

18. Factores pronósticos en FIV-ICSI

INTRODUCCIÓN

Analizar los factores pronósticos que inciden en el éxito o fracaso de las técnicas de FIV-ICSI, supone realizar un estudio pormenorizado de todos los factores que pueden implicarse durante todo el ciclo de FIV, desde la llegada de la pareja a la clínica, hasta el regreso a casa tras la transferencia.

Algunos de estos factores están perfectamente enumerados, así como las recomendaciones efectuadas en los capítulos correspondientes, sobre todo en los referentes a la “sistemática y metodología de la FIV” y la “transferencia embrionaria”.

FACTORES PRONÓSTICOS ANALIZADOS

Edad de la mujer

La edad avanzada favorece la aspiración de un reducido número de ovocitos, anomalías ovocitarias e incapacidad de los embriones de desarrollarse hasta blastocisto.

La edad de la mujer condiciona el éxito de la fertilización *in vitro*, obteniéndose buenos resultados hasta los 39 años, aunque a partir de los 35 años los resultados son algo inferiores.

C

Peso corporal

El mantenimiento de las funciones reproductoras en la mujer está en dependencia directa con un peso corporal adecuado. El bajo peso (Índice de Masa Corporal o IMC<18,5), el sobrepeso (IMC>25), y la obesidad (IMC>30), se asocian con mayor probabilidad de esterilidad por anovulación, debido a un alterado metabolismo esteroideo y de la insulina, así como de la leptina, resistina y adiponectina. Las observaciones clínicas sobre los efectos del peso corporal en ciclos de FIV-ICSI son conflictivos, debido a que muchos estudios analizan pocos casos y están mal diseñados. Pero Fedorcsák *et al.*⁽¹⁾ en un estudio retrospectivo realizado con 2.660 parejas estériles sometidas a 5.019 ciclos de FIV-ICSI durante 6 años, concluye que las mujeres obesas tienen menor respuesta folicular a la estimulación ovárica, menor tasa de éxito tras FIV y mayor número de abortos.

Soderstrom⁽²⁾ observó que con IMC superiores a 25 se precisa un mayor número de ampollas de gonadotropinas, mayor número de días de estimulación, consiguiéndose una inferior tasa de fertilización.

También se ha comprobado que el peso corporal influye en la absorción de la HCG preovulatoria, observándose una importante correlación negativa entre los niveles de HCG sérica y el IMC.

La mujer debe conocer que el índice de masa corporal (IMC) ideal se sitúa entre 19 y 30 antes de iniciar un ciclo de FIV. Sus desviaciones, sobre todo el exceso de peso (IMC>30), afectan al éxito de la FIV, con una menor tasa de fertilización y de embarazo.

C

ANTECEDENTES OBSTÉTRICOS

La mujer que tras un tratamiento de FIV ha quedado embarazada, aunque aborte, tiene en otro ciclo de FIV mayor probabilidad de éxito, si la comparamos con aquella que nunca quedó gestante.

La mujer que ha tenido un aborto tras un ciclo previo de FIV tiene más probabilidades de quedar gestante en un segundo ciclo.

C

NÚMERO DE CICLOS PREVIOS

El hecho de repetir varios ciclos de FIV-ICSI no supone una disminución en el número de ovocitos recuperados. En un estudio retrospectivo, multicéntrico, realizado con 330 mujeres holandesas, que habían efectuado, al menos, siete ciclos consecutivos de FIV, no se observaron diferencias significativas⁽³⁾.

Sin embargo, si la repetición de ciclos se efectúa a edades cada vez más elevadas, sí se observa una disminución en la respuesta ovárica, precisando mayor dosis de gonadotropinas.

PRESENCIA DE HIDROSALPINX

El hidrosalpinx reduce a la mitad la tasa de embarazo, aumentando los abortos precoces. El mecanismo por el cual el hidrosalpinx afecta a la implantación es debatido: se estima

que es debido a un efecto tóxico o mecánico directo sobre el embrión o a un efecto endometrial directo sobre la ventana de implantación.

El hidrosalpinx ejerce un efecto negativo en el éxito de la FIV. La salpingectomía laparoscópica es el tratamiento de elección antes de realizar un ciclo de fertilización *in vitro*.

A

FACTORES TÓXICOS

Tabaco

Se estima que el 20% de mujeres en edad fértil son fumadoras tanto en Europa como en Estados Unidos. El proceso de la foliculogénesis precisa un correcto balance entre agentes pro-oxidantes y antioxidantes. Se ha estudiado el impacto del tabaco sobre los marcadores intrafoliculares de estrés oxidativo, observando que el tabaco altera el balance oxidativo en el folículo preovulatorio induciendo estrés oxidativo intrafolicular.

Comparando a hombres estériles fumadores, estériles no fumadores y normales no fumadores, se ha observado que los estériles fumadores tienen altos niveles de estrés oxidativo seminal, afectando negativamente a la calidad seminal⁽⁴⁾.

Analizando a 1.104 hombres estériles (fumadores y no fumadores) de modo prospectivo, se ha observado que el tabaco no afecta a los parámetros seminales convencionales (concentración, movilidad y morfología), pero sí se ha observado un incremento de células redondas y leucocitos, las cuales generan estrés oxidativo⁽⁵⁾.

Las parejas deben ser informadas de que el consumo de tabaco puede influir negativamente en el éxito de las técnicas de reproducción asistida (FIV-ICSI).

RSAA

Alcohol

El consumo, tanto en el hombre como en la mujer, de más de una bebida alcohólica diaria de alto grado, reduce el éxito de la fertilización *in vitro*. Se ha observado en un estudio prospectivo multicéntrico realizado con 221 parejas que ingerían alcohol, que el consumo de alcohol se asocia con una disminución en el 13% del número de ovocitos

recuperados, con un riesgo aumentado en 2,86 veces de no alcanzar embarazo y un riesgo aumentado en 2,21 veces de abortar⁽⁶⁾.

La ingestión de cantidades elevadas de alcohol reduce la tasa de embarazo y aumenta la incidencia de aborto en ciclos de fecundación *in vitro*.

C

Cafeína

Klonoff-Cohen and cols.⁽⁷⁾ realizaron un estudio prospectivo durante 5 años con 221 parejas que ingerían cafeína, bien en café, bebidas carbónicas o té. Se observó que aquellas parejas que consumían de modo habitual café, tenían peor pronóstico en la FIV.

La ingestión excesiva de cafeína tiene efectos adversos sobre el éxito de la fecundación *in vitro*.

C

Óxido nítrico

El óxido nítrico es un importante modulador de las funciones reproductivas, afectando a la foliculogénesis, maduración ovocitaria, fertilización e implantación. En un estudio prospectivo caso-control, Lee y cols. 2004⁽⁸⁾, evaluaron la relación entre el óxido nítrico sérico y folicular con el desarrollo embrionario y éxito de la FIV. Observaron que altos niveles se asocian con fragmentación embrionaria y alterada tasa de implantación. Concluyeron que pacientes con altos valores séricos no quedaban embarazadas, sugiriendo una alteración en la implantación.

La presencia de niveles elevados de óxido nítrico en mujeres sometidas a ciclos de fertilización *in vitro*, reduce el éxito de la fecundación *in vitro*.

C

Estrés

La esterilidad supone un trauma psicológico para muchas parejas. Las parejas sometidas a un elevado nivel de estrés, y que inician un ciclo de FIV-ICSI, tienen reducido el grado de implantación embrionaria, con peores resultados gestacionales. Si el embarazo no se consigue, es aconsejable diferir el segundo intento hasta conseguir una mejoría psicoló-

gica importante. Es aconsejable en estas parejas, apoyo y soporte psicológico por personal especializado dentro del equipo FIV.

Klonoff-Cohen y cols.⁽⁹⁾ realizaron el primer estudio prospectivo analizando el estrés previo al ciclo FIV y durante el ciclo, relacionándolo con los resultados finales del ciclo FIV, observando unos peores resultados en cuanto a número de ovocitos recuperados, grado de fecundación y grado de embarazo.

Gallinelli *et al.*⁽¹⁰⁾ observaron en mujeres estresadas con una disminuida capacidad de adaptación asociada a una intensa ansiedad, una alteración en su sistema inmunológico. El aumento significativo en el número de linfocitos T durante el periodo de estimulación ovárica en estas mujeres, se asoció a una reducida tasa de implantación.

Las parejas que inician un ciclo de FIV-ICSI con un alto nivel de estrés, tienen peores resultados gestacionales, y precisan apoyo psicológico especializado.

C

INFECCIONES CERVICALES

Salim y cols.⁽¹¹⁾, analizando los cultivos cervicales en 204 mujeres antes de realizarle la transferencia embrionaria, observaron que en aquellas con cultivos estériles la tasa de embarazo fue del 30,7%, pero cuando se detectaba cualquier microorganismo patógeno, la tasa de embarazo disminuyó al 16,3%.

Los resultados incompletos y diferentes de los estudios existentes, no permiten efectuar recomendaciones concretas con la finalidad de mejorar la tasa de embarazo.

La existencia de gérmenes en el canal cervical se asocia con peores resultados gestacionales en ciclos de FIV-ICSI.

C

INFECCIONES SISTÉMICAS VÍRICAS: HIV, HEPATITIS B Y C

Se estima que más de 30 millones de personas están infectadas por el virus del SIDA en el mundo. Las técnicas de reproducción asistida, sobre todo la ICSI, en hombres HIV-1

seropositivos, ofrecen unos excelentes resultados minimizando el riesgo de transmisión a la descendencia, aunque las implicaciones de estas infecciones sobre el futuro niño deben considerarse.

Debido a que hoy en día el periodo libre de enfermedad se ha incrementado, muchas parejas seropositivas que ya han alcanzado un embarazo tras FIV-ICSI pueden optar a tener su segundo hijo. Pena y cols.⁽¹²⁾ describieron en el 2002 el primer caso de una pareja seropositiva que tras tener su primer hijo sano tras FIV-ICSI, consiguieron su segundo hijo sano al segundo intento de FIV.

Con técnicas apropiadas, el HCV RNA (virus de la hepatitis C) es detectado en el plasma seminal de un 12-38% de individuos afectados de hepatitis C crónica. La congelación de estas muestras seminales es un buen método de almacenamiento hasta ser evaluadas.

Ohl y cols.⁽¹³⁾ analizaron los resultados de FIV-ICSI en 57 parejas HIV serodiscordantes (47 hombres y 10 mujeres). La tasa de embarazo por transfer en parejas con varones seropositivos fue del 48,8%, mientras que en mujeres HIV seropositivas la tasa fue del 9,1%.

Garrido y cols.,⁽¹⁴⁾ realizaron lavado espermático de muestras de semen en 134 individuos infectados con HIV o hepatitis C, que deseaban descendencia. El lavado espermático fue efectivo en el 90% de las muestras, alcanzando tras ICSI una tasa de embarazo del 40-48% por ciclo, sin detectarse ninguna seroconversión en el seguimiento de los pacientes.

Las parejas sometidas a FIV-ICSI deben ser sometidas a un despistaje de HIV, y hepatitis B y C. Las parejas con resultados positivos deben ser tratadas y aconsejadas adecuadamente.	RSAA
Las técnicas de lavado de semen en individuos seropositivos (HIV y hepatitis C) son eficaces minimizando el riesgo de transmisión vírica.	C

MARCADORES DE RESERVA OVÁRICA

La determinación de la FSH y estradiol en el día 3 del ciclo, incluso la inhibina, como tests predictivos de reserva ovárica, no deben considerarse rutinariamente eficaces en la predicción del éxito o fracaso de la FIV. Su determinación tiene un limitado valor predictivo, sobre todo en mujeres jóvenes, y parece reflejar más una disminución de la reserva ovárica que una mala calidad ovocitaria.

En un estudio retrospectivo realizado con 19.682 procesos de fecundación asistida efectuados en 135 clínicas⁽¹⁵⁾, se observó que si además de la FSH se determina estradiol, el grado de predicción de éxito de la FIV es superior, independientemente de la edad y de otros factores clínicos pronósticos.

Levi *et al.*⁽¹⁶⁾ estudiando retrospectivamente a 9.802 pacientes que iniciaban un ciclo de FIV, encontraron una FSH > 14,2 IU/L en el 11,6% de ellas. En este grupo de baja reserva ovárica la tasa de embarazo fue significativamente inferior que en un grupo control, y la tasa de aborto muy superior.

Se necesitan desarrollar otras pruebas que puedan valorar con mayor exactitud la respuesta ovárica.

Las determinaciones en el día 3 del ciclo de FSH y estradiol, sólo tienen un valor orientativo en la predicción de la respuesta ovárica, sobre todo en mujeres jóvenes.	C
Pacientes con sospecha de nula o pobre reserva ovárica, no deben inicialmente, ser excluidas de los programas de fecundación asistida.	RSAA

FLUJO SANGUÍNEO FOLICULAR

La angiogénesis ovárica juega un importante papel en la fisiología reproductiva, y un buen flujo vascular folicular es esencial para una correcta maduración ovocitaria. Se ha realizado el primer estudio prospectivo relacionando el flujo folicular el día de la HCG con el VEGF y el óxido nítrico, como parámetros predictivos de éxito de la FIV, observando que el flujo folicular fue significativamente superior en el grupo de mujeres embarazadas comparadas con las no embarazadas.

La detección de un flujo folicular aumentado en el Doppler color el día de la administración de la HCG se asocia con un buen pronóstico en el ciclo de FIV-ICSI.	C
--	----------

ESTRADIOL EL DÍA DE LA HCG

Reljic *et al.*⁽¹⁷⁾ determinaron de modo prospectivo la probabilidad de ovulación precoz y tasa de embarazo, determinando estradiol el día de la HCG y un día después, sugiriendo

que sí es posible predecir el éxito de un ciclo FIV en base a la dinámica del estradiol en esos dos días, aunque estas observaciones tenían que ser confirmadas con otros estudios prospectivos.

Valbuena *et al.*⁽¹⁸⁾ analizaron de modo prospectivo en un estudio *in vitro* controlado si los niveles elevados de estradiol se relacionaban con la tasa de implantación, concluyendo que existe un efecto deletéreo de estos altos niveles de estradiol sobre la adhesión embrionaria, debido principalmente a que ejercen un efecto tóxico directo sobre la división embrionaria.

Peña *et al.*⁽¹⁹⁾ analizaron de modo retrospectivo en 330 ciclos de ovodonación los efectos de niveles suprafisiológicos de estradiol sobre la calidad del ovocito y embrión. No observaron diferencias en la calidad del ovocito y embrión, ni en el grado de fertilización, en tres grupos de estudio: estradiol < 1.500 pg/ml; estradiol 1.500-3.000 pg/ml, y estradiol > 3000 pg/ml. Concluyen que niveles suprafisiológicos no sólo no afectan al grado de fertilización, sino que indican la existencia de mayor número de ovocitos y de embriones de alta calidad para transferir o criopreservar, mejorando la tasa de implantación.

Kosmas y Devroey⁽²⁰⁾, han realizado una revisión sistemática de la literatura analizando: Medline, Embase y Cochrane Library, sobre la importancia del estradiol el día de la HCG y la tasa de embarazo tras ciclos FIV con análogos del GnRH. Tras revisar de modo retrospectivo 9 publicaciones con más de 6.000 parejas, concluyen que no existen actualmente evidencias que afirmen una asociación positiva entre el estradiol el día de la HCG y la tasa de embarazo.

El impacto fisiológico de un elevado estradiol el día de la HCG sobre la calidad del ciclo FIV, sigue siendo muy debatido. Algunos investigadores no han observado efectos adversos sobre la calidad embrionaria y receptividad endometrial, mientras que otros han reseñado una disminución en la tasa de fertilización, implantación y embarazo.

RSAA

MONITORIZACIÓN DE LA RESPUESTA FOLICULAR

Habitualmente, el control del desarrollo multifolicular se efectúa realizando ecografía vaginal y determinando estradiol plasmático. Se han efectuado estudios prospectivos, multicéntricos y randomizados, que ponen en duda la necesidad de realizar determinaciones seriadas de estradiol plasmático a lo largo del ciclo, precisando que la valoración ecográfica de los folículos, puede ser criterio suficiente para fijar el *timing* de la HCG, sobre todo en pacientes de respuesta normal.

La valoración de estradiol durante la monitorización folicular no resulta imprescindible, sobre todo en pacientes normorespondedoras.

B

MORFOLOGÍA Y MOTILIDAD ESPERMÁTICA

Shen y cols.⁽²¹⁾ realizaron un análisis estadístico en un estudio retrospectivo sobre los factores que con mayor incidencia afectan a la tasa de fertilización y de embarazo tras ICSI. Analizaron como variables pronósticas: los parámetros seminales, la edad de la mujer, el estradiol el día de la hCG, las condiciones del cultivo, la calidad embrionaria, el número de embriones transferidos, la técnica ICSI y la experiencia del biólogo en ICSI. De todos estos factores, uno de los más importantes fue la motilidad espermática, observando una correlación significativa entre una buena movilidad y la formación de dos pronúcleos.

En la FIV son factores pronósticos la morfología y la motilidad espermáticas; en la ICSI la motilidad es uno de los factores más importantes para conseguir embarazo.

C

ASPIRACIÓN OVOCITARIA

En estudios randomizados comparando sólo aspiración, con aspiración y lavado, se obtuvieron más ovocitos en el grupo de aspiración sola, aunque sin diferencias significativas. Por otra parte, el lavado puede romper la pared folicular o incluso la corteza ovárica, e incrementar la duración de la intervención.

Cuando existen tres o más folículos, no se ha comprobado que el lavado folicular mejore los resultados.

B

CONTROL DE CALIDAD DEL LABORATORIO

Todo centro dedicado a la fecundación *in vitro* debe disponer de sistemas de control de su calidad. Los controles más importantes a realizar son:

- Calidad del aire del laboratorio e incubadores, determinando aldehídos y otros compuestos orgánicos volátiles (alcoholes).

- Materiales de contacto: discos de cultivo, catéteres.
- Condiciones de los incubadores: pH y temperatura.
- Luz tenue.
- Medios de cultivo: de todos los materiales de contacto, la integridad de los medios de cultivo es lo más importante.

El control de calidad en el laboratorio de fertilización *in vitro* es fundamental para alcanzar éxito en la FIV.

RSAA

ASSISTED HATCHING

Se estima que una de las causas de la baja tasa de implantación de embriones humanos tras FIV puede estar en la incapacidad del blastocisto para escapar de su zona pelúcida. La apertura de esta zona (*assisted hatching*) podría mejorar el grado de división embrionaria. Esta técnica se está realizando en los centros FIV desde 1992 con resultados dispares. Por otra parte, las indicaciones para realizar esta técnica no están definidas, y muchos estudios prospectivos y retrospectivos han fracasado en demostrar cuándo está realmente indicado realizarla.

Primi *et al.*⁽²²⁾, han publicado recientemente un estudio europeo, multicéntrico, prospectivo y randomizado, valorando la utilidad del *assisted hatching* según cuatro posibles indicaciones: grupo I, primer ciclo de criotransfer; grupo II, fracaso en al menos 2 ciclos de criotransfer; grupo III, pacientes con mal pronóstico (edad > 37 años o FSH > 10 UI/L) en su primer transfer de embriones frescos, y grupo IV, tres fallos previos de implantación con transfer de dos embriones de alta calidad e iniciaban su cuarto ciclo. Cuatro centros FIV europeos randomizaron a 426 pacientes.

Concluyen que de todas las indicaciones, sólo el grupo IV (fallo implantatorio repetido tras transferir embriones de buena calidad), puede constituir indicación de *assisted hatching*, siendo esencial asociar tratamiento inmunosupresor y antibiótico.

La única indicación en que puede considerarse el *assisted hatching* es el fallo repetido de implantación con embriones frescos de buena calidad.

B

CALIDAD EMBRIONARIA

La selección de embriones humanos para transferir depende del examen de la morfología embrionaria en el día 2 o 3 postfertilización. Diferentes factores afectan a la

calidad embrionaria e influyen en la tasa de embarazo: presencia de fragmentos, blastómeras irregulares, número de blastómeras y rapidez en la división. Terriou *et al.*⁽²³⁾ comparan 17 variables que inciden en un ciclo de FIV, incluida la calidad embrionaria, y las relacionan con su capacidad predictiva de embarazo. Analizando retrospectivamente 10.000 embriones transferidos, llegan a la conclusión de que, de todas las variables analizadas, la valoración de la calidad embrionaria es el mejor predictor de embarazo.

Otros autores han observado que efectuar una valoración embrionaria gradual tiene más valor predictivo de embarazo que efectuar una única valoración morfológica en el día 3 (> 7 células y < 20% de fragmentación). También se ha sugerido valorar la calidad embrionaria utilizando un puntaje combinado para el cigoto y el embrión y su grado de crecimiento. De Placido *et al.*, 2002⁽²⁴⁾, sugieren que si combinamos el grado de crecimiento *in vitro* junto al análisis morfológico de los cigotos y embriones, la tasa de predicción de embarazo es superior.

La velocidad de división embrionaria también se ha relacionado con la tasa de embarazo. Windt *et al.*⁽²⁵⁾ comparan de modo retrospectivo el grado de embarazo después de transferir embriones de división precoz (26 horas post-inyección) y de división tardía. La tasa de embarazo clínico fue significativamente superior cuando se transfieren embriones precoces (41,3% vs 20,0%), sugiriendo que este dato embrionario es otro factor a considerar al evaluar la calidad del embrión.

La existencia de una alta puntuación embrionaria previa a la transferencia, constituye uno de los métodos predictivos de mayor valor, para alcanzar un embarazo, en ciclos de FIV-ICSI.

C

NÚMERO DE EMBRIONES A TRANSFERIR

El embarazo múltiple (fundamentalmente el triple) es un efecto no deseable en las técnicas de fecundación asistida. En pacientes menores de 35 años no se deberían transferir más de dos embriones, a no ser que existan circunstancias extraordinarias. En los casos más favorables, se debe considerar transferir un único embrión, y en aquellos casos con excelente calidad embrionaria y elevado número de embriones, estaría indicada la criopreservación. En pacientes entre 35 y 37 años con un buen pronóstico no se deberían transferir más de dos embriones. Si el pronóstico no es muy favorable, se pueden transferir hasta tres embriones. Entre los 38 y 40 años en USA aconsejan transferir hasta cuatro embriones.

En un programa de donación de ovocitos, la reducción en el número de embriones transferidos, puede reducir la incidencia de triples, sin afectar a la tasa total de embarazo.

Matorras y cols.⁽²⁶⁾ han propuesto individualizar cada caso, mediante el empleo de un modelo matemático que considera el número de embriones que se pretende transferir y las tasas de implantación. Con esto se puede predecir la posibilidad de embarazo y embarazo múltiple.

En mujeres menores de 35 años con embriones de muy buena calidad se recomienda la transferencia de uno o dos embriones como máximo, con lo que se disminuiría notablemente la incidencia de embarazos múltiples.

RSAA

EXPERIENCIA DEL BIÓLOGO EN ICSI

La ICSI es un procedimiento esencial hoy día para tratar los problemas que afectan al varón, así como lo fallos de fertilización tras FIV. El grado de éxito de la ICSI está influido por múltiples factores. Shen *et al.* 2003⁽²¹⁾, valorando retrospectivamente 441 pacientes en su primer ciclo de ICSI, observaron que el entrenamiento y la experiencia en ICSI del biólogo, era uno de los factores más importantes predictivos de éxito o fracaso. De los cuatro biólogos evaluados, aquel que localizaba el corpúsculo polar a las 6 horas y puncionaba en la porción superior del ovocito, tenía una mayor tasa de embarazo de modo significativo.

El entrenamiento y experiencia del biólogo que realiza ICSI, constituye uno de los factores predictivos más importantes en el éxito de la técnica.

C

APOYO DE LA FASE LÚTEA

Los estudios randomizados analizados confirman que la utilización de progesterona durante la fase lútea de los ciclos de FIV-ICSI tras estímulo con gonadotropinas y desensibilización con análogos de la GnRh, se asocia con una mayor tasa de implantación y de embarazo.

El apoyo de la fase lútea en los ciclos de FIV-ICSI se asocia con una mayor tasa de implantación y embarazo.

A

BIBLIOGRAFÍA

1. Fedorcsak P, Dale PO, Storeng R, et al. Impact of overweight and underweight on assisted reproduction treatment. *Hum Reprod* 2004; 19: 2523-8.
2. Soderstrom-Anttila V, Foudila T, Hovatta O. A randomized comparative study of highly purified follicle stimulating hormone and human menopausal gonadotrophin for ovarian hyperstimulation in an oocyte donation programme. *Hum Reprod* 1996; 11: 1864-70.
3. de Boer EJ, Den Tonkelaar I, Burger CW, van Leeuwen FE; OMEGA-project group. The number of retrieved oocytes does not decrease during consecutive gonadotrophin-stimulated IVF cycles. *Hum Reprod* 2004; 19: 899-904.
4. Saleh RA, Agarwal A, Sharma RH, Nelson DR, Thomas AJ Jr. Effect of cigarette smoking on levels of seminal oxidative stress in infertile men: a prospective study. *Fertil Steril* 2002; 78(3): 491-9.
5. Trummer H, Habermann H, Haas J, Pummer K. The impact of cigarette smoking on human semen parameters and hormones. *Hum Reprod* 2002; 17: 1554-9, 2002.
6. Klonoff-Cohen H, Lam-Kruglick P, Gonzalez C. Effects of maternal and paternal alcohol consumption on the success rates of in vitro fertilization and gamete intrafallopian transfer. *Fertil Steril* 2003; 79: 330-9.
7. Klonoff-Cohen H., Bleha J., Lam-Kruglick P. A prospective study of the effects of female and male caffeine consumption on the reproductive endpoints of IVF and gamete intra-Fallopian transfer. *Hum Reprod* 2002; 17:1746-54.
8. Lee TH, Wu MY, Chen MJ, Chao KH, Ho HN, Yang YS. Nitric oxide is associated with poor embryo quality and pregnancy outcome in in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril* 2004; 82: 126-31.
9. Klonoff-Cohen H, Chu E, Natarajan L, Sieber W. A prospective study of stress among women undergoing in vitro fertilization or gamete intrafallopian transfer. *Fertil Steril* 2001; 76: 675-87.
10. Gallinelli A, Roncaglia R, Matteo ML, Ciaccio I, Volpe A, Facchinetti F. Immunological changes and stress are associated with different implantation rates in patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 2001; 76: 85-91.
11. Salim R, Ben-Shlomo I, Colodner R, Keness Y, Shalev E. Bacterial colonization of the uterine cervix and success rate in assisted reproduction: results of a prospective survey. *Hum Reprod* 2002; 17: 337-40.
12. Pena JE, Klein J, Thornton M 2nd, Chang PL, Sauer MV. Successive pregnancies with delivery of two healthy infants in a couple who was discordant for human immunodeficiency virus infection. *Fertil Steril* 2002; 78: 421-3.
13. Ohl J, Partisani M, Wittemer C, Schmitt MP, Cranz C, Stoll-Keller F, Rongieres C, Bettahar-Lebugle K, Lang JM, Nisand I. Assisted reproduction techniques for HIV serodiscordant couples: 18 months of experience. *Hum Reprod* 2003 ; 18 : 1244-9.
14. Garrido N, Meseguer M, Bellver J, Remohi J, Simon C, Pellicer A. Report of the results of a 2 year programme of sperm wash and ICSI treatment for human immunodeficiency virus and hepatitis C virus serodiscordant couples. *Hum Reprod* 2004; 19: 2581-6.
15. Frazier L, Grainger DA, Schieve LA, Toner JP. Follicle-stimulating hormone and estradiol levels independently predict the success of assisted reproductive technology treatment. *Fertil Steril* 2004; 82: 834-40.
16. Levi AJ, Raynaut MF, Bergh PA, Drews MR, Miller BT, Scott RT Jr. Reproductive outcome in patients with diminished ovarian reserve. *Fertil Steril* 2001; 76: 666-9.
17. Reljic M, Vlaisavljevic V, Gavric V, Kovacic B, Cizek-Sajko M. Value of the serum estradiol level on the day of human chorionic gonadotropin injection and on the day after in predicting the outcome in natural in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycles. *Fertil Steril* 2001; 75: 539-43.
18. Valbuena D, Martin J, De Pablo JL, Remohi J, Pellicer A, Simon C. Increasing levels of estradiol are deleterious to embryonic implantation because they directly affect the embryo. *Fertil Steril* 2001; 76: 962-8.
19. Peña JE, Chang PL, Chan LK, Zeitoun K, Thornton MH 2nd, Sauer MV. Supraphysiological estradiol levels do not affect oocyte and embryo quality in oocyte donation cycles. *Hum Reprod* 2002; 17: 83-7.
20. Kosmas IP, Kolibianakis EM, Devroey P. Association of estradiol levels on the day of hCG administration and pregnancy achievement in IVF: a systematic review. *Hum Reprod* 2004 ; 19: 2446-53.
21. Shen S, Khabani A, Klein N, Battaglia D. Statistical analysis of factors affecting fertilization rates and cli-

- nical outcome associated with intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 2003; 79: 355-60.
22. Primi MP, Senn A, Montang M, Van der Ven H, Mandelbaum J, Veiga A, Barri P, Germond M. A European multicentre prospective randomized study to assess the use of assisted hatching with a diode laser and the benefit of an immunosuppressive/antibiotic treatment in different patient populations. *Hum Reprod* 2004; 19: 2325-33.
 23. Terriou P, Sapin C, Giorgetti C, Hans E, Spach JL, Roulier R. Embryo score is a better predictor of pregnancy than the number of transferred embryos or female age. *Fertil Steril* 2001; 75: 525-31.
 24. De Placido G, Wilding M, Strina I, Alviggi E, Alviggi C, Mollo A, Varicchio MT, Tolino A, Schiattarella C, Dale B. High outcome predictability after IVF using a combined score for zygote and embryo morphology and growth rate. *Hum Reprod* 2002; 17: 2402-9.
 25. Windt ML, Kruger TF, Coetzee K, Lombard CJ. Comparative analysis of pregnancy rates after the transfer of early dividing embryos versus slower dividing embryos. *Hum Reprod* 2004 19: 1155-62.
 26. Matorras R, Matorras F, Mendoza R, Rodriguez M, Remohí J, Rodríguez-Escudero FJ, Simón C. The implantation of every embryo facilitates the chances to implant in IVF programme: a mathematical model to predict pregnancy and multiple pregnancy rates. *Hum Reprod* 2005; 20: 2923-31.

Bibliografía adicional

- Shapiro BS, Richter KS, Harris DC, Daneshmand ST. Influence of patient age on the growth and transfer of blastocyst-stage embryos. *Fertil Steril* 2002; 77:700-5.
- Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Aging and infertility in women: a committee opinion. *Fertil Steril* 2002; 78: 215-9.
- Chuang CC, Chen CD, Chao KH, Chen SU, Ho HN, Yang YS. Age is a better predictor of pregnancy potential than basal follicle-stimulating hormone levels in women undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2003; 79: 63-8.
- Wittemer C, Ohl J, Bailly M, Bettahar-Lebugle K, Nisand I. Does body mass index of infertile women have an impact on IVF procedure and outcome? *J Assisted Reprod Genet* 2000; 17: 547-552.
- Elkind-Hirsch KE, Bello S, Esparcia L, Phillips K, Sheiko A, McNichol M. Serum human chorionic gonadotrophin levels are correlated with body mass index rather than route of administration in women undergoing in vitro fertilization-embryo transfer using human menopausal gonadotropin and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 2001; 75: 700-4.
- Bates GW, Ginsburg ES. Early pregnancy loss in in vitro fertilization (IVF) is a positive predictor of subsequent IVF success. *Fertil Steril* 2002; 77: 337-41.
- Kolibianakis E, Osmanagaoglu K, Camus M, Tournaye H, Van Steirteghem A, Devroey P. Effect of repeated assisted reproductive technology cycles on ovarian response. *Fertil Steril* 2002; 77: 967-970.
- Zeyneloglu HB, Arici A, Olive DL. Adverse effects of hydrosalpinx on pregnancy rates after in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 1998; 70: 492-9.
- Camus E, Poncelet C, Goffinet F, Wainer B, Merlet F, Nisand I, Philippe HJ. Pregnancy rates after in vitro-fertilization in cases of tubal infertility with and without hydrosalpinx: a meta-analysis of published comparative studies. *Hum Reprod* 1999; 14: 1243-9.
- Surrey ES, Schoolcraft WB. Laparoscopic management of hydrosalpinges before in vitro fertilization-embryo transfer: salpingectomy versus proximal tubal occlusion. *Fertil Steril* 2001; 75: 612-7.
- Daftary GS, Taylor HS. Hydrosalpinx fluid diminishes endometrial cell HOXA10 expression. *Fertil Steril* 2002; 78: 577-80.
- Johnson NP, Mak W, Sowter MC. Laparoscopic salpingectomy for women with hydrosalpinges enhances the success of IVF: a Cochrane review. *Hum Reprod* 2002; 17: 543-8.
- Sagoskin AW, Lessey BA, Mottla GL, Richter KS, Chetkowski RJ, Chang AS, Levy MJ, Stillman RJ. Salpingectomy or proximal tubal occlusion of unilateral hydrosalpinx increases the potential for spontaneous pregnancy. *Hum Reprod* 2003; 18: 2634-7.
- Hammadieh N, Afnan M, Evans J, Sharif K, Amso N, Olufowobi O. A postal survey of hydrosalpinx management prior to IVF in the United Kingdom. *Hum Reprod* 2004; 19: 1009-12.

- Paszkowski T, Clarke RN, Hornstein MD. Smoking induces oxidative stress inside the Graafian follicle. *Hum Reprod* 2002; 17: 921-5.
- Verhaack CM, Smeenk JM, Eugster A, van Minnen A, Kremer JA, Kraaimaat FW. Stress and marital satisfaction among women before and after their first cycle of in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm infection. *Fertil Steril* 2001; 76:525-31
- Fanchin R, Harmas A, Bebaoudia T, Lundkvist U, Olivennes F, Frydman R. Microbial flora of the cervix assessed at the time of embryo transfer adversely affects in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 1998; 70: 866-70.
- Maertens A, Bourlet T, Plotton N, Pozzetto B, Levy R. Validation of safety procedures for the cryopreservation semen contaminated with hepatitis C virus in assisted reproductive technology. *Hum Reprod* 2004; 19: 1554-7.
- Bancsi LF, Broekmans FJ, Mol BW, Habbema JD, te Velde ER. Performance of basal follicle-stimulating hormone in the prediction of poor ovarian response and failure to become pregnant after in vitro fertilization: a meta-analysis. *Fertil Steril* 2003; 79: 1091-100.
- Expósito MA, Coutifaris C, Barnhart KT. A moderately elevated day 3 FSH concentration has limited predictive value, especially in younger women. *Hum Reprod* 2002; 17: 118-23.
- Abdalla H, Thum MY. An elevated basal FSH reflects a quantitative rather than qualitative decline of the ovarian reserve. *Hum Reprod* 2004; 19: 893-8.
- Kligman I, Rosenwacks Z. Differentiating clinical profiles: predicting good responders, poor responders, and hyperresponders. *Fertil Steril* 2001; 76: 1185-90.
- Kim KH, Oh DS, Jeong JH, Shin BS, Joo BS, Lee KS. Follicular blood flow is a better predictor of the outcome of in vitro fertilization-embryo transfer than follicular fluid vascular endothelial growth factor and nitric oxide concentrations. *Fertil Steril* 2004; 82: 586-92.
- Lass A. Monitoring of in vitro fertilization-embryo transfer cycles by ultrasound versus ultrasound and hormonal levels: a prospective, multicenter, randomized study. *Fertil Steril* 2003; 80: 80-5.
- Elizur SE, Levron J, Seidman DS, Kees S, Levran D, Dor J. Conventional in vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection for sibling oocytes in couples with mild oligoteratoasthenozoospermia and couples with normal sperm. *Fertil Steril* 2004; 82: 241-3.
- Tan SL, Waterstone J, Wren M, Parsons J. A prospective randomized study comparing aspiration only with aspiration and flushing for transvaginal ultrasound-directed oocyte recovery. *Fertil Steril* 1992; 58: 356-60.
- Hill DL. Role of the in vitro fertilization laboratory in a negative pregnancy outcome. *Fertil Steril* 2001; 75: 249-51.
- Gabrielsen A, Agerholm I, Toft B, Hald F, Petersen K, Aagaard J, Feldinger B, Lindenberg S, Fedder J. Assisted hatching improves implantation rates on cryopreserved-thawed embryos. A randomized prospective study. *Hum Reprod* 19: 2258-62.
- Fisch JD, Sher G, Adamowicz M, Keskinetepe L. The graduated embryo score predicts the outcome of assisted reproductive technologies better than a single day 3 evaluation and achieves results associated with blastocyst transfer from day 3 embryo transfer. *Fertil Steril* 2003; 80:1352-8.
- Society for Assisted Reproductive Technology; American Society for Reproductive Medicine. Assisted reproductive technology in the United States: 2000 results generated from the American Society for Reproductive Medicine/Society for Assisted Reproductive Technology Registry. *Fertil Steril* 2004; 81: 1207-20.
- Practice Committee, Society for Assisted Reproductive Technology and the American Society for Reproductive Medicine. Guidelines on the number of embryos transferred. *Fertil Steril* 2004; 82: 773-4.
- Licciardi F, Berkeley AS, Krey L, Grifo J, Noyes N. A two-versus three- embryo transfer: the oocyte donation model. *Fertil Steril* 2001; 75: 510-3.
- Daya S. Efficacy of progesterone support in the luteal phase following in-vitro fertilization and embryo transfer: meta-analysis of clinical trials. *Hum Reprod* 1988; 3: 731-4.
- Soliman S, Daya S, Collins J, Hughes EG. The role of luteal phase support in infertility treatment: a meta-analysis of randomized trials. *Fertil Steril* 1994; 61: 1068-76.