

***UNIVERSIDAD DE OVIEDO***

**MASTER UNIVERSITARIO EN BIOLOGÍA**

**Y**

**TECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN**

**TERCEROS CICLOS DE FIV-ICSI  
EN HOSPITAL PÚBLICO *versus* CLÍNICA  
PRIVADA**

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Mónica Cubero Rodríguez

Tutora: Dra. Lourdes Sánchez Castro

JUNIO 2012

LOURDES SÁNCHEZ CASTRO, Doctora en Biología por la Universidad de OVIEDO, Embrióloga en el laboratorio de Fecundación In Vitro de la Unidad de Reproducción Humana Asistida del HUCA.

CERTIFICA:

Que el Trabajo presentado por Dña. MONICA CUBERO RODRÍGUEZ, titulado “COMPARACION DE TERCEROS CICLOS DE FIV-ICSI EN HOSPITAL PÚBLICO *versus* CLÍNICA PRIVADA ”, realizado bajo la dirección de la Dra. Lourdes Sánchez Castro, dentro del programa de Master en “Biología y Tecnología de la Reproducción”, reúne a su juicio las condiciones necesarias para ser admitido como Trabajo Fin de Master.

Para que así conste dónde convenga, firma la presente certificación en Oviedo a 11 de JUNIO de 2012.

VºBº



Fdo. Dra. Lourdes Sánchez Castro

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer a la Dra. Lourdes Sánchez Casto de la Unidad de Reproducción del Hospital Universitario de Asturias por las horas que ha gastado en asesorarme, guiarme, corrigiéndome y enseñándome para poder terminar este trabajo.

También quiero agradecerlo al equipo de biólogos del Instituto Extremeño de Reproducción Asistida de Badajoz, en especial al jefe de laboratorio el Dr. Ignacio Santiago Álvarez Miguel que sin dudarlo me permitió utilizar los resultados de la clínica para el trabajo y a la Dra. Nieves Toledo Riera que además de enseñarme el día a día de la clínica saco tiempo para recoger y analizar los resultados de la clínica para poder usarlos en este trabajo.

Y gracias a mis amigos/as y a mis compañeras del Máster que han hecho más llevadero los momentos duros.

# ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	6
OBJETIVOS.....	13
MATERIAL Y METODOS .....	13
1. POBLACIÓN .....	13
2. PROTOCOLOS DE ESTÍMULACIÓN OVÁRICA .....	14
3. PUNCIÓN FOLICULAR.....	15
4. PROTOCOLO LABORATORIO .....	15
5. TRANSFERENCIA EMBRIONARIA .....	16
6. ESTUDIO ESTADÍSTICO .....	17
RESULTADOS .....	18
DISCUSION.....	23
CONCLUSIONES.....	31
BIBLIOGRAFÍA .....	32

## ABREVIATURAS

- ASEBIR: Asociación Española para el estudio de la biología reproductiva.
- COCs: Cúmulos oóforos.
- ESHRE: European Society on Human Reproduction and Embryology.
- FIV: Fecundación in vitro
- HUCA: Hospital Universitario Central de Asturias.
- ICSI: Inyección intracitoplásmica del espermatozoide.
- IERA: Instituto Extremeño de Reproducción Asistida.
- MII: ovocitos en metafase II.
- NHS: National Health Service.
- PGS: Screening genético pre-implantacional.
- PTC: Primary Care Trust.
- SEF: Sociedad Española de Fertilidad.
- SHO: Síndrome de hiperestimulación ovárica.
- TRA: Tratamiento de reproducción asistida.

## INTRODUCCIÓN

La esterilidad ha sido considerada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una enfermedad. Afecta entre un 10-15% de las parejas en edad reproductiva, lo que equivale a que una de cada seis parejas tengan problemas para lograr un embarazo.

Se define esterilidad como la imposibilidad de una pareja de obtener un embarazo tras un año manteniendo relaciones sexuales sin utilizar ningún método anticonceptivo. La infertilidad, en cambio, se define como la imposibilidad de llevar a término el embarazo porque el mismo se detiene o porque se pierde en algún momento de su desarrollo.

En la literatura, esterilidad e infertilidad se usan de forma indistinta, como sinónimos. Esto se debe a que la palabra esterilidad tiene una carga emocional y una connotación más dura e irreversible que el término infertilidad. Este es el motivo por el cual las palabras esterilidad e infertilidad se usa de forma indistinta para definir a aquellas parejas que no pueden concebir ni mantener un embarazo tras un tiempo de intentarlo.

Una de las causas que explica este alto porcentaje de parejas con infertilidad es, en su mayor parte, causado por el retraso de las parejas a tener su primer hijo. En la década de los 80, la edad para tener un hijo eran los 27, actualmente se retrasa a los 31 y cada vez son más las parejas que deciden tener familia pasado los 40. Los motivos de este retraso de la maternidad y paternidad son muy variados, pero destacar la incorporación de la mujer al trabajo y las dificultades para consolidar vida laboral y familiar.

Este retraso de la maternidad ha aumentado la edad de la mujer a la hora de concebir, convirtiéndose en una de las principales causas de infertilidad. El aumento de la edad hace que tanto la calidad ovocitaria como la reserva ovárica de la mujer disminuya y con ello la probabilidad de conseguir un embarazo de forma natural.

La edad de la mujer no es la única causa que explica la infertilidad. Un 40% de los problemas de infertilidad es causado por un factor masculino (alteraciones en la cantidad, calidad o movilidad de los espermatozoides en el eyaculado, factores

genéticos, la alimentación, el consumo de drogas, alcohol, tabaco, etc.). Otro 40% de las causas es por un factor femenino (obstrucción de las trompas, endometriosis, síndrome de ovario poliquístico, problemas genéticos, etc.), y un 20% de las causas no se conocen englobando muchas alteraciones en el grupo de origen desconocido.

La tasa media de concepción de la población con probada fertilidad ronda el 20% por ciclo ovulatorio, así se calcula que entre el 85-90% de las parejas fértiles concebirán durante el primer año de relaciones sexuales sin protección y el 90-95% a los dos años. Del 10-15% de las parejas con infertilidad el 50% de ellas buscan ayuda médica. Muchas de estas parejas con problemas de infertilidad inician un programa de fecundación in vitro y transferencia embrionaria con la esperanza de lograr una gestación. No obstante y por diversos motivos, algunas parejas no alcanzas este objetivo.

Según el Registro FIV-ICSI de la Sociedad Española de Fertilidad, en España se realizaron 55.318 ciclos en el 2009 colocando a España en tercer lugar entre los países europeos con más ciclos, detrás de Francia y Alemania. De ellos, 33.228 fueron de FIV/ICSI lo que supone un 60,1% del total. El 80% de los ciclos iniciados y el 87,7% de las punciones ováricas realizadas tuvieron transferencia embrionaria. Se realizaron 26.210 transferencias con un total de 52.551 embriones, lo que representa una media de 2 embriones por transferencia. El 68,2% fueron transferencias con 2 embriones. La tasa de embarazo por ciclos de FIV/ICSI se sitúa en el 31,1% haciendo que el 2,9 % de los nacidos en España sean mediante técnicas de reproducción asistida.

El 30% de estas parejas que se someten a un tratamiento de reproducción no consiguen un niño vivo y esto es causado por un fallo repetido en ciclos consecutivos de FIV.

Los fallos en FIV pueden referirse a fallos en la fecundación in vitro, bien por un factor masculino como es la fragmentación del DNA espermático (Benchaib M. *et al.*, 2003), la edad de la mujer que varía la calidad ovocitaria, la inducción de la respuesta ovárica, causas genéticas que afectan en la gametogénesis, la calidad embrionaria, fallos de implantación causados por la calidad endometrial influenciada por de la inducción de la ovulación (Geva y Amit, 1994 y 1998), la transferencia embrionaria que se ve afectada por el tipo de catéter (van Weering *et al.*, 2002), por el estrés de la paciente,

por lesiones en el endometrio, etc. Estos fallos de FIV también se ven influenciados por el laboratorio de reproducción. Tiene que haber una coordinación entre todos los miembros del equipo y un control de calidad que asegure el funcionamiento del sistema (Expósito *et al.*, 2001; Núñez Calonge *et al.*, 2001).

Los fallos repetidos de FIV provocan que se realicen numerosos intentos hasta conseguir un embarazo. El número de intentos que deben realizarse es un tema controvertido desde hace años, por lo que se está intentando conocer cuál es el límite que hay que plantear a una pareja para dejar de intentar la gestación en FIV.

Distintos estudios intentan establecer el número de intentos que debe realizar una pareja para obtener una gestación estable. Padilla y García en 1989 observaron que la tasa de gestación era estable entre el tercer y séptimo ciclo realizado (23%) por lo que aconsejaban continuar durante este tiempo los intentos. La tasa acumulada de embarazo alcanzaba el 93% en el séptimo ciclo.

Si bien aumentar el número de intentos aumentaría el éxito del tratamiento, menos del 30% de las mujeres del Reino Unido se someten a un segundo ciclo tras haber tenido un fallo en el primero, mientras que en Francia el 60% de las mujeres hacen más de un ciclo, debido en gran parte, a que en este país el tratamiento es gratuito hasta el cuarto ciclo. Aún así, menos de la quinta parte de las mujeres que se someten a un tratamiento de reproducción esperan tener un nacimiento vivo después del primer ciclo de tratamiento.

Casi el 90% de los embarazos por FIV se producen dentro de los cinco primeros ciclos (Tan *et al.*, 1992) no obstante, no se realizan más ciclos por causas financieras, cargas físicas, emocionales y de tiempo, por lo que realizar menos ciclos de FIV es menos estresante y económicamente más asequible.

Para disminuir el estrés financiero de las parejas que se someten a estos tratamientos la Women's Clinic de Londres acordó un paquete de tres ciclos desde agosto del 1993 a diciembre de 1995. Estos ciclos se realizaban independientemente del pronóstico y las parejas eran libres para acogerse al paquete de tres ciclos. Tras analizar la tasa acumulada de embarazo por ciclo, observaron que en el primer ciclo tenían una tasa del 23,4%, un 38,2% y un 54,2% para el segundo y tercer ciclo respectivamente. También tuvieron en cuenta la edad de las mujeres y observaron que con edades de

entre 40 y 45 años la tasa acumulada de embarazo disminuía a 9,2, 19,1, y 32,1 % para el primer, segundo y tercer ciclo respectivamente (Engmann *et al.*, 1999).

Aunque la utilización de la tasa acumulada es considerada actualmente como el método estadístico más idóneo para calcular la tasa de eventos en función del tiempo, en el caso concreto de las técnicas de reproducción asistida, tiene una serie de limitaciones que pueden sesgar los resultados. Así, por ejemplo, no valora datos como los motivos por los que se abandona el tratamiento, suponer que los pacientes que abandonan no tienen ninguna oportunidad de un embarazo, los cambios de medicación o técnica en distintos ciclos, el aumento del número de embriones transferidos en los sucesivos ciclos, o la heterogeneidad de las pacientes hace que exista el riesgo de ser poco realista en el cálculo haciendo suposiciones de la probabilidad de ocurrencia de un embarazo para aquellos tratamientos que se interrumpen (Malizia *et al.*, 2009; Stolwijk *et al.*, 1996).

Aún así, la tasa acumulada ayuda a planificar el número de ciclos a realizar. También ayuda a comparar los resultados entre las unidades de reproducción, aunque pocos centros dan esta información, y los que los han analizados son relativamente pocos.

Estudios publicados otorgan altas tasas acumuladas de embarazo a partir del tercer ciclo. Haan *et al.* (1991) observa una tasa acumulada en el tercer ciclo del 29,5 % y en el sexto del 42,3%. Tan *et al.* (1994) consigue una tasa en el quinto ciclo tras una gestación previa de FIV del 70%. Croucher *et al.* (1998) observa que la tasa acumulada llega hasta casi un 80% en el séptimo ciclo. Hendriks *et al.* (2008) y Klinkert *et al.* (2004) indican que la tasa acumulada para mujeres con mala respuesta es de 25,9-47% en el tercer ciclo, mientras que Schimberni *et al.* (2009) no es tan optimista y obtiene un 16,7% para el quinto ciclo en mujeres con mala respuesta. Bergh *et al.* (1995) consigue aumentar hasta un 50% la tasa acumulada de embarazo dentro de los 3 primeros ciclos al combinar la transferencia de embriones en fresco con la transferencia de embriones sobrantes que han sido congelados. Hershlag *et al.* (1991) concluye que la probabilidad de lograr un embarazo disminuye a medida que aumenta el número de ciclos sin éxito. El 37% de las parejas no obtienen una gestación estable con FIV a pasar de múltiples intentos.

Si bien la tasa acumulada de embarazo aumenta con el número de intentos realizados, lo cierto es que la tasa de embarazo por ciclo va disminuyendo progresivamente (Roest *et al.*, 1998). Meldrum *et al.* (1998) establece que la tasa de embarazo disminuye hasta el cuarto ciclo (25,9%) y que a partir de aquí la tasa se estabiliza. Shapiro *et al.* (2001) comparó la tasa de éxito del segundo y tercer ciclo tras haber tenido un primer ciclo fallido con transferencia de blastocisto. Si en el primer ciclo tenía una tasa de embarazo del 36% en el segundo y tercer intento obtuvo un 19 y un 9 % respectivamente. Guzick *et al.* (1986), Dor *et al.* (1996), Land *et al.* (1997) y Stolwijk *et al.* (2000) concluyen que la tasa de embarazo es estable a medida que se repite los ciclos, mientras que otros estudios apuntan que la tasa de gestación aumenta hasta el tercer ciclo y a partir de este la tasa se estabiliza (Haan *et al.*, 1991, Osmanagaoglu *et al.*, 1999). Otros concluyen que la tasa aumenta y se estabiliza a partir del cuarto ciclo (De Vries *et al.*, 1999) o incluso Hershtlang *et al.* (1991) y Tan *et al.* (1992) dicen que a partir del primer ciclo la tasa de gestación no para de bajar. Perlinck *et al.* (2007) observan que la tasa de embarazo por ciclo iniciado no parece disminuir conforme aumenta el número de ciclos, posiblemente es una causa de selección de los pacientes de mal pronóstico que no se someten a más tratamientos.

La edad es un factor importante en la tasa de éxito. Osmanagaoglu *et al.* (2002) establece que para mujeres con más de 43 años la tasa de embarazo era muy baja desde el primer intento y que no aumentaba aunque realizara más ciclos. Para mujeres de entre 38-39 años a partir del segundo ciclo (20%) la tasa se estabilizaba, mientras que para edades entre 35-37 años la tasa a partir del tercer ciclo (40%) no aumentaba significativamente. Para menores de 35 años al igual que para mujeres de hasta 37 la tasa de embarazo a partir del tercer ciclo se estabiliza, aunque tienen un mayor éxito de embarazo en los dos primeros ciclos (36%).

Los resultados de los tratamientos de reproducción asistida también dependen del contexto social (factores sociales y culturales) en la que esas técnicas son aplicadas, aunque la importancia del papel desempeñado por cada uno sigue sin estar claro. (Castilla, 2009). Otro de los factores que es importante para los resultados de los tratamientos es la legislación, la competencia entre las clínicas y la cobertura social a estos tratamientos.

En España los tratamientos de reproducción asistida están regulados por la ley 14/2006 del 26 de mayo, publicada en el BOE 126 del 27 de mayo del 2006. En esta ley se establece que “los tratamientos de reproducción asistida se realizaran solamente cuando haya posibilidades razonables de éxito, no suponga riesgo grave para la salud, física o psíquica de la mujer o la posible descendencia y precia aceptación libre y consciente de su aplicación por parte de la mujer, que deberá haber sido anterior y debidamente informada de sus posibilidades de éxito, así como de los riesgos y de las condiciones de dicha aplicación”. En ningún caso se establece un límite de tratamientos que una mujer puede realizarse. Aún así, el Sistema Sanitario Público de las Comunidades Autónomas según evidencias científicas que informan que la probabilidad de embarazo disminuye de forma notable a partir de 3-4 ciclos de tratamiento han limitado el número de ciclos a 3 por paciente, excepto en la comunidad de Andalucía y Murcia que lo limitan a 2 ciclos pudiendo ser superado este límite según el criterio del clínico si se justifica la posibilidad razonable de un resultado favorable mediante un cambio de técnica.

Esta limitación del número de tratamientos se debe a razones de origen biológico y a la asignación de los recursos económicos. El documento Family planning and psychosocial support for infertile couples (2004) muestra que a partir del tercer ciclo de tratamiento, como consecuencia de los problemas emocionales, biológicos y de pareja generados durante el proceso de tratamiento, aumentan las posibilidades de fracaso.

En el Sistema Sanitario Privado no existe limitación en el número de tratamiento. Esto se debe a que es la pareja la que sufraga todo tratamiento, por lo cual la pareja continuara intentándolo siempre que su situación económica lo permita. Aún así, el clínico tiene el criterio necesario para cancelar el tratamiento siempre y cuando el tratamiento no suponga un riesgo para la mujer o su descendencia (Ley 14/2006).

Aún si, con la limitación del número de ciclos en la sanidad pública esta realiza más ciclos al año que la privada. En el 88% de los centros públicos se llevan a cabo más de 200 ciclos al año, frente al 55 % de las privadas.

Si bien el Sistema Sanitario Privado no limita el número de tratamientos hay instituciones que sustentan esta limitación. La OSTEBA (Servicio de Evaluación de Tecnologías Sanitarias del País Vasco) (2002) provee hasta un máximo de 4 ciclos de

estimulación ovárica, hasta 3 ciclos de FIV/ICSI con transferencia, hasta 2 ciclos cancelados antes de la punción folicular por mala respuesta ovárica y hasta 2 ciclos de ICSI sin transferencia. MUFACE (Mutua Aseguradora Sanitaria de los Funcionamientos Públicos del Estado español) en el 2002 elaboro una guía de recomendaciones en reproducción humana asistida en la que indica que proveerá de tratamiento a parejas con infertilidad hasta 4 ciclos. El Doncaster (2002) PCT del NHS del Reino Unido limita el número de intentos de FIV a 2, el Sistema Sanitario Público francés lo limita a 4 y en Dinamarca a 5 ciclos.

El número de ciclos que se ofertan se relacionan también con el número de embriones transferidos por ciclo. En los países nórdicos y Bélgica desde hace años se opto por la transferencia de un único embrión. Disminuir el número de embriones transferidos merma las posibilidades de éxito del tratamiento y lo compensan aumentando el número de ciclos a los que una pareja puede acceder gratuitamente.

En este trabajo se analizan los resultados de la Unidad de Reproducción Asistida del Hospital Universitario de Asturias en la que se realizan un máximo de tres ciclos. Además se comparan con los resultados obtenidos por el Instituto Extremeño de Reproducción Asistida, en el que aunque no existe la limitación del número de ciclos que tiene la unidad del HUCA, tampoco realizan ciclos de forma indefinida ya que normalmente se aconseja a las parejas otras opciones reproductivas como puede ser la donación de ovocitos.

## **OBJETIVOS**

En este trabajo es analizar los datos obtenidos de dos unidades de reproducción asistida, una pública y otra privada, donde se han llevado a cabo hasta tres ciclos.

El objetivo es comparar los resultados de los terceros ciclos con los dos primeros tratamientos realizados, buscando alguna diferencia entre ellos que lleve a indicar que realizar terceros ciclos no aumenta o bien no disminuye la tasa de éxito de los tratamientos de reproducción asistida.

## **MATERIAL Y METODOS**

### **1. POBLACIÓN**

Se trata de un estudio retrospectivo, que incluye a las pacientes que hicieron tratamiento de FIV / ICSI en dos centros distintos. Un centro público, la Unidad de Reproducción Asistida del Hospital Central de Asturias (HUCA), durante las fechas 1 de Septiembre del 2010 al 30 de Marzo del 2012 y un centro privado, el Instituto Extremeño de Reproducción Asistida (IERA), durante las fechas 1 de Enero del 2010 al 30 de Diciembre del 2011.

En España, no existe una ley que establezca la edad máxima para someterse a estos tratamientos, sólo está regulada la edad mínima que es los 18 años (Ley 14/2006). La recomendación de las sociedades científicas aconseja no realizar tratamientos de infertilidad a mujeres por encima de los 50 años y es la autorregulación por motivos médicos y éticos que se sigue en la mayoría de los centros privados en España.

En las Unidades de Reproducción en Hospitales Públicos, por cuestiones económicas y de optimización de recursos no se admiten a tratamiento a mujeres con 40 años cumplidos. En nuestra población de la unidad pública existe algún caso con 41

años debido a que estas pacientes tenían menos de 40 años en el momento de iniciar el tratamiento pero debido a la lista de espera, tenían 41 al realizar un 2º o 3º ciclo.

En ningún caso se tienen en cuenta la existencia de factores masculinos o femeninos que afecten a la fertilidad para excluir del estudio a ciertos pacientes.

Ambos miembros de las parejas sometidas a tratamiento tenían cariotipos normales.

## 2. PROTOCOLOS DE ESTÍMULACIÓN OVÁRICA

Si bien el protocolo de estimulación ovárica no es relevante para el estudio se utilizaron dos tipos de estimulación ovárica: protocolo corto y protocolo largo. Ambos usan gonadotropinas para el estímulo pero se diferencian en el tipo de análogo que se usa para realizar el frenado hipofisario. En el caso de los protocolos largos se realizan con agonistas de la GnRH y se inician en la fase lútea media del ciclo previo a la estimulación, concretamente en el día 21. En el caso de protocolos con antagonistas el análogo se incorpora al 6º día de haber iniciado el estímulo y las pacientes tomaron anticonceptivos el ciclo previo. En ambos tratamientos el frenado hipofisario es necesario para evitar un pico de LH endógeno que desencadenaría la ovulación espontánea y la cancelación del ciclo.

La estimulación ovárica se realizó con gonadotropinas recombinantes, en la mayoría de los casos, aunque en algún ciclo también se usaron gonadotropinas urinarias ultrapurificadas. Las dosis se ajustaron en función de la edad y el peso de la paciente, y de marcadores de reserva ovárica como son la FSH y el estradiol, medidos en el tercer día del ciclo o el recuento de folículos antrales.

La inducción de la ovulación se provocó a las 36 horas previas a la punción folicular y en la mayoría de los casos se usó hCG recombinante. En algunos casos en que la paciente tenía riesgo de síndrome de hiperestimulación y el protocolo de estímulo llevaba antagonista, se usó agonista de la GnRH para desencadenar la misma.

La duración del estímulo oscila entre 10 y 12 días dependiendo de la respuesta al tratamiento.

### 3. PUNCIÓN FOLICULAR

La recuperación de los ovocitos se va a realizar el día 13 o 14 del ciclo. Se realiza tras 36 horas después de la administración de la hormona hCG o la agonista de la GnRH que va a desencadenar la ovulación.

El proceso consiste en coger los ovocitos que se encuentran en los folículos ováricos antes de que estos salgan a la luz de la trompa de Falopio.

El proceso se realiza en quirófano bajo anestesia local o sedación general. Se va a realizar la obtención de los ovocitos mediante una punción transvaginal guiada por ecografía. Al ecógrafo se le une una aguja que va a estar conectada a un sistema de aspiración. La aguja punciona el folículo y aspira el líquido folicular donde se halla el ovocito. Los tubos con el líquido folicular se mantienen a 37°C y se pasan el laboratorio de FIV.

### 4. PROTOCOLO LABORATORIO

La captación de los ovocitos se realizó en campana de flujo laminar con superficie calefactada. Los líquidos foliculares procedentes de la punción se examinaron a la lupa y se recogieron todos los ovocitos pasándolos a una placa con medio de cultivo y se pasan a una incubadora a 37° C y atmósfera del 5% de CO<sub>2</sub>.

En la unidad pública la mayoría de los ciclos la ICSI fue la técnica elegida para la fertilización y sólo en algunos casos seleccionados parte de la cohorte de los ovocitos se inseminaron por fecundación in vitro convencional. En la unidad privada solo se realizo ICSI.

Los medios de cultivo usados en el HUCA en todos los casos, son de la casa comercial COOK® y se siguieron los protocolos establecidos por la casa en el cultivo de los gametos y los embriones. En IERA se usaron medios de cultivo de la casa comercial ORIGIO® y también se siguió los protocolos establecidos por la casa en el cultivo de los gametos y embriones.

La fertilización se vio entre 18-20 horas post-punción, y solo se mantuvieron en cultivo aquellos cigotos en los que se observaron 2 pronúcleos y 2 corpúsculos.

Los embriones se mantuvieron en cultivo 2 o 3 días post-punción. La clasificación de los mismos se llevó a cabo siguiendo la clasificación de ASEBIR, y se establecieron 4 categorías A-D. Los embriones tipo A son los que más capacidad de implantación tienen y los D los que menos.

## 5. TRANSFERENCIA EMBRIONARIA

La transferencia embrionaria se realizó en día +2 o día +3. El número de embriones transferidos se elegirá según la calidad embrionaria de estos, pero sin pasarse de los 3 embriones que permite la Ley 45/2003. Normalmente, de acuerdo con la pareja se transfirieron 2 embriones. Sólo en casos seleccionados en los que el riesgo de embarazo triple era bajo, se transfirieron 3 embriones. Los casos de transferencia de 1 embrión se produjeron sólo cuando no se disponía de más embriones o si la pareja no aceptaba el riesgo de un embarazo gemelar.

Para la transferencia no es necesaria anestesia ni sedación. Se realiza introduciendo el catéter que contiene los embriones en el interior del útero. Todo el proceso es seguido mediante ecografía.

Los embriones sobrantes que no se transfieren se congelaron o no dependiendo de la calidad embrionaria. Sólo se congelaron embriones A y B. Algún embrión de calidad C se congeló si se acompañaba de embriones de categorías A y B. Los embriones tipo D no se congelaron nunca.

Después de la transferencia la paciente se mantiene con progesterona como soporte de la fase lútea y 15 días después se realizó un test de embarazo con la primera orina de la mañana.

## 6. ESTUDIO ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se llevo a cabo mediante la comparación de las variables continuas (media, desviación típica, mediana, mínimos y máximos) y las variables categóricas que se describen mediante las frecuencias absolutas y relativas. La comparación de las variables se realiza mediante las pruebas robustas de Welch (T o ANOVA, para dos o tres grupos, respectivamente). La comparación entre proporciones se realiza mediante la prueba exacta Chi-2.

## RESULTADOS

Tras analizar los datos de la Unidad de Reproducción Asistida del Hospital Central de Asturias (HUCA) y del Instituto Extremeño de Reproducción Asistida (IERA) se obtienen 652 ciclos de la unidad pública y 440 de la privada. De los 652 ciclos del HUCA el 88,4% (576) de ellos pertenecen al 1<sup>er</sup> y 2<sup>o</sup> ciclo, realizando solo un 11,6% de 3<sup>er</sup> ciclos (76). De los 440 tratamientos realizados en IERA, el 90% (397) de ellos son 1<sup>er</sup> y 2<sup>o</sup> intento, realizando solo un 9,7% (43) de 3<sup>er</sup> ciclos. (Tabla 1)

	HUCA				IERA			
	1	2	3	Total	1	2	3	Total
Nº ciclos	361	215	76	652	284	113	43	440
Edad media por ciclo	35,72	36,18	36,21	35,93	35,36	35,86	36,4	35,87
Media de ovocitos recuperados por ciclo	9,62	9,19	9,78	9,5	10,56	10,2	8,47	9,74
Media de ovocitos maduros (MII) por ciclo	7,01	6,72	6,89	6,9	7,65	7,43	6,44	7,17
Media de fecundados por ciclo	4,57	4,42	4,79	4,55	5,36	5,5	4,24	5,03

Tabla 1: Resumen de los resultados obtenidos en el estudio

La edad de las mujeres que se someten a un tratamiento de reproducción asistida no es significativamente diferente (P-valor 0,185) entre los tres ciclos realizados, al igual que entre las dos unidades de reproducción que ambas tienen una media de edad en terceros ciclos de 36,21 y 36,40 respectivamente.

Tanto en el número de ovocitos recuperados por punción, ovocitos maduros (MII) y los fecundados no existen diferencias significativas entre los distintos ciclos realizados. (Fig.1)

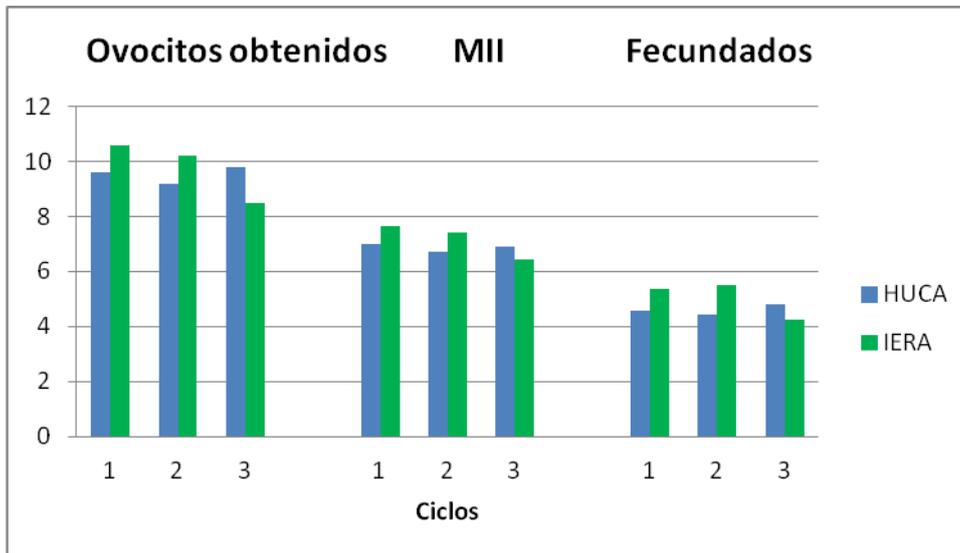


Figura1: Representación de la media del número de ovocitos obtenidos por punción (P-valor 0,535), los maduros MII (P-valor 0,605) y los fecundados (P-valor 0,711) en ambos centros.

Si bien puede haber un ligero aumento en el número medio de ovocitos obtenidos, maduro y fecundado en los dos primeros ciclos de la unidad privada frente a la pública, lo cierto que sus tasas de ovocitos maduros y fecundados no son significativamente diferentes. (Fig.2)

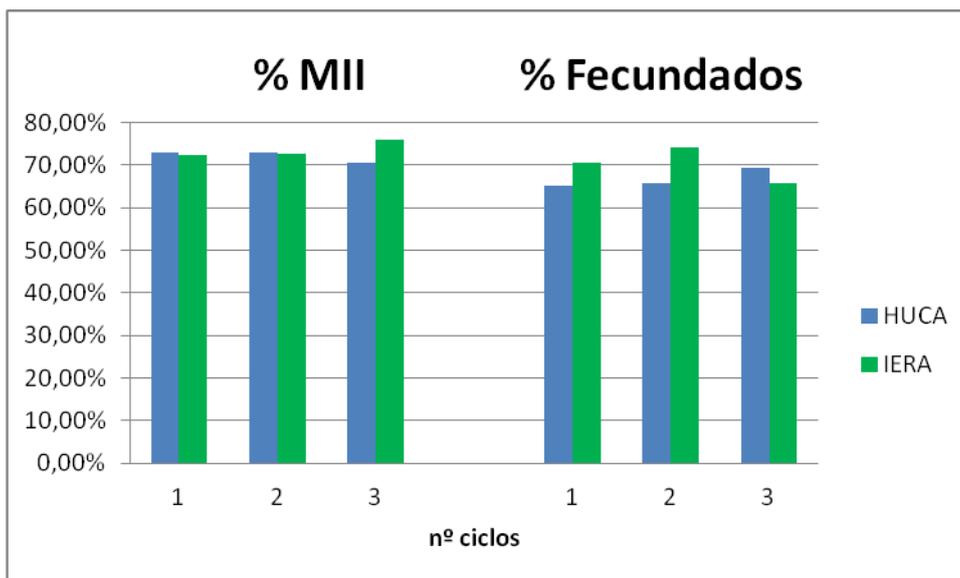


Figura 2. Representación de la tasa de MII y fecundados de ambos centros.

En la unidad privada no hay diferencias significativa entre el número de embriones transferidos entre los tres ciclos realizados, mientras que en la unidad pública si hay diferencias significativas entre los dos primeros ciclos frente al tercer ciclo (P-valor <0,001). (Fig.3)

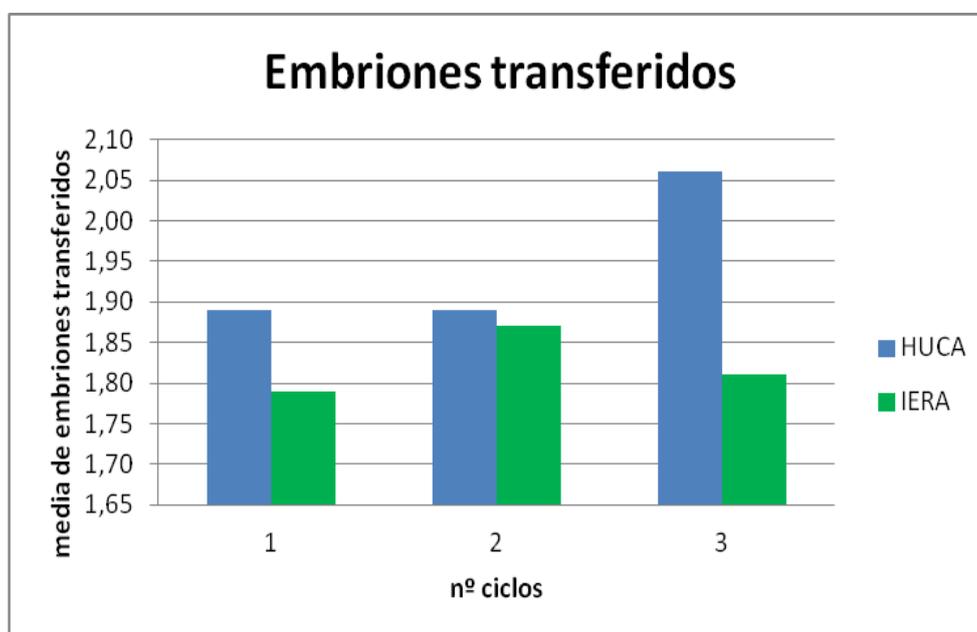


Figura 3: Representación del número medio de embriones transferidos por ciclo realizado.

Esta diferencia se debe a que en el tercer ciclo se transfiere en un 19,1% de las veces 3 embriones frente a un 6% en el segundo ciclo y solo un 3% en el primero. (Fig. 4)

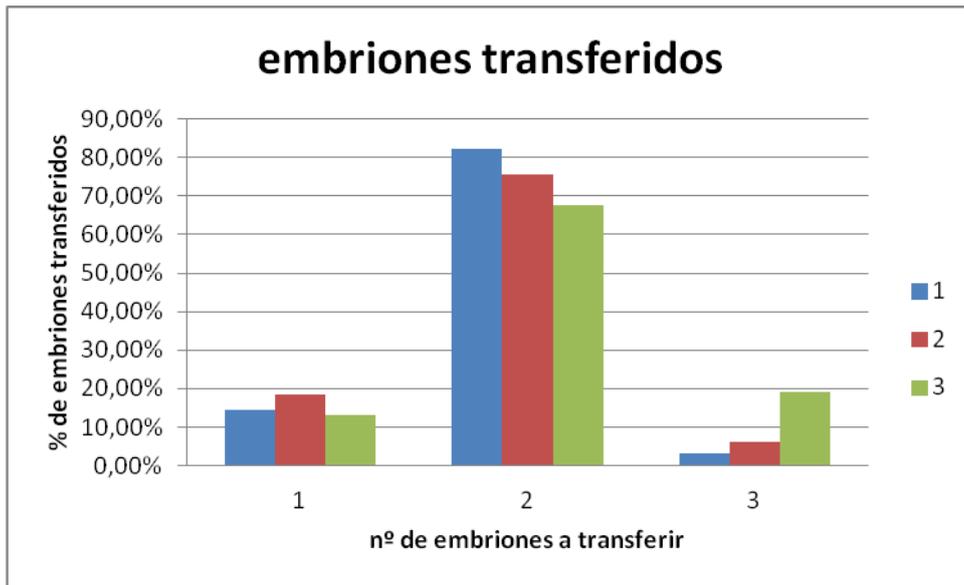


Figura 4: % de embriones transferidos por ciclo realizado en el HUCA.

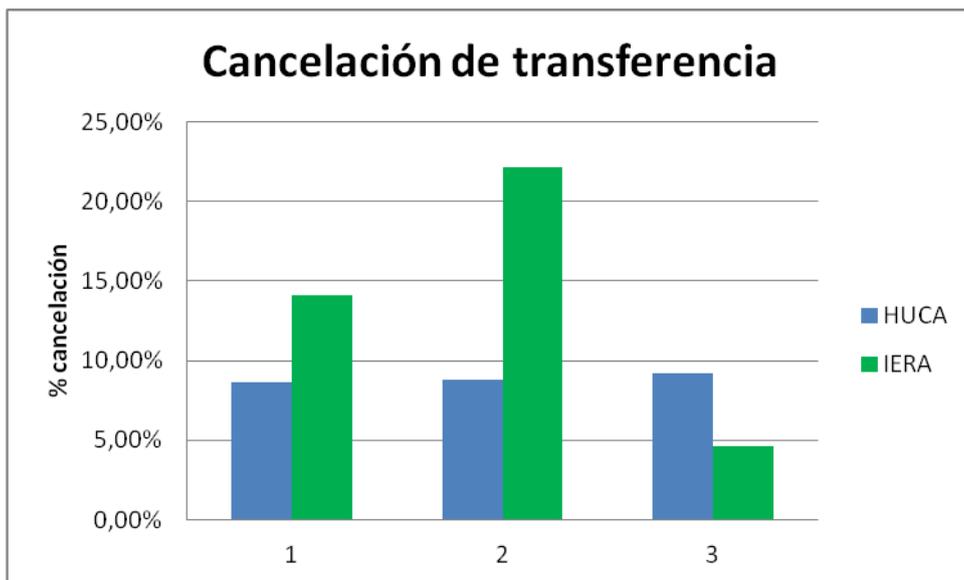


Figura 5: % de cancelación de transferencia por ciclo.

En la figura 5 se representa la tasa de cancelación de transferencia entre los distintos ciclos. En la unidad pública no existen diferencias significativas entre los 3 ciclos, pero si se aprecia una diferencia respecto a la tasa de cancelación con la unidad privada. Se produce más cancelaciones en el primer (P-valor 0,0368) y segundo ciclo (P-valor 0,00014) con respecto a la unidad pública. Las diferencias en el tercer ciclo no son significativas (P-valor 0,5873). En la unidad privada existe una mayor tasa de cancelación en el segundo ciclo frente al tercero (P-valor <0,005)

La tasa de embarazo en la unidad pública es de 21,1%, 16,3% y 14,5% en el primer, segundo y tercer ciclo respectivamente. No hay diferencia significativa (P-valor 0,222) entre los tres ciclos aunque se aprecia un ligero descenso de la tasa de embarazo a medida que se realiza más ciclo. En la unidad privada tampoco existen diferencias significativas entre los ciclos aunque sus tasas de embarazos son de 36,48%, 40,91% y 43,9% en el primer, segundo y tercer ciclo respectivamente. (Fig.6)

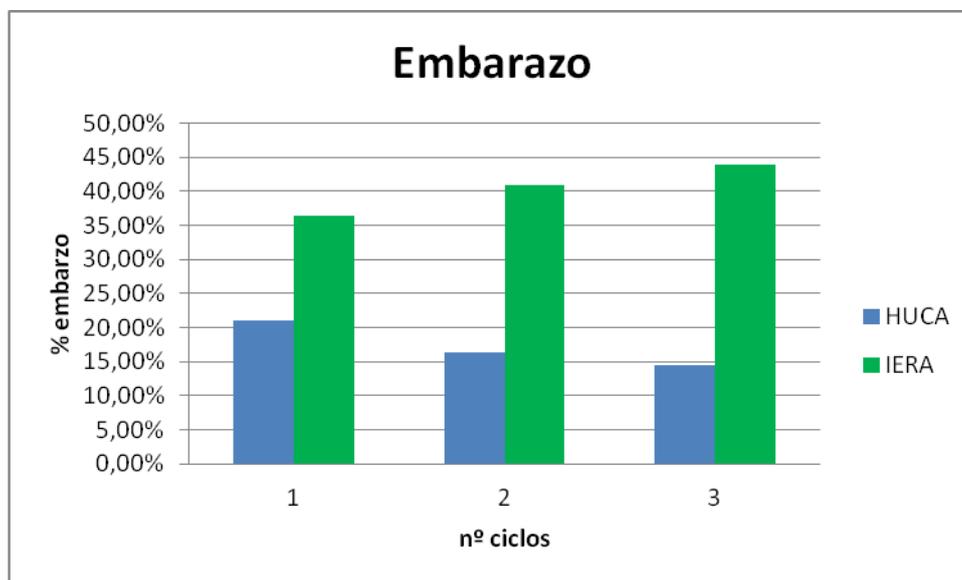


Figura 6: Tasa de embarazo por ciclo.

Al comparar la tasa de embarazo entre ambos centros se aprecia una mayor tasa de embarazo en la clínica privada en los 3 ciclos con p-valores de 0,004, 0,0018 y 0,0018 respectivamente.

## DISCUSION

Tanto el éxito como el fracaso de los tratamientos de reproducción asistida se debe a muchos factores: la edad de la pareja, sobre todo influye la edad de la mujer, alteraciones de la calidad, cantidad o movilidad de los espermatozoides, enfermedades genéticas, la contaminación ambiental, la alimentación, etc. También influyen los distintos tratamientos de reproducción en los propios resultados de estos tratamientos.

Estudios realizados han demostrado que realizar numerosos intentos para conseguir un embarazo estable no siempre aumenta las posibilidades de éxito sino que en ocasiones estas posibilidades disminuyen.

Aunque se sabe que realizar numerosos intentos no es sinónimo de éxito en muchas ocasiones se intenta varias veces al no conocer la causa del fallo de fecundación o implantación.

Actualmente existe un consenso entre la sociedad científica que determina que realizar más de 3 o 4 ciclos de fecundación in vitro no provoca un aumento de las tasas de embarazo. Aún así, en los centros privados se realizan tantos ciclos como la pareja esté dispuesta a pagar y en los centros públicos a causa de los escasos recursos se tiende a bajar el número de intentos.

Determinar el número de intentos que se deben realizar es un tema muy controvertido por todos los factores que influyen en el resultado. Este estudio intenta comprobar si realizar tres ciclos de fecundación in vitro aumenta o no el éxito del tratamiento.

Para el estudio se utilizaron datos de dos centros, uno público (Unidad de Reproducción Asistida del Hospital Central de Asturias, HUCA) y otro privado (Instituto Extremeño de Reproducción Asistida, IERA). Se obtuvo 1092 ciclos, de los que el 60% de ellos se realizaron en el centro público y el 40% en el privado. Se hace patente que en la clínica pública se lleva a cabo más ciclos que en la privada (Castilla, 2009). Del 60% de los ciclos realizados en el HUCA se realizan un 11,6% de terceros ciclos, un 1,9% más que en IERA. Este aumento de terceros ciclos se debe

principalmente a la escasa oferta de más tratamientos ofertados en las unidades públicas y a la limitación de intentos que ellas tienen.

España es líder en donación de ovocitos y diagnóstico genético preimplantacional, pero estos tratamientos se dan principalmente en el sector privado. Al no poder ofertar las clínicas públicas variaciones de la fecundación *in vitro*, estas realizan más terceros ciclos para agotar los recursos que les proporciona la sanidad pública, aún sabiendo que el resultado no va a variar.

Muchos estudios corroboran que la edad de la mujer es un hándicap a la hora de someterse a un tratamiento de reproducción (Broekmans y Klinkert, 2004). En la valoración de la edad en terceros ciclos se ha observado que la edad media de las mujeres que se someten a un tercer ciclo no varía significativamente con respecto a las que empiezan el tratamiento de reproducción. La edad media de las mujeres que se someten a un primer ciclo es de 35,71 y 35,36 en ambas clínicas respectivamente y las que se someten al tercer ciclo es de 36,2 y 36,40 respectivamente, por lo que no es la edad el factor que determina la opción de someterse o no a un tercer ciclo.

Debidos a los criterios de exclusión establecidos por el sector público (40 años), una restricción que ha sido justificada para optimizar los recursos ya que hay una menor probabilidad de éxito en mujeres mayores de 40 años, se prioriza la concentración de los recursos en los tratamientos a las mujeres más jóvenes y con mejores posibilidades. Este hecho podría causar una disminución significativa de la edad entre las mujeres que se someten a un tercer ciclo en un centro público frente a uno privado. En este trabajo esta diferencia de edad no es significativamente diferente entre ambos centros, por lo cual la restricción de edad no influye en la edad media de las mujeres que se someten a un tercer ciclo.

Si el éxito de los tratamientos se ve influenciado por el número de intentos realizados, es de esperar que tanto el número de ovocitos recuperados, el número de ovocitos maduros y fecundados disminuya conforme se realicen más ciclos. En el estudio no se observan diferencias significativas entre los tres ciclos realizados con respecto al número de ovocitos recuperados, el número de ovocitos maduros y fecundados (Fig. 1). Este resultado es similar a estudios hechos previamente (J. de Boer *et al.*, 2003; Kelly *et al.*, 2003; Kolibianakis *et al.*, 2002 y Hoveyda *et al.*, 2002). Estos

estudios corroboran que repetidos ciclos de tratamientos de reproducción asistida no ejerce un efecto significativo en el número medio de COCs recuperados y en el número de embriones formados. Las evidencias hasta ahora indican que la respuesta folicular y el número de ovocitos recuperados parecen mantenerse con la repetición de los tratamientos y la disminución sólo es significativa en la respuesta ovárica con el aumento de la edad de la mujer. (Kelly *et al.*, 2003).

En la unidad privada se aprecia una ligera disminución de los ovocitos recuperados en el tercer ciclo con respecto a los dos anteriores. No es un descenso significativo y desde luego esta tendencia no se observa en los resultados obtenidos en la unidad pública, que aumenta ligeramente el número de ovocitos en el tercer ciclo, pero tampoco de forma significativa. En general, esta diferencia puede ser achacada a diferentes protocolos de estímulos usados en un centro u otro.

Estas diferencias en estímulos probablemente también sean el origen de las divergencias en cuanto al número de ovocitos obtenidos por punción y el número de ciclos cancelados post- punción. En general las estimulaciones ováricas suelen ser más agresivas en las clínicas privadas para optimizar más los ciclos de tratamiento que costean los propios pacientes. Como consecuencia de ello, se obtienen un mayor número de ovocitos por punción pero también aumenta el riesgo de que la mujer sufra síndrome de hiperestimulación ovárica, síndrome que está descrito como una complicación de los TRA, y en algunos casos pueden ser graves, necesitando ingreso hospitalario (Gómez *et al.*, 2010). Si se produce embarazo este cuadro puede verse agravado y se alargaría en el tiempo. Para evitar esta situación, en la clínica privada se cancelan más tratamientos antes de la transferencia y se procede a la congelación de ovocitos y/o embriones. No obstante las tasas de embarazo tras congelación suelen ser menores que con las transferencias en fresco, pero estos datos no se han tenido en cuenta al plantear este trabajo.

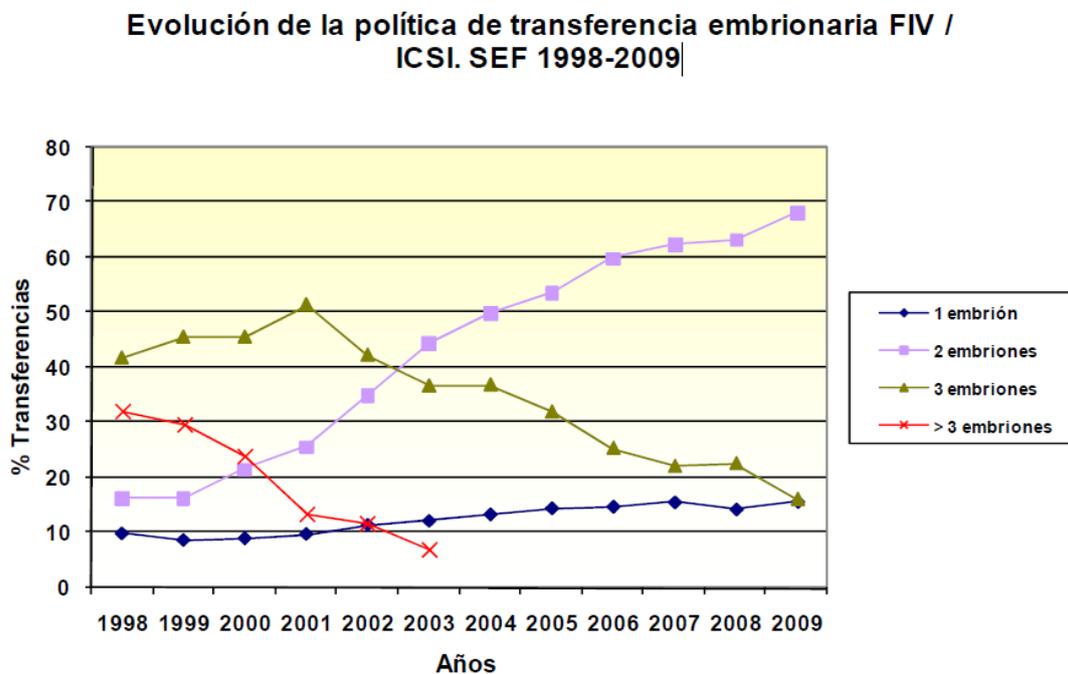
Por lo que respecta a la unidad pública, las pautas de estímulo serían más suaves, rindiendo con un menor número de ovocitos pero evitando también cancelaciones por riesgo de SHO.

Tanto el número de ovocitos maduros como los fecundados no se ven influenciados por la realización de más ciclos. No hay diferencias entre los tres ciclos realizados ni tampoco entre los dos centros.

La tasa de ovocitos maduros y fecundados no se ven influenciada por el número de ciclos y a pesar de que se obtienen más ovocitos en la unidad privada su tasa de maduros y fecundados es similar a la unidad pública (Fig.2).

Hace 34 años del nacimiento del primer bebe probeta y desde entonces las técnicas de reproducción han evolucionado mucho. Uno de los efectos más significativos ha sido el aumento de los partos de gemelos y partos múltiples. Este aumento de los partos múltiples viene determinado por el número de embriones que se transfieren ya que al transferir más embriones aumentaría la tasa de éxito. La sociedad científica siendo consciente del riesgo que entraña los partos múltiples aconseja la transferencia del menor número posible de embriones.

La Sociedad Española de Fertilidad recoge la evolución del número de embriones transferidos por ciclo desde 1998. (Gráfica 1)



Gráfica 1: Relación del número de embriones transferidos desde 1998 hasta el 2009.

Desde 1998 se observa un aumento exponencial de la transferencia de dos embriones, mientras que las transferencias de tres embriones disminuyen desde el 2001. Las transferencias de un embrión aumentan cada año, pero el aumento no es tan espectacular como la opción de transferir dos embriones. La razón por la cual a partir del 2003 no se aprecie transferencias de más de tres embriones es por la entrada en vigor de la ley 45/2003 que prohíbe las transferencias de más de tres embriones.

En el registro del 2009 España tiene una tasa de transferencia de 15,6% de un embrión, 68,2% de dos embriones y 16,1% de tres.

En Europa (ESHRE, 2012) la evolución del número de embriones a transferir por ciclo es muy similar a España. La tasa de transferencias de un embrión es del 21,4%, el 53,4% de dos embriones, el 22,7% de tres y el 2,5% de más de tres embriones. Destacar que Suecia es el país que más transferencias realiza con un embrión (69,9%) seguida de Finlandia y Bélgica con 57,8% y 50,2% respectivamente. La República de Macedonia es el país que realiza más transferencias con más de 3 embriones (18,3%) y Grecia el país que más transferencias hace con tres embriones (58,6%) frente al 0% que tiene Suecia.

En el estudio realizado se observa que en la unidad privada independientemente del ciclo de tratamiento el número de embriones transferidos no varía significativamente, sin embargo, en la unidad pública hay un aumento significativo del número de embriones transferidos en el tercer ciclo frente a los dos primeros. Esta diferencia del número medio de embriones transferidos en el tercer ciclo es causada por un aumento de la tasa de transferencia con tres embriones (19,1%) que se realiza en el tercer ciclo, es decir, en el tercer ciclo se transfieren más veces tres embriones que en ciclos anteriores. De esta manera en el tercer ciclo tenemos una tasa de transferencia de 13,2% de un embrión, 67,6% de dos embriones y 19,1% de tres.

La razón del aumento de transferencia de 3 embriones en el tercer ciclo es posiblemente la limitación del número de ciclos en el sector público, lo que sugiere que la clínica trata de maximizar las posibilidades al ofrecer menos oportunidades para el paciente.

Por otro lado, la decisión de transferir 2 o 3 embriones, además de estar consensuada con la pareja, dependerá también de las tasas de implantación que se

tengan en cada clínica, y el número de embarazos múltiples que se den. En el caso de la unidad pública la tasa de embarazos triples en el periodo estudiado fue de 0,009 habiendo sido negativo en los cuatro años previos.

La transferencia de tres embriones en estos ciclos no da lugar a una mayor tasa de embarazo, tal y como se describe en la literatura, por lo cual indicaría un peor pronóstico de los pacientes que en el centro público se someten a un tercer ciclo de tratamiento. Probablemente haya diferencias en los criterios de selección de pacientes que se someten a un tercer ciclo en ambos centros. Mientras que el centro privado tras un mal resultado en el primer y/o segundo ciclo se pueden desviar hacia otras técnicas como la donación de ovocitos o de PGS, en el centro público no se dispone de estas opciones y solo se puede ofrecer un tercer ciclo en el que la variación en las pautas de estímulo o el aumento del número de embriones en la transferencia, es la única alternativa o dar el alta médica a la pareja.

La tasa total de transferencia embrionaria en los tres ciclos realizados en la unidad pública es del 15,6% con un embrión, 78,3% con dos embriones y 6,1% con tres. Tasas similares a la media de España en relación a la transferencia de uno y dos embriones y tasa muy inferior de transferencia de tres embriones.

La tasa de cancelación de transferencia en la unidad pública no se ve alterada al realizar hasta tres ciclos, sin embargo, en la privada se aprecia una mayor cancelación en el segundo ciclo frente al tercero. Esta diferencia de tasa de cancelación podría deberse a la política de cancelación o a la diferencia de los protocolos de estimulación.

Se han realizado muchos estudios que comparan la tasa de embarazo o éxito con el número de intentos realizados, aún así es imposible compararlos entre ellos y sacar datos concretos. Esto es causado por las distintas definiciones de éxito de un tratamiento. Se puede hablar de éxito cuando el test de gestación es positivo, con una gestación clínica, gestación tras la presencia de latido, gestación con más de 12 semanas, con más de 14 semanas, o incluso con el número de niño nacido en casa (tendencia que está utilizando Europa para evaluar los TRA). Al haber tantas definiciones de éxito de un tratamiento no se pueden comparar los resultados entre ellos. También hay que tener en cuenta que la tasa de éxito varía según la técnica usada, no es lo mismo usar FIV clásica, que ICSI, que mezclar FIV-ICSI,... Además al no haber

protocolos estandarizados se pueden seleccionar a los pacientes según el pronóstico, eliminando aquellos con mal pronóstico.

Hay que tener en cuenta que muchos estudios hablan de tasa acumulada de embarazo y otros de tasa de embarazo, por lo cual las conclusiones no van a ser las mismas. Con la tasa acumulada de embarazo se corre el riesgo de hacer suposiciones de la probabilidad de ocurrencia de un embarazo para aquellos tratamientos que se interrumpen.

En el estudio realizado se ha calculado la tasa de embarazo por ciclo realizado. En el centro público se observa una tasa de embarazo en el tercer ciclo del 14,5% y de 21,1% y 16,3 % en el primer y segundo ciclo. No hay diferencias significativas de la tasa de embarazo del tercer ciclo frente al primero pero se observa una disminución. La tasa de embarazo por ciclo iniciado, es decir, en el primer ciclo es del 21,1%, tasa muy inferior a la media en España (31,1%) (SEF, 2009) y la Europea (30,3%) (ESHRE, 2012). Esta disminución se debe principalmente a que en la unidad de reproducción una vez realizado el tratamiento, no se realiza el seguimiento del embarazo y en ocasiones los resultados no son informatizados. Aunque los datos no estén informatizados, la tasa de embarazo que se obtiene en la unidad de reproducción del HUCA está en torno al 30%, siendo entonces semejante a otros países europeos con demostrada experiencia en estas técnicas como son en Dinamarca, Bélgica o Francia (ESHRE, 2012) pero inferior a la española (SEF, 2009)

La unidad privada a diferencia de la pública presenta tasas de embarazo superiores. En el tercer ciclo tiene una tasa de embarazo del 43,9%, y en el primer y segundo ciclo de 36,48% y 40,91% respectivamente. No se observan diferencias significativa entre el primer y tercer ciclo, aún así se observa un aumento de las tasas con relación al número de intento. Tanto en comparación con la tasas de embarazo por ciclo iniciado en España y en Europa, la tasa de embarazo en IERA es superior.

Existe una diferencia significativa entre las tasas de embarazo de ambos centros ( $P < 0,005$ ), que reitera las diferencias entre la medicina pública y privada en España.

En cuanto a los TRA, los centros públicos siempre muestran tasas de éxito menores que los centros privados. Esto puede ser atribuible a varias causas, como la adecuación de recursos humanos y materiales al número de ciclos de tratamientos que

se realizan (ASEBIR, 2008). Por otro lado, las largas listas de espera que soportan los centros públicos hacen que no tengan ninguna presión por “maquillar” sus resultados ya que no tienen que competir por los pacientes. En la medicina privada, esa competencia se da y probablemente influya en los resultados que cada centro muestra.

También puede deberse al peor pronóstico de los pacientes. En las unidades públicas se esperarían parejas más jóvenes que en las privadas, pero estas tienen una mayor historia de infertilidad causada por la lista de espera (Eijkemans *et al.* 2008).

Algunas mujeres se someten a su primer ciclo en un centro privado, mientras que el resto están en la lista de espera. Esto produciría una selección del sesgo, ya que las parejas con una mayor probabilidad de lograr el embarazo se tratan en el privado y por lo tanto en el público el tratamiento sería para una población con menor posibilidad.

Klemetti *et al.* (2007) estudió los problemas socioeconómicos en relación al éxito de los tratamientos de reproducción asistida. Observo como mujeres con un medio/alto poder adquisitivo realizaban sus tratamientos en el sector privado y las que tenían un poder adquisitivo medio/bajo iban al público y obtenían peores resultados. Por tanto, estas diferencias pueden estar relacionadas con la infertilidad más grave o con una mayor prevalencia de factores de riesgo relacionados con la infertilidad tales como fumar o la obesidad, que son más comunes entre las mujeres con baja posición socioeconómicas.

Otro factor que hace patente que la tasa de embarazo sea superior en el privado que en el público es la gran gama de tratamientos que se ofertan en un centro privado y no en el público. Por ejemplo, la donación de ovocitos y la técnica de diagnóstico genético preimplantacional se dan mayoritariamente en el sector privado. Así pacientes que tengan una mala respuesta ovárica o no consigan el embarazo se le ofrece la posibilidad de hacer una transferencia con ovocitos donados. Se produce de esta manera una mayor selección de los pacientes que llegan a un tercer ciclo. Sin embargo, en la clínica pública al no poder ofertar nada más salvo la posibilidad de realizar otro ciclo, el número de pacientes que llegan al tercer ciclo serán superiores al privado, aun cuando se prevea que la posibilidad de variar el resultado sea escasa.

En la ley 14/2006 se contempla la creación de un registro oficial que regule los centros y las técnicas de reproducción asistida. En el momento actual este registro no

existe y lo más parecido que hay es el registro que realiza la SEF donde los centros participan de forma voluntaria. Cuando el registro sea oficial como en los países de nuestro entorno se podrá valorar si las diferencias entre centros públicos y privados eran tales o si estaban influidos por alguna clase de sesgo.

## CONCLUSIONES

- No se observan diferencias significativas entre los terceros ciclos versus el primero y segundo en ninguno de los parámetros estudiados. Probablemente sea debido a que los pacientes se van seleccionando y solo llegan a un tercer ciclo aquellos que tengan un mínimo de probabilidad de éxito.
- En los resultados aportados por la clínica privada se observan un mayor número de ovocitos recuperados pero hay una mayor tasa de cancelación.
- Se observan un mayor número de embriones transferidos en el tercer ciclo en la unidad pública sin que esto refunde en una mayor tasa de embarazo.
- La tasa de embarazo por transferencia, entendida esta por  $\beta$ -HCG positivo a los 15 días de la transferencia, en IERA son significativamente superiores, independientemente del número de ciclo que haya realizado la mujer.
- En el HUCA la tasa de embarazo por transferencia es inferior a las de IERA, pero se asemejan a las publicadas por ESHRE que reflejan las tasas de otros países de nuestro entorno.

## BIBLIOGRAFÍA

- ASEBIR (Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción). Cuaderno de embriología clínica. Recomendaciones sobre recursos humanos y físicos para el laboratorio de Reproducción. 2008
- Benchaib M, Braun V, Lornage J, Handj S, Salle B, Lejeune H, et al. Sperm DNA fragmentation decreases the pregnancy rate in an assisted reproductive technique. *Human Reproduction* 2003; 18(5): 1023-1028.
- Bergh C, Josefsson B, Nilsson L and Hamberger L. The success rate in a Swedish in-vitro fertilization unit: a cohort study. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica* 1995; 74:446-450.
- Broekmans FJ and Klinkert ER. Female age in ART: when to stop. *Gynecologic and Obstetric Investigation* 2004; 58:225-234.
- Castilla JA, Hernández E, Cabello Y, Navarro JL, Hernández J, Gómez JL, et al. Assisted reproductive technologies in public and private clinics. *Reproductive BioMedicine Online* 2009; 19(6):872-878.
- Croucherl A, Lass A, Margara R and M.Winston R. Predictive value of the results of a first in-vitro fertilization cycle on the outcome of subsequent cycles. *Human Reproduction* 1998; 13(2): 403-408.

- De Vries MJ, De Sutter P and Dhont M. Prognostic factors in patients continuing in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection treatment and dropouts. *Fertility and Sterility* 1999; 72(4):674-678.
- Doncaster Primary Care Trust. *Effective & Appropriate Healthcare*. Doncaster (United Kingdom). 2002.
- Dor J, Seidman D.S, Ben-Shlomo, Levran D, Ben-Rafael Z and Mashiach S. Cumulative pregnancy rate following in-vitro fertilization: the significance of age and infertility aetiology. *Human Reproduction* 1996; 11(2): 425-428.
- Eijkemans M.J.C., Lintsen A.M.E., Hunault C.C., Bouwmans C.A.M., Hakkaart L, Braat D.D.M, et al. Pregnancy chances on a IVF/ICSI waiting list: a national prospective cohort study. *Human Reproduction* 2008; 23(7):1627-1632.
- Engmann L., Maconochie N., S. Bekir J., S. Jacobs H., Tan S.L. Cumulative probability of clinical pregnancy and live birth after a multiple cycle IVF package: a more realistic assessment of overall and age-specific success rates?. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1999; 106: 165-170.
- ESHRE, Mouzon J., Goossens V., Bhattacharya S., Castilla J.A., Ferraretti A.P., et al. Assisted reproductive technology in Europe, 2007: results generated from European registers by ESHRE. *Human Reproduction* 2012; 27(4):954-966.
- Expósito A, Castilla J A, Suárez I, Expósito A I, Luceño F, Núñez AI, et al. Actitud ante fallos de FIV e ICSI. *Revista Iberoamericana de Fertilidad* Marzo-Abril 2001; 18(2):91-99.

- G.I. van Weering H, Schats R, McDonnell J, M.Vink J, P.W.Vermeiden J and G.A. Hompes P. The impact of the embryo transfer catéter on the pregnancy rate in IVF. *Human Reproduction* 2002; 17(3):666-670
- Geva and Amit. Embryo transfer and multiple gestation. How many transfer are too many? *Human Reproduction* 1998; 13(11): 2988-2989.
- Geva and Amit. IVF treatment after successive failed attempts: what next? *Assist Reprod Rev* 1994; 4:150-154.
- Gómez R, Soares SR, Busso C, Garcia-Velasco JA, Simón C and Pellicer A. Physiology and pathology of ovarian hyperstimulation syndrome. *Semin Reprod Med* 2010; 28(6):448-457.
- Guzick D., Wilkes C. and Jones H.W.Jr. Cumulative pregnancy rates for in vitro fertilization. *Fertility and Sterility* 1986; 46:663-667.
- Haan G, Bernardus RE, Hollanders HM, Leerentveld BA, Prak FM and Naaktgeboren N. Selective drop-out in successive in-vitro fertilization attempts: the pendulum danger. *Human Reproduction* 1991; 6(7):939-943.
- Hendriks DJ, te Velde ER, Looman CW, Bancsi LF and Broekmans FJ. Expected poor ovarian response in predicting cumulative pregnancy rates: a powerful tool. *Reproductive Biomedical Online* 2008; 17(5): 727-736.
- Hershlag A, Kaplan EH, Loy RA, DeCherney AH and Lavy G. Heterogeneity in patient populations explains differences in in-vitro fertilization programs. *Fertility and Sterility* 1991; 56(5):913-917.

- Hoveyda F, Engmann L, Steele J, Lopez Bernal A and Barlow DH. Ovarian response in three consecutive in vitro fertilization cycles. *Fertility and Sterility* 2002; 77(4):706-710.
- J.de Boer E, Den Tonkelaar I, W.Burger C, C.W.N.Looman, E. van Leeuwen F, R.te Velde E, et al. The number of retrieved oocytes does not decrease during consecutive gonadotrophin-stimulated IVF cycles. *Human Reproduction* 2004; 19(4): 899-904.
- Kelly SM, Buckett WM and Tan SL. Effect of repeated assisted reproductive technology on ovarian response. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2003; 15(3):219-224.
- Klemetti R, Gissler M, Sevón T and Hemminki E. Resource allocation of in vitro fertilization: a nationwide register-based cohort study. *BMC Health Serv Res* 2007; 7:208-210.
- Klinkert ER , Broekmans FJ , Looman CW and Te Velde RE. A poor response in the first in vitro fertilization cycle is not necessarily related to a poor prognosis in subsequent cycles. *Fertility and Sterility* 2004; 81(5):1247-1253.
- Kolibianakis E, Osmanagaoglu K, Camus M, Tournaye H, Van Steirteghem A, and Devroey P. Effect of repeated assisted reproductive technology cycles on ovarian response. *Fertility and Sterility* 2002; 77(5):965-970.
- Land J.A., Courtar D.A. and Evers J.L.H. Patient dropout in an assisted reproductive technology program: implications for pregnancy rates. *Fertility and Sterility* 1997; 68(2): 278-281.

- Malizia B,R. Hacker M, M.S.P.H. and S. Penzias A. Cumulative Live-Birth Rates after In Vitro Fertilization. The new England Journal of Medicine 2009; 390:236-243.
- Meldrum D., Sflverberg K., Bustillo M. and Stokes L. Success rate with repeated cycles in vitro fertilization-embryo transfer. Fertility and Sterility 1998; 69(6): 1005-1009.
- MUFACE (Mutualidad General de Funcionarios civiles del Estado). Guía de recomendaciones en reproducción humana asistida. Madrid. Ministerio de Administración Pública. 2002
- Núñez Calonge R, García Enguñdanos A, Cortés Gallego S, Sarrias Ramírez O, Caballero Peregrín P. Factores que influyen en los fallos de Fecundación In vitro. Revista Iberoamericana de Fertilidad Sept-Oct 2001; 18(5): 5-18.
- Osmanagaoglu K, Tournaye H, Camus M, Vandervorst M, Van Steirteghem A and Devroey P. Cumulative delivery rates after intracytoplasmic sperm injection: 5 year follow-up of 498 patients. Human Reproduction 1999; 14(10):2651-2655.
- Osmanagaoglu K, Tournaye H, Kolibianakis E, Camus M, Van Steirteghem A and Devroey P. Cumulative delivery rates after ICSI in women aged >37 years. Human Reproduction 2002; 17(4):940-944.
- OSTEBA (Servicio de Evaluación de Tecnologías Sanitarias). La reproducción humana asistida en España. Criterios para su priorización. Victoria, Gasteiz. 2002

- Padilla SA and Garcia JE. Effect of maternal age and number of in vitro fertilization procedure on pregnancy outcome. *Fertility and Sterility* 1989; 52: 270-273.
- Pelinck M. J, Vogel N.E.A, Arts E.G.J.M, Simons A.H.M, Heineman M.J and Hoek A. Cumulative pregnancy rates after a maximum of nine cycles of modified natural cycle IVF and analysis of patient drop-out: a cohort study. *Human Reproduction* 2007; 22(9): 2463-2470.
- Registro SE. Registro de la Sociedad Española de Fertilidad: Técnicas de reproducción asistida (IA y FIV/ICSI). Información estadístico final. 2009
- Roest J, van Heusden A.M., Zeilmaker G.H. and Verhoeff A. Cumulative pregnancy rates and selective drop-out of patients in in-vitro fertilization treatment. *Human Reproduction* 1998; 13(2): 339-341.
- Salakos N, Roupa Z, Sotiropoulou P, Grigoriou O. Family planning and psychosocial support for infertile couples. *Eur J Contracept Reprod Health Care* 2004; 9(1):47-51.
- Schimberni M, Morgia F, Colabianchi J, Giallonardo A, Piscitelli C, Giannini P, et al. Natural-cycle in vitro fertilization in poor responder patients: a survey of 500 consecutive cycles. *Fertility and Sterility* 2009; 92(4):1297-1301.
- Shapiro BS, Richter KS, Harris DC and Daneshmand ST. Dramatic declines in implantation and pregnancy rates in patients who undergo repeated cycles of in vitro fertilization with blastocyst transfer after one or more failed attempts. *Fertility and Sterility* 2001; 76(3):538-542.

- Stolwijk A.M, Hamilton C.J.C.M, Hollanders J.M.G, Bastiaans L.A and Zielhuis G.A. A more realistic approach to the cumulative pregnancy rate after in-vitro fertilization. *Human Reproduction* 1996; 11(3): 660-663.
- Stolwijk A.M, Wetzels A.M.M. and Braat D.D.M. Cumulative probability of achieving an ongoing pregnancy after in-vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection according to a woman's age, subfertility diagnosis and primary or secondary subfertility. *Human Reproduction* 2000; 15(1): 200-209.
- Tan S.L., Betts J., Mason B., Edwards R.G., Tan S.L., Campbell S., et al. Cumulative conception and livebirth rates after in-vitro fertilisation. *The Lancet* 1992; 339(1):1390-1394.
- Tan SL, Doyle P, Maconochie N, Edwards RG, Balen A, Bekir J, et al. Pregnancy and birth rates of live infants after in vitro fertilization in women with and without previous in vitro fertilization pregnancies: A study of eight thousand cycles at one center. *Am J. Obstet Gynecol* 1994; 170(1):34-40.