

# Donación de ovocitos\*

**Olga Ramon**

Hospital de Cruces  
Bilbao

## Introducción

Los datos demográficos indican que, actualmente, se está produciendo un retraso en la edad reproductiva de la mujer. En 1925, en EEUU, solo el 25% de los partos correspondían a mujeres mayores de 35 años. En 1994, casi la tercera parte de las primíparas tenían esa edad<sup>1</sup>.

Entre 1968 y 1995, el número de parejas que acuden a clínicas de reproducción se ha multiplicado por 5: de 600.000 a 2.700.000<sup>2</sup>, habiéndose calculado que en estos momentos existen unas 100.000 parejas, en EEUU, esperando una donación de ovocitos<sup>3</sup>.

Desde que, en 1984, Lutjen<sup>4</sup> describió el primer embarazo con donación de ovocitos en una mujer de 25 años con fallo ovárico prematuro, las indicaciones han ido ampliándose a otros grupos de pacientes, todos ellos con escaso potencial reproductivo.

## Indicaciones

### *Pacientes sin función ovárica*

#### *Fallo ovárico primario*

En este grupo incluimos aquellas mujeres afectadas de disgenesia gonadal, tanto con cariotipo normal, como patológico (Sind. de Turner, Swyer, etc.), que presenten un útero normal o ligeramente hipoplásico.

El Síndrome de Savage o del Ovario Resistente, en que los folículos primordiales son incapaces de responder a la estimulación gonadotropa, presentando amenorrea primaria y precisando de la donación de ovocitos para conseguir una gestación, también está incluido en este apartado.

#### *Fallo ovárico secundario*

- Menopausia precoz: Se define como menopausia precoz aquella que aparece en mujeres menores de 40 años. En su aparición, están implicadas diversas etiologías: factores hereditarios, infecciones (parotiditis, rubéola), alteraciones enzimáticas (galactosemia, déficit de 17 a hidroxilasa, alteración de la secreción de gonadotropinas y alteraciones ambientales (tabaquismo)
- Menopausia y atrogénica: Tanto la producida por cirugía como la provocada tras la aplicación de quimioterapia o radioterapia.
- Menopausia natural: La edad media de la menopausia es de 50 años, pero el deseo de gestación permanece, o aparece, en mujeres que previamente no habían reunido las condiciones personales necesarias para ejercer este derecho.

La esperanza de vida de la mujer española, es de 80 años y a los 50 años su estado de salud suele ser excelente. A pesar de las controversias que pueda generar su deseo de maternidad, es un hecho la creciente demanda de técnicas de reproducción en este grupo de pacientes.

### *Pacientes con función ovárica*

#### *Anomalías genéticas*

Las alteraciones autosómicas dominantes, las ligadas al sexo o bien las autosómicas recesivas, compartidas por ambos miembros de la pareja, son claras indicaciones de la donación de ovocitos.

#### *Ovarios inaccesibles*

Aunque es una rara situación, hay casos de pelvis congeladas cuyos ovarios son inaccesibles tanto ecográfica como laparoscópicamente.

\*Artículo publicado en el libro "1ª Jornada de fertilidad y reproducción asistida de las comarcas catalanas". Barcelona: Nexus Ediciones, 2001.

Correspondencia:  
Olga Ramon  
Unidad de Reproducción  
Humana  
Hospital de Cruces  
Plaza de Cruces s/n  
48903 Barakaldo  
Bizcaia

### Fallos repetidos de FIVTE

Incluimos a aquellas mujeres con baja respuesta folicular, fallos repetidos de implantación o bien fallos repetidos de fertilización con ICSI (Tabla 1).

### Edad superior a 40 años

La donación de ovocitos es una opción en estas mujeres, teniendo en cuenta que el éxito reproductivo es inversamente proporcional a la edad, mientras que las pérdidas conceptuales son directamente proporcionales a ella.

### Abortos de repetición

Hasta el 50% de los abortos son debidos a la calidad de los ovocitos, siendo responsables de alteraciones cromosómicas embrionarias. Y esta situación empeora con la edad. La donación de ovocitos es una alternativa para estas mujeres.

### Fallo ovárico oculto

El fallo ovárico oculto es una situación dramática que afecta a mujeres jóvenes con menstruaciones regulares, implicando un pésimo pronóstico reproductivo. Su detección precoz asegura un adecuado consejo médico, facilitando la elección terapéutica más eficaz.

Constituye un importante grupo de pacientes, siendo fácilmente identificadas mediante sencillas determinaciones analíticas

## Reserva ovárica disminuida

Es evidente que la capacidad reproductora disminuye con la edad en la mujer, observando, tanto en los ciclos naturales como en los tratamientos reproductivos, una relación inversa entre la edad y la tasa de embarazos y una relación directa entre la edad y el porcentaje de abortos.

La disminución de la reserva ovárica refleja el proceso de deplección folicular ovárico y la disminución de la calidad ovocitaria. Es un proceso fisiológico natural que se inicia hacia la mitad de la década de los 30 años, pero que ocasionalmente afecta a mujeres de menor edad<sup>5</sup>.

Una reserva ovárica disminuida afecta desfavorablemente al pronóstico reproductivo y debe ser investigada para poder precisar las posibilidades reales reproductivas de cada pareja, antes de iniciar tratamientos caros, invasivos e ineficaces.

Actualmente disponemos de varios marcadores de la reserva ovárica:

### Niveles de FSH basal

Los niveles de FSH en fase folicular precoz, comienzan a elevarse hacia los 35 años<sup>6</sup> estando significativamente elevados en mujeres mayores de 40 años, aunque las biopsias endometriales estén bien datadas y los valores de LH, estradiol y progesterona, estén dentro de los valores normales<sup>7</sup>.

Scott detecta menos del 5% de embarazos tras FIVTE, en mujeres con FSH basal > de 25 mIU/L, observando un pobre desarrollo folicular, escaso nº de ovocitos y de embriones en estas pacientes, atribuyéndoselo a una disminución de la reserva ovárica.

Sorprendentemente, la edad no fue un factor predictivo, siendo la media de edad de estas pacientes de 35 años<sup>8</sup>. Este valor predictivo no se modifica cuando la paciente posee solo un ovario<sup>9</sup>.

Existe una variabilidad interciclo en los niveles basales de FSH, pudiendo tener valores normales en un ciclo y elevados en otro. Sin embargo, estas pacientes, independientemente del valor de FSH en el ciclo de tratamiento, son bajas respondedoras<sup>10</sup>.

La presencia de 2 valores previos de FSH > 20 mUI/ml, pronostican un pésimo resultado de embarazo, aunque los valores en el ciclo FIVTE sean inferiores a 20 mUI/ml<sup>11</sup> (Tabla 2).

Ciclo	Pacientes	Embarazos	CPR
1	951	109	11,4%
2	570	75	23,1%
3	323	31	30,5%
4	193	30	41,3%
5	94	13	49,4%
6	53	7	56,1%
7	33	1	57,4%
8	24	1	59,2
9	10	1	63,3%
			2.552 ciclos (1984-1992)

Dor J., 1996

- Valor pronostico: >20 mUI/ml
- Determinación 2º a 5º día del ciclo
- Altamente predictivo de la reserva ovárica
- Pobre respuesta a las gonadotropinas
- Baja tasa de embarazos
- No hay estudios en población infértil general

Tabla 1.  
Tasa acumulada  
de embarazos FIV

Tabla 2.  
FSH basal

Los valores de FSH pueden ser determinados entre los días 2º a 5º del ciclo menstrual, sin que se aprecien variaciones en sus valores<sup>12</sup>.

Podemos concluir diciendo que: Niveles elevados de FSH son altamente predictivos de la disminución de la reserva ovárica, definida por una pobre respuesta a las gonadotrofinas y una baja tasa de embarazos en pacientes sometidas a inducción de ovulación y/o técnicas de reproducción asistida, siendo un test simple, barato y fácilmente realizable. Sin embargo, no existen datos referentes a su valor pronóstico en la población infértil general.

### **Inhibina B**

Es producida por las células de la granulosa y, por lo tanto, de origen ovárico. Es un marcador de la reserva ovárica, considerándose como valores normales los superiores a 45 pg/ml<sup>13</sup>.

Seifer y cols observan que las mujeres con valores inferiores a 45 pg/ml, presentan un 70% en la respuesta de estradiol, un 66% de los ovocitos recuperados, un 28% de los embarazos esperados y una tasa de cancelaciones 3 veces superior, comparadas con mujeres que presentan valores normales<sup>14</sup>.

Estos datos sugieren que las mujeres con bajos niveles de inhibina B tienen una baja respuesta ovárica, como se demuestra por la escasa respuesta a la

Tabla 3.  
Inhibina B

- Valores normales: > 45 pg/ml
- Valor predictivo para la respuesta a la estimulación ovárica
- Valor predictivo para obtención de gestación
- Tasa de cancelaciones 3 veces superior
- Reactivos analíticos no homologados
- Futuro prometedor

Tabla 4.  
Valor predictivo  
de Inhibina en FIVTE

- Inhibina B <45 pg/ml
- 70% de la respuesta ovarica
- 66% de ovocitos recuperados
- 28% de los embarazos esperados
- Tasa de cancelaciones 3 veces superior

Seifer DB, 1997

Tabla 5.  
Cociente FSH/LH  
y Gestaciones FIVTEB

	FSH/LH > 3,6	FSH/LH < 3,6
Cancelaciones	12/14	6/60
Gestaciones	0%	25%

Mukherjee, 1996

estimulación ovárica y la reducida posibilidad de embarazo cuando se aplican técnicas de reproducción asistida (Tabla 3 y 4).

### **Estradiol basal**

Valores superiores a 80 pg/ml el 3º día del ciclo indican una alta tasa de cancelaciones, pero si la respuesta a la estimulación es adecuada no se observan diferencias respecto a la tasa de embarazos en pacientes sometidas a FIVTE<sup>15</sup>.

### **Cociente FSH/LH**

Mukherjee observa una alta tasa de cancelaciones en mujeres que presentan un cociente FSH/LH > 3,6, a pesar de tener valores normales de FSH basal (12 de 14 mujeres), no obteniendo gestaciones en estas pacientes<sup>16</sup> (Tabla 5).

### **Test del Citrato de Clomifeno**

Fue descrito en 1987 por Navot para asesorar sobre la reserva ovárica en mujeres mayores de 35 años. El test consistía en medir los niveles de FSH los días 3º y 10º del ciclo, administrando 100 mg/día de Citrato de Clomifeno del 5º al 9º día del ciclo. Se considera patológico cuando se produce una elevación de FSH en la determinación del 10º día<sup>17</sup> (Tabla 6 y 7).

No se ha establecido el mecanismo preciso que explique los cambios provocados por el Citrato de clomifeno. Una hipótesis es que, en mujeres con reserva ovárica normal, la elevación de los niveles de estradiol e inhibina producidos por el desarrollo folicular anula el impacto del Citrato de Clomifeno sobre el eje hipotálamo-hipofisario y suprime los niveles de FSH hasta el rango normal en el día 10º del ciclo, desenmascarando pacientes que no serían detectadas por los niveles basales de FSH. Recientemente, Hoffman detecta concentraciones diferentes de inhibina B entre las pacientes con test negativos o positivos, reforzando la hipótesis de que la disminución de la secreción de inhibina B por las células de la granulosa, puede ser la responsable de los test de Citrato de Clomifeno patológicos<sup>18</sup>.

En programas de reproducción asistida, el test de Navot tiene un gran valor predictivo: 85% para cancelaciones y el 100% para la consecución de una gestación, identificando el doble de pacientes con una reserva ovárica disminuida que los valores basales de FSH<sup>19</sup>.

Loumaye modifica la definición de normalidad del test de Navot, sumando los valores de FSH de los días 3º y 10º, considerando patológicos resultados superiores a 26 IU/L, no consiguiendo ninguna gestación en pacientes con test positivos<sup>20</sup>.

El test de Clomifeno podría reflejar solo la incapacidad del ovario de rescatar de la atrofia la cohorte folicular acompañante del desarrollo ovocitario, pero no indicaría la capacidad ovárica de desarrollo de un único folículo apto para producir un embarazo, pudiendo tener valor predictivo solo para las técnicas de reproducción asistida (Tabla 8).

Scott realizó un seguimiento de 1 año a 236 pacientes infértiles, hallando un 10% de test positivos, con una distribución creciente con el rango de edad. De las 23 pacientes con un test anormal, solo 7 tenían niveles elevados de FSH. Al cabo de 1 año, el 43% de las mujeres con test negativos concibieron, frente al 9% de las pacientes con tests patológicos. Como dato adicional, el 38% de las pacientes con esterilidad de causa desconocida tenían un test anómalo<sup>21</sup> (Tabla 9).

Mientras que las pacientes con un test negativo empeoran su pronóstico reproductivo con la edad, las que presentan un test patológico tienen mal pronóstico reproductivo, independientemente de su edad<sup>22</sup>.

Las mujeres fumadoras tienen un adelanto en la edad de la menopausia de 1 a 4 años, lo cual puede sugerir que las fumadoras depleccionan su pool folicular a ritmo acelerado, pudiendo presentar precozmente una disminución de su reserva ovárica<sup>23</sup>. Sharara detecta una alta prevalencia de test patológicos en mujeres menores de 35 años fumadoras, siendo esta información de importancia crítica en el consejo a las pacientes fumadoras<sup>24</sup>.

Resumiendo: El test del Citrato de Clomifeno tiene un excelente valor predictivo para evaluar la reserva ovárica y la opción de embarazo, tanto en ciclos naturales como en técnicas de reproducción asistida. Presenta una alta especificidad, pero una baja sensibilidad frente a la pérdida de la capacidad reproductora asociada a la edad. Es superior al valor pronóstico que ofrecen los niveles basales de FSH, siendo de 2 a 3 veces más sensible.

#### Test de estimulación con análogos de la GnRh

Presenta resultados contradictorios, es incómodo y caro. Su uso está limitado, de momento, a la investigación.

- Gran valor predictivo para cancelaciones y embarazos.
- Es de 2 a 3 veces más sensible que la determinación de la FSH basal, como valor pronóstico.
- Actualmente es el test por excelencia para evaluar la reserva ovárica y la opción de embarazo, tanto en ciclos naturales, como en técnicas de reproducción asistida.
- Alta prevalencia entre mujeres fumadoras, y en esterilidades de causa desconocida.

Tabla 6.  
Test del Citrato de Clomifeno

- Mide los niveles de FSH el día 3 y 10 del ciclo, administrando 100 mg./día de Citrato de Clomifeno del 5º al 9º día del ciclo.
- Se considera anómalo, cuando la suma de los 2 valores de FSH es superior a 26 UI/L.
- Es independiente de la edad de la paciente, aunque aumenta su incidencia con la edad.

Tabla 7.  
Test del Citrato de Clomifeno

Edad	Test CC(+)
<30 años	3%
30-34 años	7%
35-39 años	10%
<40 años	26%

Scott, 1993

Tabla 8.  
Test de Clomifeno en la población infértil

	Pacientes	% de pacientes	Gestaciones
Test (+)	23	10%	9%
Test (-)	213	90%	43%

Scott, 1993

Tabla 9.  
Test de Citrato de Clomifeno en población infértil

#### Recomendaciones finales

Está bien documentado que la reducción del número de folículos ocurre más dramáticamente entre los 36 y los 38 años de edad<sup>25</sup>. Esta disminución ocurre simultáneamente con la presencia de anomalías en el ovocito: aumento de anomalías en el huso meiótico<sup>26</sup> y aumento del nº de embriones aneuploides<sup>27</sup>.

En el momento actual, el test de Clomifeno es el único validado, tanto para la población infértil en general como para las pacientes sometidas a técnicas de reproducción humana, siendo más sensible que los valores basales de FSH.

La inhibina B puede ser un indicador adicional de la medición de la reserva ovárica, pero requiere más estudios para validarla.

Es recomendable realizar screening de reserva ovárica a toda mujer infértil mayor de 34 años y a toda mujer con esterilidad de causa desconocida, independientemente de la edad, ya que el test puede ser patológico en casi la mitad de estas pacientes.

Estos test no tienen sensibilidad ni especificidad absoluta, no debiendo ser usados para excluir a las pacientes de los tratamientos reproductores. Podríamos comparar esta información a la obtenida de un seminograma. Oligoastenozoospermias severas pueden, a pesar del mal pronóstico, conseguir gestaciones.

La información debe ser utilizada solo para aconsejar a las parejas sobre su pronóstico reproductivo, siendo la opción final una elección de la pareja y su médico<sup>28</sup> (Tabla 10).

## Preparación endometrial

El proceso de implantación de un ovocito fertilizado, aunque no claramente definido, viene a ser determinado por dos factores cruciales: la receptividad endometrial y la sincronización entre el desarrollo endometrial y embrionario. En un ciclo natural, am-

Tabla 10.  
Estudio clínico  
de la reserva ovárica

- En toda mujer infértil, con edad superior a 34 años.
- En toda mujer con infertilidad de causa desconocida, independientemente de la edad.
- En el momento actual el test de Citrato de Clomifeno, es el único validado para el estudio de la reserva ovárica.
- No tiene sensibilidad, ni especificidad absoluta.
- No debe utilizarse para excluir parejas de los tratamientos, sino para asesorarlas.

Tabla 11.  
Estradiol oral

Fácil de utilizar		
Ampliamente validado		
Niveles suprafisiológicos de E2: >1.000pg/ml		
Estradiol/Estrona >1		
Mayor tasa de endometrios fuera de fase		
Valerianato de estradiol	Días	
1 mg/día	1-5	Administración oral de Valerianato Estradiol (Progynova®, Shering) Lutjen, 1984; Devrey, 1987; Formigli 1989; Antinori 1993
2 mg/día	6-9	
6 mg/día	10-13	
4 mg/día	14-27	
1 mg/día	27-28	

bos factores están relacionados directamente con la producción hormonal cíclica y el momento de la ovulación. En la donación de ovocitos, ambos procesos están totalmente separados.

Una adecuada manipulación del crecimiento endometrial, con administración secuencial de estrógenos y progesterona, es obligada para establecer un endometrio receptivo para la implantación.

## Pacientes con fallo ovárico

Lutjen, al describir el primer embarazo, utiliza para la preparación endometrial valerianato de estradiol y supositorios vaginales de progesterona. Actualmente, existen numerosos protocolos de administración hormonal, evaluados y aplicados con éxito, utilizando diferentes dosis y vías de administración.

### Protocolos de sustitución estrogénica

Los estrógenos pueden ser administrados en forma de tabletas orales, parches transdérmicos, anillos vaginales, implantes subcutáneos o intramuscularmente.

- a. **Administración oral (Tabla 11):** El valerianato de estradiol y el estradiol micronizado son las dos presentaciones habitualmente utilizadas para la administración oral. Cuando se utiliza esta vía, se obtienen altos niveles de estrona y sus conjugados, debido al metabolismo hepático del estradiol, donde se convierte en estrona, conjugándose rápidamente, generando formas inactivas, por lo que disminuye su bioactividad hasta en un 30%<sup>29,30</sup>. Con la administración oral se obtienen concentraciones de estradiol en sangre superiores a pg/ml, valores que son similares a los obtenidos tras estimulación gonadotrófica, pero la relación estradiol/estrona que se obtiene es de 0,2 (valores no fisiológicos)<sup>31</sup>.
- b. **Administración transdérmica:** La administración transdérmica de estrógenos evita el metabolismo hepático, encontrando una relación estradiol/estrona próxima a 1, similar a la que ocurre en un ciclo natural. Un parche de estradiol de 50 o 100 proporciona niveles de estradiol en sangre de 40-80 pg/ml<sup>32</sup> y la aplicación de un protocolo standard, mantiene niveles de 150 a 200 pg/ml en sangre en el día 14 (Tabla 12).
- c. **Administración parenteral:** La administración parenteral de valerianato de estradiol bisemanal consigue niveles de 400 a 700 pg/ml, mante-

Niveles fisiológicos de E2:  
150-200 pg/ml  
Estradiol/Estrona = 1  
> tasa de endometrios datados  
Omite el metabolismo hepático  
Niveles de E2 fluctuantes

## Administración transdérmica de Estradiol

Dosis	Días
50 µg	1-6
100 µg	7-9
200 µg	10-11
400 µg	12-14
100 µg	15-17
200 µg	18-28

Tabla 12.  
Estradiol transdérmico

Campbell, 1982, Powers, 1985

niendo la relación estradiol/estrone en 1 (niveles fisiológicos)<sup>33</sup>.

d. **Administración intravaginal:** La administración intravaginal de estrógenos no es satisfactoria. La absorción está disminuida, se producen irritaciones locales y es incómoda para la paciente, siendo la vía oral o la transdérmica las más utilizadas (Tabla 13).

e. **Administración subcutánea:** Los pellets subcutáneos de estradiol (100-250 mg), administrados de 6 a 13 semanas antes de la donación de ovocitos, permiten obtener niveles de estradiol de 700 a 800 pg/ml, manteniendo una relación estradiol/estrone > 1, con una tasa de gestación e implantación del 63% y 27% respectivamente. Evitan el metabolismo hepático, no fluctúan los niveles de estradiol y mantienen niveles durante todo el primer trimestre si hay gestación<sup>39</sup> (Tabla 14).

### Protocolos de sustitución gestagénica

Existen diversos preparados gestagénicos, con diferentes potencias y efectos metabólicos, pero la única progesterona utilizada es la progesterona natural. Puede ser administrada en forma de tabletas oral, supositorios intravaginales, anillos vaginales o intramuscularmente.

La administración oral de progesterona es poco eficaz, debido a su rápido metabolismo hepático (hidroxilación y conjugación que produce glucuronido de pregnandiol). La administración oral de las formas micronizadas es un poco mejor, pero igualmente ineficaz: 300 mg/día consiguen bajos niveles de progesterona (< 10 ug/l), con amplias fluctuaciones, no encontrando en fase ningún endometrio biopsiado<sup>40</sup>.

Concentraciones adecuadas de progesterona se pueden conseguir por vía vaginal y/o intramuscular, pero con la administración intramuscular se obtiene niveles de progesterona en sangre 5 veces superiores a

- La administración *intravaginal* no es satisfactoria: absorción ↓, irritación local
- Administración *parenteral* bisemanal de Valerianato de Estradiol: niveles de 400 - 600 pg/ml, con Estradiol/Estrone = 1
- *Pellets subcutáneos* de Estradiol: niveles de 700 - 800 pg/ml, sin fluctuaciones, con Estradiol/Estrone > 1

Tabla 13.  
Sustitución estrogénica

los obtenidos con la administración vaginal<sup>41</sup>, estando solo un 43% de los endometrios en fase; mientras que con la progesterona vaginal se induce un patrón secretor similar al que ocurre en un ciclo natural<sup>42</sup>. Evidentemente, no todos los grupos encuentran porcentajes tan elevados de endometrios fuera de fase tras la administración intramuscular de la progesterona.

Otras vías de administración vaginal de progesterona son los anillos vaginales, que contienen 1 g. de progesterona natural que, una vez colocados, mantienen niveles estables de progesterona durante 3 meses<sup>43</sup>.

Otra nueva forma de administración vaginal es el Crinone al 8%, una preparación en forma de gel que contiene 90 mg. de progesterona micronizada y que se administra 2 veces al día, obteniendo unas tasas de embarazo e implantación similares a las observadas por la vía im<sup>44</sup>.

La dihidroprogesterona, una retroprogesterona, ha sido utilizada para la preparación endometrial con tasa de embarazo del 38%/transfer, en dosis de 30 mg/día<sup>45</sup> (Tabla 15).

### Pacientes con función ovárica

En pacientes con función ovárica, el control del ciclo y la sincronización con el ciclo de la donante es más complicado:

Tabla 14.

	Vía oral	Vía transdérmica
<b>Ventajas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Fácil de usar</li> <li>- Validada ampliamente</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Niveles fisiológicos</li> <li>- Estradiol/estróna = 1</li> <li>- &gt; Endometrios datados</li> <li>- Sin cambios lipídicos</li> <li>- No altera factores de coagulación</li> </ul>
<b>Inconvenientes</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Niveles suprafisiológicos</li> <li>- Estradiol/estróna &lt; 1</li> <li>- &gt; Endometrios no datados</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Niveles de estradiol fluctuantes</li> </ul>

### Monitorización del ciclo natural

La sincronización es difícil y los picos espontáneos de LH inducen cambios secretores precoces, afectando la interacción embrio-endometrial.

### Criopreservación de embriones donados

Es una opción que sincronizaría perfectamente la llegada del embrión al endometrio preparado, pero se pierde un número importante de embriones en el proceso de descongelación.

### Supresión de la función ovárica

Es la forma habitual de tratamiento. Mayoritariamente se utilizan análogos de la GnRh, produciendo una hipofisectomía, que permite la aplicación de los mismos protocolos de preparación endometrial que en las mujeres con fallo ovárico.

Ultimamente se ha descrito una completa *dow-regulation* del eje hipotálamo-hipofisario con la colocación de implantes subcutáneos de 17 beta estradiol, consiguiendo un correcto endometrio secretor, con una tasa de gestaciones del 33,3% ciclo.

### Sincronización de ciclos donante-receptora

Para poder sincronizar el ciclo de la donante con el de la receptora, a veces es necesario alargar la administración estrogénica durante semanas, o bien acortar su administración. En ambos casos se ha observado la correcta maduración endometrial tras la administración de progesterona, permitiéndonos una gran flexibilidad en la sincronización de los ciclos.

Lessing indica que la administración puede prolongarse hasta 5 semanas<sup>34</sup>. Una fase folicular prolongada puede ser mantenida por periodos de hasta 15 semanas, pero la tasa de sangrados es superior al 44% tras 9 semanas de administración<sup>35</sup>.

La importancia de la vía de administración está por concretar. Parece evidente que la vía transdérmica o parenteral mantienen valores de estradiol más similares a los fisiológicos que la vía oral. Se observa un mayor porcentaje de endometrios no datados con la administración oral<sup>36</sup> y esta situación va asociada a una disminución de embarazos<sup>37</sup>.

La asociación entre la histología endometrial y la obtención de embarazo está por determinar, aunque se describen tasas más altas de gestación con el uso transdérmico o parenteral de estrógenos que con la vía oral: 55,4%-61,3% frente al 29,4%/transfer<sup>33,38</sup>.

### Donantes de ovocitos

Actualmente podemos disponer de ovocitos, donados por tres tipos diferentes de donantes:

- Familiares o amistades de las receptoras:
- Pacientes sometidas a ciclos FIVTE
- Donantes voluntarias

La mayoría de las pacientes sometidas a ciclos FIVTE prefieren utilizar sus ovocitos para criopreservación de embriones o para evolución a blástulas, por lo que esta fuente de ovocitos es escasa. Además, debemos pensar que estos ovocitos pertenecen a mujeres subfértiles.

Otra fuente de donación es la de los familiares o las amigas de las parejas receptoras. La complejidad y el riesgo inherente al procedimiento, así como el anonimato que las parejas desean mantener en su entorno socio familiar, hacen que el nº de donantes por esta vía también sea escaso. Un hallazgo para reflexionar es el hecho de que las hermanas de pacientes con fallo ovárico precoz, presentan una alta tasa de cancelaciones por escasa respuesta a la hiperestimulación<sup>48</sup>.

La otra fuente de donación de ovocitos son las donantes jóvenes voluntarias.

Tabla 15.

Dosis	Días
25 mg	14
50 mg	15
100 mg	17-26

Pesarios vaginales. Lutjen, 1984<sup>4</sup>

Dosis	Días
100 a 200 mg	14
300-600 mg	15-26

Progesterona micronizada vaginal. Pados, 1994<sup>47</sup>

Dosis	Días
25 mg	15-16
50 mg	17-26
25 mg	27-28

Progesterona im. Navot, 1986<sup>46</sup>

Dosis	Días
50 mg	14
100 mg	15-26

Progesterona im. Pados, 1984

### Resultados en donación de ovocitos

Se ha descrito una tasa de gestaciones / ciclo del 20 al 50%, con tasa de implantaciones del 18 - 20%, refiriendo una tasa acumulada de gestaciones del 88 al 95 %, a los 4 ciclos de tratamiento.

Los resultados están claramente influidos por el nº de embriones transferidos y la receptividad endometrial. Así, Lessing detecta una tasa del 11,1% con transferencia de un embrión y del 36,7% con 5 embriones<sup>49</sup>.

Existen grandes controversias sobre si la edad afecta negativamente la tasa de implantaciones, al alterar la receptividad endometrial. Autores como Sauer<sup>50</sup>, Abdalla<sup>51</sup> y Pellicer<sup>52</sup>, no hallan diferencias en sus resultados al evaluar la edad, mientras que otros como Lessing<sup>53</sup> y Frydman<sup>54</sup> sí las encuentran.

Frydman realiza un análisis retrospectivo de 319 ciclos, hallando una tasa de embarazo/ciclo del 31,3% en mujeres <40 años (24,2% embarazos evolutivos). En el grupo de >40 años, las cifras son del 19,4% y 11,9% respectivamente.

Lessing, revisando 1.000 ciclos de donación de ovocitos, también constata una disminución en los embarazos según aumenta el grupo de edad de la paciente. Además, detecta una clara disminución de la tasa de embarazos según el número de ciclos realizados. Desde un 35,1% en el primer intento, al 11,6% en mas de 6 intentos.

En la población general, la disminución de la receptividad asociada a la edad puede ser atribuida a:

- Disminución de la perfusión uterina<sup>55</sup>.

- Disminución de los receptores de estradiol, en la superficie de las células endometriales<sup>56</sup>.
- Aumento del contenido de colágeno y una reducción del nº de células estromales en el endometrio.

La edad de los ovocitos también influye en la disminución de la implantación al empeorar su calidad, pero es evidente que en este programa la mayoría de las donantes son mujeres jóvenes, por lo que los ovocitos suelen ser de excelente calidad.

Una hipótesis, difícil de demostrar, es atribuir a la edad de los varones la disminución de la calidad embrionaria. Es sabido que con la edad aparecen nuevas mutaciones dominantes, algunas de las cuales pueden ocasionar efectos letales sobre el embrión. Cuando tratamos a mujeres de edad avanzada es lógico suponer que sus parejas sean del mismo grupo de edad.

En cuanto a los resultados, según la indicación, también se observan resultados contradictorios. Los que encuentran diferencias, atribuyen los peores resultados a las pacientes con fallo ovárico y los mejores en mujeres jóvenes, amenorreicas, con cariotipos normales y en el primer ciclo (52,2%/ciclo)<sup>53</sup>.

### Manejo clínico de la receptividad uterina

A pesar de las mejoras observadas en la estimulación ovárica y cultivos celulares, la tasa de gestación permanece constante en el 30-40% de las pacientes con transferencia de 2 a 3 embriones de buena calidad, siendo la tasa de implantación, aun en los mejores centros, del 15 al 17%.

La receptividad uterina es un elemento crucial para obtener gestaciones, siendo necesaria una adecuada maduración endometrial. Para conseguir un crecimiento y diferenciación endometrial óptimo, la fase proliferativa debe ser seguida de cambios secretorios durante la fase lútea, junto con una decidualización estromal.

Esta secuencia de acontecimientos está probablemente regulada por factores de crecimiento producidos localmente, pudiendo ser alterado por el ambiente hormonal.

La influencia de la edad sobre la receptividad uterina no está clarificada, siendo el endometrio de las receptoras de ovocitos uno de los mejores modelos de estudio.

La receptividad uterina puede ser estudiada por diversos parámetros, no existiendo consenso sobre cuál es el más idóneo (Tabla 16):

#### Manejo histológico

- a. *Datación endometrial*: El método tradicional de estudio endometrial ha sido la datación histológica, según los criterios de Noyes<sup>57</sup>.
- b. *Estudio de pinopodos*: Los pinopodos son protuberancias apicales de las células endometriales generalmente alrededor de los orificios glandulares, que aparecen y desaparecen en un corto periodo de tiempo, durante la fase lútea media (4 a 7 días post HCG)<sup>58</sup>.

Se ha postulado que la aparición de los pinopodos marca la duración de la ventana de implantación, habiéndose referido tasas del 80% de embarazos en mujeres que desarrollan pinopodos y ninguna gestación entre aquellas mujeres que no los desarrollan<sup>59</sup>.

Actualmente, el estudio de la presencia de pinopodos endometriales es todavía experimental y muy costosa.

#### Estudio hormonal

Los niveles séricos de hormonas reproductivas tienen un valor predictivo pequeño frente a la madura-

ción endometrial, aunque se ha constatado una correlación lineal entre el grosor endometrial y los niveles de estrógenos, tanto en el ciclo natural<sup>60</sup> como en el inducido<sup>61</sup>, aunque los niveles estrogénicos solo expresan la actividad de las células de la granulosa y no la madurez endometrial. Esto último probablemente dependa más del desarrollo de los receptores estrogénicos en el endometrio, lo cual está genéticamente codificado en cada individuo.

#### Resonancia magnética

Evidentemente es muy importante encontrar métodos no invasivos de control de la receptividad endometrial. La resonancia magnética ha demostrado su potencial para diferenciar ciclos conceptuales de los no conceptuales<sup>62</sup>. Tiene el inconveniente de su alto coste.

#### Ecografía

Es una alternativa más económica y rápida que la RMN. Se han investigado dos tipos de variables ecográficas endometriales:

- a. *Thickness endometrial*: Es definido como la máxima distancia entre las interfases ecogénicas del miometrio y del endometrio, en un corte longitudinal uterino. Freidler (1996) revisa 2.665 ciclos de reproducción asistida en 25 trabajos, encontrando opiniones contradictorias sobre la capacidad predictiva, respecto a la obtención de gestación del thickness endometrial, aunque un grosor menor de 7 mm. Es altamente predictivo negativamente para la gestación<sup>63</sup>.
- b. *Patrón endometrial*: Es definido como la ecogenicidad relativa del endometrio y el miometrio adyacente, en un corte longitudinal. En principio la línea ecogénica central representa la cavidad uterina y las otras dos líneas la basal endometrial o la interfase entre endometrio y miometrio. Las regiones hipocogénicas entre las líneas pueden representar la capa funcional endometrial. Actualmente se divide en trilaminar o no trilaminar y, aunque se producen embarazos en patrones no trilaminares, existe un valor predictivo del patrón trilaminar frente a la obtención de gestación<sup>64</sup>.
- c. *Eco Doppler*: Permite el estudio del flujo uterino. Los índices más estudiados son:
  - IR: Índice de resistencia
  - PI: Índice de pulsatilidad

Mediciones diarias del PI en ambas arterias uterinas en un grupo en mujeres normoovuladoras, indican

Tabla 16.  
Receptividad endometrial

1. Manejo histológico: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Datación endometrial: Criterios de Noyes</li> <li>- Estudio de pinopodos: 4 a 7 días post HCG</li> </ul>
2. Estudio hormonal: Escaso valor predictivo
3. Resonancia magnética: Alto coste
4. Ecografía: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Thickness endometrial: Mayor de 7 mm.</li> <li>- Patrón endometrial: Patrón trilaminar</li> <li>- Eco Doppler: IP uterina &lt; 3; Pulsatilidad subendometrial</li> </ul>

una disminución del índice de pulsatilidad 9 días después del pico de LH<sup>24</sup>.

Podemos considerar el PI según la siguiente clasificación:

- Bajo: 1 – 1,99
- Medio: 2 – 2,99
- Alto: > 3

El PI varía con la posición de la mujer<sup>65</sup>, y presenta un ritmo circadiano, siendo más bajo por la mañana<sup>66</sup>.

Estudiando el PI de la arteria uterina, el día de la HCG, en un programa FIVTE, se observa que no se obtienen gestaciones con índices superiores a 3, siendo significativamente menor en el grupo de embarazos. Cuando se estudia el flujo sanguíneo subendometrial, se ve que la ausencia de pulsatilidad subendometrial el día de la HCG es un excelente predictor de la ausencia de implantación embrionaria<sup>67</sup>.

### **Resultados obstétricos de las gestaciones de donación de ovocitos**

Conocemos que las gestaciones obtenidas mediante técnicas de reproducción asistida tienen un curso evolutivo similar a las gestaciones espontáneas<sup>68</sup>. Pero, a pesar de los 14 años transcurridos desde que se generalizó este tratamiento reproductivo, son escasas las comunicaciones sobre los resultados obstétricos de estas gestaciones.

La mayoría de los investigadores refieren una alta incidencia de complicaciones durante la gestación, que ha sido explicada por:

- Avanzada edad materna
- Primiparidad
- Alta incidencia de gestaciones múltiples<sup>38</sup>.

#### **Gestaciones múltiples**

Están descritas incidencias de gestaciones múltiples del 20 al 60%, dependiendo del número de embriones transferido.

Lessing detecta, tras analizar 601 transfer, un incremento lineal de gestaciones según el número de embriones transferidos y una tasa de gestaciones múltiples del 15,8% para 2 embriones, que aumenta a un 44,4% para 5 embriones. La tasa de triples se incrementa del 2,7% para 3 embriones, al 8,3% para 5 embriones<sup>70</sup>.

Aproximadamente el 20% de las gestaciones múltiples sufren una reducción espontánea<sup>71</sup>, constatándose una mayor proporción de gemelos monozigotos (3,9% de los partos), comparado con la incidencia en gestaciones FIVTE (1% de los partos)<sup>72</sup>.

#### **Metrorragias del primer trimestre**

Se asocian a implantaciones múltiples y a pérdidas fetales precoces. Se han descrito incidencias del 35 al 70%<sup>73</sup>.

#### **Abortos**

De un 20 a un 25 %, siendo más frecuente en mujeres con fallo ovárico<sup>74</sup> y 3 veces más frecuente en mujeres mayores de 40 años, comparadas con menores de 30 años<sup>75</sup>.

#### **Hipertensión asociada al embarazo**

Se observa en el 23 al 50% de las gestaciones<sup>76</sup>, incidencia muy superior a la observada en gestaciones FIVTE (10-16%)<sup>68,77</sup>, siendo la complicación obstétrica más frecuentemente observada.

Aparece con más frecuencia en mujeres de más edad, siendo 2 veces más frecuente en mujeres de más de 40 años<sup>75</sup>, en gestaciones múltiples: 44%, frente al 29% en gestaciones simples y en mujeres con fallo ovárico: 38% frente a un 17% en mujeres con función ovárica<sup>77</sup>.

#### **Otras complicaciones**

En mujeres mayores de 40 años, se ha observado una alta incidencia de diabetes gestacional y un incremento del riesgo de tromboflebitis<sup>78</sup>.

#### **Partos**

Más de un 60% de las gestaciones terminan mediante la realización de una cesárea (siendo la cifra normal de un 12%)<sup>75</sup>, presentándose una hemorragia puerperal en el 12% de los partos<sup>74</sup>.

#### **Resultados perinatales**

La prematuridad, bajo peso y crecimiento fetal retardado, fue similar a la observada en gestaciones espontáneas, así como la incidencia de malformaciones y muertes perinatales. Aunque algunos autores encuentran una mayor tasa de CFR en mujeres con fallo ovárico<sup>74</sup>.

En un seguimiento de 5 años, Hovotta y cols comprueban que la salud general de los niños menores de 5 años es tan buena como la de los niños FIVTE, siendo su crecimiento y desarrollo similar al observado en la población general<sup>79</sup>.

## Futuro

La preservación del potencial reproductivo de la mujer y el hallazgo de nuevas fuentes de ovocitos condicionarán en el futuro las técnicas reproductivas. Actualmente, permanecen en investigación diversas líneas de trabajo, como:

### Criopreservación

La criopreservación de ovocitos o de tejido ovárico, estaría indicada en:

- Pacientes en alto riesgo de fallo ovárico
- Enfermedades pélvicas
- Cirugía
- Tratamientos antineoplásicos
- Obstáculos legislativos

#### *Criopreservación de tejido ovárico*

La criopreservación de tejido ovárico permite almacenar un gran número de folículos primordiales. El perfeccionamiento de las técnicas de maduración in vitro permitirán almacenamientos de tejido ovárico, garantizando la fertilidad futura de numerosas pacientes<sup>80</sup>.

#### *Criopreservación de ovocitos*

El almacenamiento de ovocitos congelados presenta grandes dificultades técnicas, comparado con la congelación de muestras seminales y embriones. El ovocito es una célula 180 veces mayor que el espermatozoide con un bajo cociente superficie/volumen.

Durante la ovulación, el ovocito está detenido en la segunda metafase, con las 23 dicromatides cromosómicas alineadas sobre el eje ecuatorial, unidas por microtubulos en el huso meiótico (spindle). Esta estructura es extremadamente sensible a los cambios de temperatura.

De hecho, los crioprotectores o los cristales de hielo, derivados del proceso congelación-descongelación, pueden causar despolimerización de los microtubulos. Por ello, en el momento de la fertilización, la separación normal de las cromatides puede alterarse, produciendo aneuploidias, tras la extrusión del 2º corpúsculo polar.

Por este motivo, algunos autores recomiendan la congelación de ovocitos en profase I, cuando la meiosis está detenida en estadio de diplotene y los cromosomas están protegidos por la membrana nuclear.

La tasa de supervivencia depende de varios factores: medio crioprotector calidad y grado de madurez de los ovocitos, habiéndose referido cifras que oscilan del 25% al 95%<sup>81,82</sup>.

La fertilización de los ovocitos descongelados es menor que la observada en ovocitos frescos. La mayoría de los trabajos presenta tasa de fertilización del 30 al 55%, con un alto porcentaje de fertilizaciones anormales, debido a daños en la zona pelucida y en los gránulos de la cortical.

La incorporación del ICSI como técnica de fertilización ha mejorado los resultados. Así, Flamigni refiere una tasa de fertilización del 64,3%, similar a la obtenida por Tucker<sup>83,84</sup>.

#### *Maduración in vitro*

En teoría, la maduración in vitro de ovocitos humanos (IVM) es muy atractiva, ya que presenta grandes ventajas sobre la superovulación convencional: simplicidad de protocolos, ausencia de complicaciones por la superovulación (SOHP, neoplasia de ovario). Desgraciadamente, a pesar de los excelentes resultados en animales, la tasa de embarazos en humanos es más la excepción que la regla.

Dos amplios estudios<sup>89,90</sup> refieren tasas de embarazos del 2% al 10%. Más recientemente, Cha<sup>91</sup> refiere la obtención de 18 embarazos en dos estudios. En la primera serie, utilizando ovocitos inmaduros, en un programa de donación refiere 6 embarazos (3 abortos y 3 evolutivos). En una segunda serie de pacientes con poliquistosis ovárica, utiliza ovocitos inmaduros, obtenidos en un ciclo natural. Empleando una combinación de ICSI, cocultivo prolongado y hatching asistido, refiere tasas de embarazo similares a las obtenidas con un FIVTE convencional.

#### *Transferencia ooplásmica*

La incorporación de ooplasma de donante al ovocito de la receptora, mediante inyección o electrofusión, puede ser suficiente en caso de ovocitos que producen embriones de baja calidad. Sin embargo, su aplicación rutinaria requiere optimización de técnicas y estudios de investigación más amplios.

### **Otras fuentes de ovocitos**

#### *Ovarios adultos*

Los ovarios extirpados quirúrgicamente contienen un gran número de ovocitos inmaduros, que pueden ser utilizados tras maduración in vitro<sup>86</sup>.

### Ovarios fetales

En años recientes, se han obtenido grandes progresos en la investigación de tejidos fetales para uso clínico en determinados procesos. Se ha investigado el uso de trasplantes de varios tipos celulares: células hematopoyéticas, células de islotes pancreáticos, células neuronales dopaminérgicas, etc.

Teniendo en cuenta que el ovario fetal presenta millones de ovocitos inmaduros, podría proporcionarnos una amplia reserva de óvulos, aunque es evidente que este planteamiento reproductivo puede ser objeto de numerosas controversias, fundamentalmente éticas<sup>87</sup>.

### Líquidos foliculares

Recientemente, Liu ha comunicado la obtención de folículos preantrales, de los líquidos foliculares obtenidos durante la aspiración en ciclos FIVTE.

Estos folículos preantrales, pueden evolucionar in vitro hacia folículos antrales, con extrusión de ovocitos, que fueron madurados in vitro<sup>88</sup>.

## Bibliografía

1. Corson SL. Achieving and maintaining pregnancy after age 40. *Int J Fertil Womens Med* 1998;43(5):249-56.
2. Session DR, Hammitt DG, Damario MA, Durmesic DA. *Recent advances in infertility treatment Minn Med* 1998;81(10):27-32.
3. Braverman AM. Ovum-Donor Task Force of the Psychological Special Interest Group of the American Fertility Society. Survey results on the current practice of ovum donation. *Fertil Steril* 59:1216-20.
4. Lutjen P, Trounson A, Leeton J, et al. The establishment and maintenance of pregnancy using in vitro fertilization and embryo donation in a patient with primary ovarian failure. *Nature* 1984;307:174-5.
5. Scott RT, Hofmann GE. Prognostic assessment of ovarian reserve. *Fertil Steril* 1995; 63:1-11.
6. Sherman BM, West JH, Korenman SG. The menopausal transition: analysis of LH, FSH, estradiol, and progesterone concentrations during cycles of older women. *J Clin Endocrinol Metab* 1976;42:629-36.
7. Batista MC, Cartledge TP, Zellmer AW, et al. Effects of aging on menstrual cycle hormone and endometrial maturation. *Fertil Steril* 1995;64:492-9.
8. Scott RT, Toner JF, Muasher SJ, Oehninger SC, Robinson S, Rosenwacks Z. Follicle stimulating hormone levels on cycle day 3 are predictive of in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 1989;51:651-4.
9. Khalifa E, Toner JP, Muasher SJ, Acosta AA. Significance of basal follicle-stimulating hormone levels in women with one ovary in a program of in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1992;57:835-9.
10. Scott RT, Hofmann GE, Oehninger S, Muasher SJ. Intercycle variability of day 3 follicle-stimulating hormone levels and its effect on stimulation quality in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1990;53:297-302.
11. Martin JSB, Nisker JA, Tummon IS, Daniel SAJ, Auckland JL, Feyles W. Future in vitro fertilization pregnancy potential of women with variably elevated day 3 follicle-stimulating hormone levels. *Fertil Steril* 1996;65:1238-40.
12. Hansen LM, Batzer FR, Gutmann JN, Corson SL, Kelley MP, Gocial B. Evaluating ovarian reserve follicle stimulating hormone and oestradiol variability during cycle days 2-5. *Hum Reprod* 1996;3:486-9.
13. Groome NP, O'Brien M, Illingworth P, Pai R, Mather J, Pridle J, et al. Abstrat OR 42-1. Proceedings of the 77<sup>th</sup> Annual Meeting of the Endocrine Society, 1995.
14. Seifer DB, Lambert-Messerlian G, Hogan JN, Gardiner AC, Blazar SD, Berck CA. Day 3 serum inhibin-B is predictive of assisted reproductive technologies outcome. *Fertil Steril* 1997;67:110-4.
15. Smotrovich DB, Widra EA, Gindoff PR, Levy MJ, Hall JL, Stillman RJ. Prognosis value of day 3 estradiol on in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 1995;64: 1136-40.
16. Mukherjee T, Copperman AB, Lepinski R, et al. An elevated day three follicle-stimulating hormone: luteinizing hormone ratio (FSH / LH) in the presence of a normal day 3 FSH predicts a poor response to controlled ovarian hyperstimulation. *Fertil Steril* 1996; 65:588-93.
17. Navot D, Rosenwacks Z, Margalioth EJ. Prognostic assessment of female fecundity. *Lancet* 1987;2:645-7.
18. Hoffman GE, Danforth DR, Seifer DB, et al. Inhibin B: the physiological basis of the clomiphene citrate challenge test for ovarian reserve screening. *Fertil Steril* 1998; 69:474-7.
19. Tambo T, Dale PO, Abyhom T, Stokke KT. Follicle-stimulating hormone as a prognostic indicator in clomiphene citrate / human menopause / gonadotrophin-stimulated cycles for in vitro fertilization. *Hum Reprod* 1989;6:647-50.
20. Loumaye E, Billion JM, Mine JM, Psalit I, Pensis M, Thomas K. Prediction of individual response to controlled ovarian hyperstimulation by means of a clomiphene citrate challenge test. *Fertil Steril* 1990; 53:295-301.
21. Scott RT, Leonardi MR, Hoffman GE, Illions EH, Neal GS, Navot D. A prospective evaluation of clomiphene citrate challenge test screening in the general infertility population. *Obstet Gynecol* 1993;82:539-45.
22. Scott RT, Opsahl MS, Leonardi MR, Neal GS, Illions EH, Navot D. Life table analysis of pregnancy rates in a general infertility population relative to ovarian reserve and patient age. *Hum Reprod* 1995;10:1706-10.

23. Jick H, Porter J, Morrison AS. Relationship between smoking and age of natural menopause. *Lancet* 1997;1:1354.
24. Sharara FI, Beatse SN, Leonardi MR, Navot D, Scott RT. Cigarette smoking accelerates the development of diminished ovarian reserve as evidenced by the clomiphene citrate challenge test (CCCT). *Fertil Steril* 1994;62:257-62.
25. Gougeon A, Eucohard R, Thalabard JC. Age-related changes of the population of human ovarian follicles: increase in the disappearance rate of now-growing and growing follicles in aging women. *Biol Reprod* 1994; 50:653-63.
26. Battaglia DE, Goodwin P, Klein NA, Soules MR. Influence of maternal age on meiotic spindle assembly in oocytes from naturally cycling women. *Hum Reprod* 1996;1:2222-7.
27. Bendiva CA, Klingman I, Munne S. Aneuploidy 16 in embryos increases significantly with maternal age. *Fertil Steril* 1996;66:248-55.
28. Sharara FI, Scott RT, Seifer DB. The detection of diminished ovarian reserve in infertile women. *Am J Obstet & Gynecol* 1998;179:804-12.
29. Dusterberg B, Schmidt-Gollwitzer M, Humpel M. Pharmacokinetics and biotransformation of oestradiol valerate in ovariectomized women. *Horm Res* 1985; 21:145-54.
30. Campbell S, Whitehead M. Potency and hepato-cellular effects of oestrogens after oral, percutaneous and subcutaneous administration. In: Van Keep P, Utian Wand Vermeulen A. (eds), *The Controversial Climateric*. MTP Press, Lancaster, UK 1982.
31. Powers M, Schenkel L, Darby P, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics with transdermal dosage forms of 17beta-estradiol: comparison with conventional oral estrogens used for hormone replacement. *Am J Obstet Gynecol* 1985;152:1099-103.
32. Chetkowski RJ, Meldrum DR, Steingold K. Biologic effects of transdermal oestradiol. *N England J Med* 1986;314:1615-20.
33. Feinman MF, Sher G, Massarani G, Vaughn L, Andreyko J, Salen R, et al. High fecundity rates in donor oocyte recipients and in-vitro fertilization surrogates using parenteral oestradiol valerate. *Hum Reprod* 1993;8: 1145-7.
34. Yaron Y, Amit A, Mani A, Yovel I, Kogosowski A, Peyser MR, David MP, Lessing JB. Uterine preparation with estrogen for oocyte donation: assessing the effect of treatment duration on pregnancy rates. *Fertil Steril* 1995; 63(6):1284-6.
35. Remohi J, Gutiérrez A, Cano F, Ruiz A, Simon C, Pellicer A. Long oestradiol replacement in an oocyte donation programme. *Hum Reprod* 1995;10(6):1387-91.
36. Krasnow JS, Lessey BA, Naus G, Hall LL, Guzicks DS, Berga SL. Comparison of transdermal versus oral estradiol on endometrial receptivity. *Fertil Steril* 1996; 65(2):332-6.
37. Klentzeris LD, Li TC, Dockery P, Cooke ID. The endometrial biopsy as a predictive factor of pregnancy rate in women with unexplained infertility. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1992;45:119-24.
38. Benshushan A, Schenker JG. Reproductive health care policies around the world. Ovum donation-An overview. *J Assist Reprod Genet* 1993;10:105-11.
39. Dmowski WP, Michalowska J, Rana N, Friberg J, McGill-Johnson E, DeOrio L. Subcutaneous estradiol pellets for endometrial preparation in donor oocyte recipients with a poor endometrial response. *J Assist Reprod Genet* 1997;14(3):139-44.
40. Devroey P, Palermo G, Bourgain C, et al. Progesterone administration in patients with absent ovaries. *Int J Fertil* 1989c;34:188-93.
41. Pados G, Devroey P. Luteal phase support. *Assist Reprod Rev* 1992;3:148-53.
42. Devroey P, Pados G. Preparation of endometrium for egg donation. *Hum Reprod Update* 1998;4(6):856-61.
43. Zegers-Hochschild F, Croxatto H, Allam V, et al. Endometrial histology and progesterone concentration in women with ovarian failure supplemented with a progesterone vaginal ring: report on six pregnancy cycles after oocyte donation. *Hum Reprod* 1996;11(abstract Bk. 1), Abstract no.113.
44. Gibbons WE, Toner JP, Hamacher P, Kolm P. Experience with a novel vaginal progesterone preparation in a donor oocyte program. *Fertil Steril* 1998;69(1):96-101.
45. Abu-Musa A, Hannoun A, Khalil A, Masaad Z, Karam K. Artificial endometrial preparation for oocyte donation using synthetic estrogen and progestogen. *Clin Exo Obstet Gynecol* 1998;25(3):83-5.
46. Navot D, Laufer N, Kopolovic J, et al. Artificially induced endometrial cycles and establishment of pregnancies in the absence of ovaries. *N England J Med* 1986; 314:806-11.
47. Pados G, Camus M, Van Steirteghem A, et al. The evolution and outcome of pregnancies from oocyte donation. *Hum Reprod* 1994;3:538-42.
48. Sung L, Bustillo M, Mukherjee T, Booth G, Karstaedt A, Copperman AB. Sisters of women with premature ovarian failure may not be ideal ovum donors. *Fertil Steril* 1997;(67)5:912-6.
49. Yaron Y, Amit A, Kogosowski A, Peyser MR, David MP, Lessing JB. The optimal number of embryos to be transferred in shared oocyte donation: Walking the thin line between low pregnancy rates and multiple pregnancies. *Hum Reprod* 1997;12(4):699-702.
50. Sauer MV, Paulson RJ, Lobo RA. Pregnancy in women 50 or more years of age: outcome of 22 consecutively established pregnancies from oocyte donation.
51. Abdalla HI, Wren ME, Thomas A, Korea L. Age of the uterus does not affect pregnancy or implantation rates; a study of egg donation in women of different ages sharing

- oocytes from the same donor. *Hum Reprod* 1997;12(4):827-9.
52. Remohi J, Gartner B, Gallardo E, Yalil S, Simon C, Pellicer A. Pregnancy and birth rates after oocyte donation. *Fertil Steril* 1997;67(4):717-23.
  53. Yaron Y, Ochshorn Y, Amit A, Kogosowski A, Yovel I, Lessing JB. Oocyte donation in Israel: a study of 1001 initiated treatment cycles. *Hum Reprod* 1998;13(8):1819-24.
  54. Saranti L, Allali F, Olivennes F, Schwab B, Rongieres-Bertrand C, Frydman R. [Results of oocyte donation in women with different indications, ages, and therapeutic strategies]. *Contracept Fertil Sex* 1997;25(7-8):643-6.
  55. Goswamy RK, Williams G, Steptoe PC. Decreased uterine perfusion: a cause of infertility. *Hum Reprod* 1988;3:955-9.
  56. Han Z, Kokkonen GC, Toth GS. Effect of aging on populations of estrogen receptor-containing cells in the rat uterus. *Exp Cell Res* 1989;180:234-42.
  57. Noyes RW, Hertig AT, Rock J. Dating the endometrial biopsy. *Fertil Steril* 1997;1:23.
  58. Kolb BA, Najmabadi S, Paulson RJ. Ultrastructural Characteristics of the luteal phase endometrium in patients undergoing controlled ovarian hiperstimulation. *Fertil Steril* 1997;67:625-30.
  59. Reddy N, Ryder TA, Mobberley MA, Nikas G, Winston RML. Positive correlation of pregnancy with the presence of endometrial pinopods in oocyte recipients: a preliminary study. *Hum Reprod* 1997;12:32 (abstract).
  60. Hackeloer BJ. Ultrasound scanning of the ovarian cycle. *J in vitro Fertil Embryo Transf* 1984;1: 217-20.
  61. Fleischer AC, Herbert CM, Hill GA, Kepple DM, Worrell JA. Transvaginal sonography of the endometrium during induced cycles. *J Ultrasound Med* 1991;10:93-5.
  62. Turnbull LW, Ride CF, Horseman A, Robinson J, Killick SR. Magnetic resonance imaging and transvaginal ultrasound of the uterus prior to embryo transfer. *Hum Reprod* 1994;9:2438-43.
  63. Freidler S, Schenker JG, Herman A, Lewin A. The role of ultrasonography in the evaluation of endometrial receptivity following assisted reproductive treatments: a critical review. *Hum Reprod Update* 1996;2:323-35.
  64. Serafini P, Batzofin J, Nelson J, Olive D. Sonographic uterine predictors of pregnancy in women undergoing ovulation induction for assisted reproductive treatments. *Fertil Steril* 1994;62:815-22.
  65. Dickey RP, Hower JF, Matulich EM, Brown GT. Effect of standing on non-pregnant uterine flow. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995;4:480-7.
  66. Zaidi J, Jurkovic D, Campbell S, Pittrof R, McGregor A, Tan SL. Circadian variation in uterine blood flow indices during the follicular phase of the menstrual cycle. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995;5:406-10.
  67. Zaidi J, Campbell S, Pittrof R, Tan SL. Endometrial thickness, morphology, vascular penetration and velocimetry in predicting implantation in an in vitro fertilization program. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995; 6:191-8.
  68. Tambo T, Dale PO, Lunde O, et al. Obstetric: outcome in singleton pregnancies after assisted reproduction. *Obstet Gynecol* 1995;86:188-92.
  69. Pados G, Camus M, Van Steirteghem A, et al. The evolution and outcome of pregnancies from oocyte donation. *Hum Reprod* 1994;9:538-542
  70. Yaron Y, Amit A, Kogosowski A, Peyser MR, David MP, Lessing JB. The optimal number of embryos to be transferred in shared oocyte donation: Walking the thin line between low pregnancy rates and multiple pregnancies. *Hum Reprod* 1997;12(4): 699-702.
  71. Koopersmith TB, Lindheim SR, Lobo RA, Paulson RJ, Sauer MV. Outcomes of high-order multiple implantations in women undergoing ovum donation. *J Matern Fetal Med* 1997;6(5):268-72.
  72. Wenstrom KD, Syrop CH, Hammit DG, et al. Increased risk of monozygotic twinning associated with assisted reproduction. *Fertil Steril* 1993;60:510-14.
  73. Shaw KJ, Sauer MV. Obstetric care of surrogates and recipients of donor oocytes. *Semin Reprod Endocrinol* 1995;13:237-43.
  74. Abdalla HI, Billet A, Kan AK, Baig S, Wren M, Korea L, Studd JW. Obstetric outcome in 232 ovum donation pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol* 1998;105(3):332-7.
  75. Yaron Y, Ochshorn Y, Amit A, Kogosowski A, Yovel I, Lessing JB. Oocyte donation in Israel: a study of 1001 cycles initiated treatment cycles. *Hum Reprod* 1998; 13(7):1819-24.
  76. Sauer MV, Paulson RR, Lobo RA. Pregnancy in women 50 or more years of age: outcome of 22 consecutively established pregnancies from oocyte donation. *Fertil Steril* 1995;64(1):111-5.
  77. Soderstrom-Antilla V, Titinen A, Foudila T, Hovatta O. Obstetric and perinatal outcome after oocyte donation: comparison with in-vitro fertilization pregnancies. *Hum Reprod* 1998;13(2):483-90.
  78. Michalas S, Loutradis D, Drakakis P, Milingos S, Papageorgiu J, Kallianidis K, Koumantakis E, Aravantinon D. Oocyte donation to women over 40 years of age: pregnancy complications. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1996;64(2):175-8.
  79. Soderstrom-Antilla V, Sajoniemi V, Titinen A, Hovatta O. Health and development of children born after oocyte donation compared with that of those born after in-vitro fertilization and parent's attitudes regarding secrecy. *Hum Reprod* 1998;13(7):2009-15
  80. Abir R, Fisch B, Raz A, Nizke S, Ben-Rafael Z. Preservation of fertility in women undergoing chemotherapy: current approach and future prospect. *J Assist reprod Genet* 1998;15(8):469-77.

81. Tucker MJ, Morton PC, Wright G, Sweitzer CL, Massey JB. Clinical application of human egg cryopreservation. *Hum Reprod* 1998;13(11):3156-9.
82. Gook D, Schiewe MC, Osborn S, Asch RH, Jansen RPS, Johnston WIH. Intracytoplasmic sperm injection and embryo development of human oocytes cryopreserved using 1,2-propanediol. *Hum Reprod* 1995;10:2637-41.
83. Porcu E, Fabbri R, Venturoli S, Flamigni C. Cryopreservation of oocytes. Female Infertility Therapy. Current Practice. *Martin Dunitz Lid* 1999:233-41.
84. Tucker M, Wright G, Morton P, Shanguo L, Massey J, Kort H. Preliminary experience with human oocyte cryopreservation using 1,2-propanediol and sucrose. *Hum Reprod* 1996;11:1513-15.
85. Polak de Fried E, Notrica J, Rubinstein M, Marazzi A, Gomez González M. Pregnancy after human donor oocyte cryopreservation and thawing in association with intracytoplasmic sperm injection in a patient with ovarian failure. *Fertil Steril* 1998; 69:555-7
86. Chan KY, Koo JJ, Choi DH, Han SY, Yoon TK. Pregnancy after in vitro fertilization of human follicular oocytes collected from nonstimulated cycles, their culture in vitro and their transfer in a donor oocyte program. *Fertil Steril* 1991;55:109-13.
87. Human Fertilisation and Embryology Authority. Donated ovarian tissue in embryology research and assisted conception. *Public consultation document*. London: Human Fertilisation and Embryology, 1994.
88. Wu J, Zhang L, Liu P. A new source of human oocytes: preliminary report on the identification and maturation of human preantral follicles from follicular aspirates. *Hum Reprod* 1998;13:2561-3.
89. Russell JB, Knezevich KM, Fabian KF, Dickson JA. Unstimulated immature oocyte retrieval: early versus midfollicular endometrial priming. *Fertil Steril* 1997; 67:616-20.
90. Pavlok A, Lucas-Hahn A, Niemann H. Fertilisation and developmental competence of bovine oocytes derived from different categories of antral follicles. *Mol Reprod Dev* 1992;31:63-7.
91. Cha KY. Oocytes from unstimulated follicles. *Human Oocytes from Physiology to IVF*. Bologna: University of Bologna, 1997: (abstr.)41.
92. Cohen J, Scott R, Alikani M, Schimmel T, Munne S, Levron J, Wu L, Brenner C, Warner C, Willadsen S. Ooplasmic transfer in mature human oocytes. *Mol Hum Reprod* 1998;4(3):269-80.