo II	Grupo III	I vs II	II vs III	I vs III
Edad	32,5±2,9	33,6±3,4	33,7±3,2	<0,05	NS	<0,05
IMC	23,7±4,1	24,6±4,1	23,4±3,7	NS	<0,05	NS
Años de Esterilidad	7,1±3,5	7,4±3,5	7,2±3,3	NS	NS	NS

El IMC fue significativamente menor en el Grupo III al compararlo con el grupo II, no alcanzando significación estadística la diferencia observada entre los grupos I y III que fueron muy similares. Tampoco la diferencia entre el grupo I y II alcanzó significación estadística.

Los parámetros seminales estudiados figuran en la tabla 2. No hubo diferencias significativas al comparar los distintos parámetros entre los tres grupos estudiados, a excepción de la motilidad observada en el semen capacitado; ésta fue significativamente mayor ($p < 0,05$) en el grupo I, al compararla con la del Grupo III; no alcanzaron significación estadística las diferencias observadas al comparar los restantes grupos (I vs II y II vs III).

Los parámetros controlados relacionados con la estimulación se recogen en la tabla 3. La relación estradiol/progesterona observada en los días 5 y 8 después de la punción fue significativamente mayor en el Grupo II, al compararla con la observada en el Grupo III. El resto de los parámetros considerados no mostró la existencia de diferencias significativas al comparar los tres grupos estudiados.

Los resultados de la estimulación se recogen en la tabla 3. El número total de ovocitos obtenidos fue significativamente mayor en el Grupo III, al compararlo con el Grupo I; no hubo diferencias significati-

vas al comparar el grupo I con el grupo II y el grupo II con el III. Sin embargo, el número de ovocitos en estadio metafase II obtenidos fue significativamente mayor en el grupo III que en el grupo II, no alcanzando significación estadística las restantes diferencias observadas entre los restantes grupos comparados. Por otra parte, el número de ovocitos atrésicos obtenidos fue significativamente mayor en el grupo II con respecto al grupo III, no alcanzando significación estadística las restantes diferencias observadas entre los restantes grupos comparados.

El número de embriones transferidos fue significativamente menor en el grupo I que en los grupos II y III, entre los que no hubo diferencias estadísticamente significativas. Sin embargo, el porcentaje de embriones de buena calidad (embriones grado 1 y 2) fue significativamente mayor en el grupo I que en los grupos II y III, entre los que la diferencia no alcanzó significación estadística.

Se realizó un estudio de correlación bivalente en el grupo III entre la tasa de implantación y aquéllas variables en la que se habían encontrado diferencias estadísticamente significativas al comparar los distintos grupos. El resultado del análisis evidenció que la edad de la mujer resultó ser un factor pronóstico independiente de la tasa de implantación, observándose una correlación negativa (I. Pearson=0,10; $p < 0,005$).

Tabla 2

Características seminales y resultado al compararlas entre los grupos estudiados. (CF: concentración en fresco; MF: motilidad en fresco; CC: concentración en la muestra capacitada; MC: motilidad en la muestra capacitada; REM: espermatozoides móviles recuperados)

	Grupo I	Grupo II	Grupo III	I vs II	II vs III	I vs III
CF	28,7±26,4	36,1±30,4	31,1±29,0	NS	NS	NS
MF	18,0±14,8	18,1±11,0	17,1±13,1	NS	NS	NS
CC	28,8±28,3	29,6±24,4	24,6±24,7	NS	NS	NS
MC	70,4±15,3	66,4±25,2	61,5±26,5	NS	NS	0,01
REM	22,0±21,9	23,1±20,6	19,0±19,6	NS	NS	NS

Tabla 3

Características de la estimulación (días de tratamiento y dosis de FSH), efectos de la misma (número de folículos preovulatorios, diámetro del mayor de los folículos y espesor endometrial el día de administración de hCG, relación estradiol/progesterona en fase lútea, número de ovocitos obtenidos, número de embriones transferidos y porcentaje de embriones de buena calidad transferidos) y significación estadística de estos parámetros.

	Grupo I	Grupo II	Grupo III	I vs II	II vs III	I vs III
N Ciclos	91	72	933			
Días de Tratamiento	9,9±1,7	9,9±2,3	9,6±2,4	NS	NS	NS
Dosis total de FSH (UI)	2718±994	2670±936	2466±798	NS	NS	NS
N folículos >16 mm	8,1±3,8	8,1±3,3	9,6±2,4	NS	NS	NS
Φ folículo mayor	21,3±1,8	21,7±3,0	21,3±2,0	NS	NS	NS
Espesor endometrio	12,3±1,9		12,2±2,3	NS	NS	NS
Cociente E/P						
Día 0	0,149±0,08	0,169±0,18	0,151±0,12	NS	NS	NS
Día 2	0,016±0,01	0,018±0,02	0,016±0,18	NS	NS	NS
Día 5	0,014±0,02	0,029±0,05	0,013±0,01	NS	<0,001	NS
Día 8	0,019±0,01	0,053±0,21	0,022±0,03	NS	<0,05	NS
N ovocitos	9,2±5,3	10,4±5,2	11,2±5,5	NS	NS	<0,001
N metafase II	5,8±4,7	5,4±3,8	6,7±4,3	NS	<0,05	NS
N atrésicos	0,4±0,7	0,8±1,1	0,7±1,2	NS	<0,001	NS
N Embriones transferidos	2,5±1,0	3,2±0,8	3,3±0,7	<0,001	NS	<0,01
N embriones G 1 y 2 trf	98,1%	77,4%	82,5%	<0,001	NS	<0,001

Se evidenció, además, una correlación positiva entre la edad de las pacientes y la dosis total de FSH utilizada en la estimulación (I. Pearson= 0,218; p<0,001). No hubo correlación significativa entre la motilidad del semen capacitado o la dosis de FSH utilizada y la tasa de implantación.

DISCUSIÓN

El objetivo fundamental del presente estudio fue identificar factores de buen pronóstico de embarazo, como medio de mejorar los resultados obtenidos en fecundación in vitro, es decir, mantener o mejorar la tasa de embarazo y disminuir o erradicar los embarazos múltiples de alto orden (triples o de mayor orden). Para ello, han sido comparados determinados parámetros observados en una serie de ciclos en los

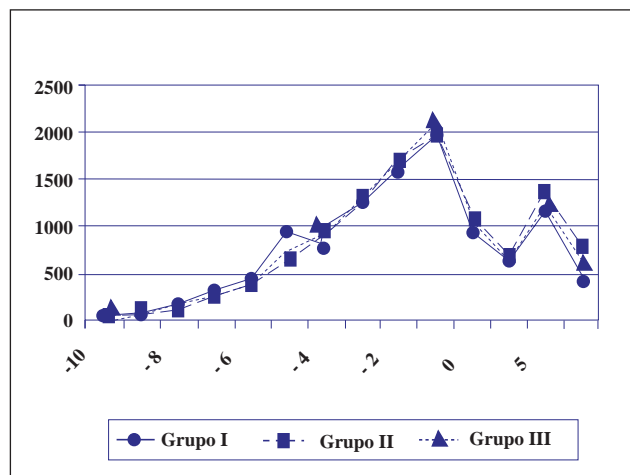


Figura 1

Niveles de estradiol observados en los distintos grupos

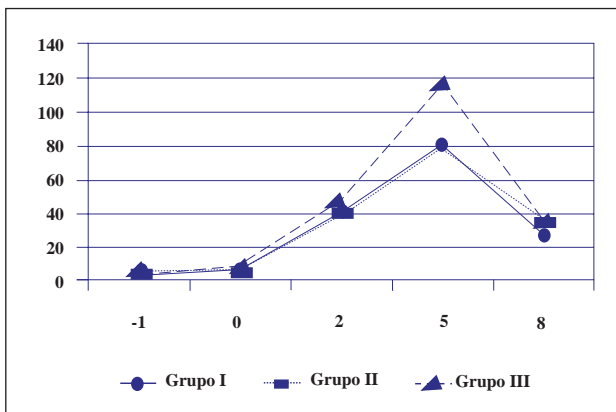


Figura 2

Niveles medios de progesterona observados durante la fase lútea en los tres grupos estudiados. Día 0: día de punción

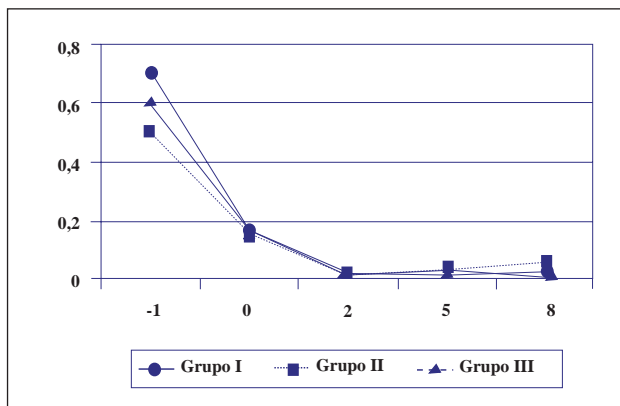


Figura 3

Relación estradiol/progesterona observada en los distintos grupos durante la fase lútea

que se produjo la gestación con una tasa de implantación del 100% (Grupo I) con los observados en una serie de ciclos en los que se produjo la gestación, siendo variable la tasa de implantación (Grupo III), y una serie de ciclos en los que no se produjo la gestación pretendida (Grupo II).

Por lo que a los caracteres clínicos se refiere, se ha comprobado que la edad de las pacientes en el momento de la realización del tratamiento fue significativamente menor en el grupo I que en los dos otros grupos considerados. Además, se observó la existencia de una correlación negativa significativa entre la edad y la tasa de implantación en el grupo III.

La edad de la mujer ha sido repetidamente considerada uno de los factores determinantes de la fertilidad femenina (10) y también un factor pronóstico independiente respecto de la gestación en FIV (11-13).

Parece bien establecido que en el determinismo del factor edad sobre el resultado final de la FIV está en relación con el número y la calidad de ovocitos y embriones (13, 14). Está generalmente admitido que, con el paso de los años, el número de folículos antrales disminuye progresivamente (15) y que esta disminución de la reserva ovárica se asocia a elevaciones del nivel circulante de FSH (16). Esta disminución del número de folículos tiene como consecuencia que, tras la estimulación, se obtenga en FIV un escaso número de ovocitos y, en consecuencia, de embriones (17).

En relación con el mal pronóstico que se deriva en FIV de la baja respuesta a la estimulación (18), se ha discutido el valor pronóstico tanto de la edad (19) como del nivel circulante de FSH (20) como el de otros parámetros, hormonales o no (21).

Si el número de embriones ha sido implicado en el mal pronóstico que la FIV ofrece en mujeres de edad avanzada, también se ha aludido a la calidad de esos embriones; en realidad, la situación incluye el bajo número de embriones y el aumento de la proporción de embriones anormales que se observa con la edad (22) de donde se deriva una disminución de la probabilidad de implantar.

A pesar de que el papel de ovocitos y embriones en la disminución de la fertilidad que se observa con la edad está bien establecido, no se puede descartar de forma absoluta que exista cierta influencia de la acción de la edad sobre el factor uterino que, sobre todo, podría ser determinante en la evolución del embrión ya implantado (23). Sin embargo, los buenos resultados obtenidos en ciclos de donación de ovocitos a mujeres de edad avanzada contribuyen a minimizar el papel del factor uterino (24).

En el presente estudio, apoya esta idea el hecho de que, aunque en el grupo de pacientes más jóvenes (Grupo I) se obtuvo menor número de ovocitos, el número de ovocitos atrésicos fue significativamente menor, el número de ovocitos metafase II fue similar en los grupos II y III y el porcentaje de embriones de buena calidad fue significativamente más alto en el grupo I.

No resulta extraño, pues, que las mujeres incluidas en el grupo I sean significativamente más jóvenes que las incluidas en los otros dos grupos. El número menor de embriones transferido en este grupo se debe a una disminución selectiva del número de embriones en la transferencia, en función de los protocolos de trabajo del centro.

En este mismo marco, las características clínicas de las pacientes y sus parejas se refiere, se ha comprobado también la existencia de diferencias estadísticamente significativas en el IMC de aquéllas. Sin embargo, este hallazgo es de dudosa significación clí-

nica. Aunque, probablemente refleja el hecho de que una mayor acumulación de pacientes cuyo peso se aproxima a la delgadez existió en el grupo en el que no se produjeron gestaciones, no parece posible que de esta observación se derive conclusión alguna.

Se ha comprobado que las características seminales fueron prácticamente idénticas en los tres grupos estudiados, aunque la motilidad del semen tras la capacitación de la muestra fue significativamente mayor en el grupo I con respecto al grupo III. Es dudoso que este hallazgo pueda tener significado alguno.

En el presente estudio no han sido evidenciadas diferencias de grosor endometrial entre los grupos, lo que no coincide con lo comunicado previamente por otros autores (25), quienes afirmaron que el espesor endometrial pero no el patrón ecográfico del endometrio es un factor predictor del resultado.

Resulta interesante el hallazgo de diferencias estadísticamente significativas en la relación estradiol/progesterona en los días 5 y 8 postpunción, días de capital importancia para la implantación.

Ha sido postulado que el papel del estradiol en la implantación es permisivo y que tanto una caída escasa como excesiva del nivel circulante del mismo durante la fase lútea constituye un mal pronóstico para la implantación (26). Sin embargo, el papel de la progesterona es determinante, puesto que de la acción de esta hormona dependen los cambios secretores del endometrio y, además, de ella parece derivarse una disminución de la contractilidad uterina (27, 28).

Los hallazgos del presente estudio parecen apoyar la idea de que un determinado equilibrio en la relación estradiol/progesterona resulta importante para la implantación, como fue postulado (29). Esta afirmación parece concordante con la observación de que niveles elevados de estradiol en el periodo preimplantacional se asocian a bajas tasas de implantación (30).

En resumen, estas observaciones apoyan la idea de que la edad, la calidad embrionaria y un adecuado equilibrio hormonal durante la fase lútea favorecen la implantación. Edad y calidad embrionaria son factores predictores de implantación.

Por otra parte, la disponibilidad de embriones de buena calidad (grados 1 ó 2 de veeck) debe inducir a limitar a dos el número de embriones en la transferencia cuando la receptora es menor de 37 años.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Wood C, McMaster R, Renie G, Trounson A, Leeton J.:** Factors influencing pregnancy rates following in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril* 1985; 43: 245-50.
2. **Erenus M, Zouves C, Rajamahendran P, et al.:** The effect of embryo quality on subsequent pregnancy rates after in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1991; 56: 707-10.
3. **Padilla S, García J.:** Effect of maternal age and number of in vitro fertilization procedures on pregnancy outcome. *Fertil Steril* 1989; 52: 270-3.
4. **Ziebe S, Loft A, Petersen J, Andersen A, Lindenberg S, Petersen K, et al.:** Embryo quality and developmental potential is compromised by age. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2001; 80: 169-74.
5. **Lindheim S, Ditkoff E, Sauer M, Zinger M.:** Differences in ovarian stimulation among older and younger women with a diminished gonadal reserve. *J Assisted Reprod Genet* 1997; 14: 235-7.
6. **Mahadevan M, Trounson A.:** The influence of seminal characteristics on the success rate of human in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1984; 42: 400-3.
7. **Templeton A, Morris J, Parslow W.:** Factors that affect outcome of IVF treatment. *Lancet* 1996; 348: 1402-6.
8. **Molina I, Orden MdI, Dieguez L, Fernandez P, Monzó A, Romeu M, et al.:** Nuevo método para la inyección intracitoplasmática de espermatozoides. *Revista Iberoamericana de Fertilidad* 2000; 17: 120-6.
9. **Veeck L.:** Atlas of the human oocyte and early conceptus. Baltimore, London. Los Angeles, Sydney: Williams and Wilkins; 1986.
10. **Meldrum D.:** Female reproductive aging -ovarian and uterine factors. *Fertil Steril* 1993; 59: 1-5.
11. **Jacobs S, Metzger D, Dodson W, Haney A.:** Effect of age on response to human menopausal gonadotropin stimulation. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 71: 1525-9.
12. **Kim S-H.:** Female aging and superovulation induction for IVF. *J Obstet Gynaecol (Japan)* 1995; 21: 75-82.
13. **Janny L, Ménéz Y.:** Maternal age effect on early human embryonic development and blastocyst formation. *Mol Reprod Dev* 1996; 45: 31-7.
14. **Sauer M, Paulson R, Lobo R.:** Oocyte donation to women of advanced reproductive age: pregnancy results and obstetrical outcomes in patients 45 years and older. *Hum Reprod* 1996; 11: 2540-3.
15. **Chang M, Chiang C, Chiu T, Hsein T, Soong Y.:** The antral follicle count predicts the outcome of pregnancy in a COH/IUI programme. *J Assist Reprod Genet* 1998; 15: 12-7.
16. **Toner J, Philput C, Joner G, Muasher S.:** Basal follicle-stimulating hormone level is a better predictor of in vitro fertilization performance than age. *Fertil Steril* 1991; 55: 784-91.
17. **Marcus S, Brinsden P.:** In-vitro fertilization and embryo transfer in women aged 40 years and over. *Hum Reprod Update* 1996; 2: 459-68.
18. **Barri P, Coroleu B, Martínez F, Veiga A.:** Stimulation protocols for poor responders and aged women. *Moll Cell Endocrinol* 2000; 166: 15-20.

19. **Cohen J.:** En AMP pas de limite d'âge systematique. *Contracept Fertil Sex* 1998; 26: 506-8.
20. **Galtier-Dereure F, Bringer J, Hedon B.:** Valeur pronostique des FSH elevées. *Contracept Fertil Sex* 1996; 24: 635-8.
21. **Creus M, Peñarrubia J, Fabregues F, Vidal E, Carmona F, Casamitjana R, et al.:** Day 3 serum inhibin B and FSH and age as predictors of assisted reproduction treatment outcome. *Hum Reprod* 2000; 15: 2341-6.
22. **Munné S, Alikani M, Tomkin G, et al.:** Embryo morphology, development rates, and maternal age are correlated with chromosome abnormalities. *Fertil Steril* 1995; 64: 382-91.
23. **Cano F, Simón C, Remohí J, Pellicer A.:** Effect of aging on the female reproductive system: evidence for a role of uterine senescence in the decline in female fecundity. *Fertil Steril* 1995; 64: 584-9.
24. **Balmaceda J, Bernardini L, Ciuffardi I, Felix C, Ord T, Sueldo C, et al.:** Oocyte donation in humans: a model to study the effect of age on embryo implantation rate. *Hum Reprod* 1994; 9: 2160-3.
25. **Noyes N, Hampton B, Berkeley A, Licciardi F, Grifo J, Krey I.:** Factors usefull in predicting the succes of oocyte donation: a 3-year retrospective analysis. *Fertil Steril* 2001; 76: 92-7.
26. **Sharara F, McClamrock H.:** Ratio of oestradiol concentration on the day of human chorionic gonadotropin administration to mid-luteal oestradiol concentration is predictive of in-vitro fertilization outcome. *Hum Reprod* 1999; 14: 2777-82.
27. **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: 1136-40.
28. **Williams S, Oehninger S, Gibbons W, Van Cleave W, Muasher S.:** Delaying the initiation of progesterone supplementation results in decreased pregnancy rates after in vitro fertilization: a randomized, prospective study. *Fertil Steril* 2001; 76: 1140-3.
29. **Maclin V, Radwanska E, Binor Z, Dmowski W.:** Progesterone:estradiolo ratios at implantation in ongoing pregnancies, abortions, and nonconception cycles resulting from ovulation induction. *Fertil Steril* 1990; 54: 238-44.
30. **Pellicer A, Valbuena D, Cano F, Remohi J, Simon C.:** Lower implantation rates in high responders: evidence for an altered endocrine milieu during the preimplantation period. *Fertil Steril* 1996; 65: 1190-1195.