

INFLUENCIA DE LA EDAD MATERNA EN LOS RESULTADOS DE FERTILIZACIÓN ASISTIDA COMPLEJA

Alfredo Celis¹, Javier Ascenzo², Augusto Ascenzo², Alvaro Ascenzo².

RESUMEN

OBJETIVO: Evaluar la influencia que tiene la edad materna cuando se realiza procedimientos de fertilización asistida de complejidad alta. **DISEÑO:** Estudio observacional descriptivo y retrospectivo. **PACIENTES:** Se evaluó un total de 237 ciclos realizados en mujeres que se sometieron a un procedimiento de fertilización asistida compleja durante el período marzo de 1997 a julio de 1999 en el Instituto de Ginecología y Fertilidad. **PARÁMETROS DE EVALUACIÓN:** Los parámetros evaluados incluyeron respuesta endometrial, folículos aspirados, ovocitos y embriones obtenidos, tasa de fertilización y clivaje. **RESULTADOS:** Luego de la realización del procedimiento de fertilización asistida, el embarazo ocurrió en 66 ciclos de un total de 237, representando una tasa de 27.8%. La mejor tasa de embarazo fue obtenida en el grupo de mujeres menores de 30 años (42.4%) comparado con el 12.5% obtenido por el grupo de mujeres de 40 ó más años. La tasa de fertilización en las mujeres menores de 30 años fue 55.1% frente al 42.6% alcanzado por las mujeres mayores de 40 años. **CONCLUSIÓN:** Se demuestra una marcada declinación en la obtención de embarazos relacionada con la edad en mujeres mayores de 40 años que utilizan un procedimiento de fertilización asistida compleja, usando ovocitos autólogos.

Palabras clave: Edad, fertilización asistida

Ginecol Obstet (Perú) 2000; 46: 33-39.

SUMMARY

OBJECTIVE: To determine the influence of maternal age on high complexity assisted reproductive procedures. **DESIGN:** Observational, descriptive and retrospective study. **PATIENTS:** Two hundred and thirty-seven cycles were evaluated in women undergoing high complexity assisted reproductive

procedures, between March 1997 and July 1999, at the Gynecology and Fertility Institute. **MAIN OUTCOME MEASURES:** Evaluation included endometrial thickness, number of aspirated follicles, oocytes recovery, embryos obtained, pregnancy and fertilization rate. **RESULTS:** Following assisted reproductive procedures, 66 pregnancies were obtained over a total 237 cycles, with a pregnancy rate 27.8%. The best pregnancy rate was obtained in the group of women less than 30 years (42.4%) compared with the group of women above 40 years (12.5%). The fertilization rate in the group of women less than 30 years was 55.1% versus 42.6% obtained for the group of women above 40 years. **CONCLUSION:** In women undergoing high complexity assisted reproductive procedures with autologous oocytes, the pregnancy rate decline in women above forty years.

Key words: Age, assisted fertilization

Ginecol Obstet (Perú) 2000; 46: 33-39.

INTRODUCCIÓN

La capacidad de una mujer para concebir en ausencia de alguna patología en su aparato reproductivo, es definido como su potencial reproductivo¹. Existe relación entre este potencial y su declinación con la edad, lo cual contribuye a incrementar la prevalencia de la infertilidad^{2,6}.

En la actualidad hay diferentes datos que indican que la declinación del potencial reproductivo relacionado con la edad se debe a cambios en el interior del ovario^{7,8}. Así, esta disminución del potencial reproductivo se correlaciona con los procesos de depleción folicular y disminución de la calidad de los ovocitos, factores que en conjunto son referidos como disminución de la reserva

Instituto de Ginecología y Fertilidad. Universidad Mayor de San Marcos



ovárica⁹⁻¹¹. Otros factores a tener en cuenta incluyen la disminución de relaciones sexuales¹², problemas en el útero¹³, y algunas veces pérdida embrionaria, resultante de anomalías cromosómicas¹⁴. Diversos estudios han señalado la edad materna como causante de tasas bajas de éxito¹⁵, una tasa alta de abortos¹⁶ y una tasa alta de cancelación por ciclo¹⁷. La declinación de la fertilidad después de los 40 años es un evento individual que no puede ser predecido hasta que un ciclo de fertilización asistida pueda ser realizado. Preguntas tales como la posibilidad de embarazo satisfactorio en este grupo de edad usando los propios ovocitos de una mujer, la edad máxima en la cual la FIV puede ser satisfactoria y el número apropiado de ciclos que pueden ser realizados, permanecen por ser aclarados con precisión.

En la mayoría de estudios, los datos generalmente son clasificados en dos amplios grupos, antes de los 40 y después de los 40 años de edad, siendo necesario establecer una expectativa de éxito a través de la evaluación de grupos etáreos más estrechos.

El propósito del presente estudio es evaluar el efecto de la edad de la mujer en las tasas de embarazo, cuando se utiliza procedimientos de fertilización asistida compleja, como GIFT, FIV, ICSI y TOMI, en el Instituto de Ginecología y Fertilidad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se examinó un total de 259 ciclos iniciados, en los cuales fueron utilizados procedimientos de fertilización asistida de complejidad alta, en pacientes entre los 21 y 47 años de edad, en el Instituto de Ginecología y Fertilidad, en el periodo comprendido entre marzo de 1997 y julio de 1999. Todos los ciclos evaluados incluyeron a mujeres que utilizaron sus propios ovocitos. Veintidós ciclos fueron excluidos por no reunir, entre los datos, las variables evaluadas en el presente trabajo. Las mujeres mayores de 40 años representaron el 13,6% de todas las estimulaciones.

Los procedimientos de fertilización asistida compleja realizados comprendieron: transferencia intratubárica de gametos (GIFT) 24 ciclos (10,1%), fertilización *in vitro* (FIV) 83 casos (35%), inyección intracitoplasmática de embriones (ICSI) 83 casos (35%) y transferencia intratubárica de ovocitos microinyectados (TOMI) 47 casos (19,9%).

Las indicaciones para los diferentes procedimientos incluyeron: endometriosis, factor tubárico, factor masculino severo, disfunción ovulatoria e infertilidad inexplicada, distribuidas en los diferentes grupos; los cuales fueron usados sólo cuando los procedimientos convencionales (coito programado, inseminación intrauterina) habían fallado.

La hiperestimulación ovárica controlada fue iniciada con acetato de leuprolide 1 mg /día más hMG o FSH-r (desde mayo 1998), ya sea en la forma de protocolo largo o corto. En algunas pacientes bajas respondedoras, se utilizó la asociación de citrato de clomifeno más hMG. Cuando el protocolo largo fue usado, se inició acetato de leuprolide 1 mg/día, desde el día 21 del ciclo precedente y se disminuyó a 0,5 mg/día, cuando se presentó la menstruación; en el caso del protocolo corto se inició con un 1 mg/día desde el segundo día del ciclo hasta la aplicación de la gonadotropina coriónica (hCG). Los protocolos de estimulación ovárica fueron iniciados de una manera estándar y luego modificados de acuerdo a los requerimientos de cada paciente, para lograr un desarrollo folicular adecuado.

La respuesta folicular se evaluó por seguimiento ecográfico, así como por los niveles séricos de estradiol. La gonadotropina coriónica humana (10000 U) fue colocada cuando tres o más folículos alcanzaron un diámetro promedio de 18 mm.

La obtención de ovocitos para las diferentes técnicas fue realizada por aspiración folicular transvaginal con guía ecográfica, aproximadamente 34 a 36 horas después de la inyección de hCG.

En los casos de FIV e ICSI, luego de la inseminación de los ovocitos y posterior recuperación de los embriones, se realizó la transferencia embrionaria dos a tres días después. La transferencia intratubárica de gametos o de los ovocitos microinyectados, ya sea que se trate de GIFT o TOMI respectivamente, fue realizada a través de la canulación de la trompa por laparoscopia.

El soporte de la fase lútea fue realizada con 50 mg de progesterona en aceite por vía IM, la cual fue administrada desde el día del procedimiento hasta el día en que se realizara la medición de los niveles séricos de subunidad de hCG, dos semanas más tarde ó 14 días después de la aspiración ovocitaria y, de ser esta positiva, se hacía el diagnóstico de



embarazo bioquímico. El embarazo clínico fue definido como la presencia de un saco gestacional más embrión con actividad cardíaca por ecografía transvaginal, cinco semanas después de la transferencia.

Se usó hoja de cálculo Excel para el ordenamiento de los datos, los cuales fueron analizados con el paquete Epi-Info 6,1. Para el análisis descriptivo se usó medidas de tendencia central y variabilidad para el cálculo de medias, porcentajes y desviación estándar; con los datos descriptivos se obtuvo los intervalos de confianza IC: 95% para cada grupo etáreo analizado. Para el análisis de diferencia de promedios se utilizó el análisis de varianza multivariado de una sola vía y la prueba de Chi-cuadrado X^2 , para la comparación de proporciones.

RESULTADOS

Un total de 223 parejas fueron sometidas a 237 ciclos de fertilización asistida de complejidad alta, dando un promedio de 1,06 intentos por paciente (rango 1-3). Se realizó 24 ciclos de GIFT (10,1%), 83 ciclos de FIV (35%), 83 ciclos de ICSI (35%) y 47 ciclos de TOMI (19,9%).

En mujeres menores de 30 años se realizó 33 ciclos (13,9%), en el grupo de 30 a 34 años 79 ciclos (33,3%), en el grupo de 35 a 39 años 93 ciclos (39,2%) y 32 ciclos (13,6%) en las pacientes de 40 ó más años. Tabla 1.

En relación al número de embarazos por tipo de procedimiento, en las pacientes en quienes se realizó GIFT, se obtuvo una tasa de embarazo clínico de 33

Tabla 2. Embarazos por tipo de procedimiento

Procedimientos	N	Embarazo	
		N	%
• GIFT	24	8	33
• FIV	83	24	28,9
• ICSI	83	31	37,3
• TOMI	47	13	27,6
Total	237	76	32,6

(8/24); en quienes se realizó FIV, se obtuvo embarazo clínico en el 28,9% (24/83); en las que se realizó ICSI, se obtuvo 37,3% de embarazos clínicos (31/83) y finalmente en aquellas pacientes a quienes se les realizó TOMI, se obtuvo una tasa de embarazo clínico de 27,6% (13/47). Tabla 2.

Cuando se evaluó las diferentes variables en relación a los grupos etáreos, independientemente del procedimiento realizado, se encuentra una tendencia decreciente de los resultados en relación directa con el aumento de la edad. Tabla 3.

Así el grosor endometrial promedio en las mujeres menores de 30 años (11,6; IC 10,9 - 12,1) fue mayor que en las mujeres de 40 años o más (10,7; IC 10,3 - 11,3); $p = 0,15$.

En relación a los días de estimulación, si bien se observa una tendencia creciente con la edad (12,4; IC 11,7 a 13,2), en las mujeres menores de 30 años frente a 14,7 (IC 11,6 a 17,7) en las mujeres mayores de 40 años, esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p = 0,36$). Figura 1.

Tabla 1. Procedimientos por grupo etáreo

Procedimientos	< 30	30-34	35-39	≥ 40	Total	%
• GIFT	4	6	9	5	24	10,1
• FIV	8	32	34	9	83	35,0
• ICSI	14	28	31	10	83	35,0
• TOMI	7	13	19	8	47	19,9
Total	33	79	93	32	237	100

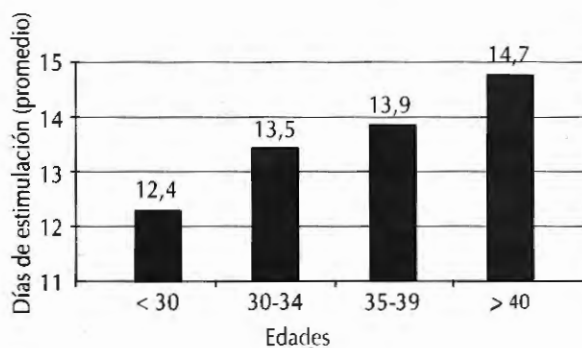


Figura 1. Días de estimulación promedio



Tabla 3. Fertilización asistida - Resultados por edad

Variables		< 30	30 a 34	35 a 39	≥ 40	p
• Estimulaciones	(Total)	33	79	93	32	
• Endometrio	(Promedio)	11,6	11,1	10,9	10,7	0,15
	IC 95%	(10,9-12,1)	(10,7-11,3)	(10,6-11,3)	(10,3-11,3)	
• Días de estimulación	(Promedio)	12,4	13,5	13,9	14,7	0,36
	IC 95%	(11,7-13,2)	(12,4-15,2)	(12,4-15,0)	(11,6-17,7)	
• Folículos aspirados	(Promedio)	12,5	9,5	8,7	7,2	0**
	IC 95%	(10,8-14,1)	(8,2-10,7)	(7,1-9,5)	(5,5-8,8)	
• Ovocitos	(Promedio)	8,5	6,9	6	4,6	0,0005**
	IC 95%	(7,1-9,6)	(5,8-7,6)	(4,6-6,6)	(3,4-5,7)	
• Embriones (ICSI-FIV)	(Promedio)	3,5	3,7	2,9	2,1	0,02 *
	C 95%	(2,5-4,3)	(3,6-4,8)	(2,1-3,6)	(1,2-4,3)	
• Embarazos	(Total)	14	32	26	4	
• Abortos	(Total)	3	2	5	0	
• Tasa de embarazos	(%)	42,4	40,5	27,9	12,5	0,03 *
• (Embarazo clínico por estimulación)	IC 95%	(27,9-57,8)	(30,3-50,7)	(16,1-36,4)	(3,3-35,5)	
• Tasa de fertilidad (ICSI-FIV)	(%)	55,1	60,5	54,7	42,6	0,4
	IC 95%	(40,9--69,5)	(50,4-70,7)	(43,4-64,9)	(23,4-61,6)	

* p < 0,05

** p < 0,001

El promedio de folículos aspirados en el grupo de mujeres menores de 30 años (12,5; IC 10,8 a 14,1) fue mayor que 7,2 (IC, 5,5 a 8,8) en mujeres de 40 ó más años. (p= 0,01). La cantidad promedio de ovocitos obtenidos fue 8,5 (IC, 7,1 a 9,6) en las mujeres menores de 30 años y 4,6 (IC, 3,4 a 5,7) en las mujeres mayores de 40 ó más años (p< 0,001). Figura 2.

El número promedio de embriones en las mujeres menores de 30 años (3,5; IC 2,5 a 4,3) fue mayor que en las mujeres mayores de 40 años (2,1; IC 1,2 a 4,3), p= 0,02. La tasa de embarazo por estimulación en mujeres mayores de 40 años (12,5; IC 3,3 a 33,5) fue significativamente menor que en las mujeres menores de 30 años (42,4; IC 27,9 a 57,8), p= 0,02.

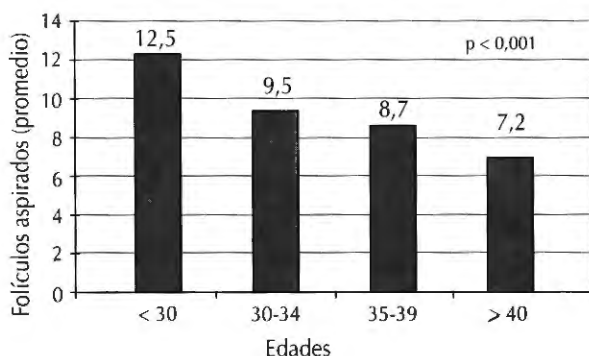


Figura 2. Número de folículos aspirados

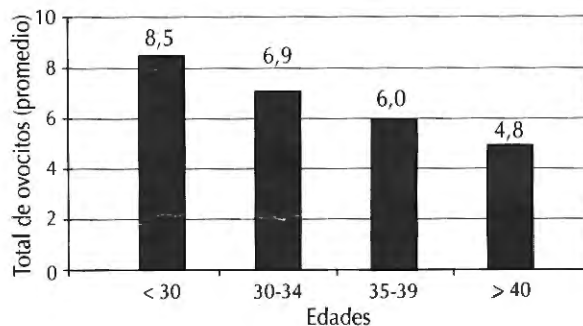


Figura 3. Número total de ovocitos

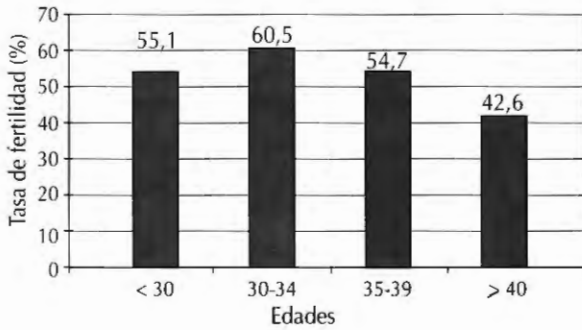


Figura 4. Tasa de embarazos

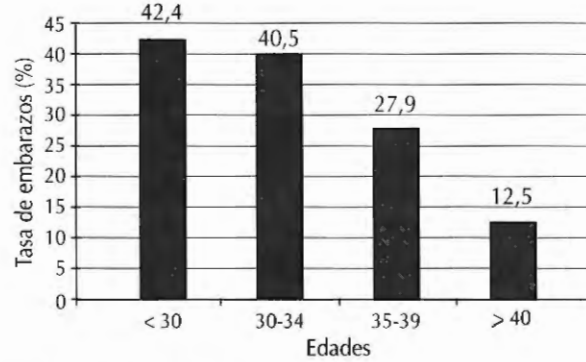


Figura 5. Tasa de fertilidad

El número promedio de ovocitos en las mujeres menores de 30 años (8,5; IC 7,1 a 9,6) fue mayor que en las mujeres mayores de 40 años (4,6; IC 3,4 a 5,7), $p = 0,005$. Figura 3.

Del total de estimulaciones en mujeres mayores de 40 años, solamente 4/32 (12,5% IC, 3,3 a 33,5) resultaron en un embarazo, resultado bastante menor que el obtenido en mujeres menores de 30 años, donde 14/33 (42,4; IC, 27,9 a 57,9) quedaron embarazadas; $p = 0,03$. Figura 4.

La tasa de fertilización en mujeres mayores de 40 años (42,6 %; IC 23,4 a 61,6) fue menor que en las mujeres menores de 30 años (55,1; IC 40,9 a 69,5), $p = 0,40$. Figura 5.

Se encontró significancia estadística para las variables: número de folículos aspirados, número de ovocitos y embriones, así como para la tasa de embarazo. Para las variables grosor endometrial y tasa de fertilización, si bien se encontró una tendencia decreciente en relación al incremento de la edad, éstas no fueron estadísticamente significativas.

DISCUSIÓN

Aproximadamente 20% de las mujeres norteamericanas en la actualidad inician su vida reproductiva después de los 35 años y otras la postergan incluso hasta después de los 40 años¹⁸, situación

que es extensiva a las diferentes sociedades en desarrollo, como la nuestra.

En el presente estudio, se busca determinar la edad materna en la cual los médicos especialistas en reproducción no podemos ofrecer tasas optimistas de embarazo a las mujeres que acuden a solicitar un procedimiento de fertilización asistida de complejidad alta, lo cual es muy importante de precisar antes de iniciar cualquier procedimiento, para que las pacientes conozcan acerca de sus posibilidades reales de éxito, y no se sientan defraudadas en sus expectativas cuando los resultados no sean favorables.

Se investigó todos los ciclos realizados en pacientes, en las cuales se había utilizado sus propios ovocitos, excluyéndose aquellos casos en los cuales hubo donación de ovocitos; la edad más temprana fue 19 años y la mayor edad 47 años.

La edad de la mujer es un factor muy importante en los resultados de aquellas que se someten a procedimientos de fertilización asistida. Estudios previos encuentran una disminución de la posibilidad de embarazo después de la edad de 37 años^{19,20}.

En nuestro estudio hallamos que las mujeres mayores de 40 años de edad tienen una probabilidad menor a 12,5% de obtener un embarazo. No hubo ningún embarazo viable después de los 43 años de edad.



Estudios previos sugieren que el mayor factor que influye en las tasas de embarazo en las mujeres con edad avanzada es la calidad de los ovocitos^{20,21}. Sin embargo, nuestros datos sugieren que la disminución de la respuesta del ovario a las gonadotrofinas es también importante. Esto se relaciona con la declinación del funcionamiento de todo el eje hipotálamo-hipófiso-gonadal asociado a la edad^{22,23}. Nosotros evaluamos esta respuesta ovárica a través del número de folículos aspirados y del número de ovocitos obtenidos; nuestros resultados demuestran que el número de folículos aspirados es menor en mujeres mayores de 40 años.

Resultado similar se encontró en relación al número de ovocitos, donde observamos una declinación de los ovocitos obtenidos en las pacientes mayores de 40 años. Estos hallazgos confirman el aumento de la refractariedad del ovario a la acción de las gonadotrofinas con el incremento de la edad. Encontramos diferencias estadísticamente significativas en las dos variables antes mencionadas, confirmando que la capacidad de respuesta de los ovarios a la acción de las gonadotrofinas son factores importantes en la falla de las mujeres de edad materna avanzada para obtener un embarazo.

La resistencia del ovario a la estimulación por las gonadotrofinas también se evidencia a través del número de días de estimulación que se necesita para lograr un buen desarrollo folicular; así vemos en nuestros resultados que las mujeres menores de 30 años requirieron un menor tiempo de estimulación.

La respuesta endometrial, determinado por el grosor del endometrio al final de la estimulación con gonadotrofinas, también es considerado un factor importante para lograr un embarazo, el cual está relacionado con el proceso de implantación embrionario. En el estudio encontramos una mejor respuesta endometrial a la estimulación en las mujeres menores de 30 años, que en el grupo de las pacientes de 40 años o más, que si bien no alcanzó una diferencia estadísticamente significativa, influyó en el menor número de embarazos obtenidos en este último grupo.

Las mujeres de 40 años o más, que van a ingresar a los procedimientos de fertilización asistida tienen menor probabilidad de lograr una gestación, no solamente por una menor respuesta ovárica a las

gonadotrofinas, como quedó demostrado por los datos antes mencionados, sino también por que hay una disminución tanto en la cantidad como en la calidad de los embriones. Nuestros resultados muestran, un promedio de 3,5 embriones por ciclo estimulado en mujeres menores de 30 años, valor que va disminuyendo a partir de los 35 años, con diferencia estadísticamente significativa, lo cual confirma que éste también es un factor importante relacionado a la edad que incide negativamente en la probabilidad de lograr un embarazo.

En relación a la tasa de embarazo, nuestros resultados muestran una declinación de la misma con el incremento de la edad. Estos resultados superan ligeramente los mostrados por Boop y col.²⁵, quienes encuentran 6,6% de embarazos en mujeres mayores de 40 años y los encontrados por Lass y col.²⁶, que comunican una tasa de 8,7% en mujeres entre los 40 a 44 años. Cuando menor es el número de folículos aspirados y ovocitos obtenidos, la tasa de embarazo disminuye, lo cual ha sido mostrado en nuestros resultados.

La tasa de fertilización, que es la relación entre el número de ovocitos inseminados y el número de embriones obtenidos, también se ve afectada conforme la edad se incrementa, lo cual ha sido objetivado en nuestros resultados, lo cual estaría en relación con una menor calidad ovocitaria.

Nuestros datos demuestran una marcada declinación en relación con la edad en la tasa de embarazos obtenidos en mujeres que utilizan un procedimiento de fertilización asistida compleja, usando ovocitos autólogos. Se observa una disminución progresiva en las tasas de embarazo cuando comparamos mujeres menores de 34 años con mujeres entre 36 a 39 años y con mujeres de 40 ó más años, notándose una mayor declinación en este último grupo, en quienes la posibilidad de tener éxito es bastante baja. Por lo tanto, toda paciente mayor de 40 años que solicita un procedimiento de fertilización asistida de complejidad alta, debe ser informada acerca de los porcentajes de éxito y se debe considerar la posibilidad de la utilización de ovocitos donados en estas pacientes.

Se debe realizar una evaluación adecuada sobre la posible respuesta ovulatoria antes de realizar un procedimiento de fertilización asistida compleja, la cual puede ayudar a identificar a aquellas



pacientes que son más idóneas para la realización del procedimiento o son susceptibles para la utilización de ovocitos donados. Diversos estudios, como los de Roest y col.²⁷, han sugerido que la respuesta ovárica podría ser un predictor de mayor utilidad que la edad por sí sola; así también, la disminución del volumen del ovario está asociado con disminución del funcionamiento ovárico²⁸. No debiera dejar de realizarse un examen de la probable respuesta del ovario, a través de la medición de la reserva ovárica²⁹ y determinación de los niveles de FSH al inicio del ciclo entre el segundo y tercer día³⁰.

En resumen, los procedimientos de fertilización de complejidad alta son una alternativa para las mujeres mayores de 40 años de edad, pero deben ser adecuadamente informadas acerca de su probabilidad de éxito baja, para que no se sientan defraudadas si los resultados obtenidos no son los esperados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Scott RT, Hofmann GE. Prognostic assessment of ovarian reserve. *Fertil Steril* 1995; 63: 1-10
2. Mosher WD, Pratt WF. Fecundity and infertility in the United States: incidence and trends. *Fertil Steril* 1991; 56: 193-3
3. Grenhall F, Vessey M. The prevalence of subfertility: a review of the current confusion and a report of two new studies. *Fertil Steril* 1990; 54: 978-83
4. Guttmacher AF. Factors affecting normal expectancy of conception. *JAMA* 1956; 161: 855-60
5. Hollander D, Breen JL. Pregnancy in the older gravida. How old is old?. *Obstet Gynecol Surv* 1990; 45: 106-12
6. Spira A. The decline of fecundity with age. *Maturitas* 1988; suppl 1:15-22
7. Henry L. Some data on natural fertility. *Engenic Quart* 1961; 8: 81-92
8. Navot D, Drews MR, Bergh PA, Guzmán I, Karstaedt A, Scott RT Jr, et al. Age related decline in female fertility is not due to diminished capacity of the uterus to sustain embryo implantation. *Fertil Steril* 1994;61: 97-101
9. Penzia AS, Thompson IE, Alper MM, Oskowitz SP, Berger MJ. Successful use of gamete intrafallopian transfer does not reverse the decline in fertility in women over 40 years of age. *Obstet Gynecol* 1991; 77: 37-9
10. Baker TG, Challoner S, Burgoyne PS. The number of oocytes and the rate of atresia in unilaterally ovariectomized mice up to 8 months after surgery. *J Reprod Fertil* 1980; 60: 449-56
11. Richardson SJ, Senikas V, Nelson JF. Follicular depletion during the menopausal transition: evidence for accelerated loss and ultimate exhaustion. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 65: 1231-7.
12. Leeton J. Patient selection for assisted reproduction. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol* 1992; 6: 217-27.
13. Abdalla HI, Baber R, Kirkland A, Leonard T, Power M, Studd JW. A report on 100 cycles of oocyte donation: factors affecting the outcome. *Hum Reprod* 1990; 5: 1018-22.
14. Munne S, Alikani M, Tomkin G, Grito J, Cohen J. Embryo morphology, developmental rates, and maternal age are correlated with chromosome abnormalities. *Fertil Steril* 1995; 64: 382-91.
15. Edwards RG, Fishel SB, Cohen J, Feihly CB, Purdy JM, Slater JM, Steptoe PC, Webster JM. Factors influencing the success of in vitro fertilization for alleviating human infertility. *J In Vitro Fert Embryo Transfer* 1984; 1:3.
16. Sharma V, Riddle A, Mason BA, et al. An analysis of factors influencing the establishment of a clinical pregnancy in an ultrasound based ambulatory in vitro fertilization program. *Fertil Steril* 1988; 49: 468.
17. Romeu A, Muasher SJ, Acosta AA, Beeck LL, Diaz I, et al. Results of in vitro fertilization attempts in women 40 years of age and older: the Norfolk experience. *Fertil Steril* 1987; 47: 130.
18. O'Reilly Green C, Cohen WR. Pregnancy in women aged 40 and older. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1993; 20: 313-31.
19. Bergh T, Lundkvist O. Clinical complications during in-vitro fertilization treatment. *J Human Reprod* 1992; 7: 625-6.
20. Padilla S, García J. Effect of maternal age and number of in vitro fertilization procedures of pregnancy outcome. *Fertil Steril* 1989; 52: 270-3.
21. Navot D, Bergh PA, Williams MA, Garrisi CJ, Guzman I, Sandler B. Poor oocyte quality rather than implantation failure as a cause of age-related decline in female fertility. *Lancet* 1991; 337: 1375-7.
22. Sauer MV, Paulson RJ, Lobo RA. Reversing the natural decline in human fertility. An extended clinical trial of oocyte donation to women of advanced reproductive age. *J Am Med Assoc* 1992; 268: 1275-9.
23. Iendon FA, Landgren BM, Sexton L, Harper R. Normal variation in the length of the follicular phase of the menstrual cycle: effect of chronological age. *Br J Obstet Gynaecol* 1984; 91: 681-4.
24. Gindoff PR, Jewelewicz R. Reproductive potential in the older woman. *Fertil Steril* 1986; 46: 989-1001.
25. Boop BL, Alper MM, Thompson IE, Mortola J. Success rates with gamete intrafallopian transfer and in vitro fertilization in women of advanced maternal age. *Fertil Steril* 1995; 63: 1278-82.
26. Lass A, Croucher C, Duffy S, Dawson K, et al. One thousand initiated cycles of in vitro fertilization in women > 40 years of age. *Fertil Steril* 1998; 70: 1030-4.
27. Roest J, van Heusden AM, Mous H, Zeilmaker GE, Verhoeff A. The ovarian response as a predictor for successful IVF treatment after the age of 40 years. *Fertil Steril* 1996;66: 696-73
28. Lass A, Skull J, McVeigh U, Margara R, Winston RM. Measurement of ovarian volume by transvaginal sonography before ovulation induction with human menopausal gonadotrophin for IVF can predict poor response. *Hum Reprod* 1997; 12: 294-7.
29. Scott RT, Hofman GE. Prognostic assessment of ovarian reserve. *Fertil Steril* 1995; 63: 1-11.
30. Toner JP, Philput CB, Jones GS, Muasher SJ. Basal follicular stimulating hormone level is a better predictor of IVF performance than age. *Fertil Steril* 1991; 55:784-91.