

# Gravidez no Climatério

Joao Pedro Junqueira Caetano

Leonardo Meyer de Moraes

Ricardo Mello Marinho

## Introdução

As principais alterações biológicas que ocorrem durante o climatério estão basicamente relacionadas à diminuição da população folicular ovariana. Durante período intra-útero, por volta da 6ª semana, as células germinativas iniciam uma rápida multiplicação mitótica, alcançando um número de 6 a 7 milhões por volta da 20ª semana <sup>(1,2)</sup>. Ao nascimento, após regressão maciça durante a 2ª metade da gravidez, o número de células germinativas se reduz para aproximadamente 1 a 2 milhões <sup>(3)</sup>. Estas células germinativas, rodeadas por uma camada simples de células da granulosa e uma membrana basal, darão origem aos folículos primordiais. Após o nascimento, a perda de oócitos ocorre por atresia. Durante a infância e a pré-adolescência ocorre desenvolvimento folicular, mas esse desenvolvimento não é completo. No início da puberdade, o número de folículos é de aproximadamente 300.000 a 400.000 <sup>(4)</sup>, atingindo alguns milhares após 3 décadas. Em cada ciclo menstrual durante o menacme, são disponibilizados pelo ovário cerca de 1.000 folículos mas, deste total, somente 1 folículo irá terminar seu estágio final de amadurecimento e ovulará. Este processo é contínuo e inexorável, isto é, nenhum evento atualmente conhecido é capaz de interromper este processo contínuo de atresia folicular, seja o uso de contraceptivos hormonais orais, a indução da ovulação, o uso de análogos do aGnRH, entre outros. Na época do último ciclo menstrual, que ocorre por volta dos 51 anos de idade, apenas cerca de 1.000 folículos estão presentes no ovário <sup>(5)</sup>. Após um período de 3-5 anos, o ovário está completamente depletado de folículos <sup>(6,7,8)</sup>.

## Idade e Fertilidade

Hoje em dia as mulheres estão adiando cada vez mais o momento de terem um filho, priorizando objetivos educacionais e profissionais. Além disso, o aumento no número de divórcios vem tornando rotineira a utilização das técnicas de reprodução assistida por mulheres com idade mais avançada, desejosas em terem um filho com o novo marido. Portanto, a situação de uma gravidez após os 40 anos, durante o climatério ou mesmo após a menopausa tem se tornado cada dia mais comum e representa uma nova situação para os médicos, haja visto o aumento das complicações obstétricas e neonatais.

O grande problema da mulher é que ela já nasce, como visto acima, com toda a sua população de gametas, ao contrário do homem, que produz novas linhagens de gametas a cada 74 dias. Os melhores óvulos produzidos na vida intra-uterina são os primeiros a serem ovulados e os “últimos” são aqueles com pior qualidade e que “envelheceram” dentro do ovário. A probabilidade de um óvulo apresentar defeitos estruturais, como por exemplo alteração nos centríolos que controlam o “crossing over”, aumenta proporcionalmente com a idade. Alguns estudos demonstraram que embriões de mulheres com mais de 40 anos, aparentemente saudáveis, apresentavam até 50% de anormalidades genéticas, ao passo que entre as mulheres com menos de 40 anos esta taxa era de somente 10% <sup>(9)</sup>. É provável que esta taxa de anormalidades seja ainda muito maior, haja visto que nestes estudos pesquisou-se anormalidades em somente 5 cromossomos: X, Y, 13, 18 e 21 <sup>(9)</sup>.

O declínio da fertilidade está diretamente relacionado ao processo de depleção folicular e pode ser observado já a partir dos 30 anos de idade <sup>(10, 11)</sup>. Este declínio é gradual até os 35 anos, acentuando-se após esta idade, e está mais relacionado a fatores ovarianos do que a fatores uterinos <sup>(12)</sup>. A idade de 36-37 anos é, de forma geral, um marco importante, pois delimita o início do período onde a mulher irá apresentar declínio acentuado da fertilidade <sup>(13)</sup>. Todo médico deve ter estas informações em mente para que possa orientar aquele grupo de mulheres que adiam a maternidade para após os 35 anos, pois nenhum tratamento conhecido é capaz de reverter este processo. Para se ter uma idéia, a possibilidade de se engravidar espontaneamente entre os 35-39 anos de idade é aproximadamente 50% menor que entre 30-34 anos. Quando comparamos com o grupo de mulheres entre 25-29 anos, o grupo entre 35-39 anos tem uma chance de gravidez 75% menor <sup>(14)</sup>. Mesmo utilizando-se de modernas técnicas de reprodução assistida, tais como a fertilização in vitro (FIV), as

chances de se obter uma gravidez evolutiva após os 40 anos de idade são incrivelmente baixas (2,8%)<sup>(15)</sup>, a ponto de alguns serviços de infertilidade não realizarem FIV em pacientes nesta faixa etária. Gravidezes espontâneas são bastante raras após os 45 anos de idade<sup>(12)</sup>.

### Idade e Abortamento

Outro dado importante a ser analisado é o alto risco que mulheres mais velhas possuem de terem uma gravidez com anormalidade genética ou desta gravidez evoluir para um abortamento<sup>(16)</sup>. Em um estudo com pacientes inférteis, mulheres acima dos 40 anos apresentaram um aumento de 5 vezes nas taxas de abortamento (20%) quando comparadas às pacientes com idade entre 31-35 anos (4%)<sup>(17)</sup>. Este aumento na taxa de abortamentos está relacionada ao envelhecimento do oócito e não à idade do útero, haja visto os ótimos resultados alcançados em ciclos de FIV com óvulos doados<sup>(18,19)</sup>. De forma objetiva, quanto mais velha for a paciente, menor será probabilidade de uma gravidez chegar ao termo (devendo-se ficar claro que estamos falando de idade ovariana), e um ponto de corte razoável para uma zona de alerta seria a idade de 35 anos<sup>(13)</sup>. Após os 40 anos, a chance de gravidez é ainda menor, havendo ainda uma grande probabilidade da gestação evoluir para um abortamento, o qual geralmente é de causa genética<sup>(20)</sup>.

### Propedêutica para Infertilidade

Pacientes com mais de 35 anos de idade que apresentam dificuldade para engravidar devem submeter-se a exames marcadores de fertilidade e a testes dinâmicos de prognóstico de fertilidade<sup>(21,22,23)</sup>. Os marcadores de fertilidade mais utilizados são o FSH e o estradiol séricos, ambos realizados no 3º dia do ciclo. Considera-se a dosagem do FSH basal como melhor preditor da resposta ovariana em ciclos estimulados em relação à idade da mulher<sup>(24)</sup>. Dosagens de FSH superiores a 10 mUI/ml já indicam prognóstico diminuído, dosagens acima de 15 mUI/ml traduzem chances bastante reduzidas e acima de 20 UI/ml as chances são próximas de zero. Valores de estradiol superiores a 56-75 pg/ml traduzem elevação do FSH no final do ciclo anterior e apresentam valor prognóstico negativo para gravidez. Com relação aos testes dinâmicos, o mais utilizado e fácil de ser realizado é o teste do clomifeno ou teste de Navot<sup>(25)</sup>. Este teste teoricamente identifica mulheres com depleção avançada dos folículos ovarianos ou diminuição da qualidade oocitária<sup>(12)</sup>. Consiste na dosagem do FSH no 3º dia do ciclo menstrual, com posterior administração do citrato

de clomifeno na dosagem de 100 mg por dia do 5º ao 9º dia do ciclo; no 10º dia do ciclo repete-se a dosagem de FSH e os dois valores obtidos são somados; se a soma for > 26 mUI/ml, a probabilidade de uma gravidez ocorrer é muito pequena, independentemente do tratamento realizado <sup>(12)</sup>.

Com relação à inibina, estudos são necessários para se verificar seu real valor na predição da resposta ovariana à estimulação. Sabe-se que a secreção da inibina B está relacionada à foliculogênese na primeira metade do ciclo menstrual e a inibina A eleva-se durante a fase lútea. Um estudo realizado por Seifer *et al.* <sup>(26)</sup> demonstrou que mulheres com níveis normais de inibina B no 3º dia do ciclo menstrual apresentam uma chance 6,8 vezes maior de gravidez em ciclos de FIV quando comparadas àquelas com níveis baixos de inibina, sendo que este achado foi independente dos níveis de estradiol e FSH basais ou da idade da paciente <sup>(27)</sup>. Assim sendo, a dosagem de inibina B pode representar um valor prognóstico independente na determinação da diminuição da reserva ovariana.

## Doação de Oócitos

### A. HISTÓRICO

A doação de oócitos é efetivamente a única opção de tratamento para aquelas pacientes que apresentam problemas ovocitários relacionados à idade e para aquelas com menopausa fisiológica <sup>(27,28,29,30,31,32,33,34,35,36)</sup>. Mulheres com idade superior a 40 anos e que já realizaram mais de 3 tentativas de FIV sem sucesso devem ser também encaminhadas para os programas de doação de oócitos <sup>(35)</sup>. Em 1983, Trounson *et al.* <sup>(37)</sup> publicaram a primeira gravidez após doação de oócito, mas a gestação evoluiu para abortamento. Em 1984, Lutjen *et al.* <sup>(38)</sup> relataram o primeiro nascimento de uma criança através da doação de oócitos. Em 1986, Navot *et al.* <sup>(39)</sup> publicaram a primeira gravidez em uma receptora ooforectomizada; Van Steirteghem *et al.* <sup>(40)</sup> relataram a primeira gravidez após criopreservação de um embrião humano doado; Leeton *et al.* <sup>(41)</sup> publicaram o primeiro caso onde a irmã foi doadora; Asch *et al.* <sup>(42)</sup> relataram a primeira gestação obtida por GIFT após doação de oócitos. Em 1989, Devroey *et al.* <sup>(43)</sup> iniciaram a utilização de análogos do GnRH para sincronização dos ciclos da doadora e receptora. Em 1993 foram relatadas as primeiras gestações por doação de oócitos em mulheres na pós-menopausa <sup>(30,32,36)</sup>. Em 1997 foi relatada uma gravidez após doação de oócitos em uma mulher de 63 anos, com nascimento a termo de uma criança saudável <sup>(44)</sup>.

### B. DOADORAS

Normalmente, em nosso meio, a forma de obtenção de oócitos ocorre através de pacientes submetidas à FIV que doam seus oócitos excedentes. O inconveniente dessa forma de doação é que poucas pacientes que se submetem aos protocolos de hiperestimulação ovariana podem realmente doar. Em consequência disto, o tempo de espera por uma doação pode ser grande. No Brasil, a doação de óvulos deve ser anônima e não comercial, isto é, não se permite qualquer tipo de pagamento às doadoras para que não haja nenhum tipo de caracterização de comercialização de tecidos humanos.

As doadoras podem ser:

1) Pacientes de Fertilização In-Vitro que concordem em doar os oócitos excedentes.

2) Irmãs e familiares das receptoras (doação cruzada).

3) Em alguns centros, pacientes que irão submeter-se à laqueadura tubária concordam em receber estimulação ovariana com gonadotropinas antes do procedimento cirúrgico, para que doem oócitos.

4) Mulheres que voluntária e altruisticamente concordem em doar oócitos.

No Brasil, existe uma regulamentação para a utilização das Técnicas de Reprodução Assistida (Resolução CFM Nº 1.358/92) que, sobre doação de gametas ou pré-embriões, diz:

1- A doação nunca terá caráter lucrativo ou comercial.

2- Os doadores não devem conhecer a identidade dos receptores e vice-versa.

3- Obrigatoriamente será mantido o sigilo sobre a identidade dos doadores de gametas e pré-embriões, assim como dos receptores. Em situações especiais, as informações sobre os doadores, por motivação médica, podem ser fornecidas exclusivamente para médicos, resguardando-se a identidade civil do doador.

4- As clínicas, centros ou serviços que empregam a doação devem manter um registro de dados clínicos de caráter geral, características fenotípicas e uma mostra de material celular dos doadores.

5- Na região de localização da unidade, o registro das gestações evitará que um doador tenha produzido mais que 2 (duas) gestações, de sexos diferentes, numa área de um milhão de habitantes.

6- A escolha dos doadores é de responsabilidade da unidade. Dentro do possível, deve-se garantir que a doadora dos oócitos tenha a maior semelhança fenotípica e imunológica e a máxima possibilidade de compatibilidade com a receptora.

7- Não será permitido ao médico responsável pelas clínicas, unidades ou serviços, nem aos integrantes da equipe multidisciplinar que nelas prestam serviço, participarem como doadores nos programas de reprodução assistida.

As doadoras devem submeter-se previamente a um protocolo de avaliação <sup>(45)</sup>, que inclui:

1) Avaliação psicológica, para se descartar distúrbios psiquiátricos e/ou emocionais importantes.

2) Avaliação médica: anamnese e exame físico completos, hematimetria, bioquímica sanguínea (glicemia de jejum, teste de tolerância à glicose, lípidos totais e frações, função renal, função hepática), coagulograma, TSH, exame colpocitológico, mamografia, avaliação clínica e cardiológica completa; investigação de doenças infecto-contagiosas (sífilis, hepatite, AIDS, Chagas, toxoplasmose, rubéola, citomegalovírus).

3) Avaliação de fatores reprodutivos: ultra-sonografia transvaginal da pelve; histerossalpingografia; espermograma e espermocultura; avaliação de alterações genéticas na família.

Os protocolos de estimulação ovariana das doadoras são os mais diversos, podendo-se utilizar desde o citrato de clomifeno associado ao hCG até a associação de análogos do GnRH com gonadotrofinas. É importante ressaltar que a doadora deve ser submetida ao mínimo de risco cirúrgico possível, procurando-se evitar um hiperestímulo ovariano de qualquer grau. A aspiração folicular deve ser feita preferencialmente em ambiente cirúrgico, por via ultrassonográfica transvaginal, sob anestesia.

### C. RECEPTORAS

Durante a avaliação clínica da receptora antes de incluí-la no programa, deve-se estar atento para se evitar a inclusão inadvertida de pacientes com doenças conhecidas, especialmente cardiovasculares ou complicações diabéticas. Seu passado obstétrico deve ser conhecido, especialmente porque a incidência de complicações obstétricas aumenta após a terceira década de vida. A avaliação do perfil psicológico é essencial para se evitar que distúrbios de personalidade importantes possam levar a problemas indesejáveis, tanto emocionais como legais <sup>(46,47,48)</sup>.

Toda paciente admitida como receptora em potencial passa por um protocolo próprio que consta de:

1) Avaliação psicológica e consentimento informado.

2) Avaliação médica: anamnese e exame físico completos, hematimetria, bioquímica sanguínea (glicemia de jejum, teste de tolerância à glicose, lípidos totais e frações, função renal, função hepática), coagulograma, TSH, exame colpocitológico, mamografia, avaliação clínica e cardiológica completa; investigação de doenças infecto-contagiosas (sífilis, hepatite, AIDS, Chagas, toxoplasmose, rubéola, citomegalovírus).

3) Avaliação de fatores reprodutivos (histeroscopia, ultra-sonografia transvaginal, biópsia endometrial em ciclo teste de reposição hormonal, espermograma com morfologia estrita, teste de capacitação espermática e espermocultura).

#### D. PROGRAMA DE DOAÇÃO DE OÓCITOS

Deve-se utilizar os agonistas do GnRH para bloquear o ciclo nas receptoras que ainda apresentam função ovariana, visando facilitar a sincronização com a doadora. Quando a paciente não mais apresenta função ovariana ou quando foi realizada ooforectomia, basta recriar o ciclo utilizando estrogênio e progesterona exógenos <sup>(49)</sup>. Enquanto que o estrogênio se faz necessário para a proliferação endometrial e indução de receptores endometriais para a progesterona na primeira fase de preparação endometrial, permanece pouco clara sua necessidade durante a fase lútea no que diz respeito à implantação embrionária e à manutenção da gravidez inicial. De Ziegler *et al.* <sup>(50)</sup> demonstraram que a depleção de estradiol durante a fase lútea não apresentava efeito deletério sobre

desenvolvimento e maturação endometriais. Já a reposição de progesterona na fase lútea se faz necessária para a implantação embrionária e manutenção da gestação na maioria dos primatas <sup>(51)</sup>. As receptoras devem ter seu endométrio preparado artificialmente e de forma sincrônica à estimulação ovariana da doadora, para que a transferência do(s) embrião(ões) ocorra entre os dias 16 e 19 do ciclo da receptora. O controle do ciclo de preparo endometrial deve ser realizado através de exames de ultra-som transvaginal, de preferência a partir do 10º dia de uso do estrogênio. Como o dia do pico de LH (num ciclo espontâneo) é o décimo-quarto dia, o dia do início da administração de progesterona é arbitrariamente definido como o 15º dia do ciclo.

Um ciclo artificial é realizado da seguinte maneira: 2mg/dia de valerato de estradiol são administrados oralmente do primeiro ao quinto dia. A dosagem é aumentada para 4mg/dia nos dias 6 a 9, e para 8 mg/dia nos dias 10 a 13. A dosagem é, então, reduzida para 4 mg/dia nos dias 14 a 28. De acordo com a evolução da indução da ovulação da paciente doadora, podemos manter o dia “14” por um período razoavelmente longo, de aproximadamente 30 dias <sup>(52)</sup>, desde que não haja sangramento. Havendo disponibilidade de oócitos no dia da captação, iniciamos uma aplicação intramuscular de 2 ml (100 mg) de progesterona oleosa por dia na receptora. Pode ser usada também progesterona micronizada na dose de 300 mg, três vezes ao dia, sempre por via vaginal. Mais recentemente, tem sido preconizado também o uso de um gel de progesterona vaginal, na dose de 90 mg em uma única aplicação diária <sup>(53)</sup> Em caso de gravidez, a progesterona deve ser mantida até a 12ª semana de gestação e o estradiol até a 8ª semana.

Valerato de estradiol - 2mg do 1º ao 5º dia.

- 4mg do 6º ao 9º dia.

- 8mg do 10º ao 13º dia.

- 4mg do 14º ao 28º dia.

- 2 mg por dia, a partir do hCG positivo até a 8ª semana.

Progesterona - 100 mg de progesterona injetável a partir do 15º dia.

Recentemente, bons resultados têm sido obtidos com a utilização de um protocolo para preparo do endométrio em receptoras com função ovariana presente sem a utilização de análogo do GnRH <sup>(54)</sup>. Apesar de neste estudo o preparo endometrial ter sido realizado para recepção de embriões descongelados, o mesmo pode ser aplicado para programas de doação de oócitos <sup>(55)</sup>. Neste protocolo, utiliza-se uma dosagem fixa de 6 mg por dia de estradiol micronizado ou valerato de estradiol a partir

do 1º dia da menstruação, seguida da administração de progesterona conforme o protocolo descrito anteriormente. A monitorização pode ser realizada através da medida da espessura endometrial pela ultra-sonografia transvaginal e dosagem de progesterona no dia do início da administração da progesterona exógena. Se a espessura endometrial estiver adequada (> 7 mm) e não se detectar elevação na dosagem de progesterona sérica, inicia-se então a administração vaginal de progesterona para posterior transferência dos embriões.

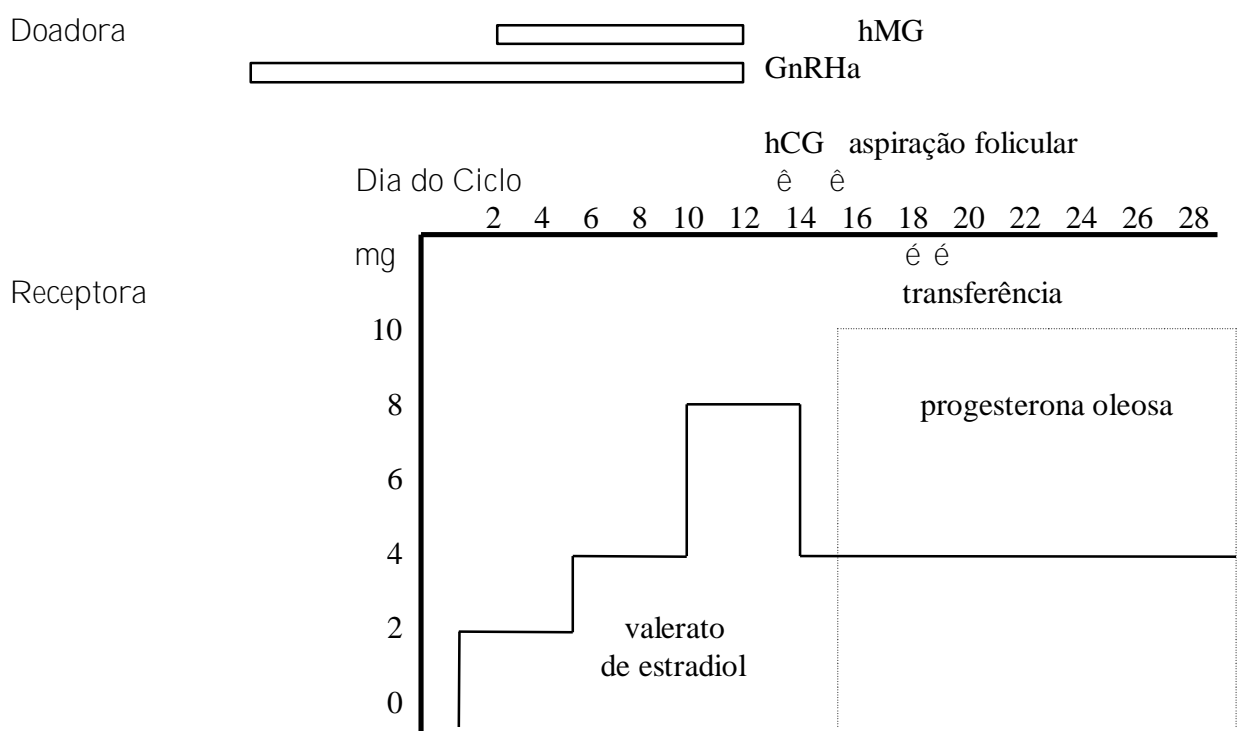


Figura 1- Esquema de sincronização doadora / receptora

### Resultados

O valor da utilização de tratamentos empíricos para mulheres acima de 35 anos, como por exemplo a estimulação ovariana associada à inseminação intra-uterina, tem sido bastante questionado, pois as taxas de sucesso são tão baixas que se aproximam das taxas de gravidez espontânea <sup>(56)</sup>. No estudo de Hull *et al.* <sup>(57)</sup>, mulheres com idade entre 40 e 44 anos, com boa resposta à estimulação ovariana e bom número de embriões transferidos, apresentaram taxa de implantação média de 6,7% e

taxa de nascimento de feto vivo de apenas 8,8% por transferência embrionária, enquanto que mulheres jovens apresentaram taxas de implantação entre 14,4 e 17,9% e taxa de “bebê em casa” entre 27 e 32%<sup>(57)</sup>. Estes resultados demonstram que os baixos índices de gravidez e nascimento em mulheres com mais de 40 anos estão relacionados também a fatores embrionários, além da má resposta ovariana e má qualidade oocitária. Esses maus resultados podem ser parcialmente compensados, quando possível, através da transferência de um maior número de embriões<sup>(58)</sup>.

Por outro lado, oócitos de mulheres mais velhas tendem a apresentar um endurecimento da zona pelúcida, o qual dificulta o processo de implantação embrionária. Diante deste fato, tem-se recomendado a utilização da técnica de *assisted hatching*, a qual consiste na criação de uma pequena ruptura na zona pelúcida, com o objetivo de melhorar as taxas de implantação<sup>(58)</sup>. Entretanto, estudos têm demonstrado aumento na incidência de gêmeos monozigóticos e gêmeos siameses, devendo-se portanto reservar a técnica de *assisted hatching* para aqueles casos sabidamente de mau prognóstico<sup>(59)</sup>.

Em programas de doação de óvulos, observa-se que os resultados de gravidez entre as receptoras são tão bons ou melhores que os resultados obtidos por pacientes jovens com seus próprios óvulos<sup>(60)</sup>. Aparentemente, a idade materna parece não ter grande influência sobre os resultados obtidos em programas de doação de oócitos<sup>(61)</sup>. Segundo os dados registrados pela Sociedade Americana de Medicina Reprodutiva no ano de 1996, a taxa de gravidez clínica por transferência de embriões em procedimentos realizados com óvulos doados foi de 45,1%, e a taxa de nascimento foi de 39,1%. No caso de embriões criopreservados obtidos de óvulos doados, essas taxas foram de 26,7% e 20,8%, respectivamente<sup>(62)</sup>.

### Resultados Obstétricos

As mulheres que engravidam após a doação de oócitos apresentam um incidência maior de DHEG, diabetes gestacional e de cesária<sup>(63, 64, 65, 66)</sup>. Já a incidência de prematuridade parece estar relacionada com as gestações múltiplas e suas consequências. De forma objetiva, as pacientes mais velhas (> 45 anos) apresentam inerentemente um aumento da incidência de patologias que podem ter uma repercussão negativa sobre a evolução da gestação natural, o mesmo ocorrendo para a gestação após doação de oócitos na pós menopausa<sup>(67,68)</sup>. Addalla *et al.*<sup>(69)</sup> acompanharam 322 gestações pós ovodoação e encontraram 23% de DHEG nas gestações que evoluíram para parto, 12% de hemorragia

pós-parto; no grupo de gestações únicas a incidência de prematuro foi de 13%; a taxa de cesária foi de 69%; conclui neste estudo que as pacientes apresentam uma incidência aumentada para DHEG, hemorragia pós-parto e nascimento de crianças pequenas para idade gestacional (PIG). Um estudo recente <sup>(70)</sup> evidenciou que tanto a doação de óvulos como a doação de espermatozóides e embriões leva a um aumento importante na incidência de DHEG nas pacientes receptoras.

As gestações em mulheres no climatério, sejam elas espontâneas ou por fertilização in vitro com óvulos doados devem ser acompanhadas dentro dos protocolos de acompanhamento de gestação de alto risco mas apresentam um bom prognóstico.

Com relação ao desenvolvimento das crianças nascidas com ovodoação, Söderström et al. <sup>(71)</sup> compararam o crescimento e desenvolvimento de 59 crianças entre 6 meses e 4 anos de idade nascidas após doação de óvulos com 126 crianças nascidas após FIV e apesar das receptoras terem apresentado maior incidência de complicações obstétricas que as pacientes do grupo FIV, a saúde geral das crianças pós-doação de óvulos é tão boa quanto as do grupo FIV; quando comparamos o grupo de crianças pós-doação e pós-FIV com as crianças na população em geral, não existem também não existem diferenças no crescimento e desenvolvimento delas.

As crianças nascidas após FIV em geral apresentam uma evolução normal com um desenvolvimento emocional, social e psicológico igual ou melhor do que a população em geral <sup>(72)</sup>.

## Referências Bibliográficas

- 1) Block, E. Quantitative morphological investigations of the follicular system in women: variations at different ages. *Acta Anat*; 14: 108-123, 1952.
- 2) Gondos, B., Bhiraleus, P., Hobel, C.J. Ultrastructural observations on germ cells in human fetal ovaries. *Am J Obstet Gynecol*; 110 (5): 644-652, 1971.
- 3) Himelstein-Braw, R., Byskov, A.G., Peters, H., Faber, M. Follicular atresia in the infant human ovary. *J Reprod Fertil*; 46 (1): 55-59, 1976.
- 4) Block, E. Quantitative morphological investigations of the follicular system in women: variations at different ages. *Acta Anat*; 14: 108-123, 1952.
- 5) Richardson, S.J., Nelson, J.F. Follicular depletion during the menopausal transition. *Ann. N Y Acad Sci*; 592: 13-20, 1990.
- 6) Gosden, R.G. Follicular status at menopause. *Hum Reprod*; 2 (7): 617-621, 1987.
- 7) Richardson, S.J., Senikas, V., Nelson, J.F. Follicular depletion during the menopausal transition: evidence for accelerated loss and ultimate exhaustion. *J Clin Endocrinol Metab*; 65: 1231-1237, 1987.
- 8) Faddy, M.J., Gosden, R.G., Gougeon, A. et al. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life implications for forecasting menopause. *Hum Reprod*; 7: 1342-1346, 1992.
- 9) Munne S, Alikani M, Cohen J. Implantation failure of morphologically normal human embryos is due to aneuploidy. *Fertil Steril*; 64: 382-391, 1995.
- 10) te Velde ER, Dorland M, Broekmans FJ. Age at menopause as a marker of reproductive ageing. *Maturitas*; 30: 119-125, 1998.
- 11) O'Connor KA, Holman DJ, Wood JW. Declining fecundity and ovarian ageing in natural fertility populations. *Maturitas*; 30: 127-136, 1998.
- 12) Barnhart K, Osheroff J. Follicle stimulating hormone as a predictor of fertility. *Curr Opin Obstet Gynecol*; 110:227-232, 1998.
- 13) Edwards R, Brody SA. FecUndity, parturition, and birth after assisted conception. *In Principles and Practice of Assisted Human Reproduction*. WB Saunders Company, Philadelphia, p.651-676, 1995.
- 14) Tietze C. Reproductive span and rate among Hutterite women. *Fertil Steril*; 8: 89-97, 1957.
- 15) Tan LT, Royston P, Campbell S, Jacobs HS, Betts J, Mason B. Cumulative conception and livebirth rates after in vitro fertilization. *Lancet*; 339: 1390-1394, 1992.
- 16) Grifo JA, Nasser A. Preimplantation genetic diagnosis: the decline in female fertility with age. *In Filicori M, Flamigni C (Eds). Treatment of Infertility: The New Frontiers*. Communications Media for Education, Boca Raton, p.435-443, 1998.
- 17) Smith KE, Buyalos RP. The profound impact of patient age on pregnancy outcome after early detection of fetal cardiac activity. *Fertil Steril*; 65: 35-40, 1996.
- 18) Hakim RB, Gray RH, Zacur H. Infertility and early pregnancy loss. *Am J Obstet Gynecol*; 172: 1510-1517, 1995.
- 19) Abdalla HI, Burton G, Kirkland A, Johnson MR, Leonard T, Brooks AA, Studd JW. Age, pregnancy and miscarriage: uterine versus ovarian factors. *Hum Reprod*; 8: 1512-1517; 1993.

- 20) Creasy M, Crona J, Alberman E. Cytogenetic study of human spontaneous abortion using banding technique. *Hum Genet*; 31: 177-196, 1976.
- 21) Klein NA, Battaglia DE, Fujimoto VY. Reproductive aging: accelerated ovarian follicular development associated with a monotropic follicle-stimulating hormone rise in normal older women. *J Clin Endocrinol Metab*; 81: 1038-1045, 1990.
- 22) Pearlstone AC, Fournet N, Gambone JC. Ovulation induction in women age 40 and older: the importance of basal follicle-stimulating hormone level and chronological age. *Fertil Steril*; 58: 674-679, 1992.
- 23) Buyalos RP, Ghosh K, Daneshmand ST. Infertile women of advanced reproductive age: variability of day 3 FSH and E<sub>2</sub> levels. *J Reprod Med*; 43: 1023-1026, 1998.
- 24) Toner JP, Philiput CB, Jones GS, Muasher SJ. Basal follicle stimulating hormone level is a better predictor of in vitro fertilization outcome than age. *Fertil Steril*; 55: 784-791, 1991.
- 25) Navot D, Rosenwaks Z, Margalioth EJ. Prognostic assessment of female fecundity. *Lancet*; 2:645-647, 1987.
- 26) Seifer DB, Lambert Messerlian G, Hogan JW, Gardinier AC, Blazar AS, Berk CA. Day 3 serum inhibin B is predictive of assisted reproductive technologies outcome. *Ferti Steril*; 67: 110-114,1997.
- 27) Kirkland A, Power M, Burton G, Baber R, Studd J, Abdalla H..Comparison of attitudes of donors and recipients to oocyte donation. *Hum Reprod*; 7: 355-357, 1992.
- 28) Burton G, Abdalla HI, Kirkland A, Studd JW. The role of oocyte donation in women who are unsuccessful with in-vitro fertilization treatment. *Hum Reprod*; 7: 1103-1115, 1992.
- 29) Pantos K, Meimeti DT, Vaxevanoglou T, Kapetanakis E. Oocyte donation in menopausal women aged over 40 years. *Hum Reprod*; 8: 488-491, 1993.
- 30) Sauer MV, Paulson RJ, Lobo RA. Pregnancy after age 50: application of oocyte donation to women after natural menopause. *Lancet*; 341: 321-323, 1993.
- 31) Benagiano G. Pregnancy after the menopause: a challenge to nature? *Hum Reprod*; 8: 1344-1345, 1993.
- 32) Sauer C. Pregnancy in post-menopausal women. *Lancet*; 341: 697, 1993.
- 33) Barri PN, Coroleu B, Martinez F, Parera N, Veiga A, Calderon G, Boada M, Belil I. Indications for oocyte donation. *Hum Reprod*; 7 : 85-88, 1992.
- 34) Antinori S, Versaci C, Gholami GH, Panci C, Caffa B. Oocyte donation in menopausal women. *Hum Reprod*; 8: 1487-1490, 1993.
- 35) Toner JP, Flood JT. Fertility after the age of 40. *Obstet Gynecol Clin North Am*; 220: 261-262, 1993.
- 36) Sauer MV, Paulson RJ. Quadruplet pregnancy in a 51-year-old woman following oocyte donation. *Hum Reprod*; 8: 2243-2244, 1993.
- 37) Trounson A, Leeton J, Besanko M, Wood C, Conti A. Pregnancy established in an infertile patient after transfer of a donated embryo fertilised in vitro. *Br Med J*; 286:835-838, 1983.
- 38) Lutjen P, Trounson A, Leeton J, Findlay J, Wood C, Renou P. The establishment and maintenance of pregnancy using in-vitro fertilization and embryo donation in a patient with primary ovarian failure. *Nature*; 307:174-175, 1984.
- 39) Navot D, Laufer N, Koplovic J et al.. Artificially induced endometrial cycles and establishment of pregnancies in the absence of ovaries. *N Engl J Med*; 314:806-808, 1986.
- 40) an Steirteghem AC, Van den Abbeel E, Braeckmans P et al.. Pregnancy with a frozen-thawed embryo in a woman with primary ovarian failure. *J Amer Med Assoc*; 317:113, 1986.

- 41) Leeton J, Chan LK, Trounson A, Harman J. Pregnancy established in an infertile patient after transfer of an embryo fertilised in vitro where the oocyte was donated by sister of the recipient. *J In Vitro Fert*; 3:379-382, 1986.
- 42) Asch R, Balmaceda J, Rochester M. Pregnancy following GIFT (gamete intrafallopian transfer) in premature ovarian failure (Abstract 153). 42<sup>nd</sup> Annual Meeting of the American Fertility Society. Toronto, Ontario, Canada, September 27-October 2, 1986.
- 43) Devroey P, Smitz J, Camus M et al.. Synchronization of donor's and recipient's cycles with GnRH analogues in an oocyte donation programme. *Hum Reprod*; 4:270-274, 1989.
- 44) Paulson RJ, Thornton MH, Francis MM, Salvador HS. Successful pregnancy in a 63-year-old woman. *Fertil Steril*; 67: 949-951, 1997.
- 45) Caetano JPJ, Scheffer BAB, Camargos BM, Pena MLF, Vaintraub MT, Pace W, Marinho RM. Programa de Doação de oócitos na Unidade de Reprodução Humana do Hospital Mater Dei. *J Bras Ginec*; 107: 119-123, 1996.
- 46) Rosenwaks Z. Donor eggs: their application in modern reproductive technologies. *Fertil Steril*; 47: 895-909, 1987.
- 47) Morris RS, Sauer MV. New advances in the treatment of infertility in women with ovarian failure. *Curr Opin Obstet Gynecol*; 5: 368-377, 1993.
- 48) Bowman MC, Saunders DM. Oocyte donation to older women: when and how do we draw the line?. *Med J Aust*; 160: 244-245, 1994.
- 49) Lelaidier C, de Ziegler D, Caetano JPJ. Controlled preparation of endometrium with exogenous oestradiol and progesterone: a novel regimen not using a gonadotrophin-releasing hormone agonist. *Hum Reprod*; 7: 1353-1356, 1992.
- 50) de Ziegler D, Bergeron C, Cornel C, Medalie DA, Massai MR, Milgrom E. Effects of luteal estradiol on the secretory transformation of human endometrium and plasma gonadotropins. *J Clin Endocrinol Metab*; 74: 522-531, 1992.
- 51) Younis JS, Simon A, Laufer N. Endometrial preparation; lessons from oocyte donation. *Fertil Steril*; 66: 873-884, 1996.
- 52) Remohí J, Gutierrez A, Cano F. Long oestradiol replacement in an oocyte donation programme. *Hum Reprod*; 6: 1387-1391, 1995
- 53) Jobanputra K, Toner JP, Denoncourt R, Gibbons WE. Crinone 8%.(90 mg) given once daily for progesterone replacement therapy in donor egg cycles. *Fertil Steril*; 72: 980-984, 1999.
- 54) Simon A, Hurwitz A, Pharhat M, Revel A, Zentner BS, Laufer N. A flexible protocol for artificial preparation of the endometrium without prior gonadotropin-releasing hormone agonist suppression in women with functioning ovaries undergoing frozen-thawed embryo transfer cycles. *Ferti Steril*; 71: 609-613, 1999.
- 55) Michalas S, Loutradis D, Drakakis P, Kallianidis K, Milingos S, Deligeoroglou E, et al. A flexible protocol for the induction of recipient endometrial cycles in an oocyte donation programme. *Human Reprod*; 11: 1063-1066, 1996.
- 56) Agarwal SK, Buyalos RP. Clomiphene citrate with intrauterine insemination: is it effective therapy in women above the age of 35 years? *Fertil Steril*; 65: 759-763, 1996.
- 57) Hull MGR, Fleming CF, Hughes AO, McDermott A. The age-related decline in female fecundity: a quantitative controlled study of implantig capacity and survival of individual embryos after in vitro fertilization. *Fertil Steril*; 65: 783-790, 1996.

- 58) Widra EA, Gindoff PR, Smotrich DB, Stillman RJ. Achieving multiple-order embryo transfer identifies women over 40 years of age with improved in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril*; 65: 103-108, 1996.
- 59) Schoolcraft WB, Schlenker T, Jones GS, Jones HW. In vitro fertilization in women age 40 and older: the impact of assisted hatching. *J Assist Reprod Genet*; 12: 581-583, 1995.
- 60) Feiman MA. Infertility treatment in women over 40 years of age. *Curr Opin Obstet Gynecol*; 9: 165-168, 1997.
- 61) Rosenwaks Z, Davis OK, Damario MA. The role of maternal age in assisted reproduction. *Human Reprod*; 10: 165-173, 1995.
- 62) Society for Assisted Reproductive Technology, The American Society for Reproductive Medicine. Assisted reproductive technology in the United States: 1996 results generated from the American Society for Reproductive Medicine / Society for Assisted Reproductive Technology Registry. *Fertil Steril*; 71: 798-807, 1999.
- 63) Blanchette H. Obstetrical performance of patients after oocyte donation. *Am. J Obstet Gynecol*; 168: 1803-1807, 1993.
- 64) Sauer MV, Paulson RJ. Mishaps and misfortunes: complications that occur in oocyte donation. *Fertil Steril*; 61: 963-96, 1994.
- 65) Borini A, Bafaro, G, Violini F, Bianchi L, Casadio V, Flamigni C. Pregnancies in post menopausal women over 50 years old in an oocyte donation program. *Fertil Steril*; 63: 258-261, 1995.
- 66) Sauer MV, Paulson R, Lobo R. Pregnancy in women 50 or more years of age: outcomes of 22 consecutively established pregnancies from oocyte donation. *Fertil Steril*; 64: 111-115, 1995.
- 67) Sarosi-Schmidt C. Infertility in the older women. *Clin Obstet Gynecol*; 41: 941-950, 1998.
- 68) Cohen MA, Sauer MV. Fertility in perimenopausal women. *Clin Obstet Gynecol*; 41: 959-965, 1998.
- 69) Abdalla HI, Billett A, Kan AK, Baig S, Wren M, Korea L, Studd JW. Obstetric outcome in 232 ovum donation pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol*; 105:332-337, 1998.
- 70) Salha O, Sharma V, Dada T, Nugent D, Rutherford AJ, Tomlinson AJ, Philips S, Allgar V, Walker JJ. The influence of donated gametes on the incidence of hypertensive disorders of pregnancy. *Hum Reprod*; 4:2268-2273, 1999.
- 71) Söderström Anttila V, Sajaniemi N, Tiitinen A, Hovatta O. Health and development of children born after oocyte donation compared with that of those born after in-vitro fertilization, and parents' attitudes regarding secrecy. *Hum Reprod*; 13:2009-2015, 1998.
- 72) Olivennes F, Schneider Z, Remy V, Blanchet V, Kerbrat V, Fanchin R, Frydman R. Follow up of a cohort of 422 children aged 6 to 13 years conceived by in vitro fertilization. *Fertil Steril*; 67: 284-289, 1997.