

¿Es útil medir el nivel de estradiol plasmático en fecundación in vitro?

Measuring plasma estradiol levels in in vitro fertilization. Is it useful?

Salvador García Aguirre, Ignacio González Hevia, Gloria García-Carpintero, M^a Josefa Del Rosal

Unidad de Reproducción Asistida Clínica Montpellier

Resumen

Objetivo: Estudiar si el nivel de estradiol en fecundación in vitro ofrece alguna ventaja en cuanto a tasa de embarazo y si es necesario para evitar el síndrome de hiperestimulación ovárica. **Diseño de estudio:** Un estudio prospectivo, randomizado fue llevado a cabo en la Unidad de Reproducción Asistida de la Clínica Montpellier (Zaragoza, España), desde Enero de 2006 a Junio de 2007. Setenta mujeres entre 25 y 36 años, con reserva folicular normal, tasa de masa corporal normal, y con menos de 3 ciclos de FIV previos, fueron randomizadas en dos grupos (A y B), con el objeto de comparar los resultados de FIV. Las pacientes del grupo A fueron controladas durante la estimulación ovárica con ecografías y con mediciones del nivel de estradiol en plasma, mientras que las pacientes del grupo B fueron controladas sólo mediante ecografía. Los resultados son referidos con media y desviación estándar. Las diferencias fueron analizadas mediante t de Student y chi cuadrado. Una $p < 0,05$ fue considerada como diferencia estadísticamente significativa. **Resultados:** No hubo diferencias significativas entre los grupos A y B con respecto a parámetros basales demográficos y clínicos. Tampoco fueron observadas diferencias entre los dos grupos en relación a la tasa de fecundación, número de folículos mayores de 15mm y número de ovocitos obtenidos. Las tasas de embarazo clínico y de implantación, así como las tasas de embarazo múltiple y de aborto fueron similares en ambos grupos y no mostraron diferencias significativas. Ningún caso de síndrome de hiperestimulación ovárica fue registrado en ningún grupo. **Conclusión:** en mujeres normorrespondedoras en FIV, los resultados (implantación y embarazo) y el tasa de síndrome de hiperestimulación ovárica son similares cuando las pacientes son controladas mediante ecografía y estradiol o sólo mediante ecografía. Esto hace disminuir las molestias para las pacientes, haciendo sólo necesario la determinación de los niveles de estradiol en mujeres con alto riesgo de desarrollar un síndrome de hiperestimulación ovárica.

Palabras clave: Fecundación in vitro. Estradiol. Ecografía transvaginal.

Correspondencia: Dr. Salvador García Aguirre
URAM, Clínica Montpellier
Vía Hispanidad, 37
50012 ZARAGOZA

Summary

Objective *If measuring estradiol level in in vitro fertilisation (IVF) cycles offers no advantages in terms of pregnancy rates, and is not necessary in order to avoid OHSS.* **Study Design.** *A non-blinded prospective study was carried out at the Reproductive Assistance Unit of the Montpellier Clinic (Zaragoza, Spain), from January 2006 to June 2007. 70 women between 25 and 36 years old, normal follicular reserve, normal BMI, and less than 3 previous IVF cycles were randomized in two groups -A and B- in order to compare IVF outcomes. Patients in group A were followed through both transvaginal ultrasound scan and plasmatic estradiol levels, while group B patients were followed only with transvaginal ultrasound scan. Results are reported as the mean \pm SD. Differences were analysed with Student's t-test and X²-test. $p < 0.05$ was considered statistically significant. [Results] There was no difference between groups A and B respect to baseline demographics and clinical parameters. Also no differences were observed between groups regarding fertilisation rates, number of follicles larger than 15 mm and number of oocytes. Clinical pregnancy and implantation rates, as well as multiple pregnancy and miscarriage rates were similar between groups and showed no statistical difference. No case of severe OHSS was registered in either group. Conclusion *In normal IVF responders, the results of IVF (implantation and pregnancies) and OHSS rates are similar when patients are followed up either by ultrasound scans exclusively or by measuring estradiol level in addition to ultrasound scans. These findings can decrease the burden on patients, making only necessary to determine estradiol levels in IVF when the patient has high risk of OHSS.**

Key words: In vitro fertilization. Estradiol. Transvaginal ultrasound scan.

INTRODUCCIÓN

En los albores de la fecundación in vitro (FIV), ésta se llevaba a cabo tras la obtención de un óvulo en ciclo natural. Esto conllevaba una tasa de embarazo muy baja. En consecuencia, los investigadores introdujeron nuevas estrategias terapéuticas, todas basadas en el uso de gonadotropinas, con el objeto de obtener un mayor número de ovocitos para ser fertilizados y, como resultado, la tasa de embarazo fue progresivamente aumentando. Sin embargo, al mismo tiempo, las complicaciones crecieron significativamente, sobre todo en cuanto a los tasas de síndrome de hipereestimulación ovárica (SHO) y el embarazo múltiple.

En un esfuerzo para evitar estas complicaciones fue necesario monitorizar la estimulación ovárica mediante ecografía y la medición plasmática del estradiol. Al principio, los niveles de estradiol eran determinados diariamente (1). Hoy en día, estos controles son menos frecuentes, debido al disconfort y los inconvenientes para las pacientes, tales como las molestias venopunciones, la espera para conocer el resultado del test, los frecuentes desplazamientos al lugar donde se realizan estos controles y el tiempo invertido en estas pruebas.

Muchos investigadores creen que los ultrasonidos son el más importante test para valorar el riesgo de hipereestimulación ovárica. Así, algunos grupos observaron que monitorizar los niveles de estradiol en ciclos de FIV en normorrespondedoras no aumentaba la

tasa de embarazos ni evitaba el riesgo de hipereestimulación (2). Además, algunos autores observan tasas de embarazo y de nacido vivo satisfactorios, en pacientes seleccionadas, con un protocolo de monitorización mínima, consistiendo en una sola ecografía próxima al final de un régimen de estimulación fija (3). Thomas et al, en un estudio que incluía 538 ciclos consecutivos de FIV, en los que 268 pacientes fueron monitorizadas con estradiol y ecografía, y 270 pacientes en las que sólo se testó su nivel de estradiol, sí presentaban un alto riesgo de hipereestimulación, concluyeron que los niveles de estradiol no se correlacionan con los resultados de FIV, fueron un pobre predictor de éxito de tratamiento y además, los niveles de estradiol determinados de forma rutinaria no redujeron la incidencia de hipereestimulación ovárica (4).

Algunos autores creen que la monitorización mínima simplifica las fases del tratamiento de FIV sin efectos adversos en los resultados ni en la incidencia de hipereestimulación (5-9). Otros grupos creen que los elevados niveles de estradiol indican un mayor riesgo de hipereestimulación (10), pero no significan que haya efecto negativo en los resultados de FIV (11).

El número de folículos antrales que alcanzan entre 2 y 5 mm de diámetro en el primer o segundo día de la menstruación es un predictor útil de la respuesta ovárica y de tasa de embarazo en pacientes que son tratadas mediante técnicas de reproducción asistida (12). Hendriks et al encontraron que el valor clínico

del nivel de estradiol es sólo moderado para predecir la respuesta extrema (13).

Medir los niveles de inhibina B en suero (14), FSH, nivel folicular de IGF-1 (15) o recuento del número de folículos antrales mediante ultrasonidos (12), podría ser más útil que determinar los valores basales de estradiol. En mujeres con nivel de FSH basal normal, la determinación del estradiol no tiene valor predictor de pobre respuesta (16).

Por otra parte, algunos estudios niegan el efecto negativo de los niveles suprafisiológicos de estradiol y muestran además que el descenso del nivel de estradiol en la mitad de la fase lútea no es deletéreo para la implantación después de la transferencia embrionaria en pacientes con normal o alta respuesta (17). Además, los niveles de estradiol obtenidos el día después de la administración de hCG no son predictivos del resultado de la FIV (18).

En nuestro Centro habíamos llevado a cabo más de 200 ciclos de FIV monitorizando la estimulación ovárica sólo mediante ecografía transvaginal, y habíamos observado que las tasas de embarazo y SHO eran los mismos que los obtenidos cuando también determinábamos el nivel de estradiol en sangre.

La falta de evidencia sobre este asunto y la no unanimidad en el criterio y opinión de los expertos hicieron necesario el desarrollar un estudio prospectivo para conocer si es necesario medir el nivel de estradiol en sangre durante un ciclo de FIV. Nuestra hipótesis es que, en mujeres normorespondedoras, el medir el nivel de estradiol en ciclos de FIV no ofrece ninguna ventaja en cuanto a la posibilidad de gestar y no es necesario para evitar el SHO.

MATERIAL Y MÉTODO

Un estudio prospectivo randomizado ha sido realizado en la Unidad de Reproducción Asistida de la Clínica Montpellier, desde Enero de 2006 a Junio de 2007, comparando los resultados de FIV entre 2 grupos de pacientes: el primer grupo (A) con 31 pacientes que siguieron 42 ciclos de FIV, en las que se monitorizó el desarrollo folicular mediante ecografía transvaginal y determinaciones plasmáticas de estradiol (el grupo inicial eran 35 pacientes, pero 4 fueron excluidas por no seguir el protocolo de estudio). El segundo grupo (B), con 35 pacientes y 48 ciclos, en los que sólo se usó la ecografía transvaginal. Los criterios de inclusión fueron: edad entre 25 y 36 años; reserva folicular normal (FSH < de 10 mU/ml); índice de masa corporal normal (BMI 20-25) y menos de 3 ciclos previos de FIV. Los criterios de exclusión

fueron: episodio previo de SHO; baja respuesta en un ciclo previo (menos de 500 pg/ml de estradiol en el día de la hCG y/o menos de 3 ovocitos recuperados) y síndrome de ovario poliquístico.

El objetivo primario fue evaluar si medir el nivel de estradiol plasmático durante la estimulación ovárica (basal y en los sucesivos controles) en ciclos de FIV proporciona información significativa y ventajas con respecto a sólo ecografía seriada transvaginal, en normorespondedoras.

Fueron valoradas las siguientes variables principales: tasa de SHO, de implantación y de embarazo clínico entre las pacientes monitorizadas mediante estradiol y ecografía o sólo con ecografía, en FIV.

También fueron valoradas las siguientes variables secundarias: días de estimulación, dosis de gonadotropinas, tasa de cancelación, número de folículos mayores de 15mm en el día de la administración de la hCG, número de ovocitos recuperados, número de embriones, tasas de embarazo múltiple y de aborto.

Protocolo de tratamiento:

Antes de iniciarse el ciclo todas las pacientes tenían una determinación basal de FSH, PRL y estradiol. El protocolo de tratamiento consistió en administración de un agonista de la GnRH, Triptorelina 0,1 mg/día s.c. (Decapeptyl(®), Ipsen Pharma, Francia), desde la mitad de la fase lútea del ciclo precedente, seguido de la administración de FSH recombinante, empezando en el día 4º del ciclo con 225 UI/día de folitropina β, (Puregon(®), Schering-Plough, España), durante 4 días. En el día 5º de estimulación, la dosis de gonadotropina se pudo ajustar en función de la respuesta.

La estimulación ovárica fue monitorizada con nivel de estradiol y ecografía en el grupo A, o sólo con ecografía en el grupo B. Se realizó un estudio basal ecográfico y 3 ó 4 ecografías más, según la respuesta observada.

Cuando al menos 2 folículos alcanzaron los 17 mm, se administró 250 mcg de hCG recombinante (Ovitrelle(®), Merck Serono, Alemania). La captación de ovocitos se realizó 36 horas después de la administración de la hCG, siguiendo la práctica habitual del Centro, y tres días después se realizó la transferencia de 2 ó 3 embriones seleccionados.

El día que se realizó el control ecográfico también se practicó una extracción de sangre para determinar el nivel de estradiol sérico. Las concentraciones de estradiol plasmático fueron medidas mediante el dispositivo Abbott Architect(®) (Abbott Ireland, Irlanda), que mediante el método de inmunoensayo

determina la presencia de estradiol en suero humano usando tecnología de micropartículas luminiscentes. Los mismos métodos y dispositivo se utilizaron para la determinación de la FSH en suero.

Método de aleatorización:

Se realizó por lista generada por ordenador y la randomización se llevó a cabo por el médico en la primera visita.

Método estadístico:

Fue usado el programa SPSS para Windows. Los resultados descriptivos cuantitativos fueron informados como media y desviación estándar. Las diferencias en las variables continuas fueron analizadas mediante t de Student para los datos distribuidos normalmente. Las diferencias en las variables discontinuas fueron analizadas mediante test de X^2 . Una $p < 0,05$ fue considerada como diferencia estadísticamente significativa.

RESULTADOS

No hubo diferencias entre los grupos A y B respecto a la edad, niveles basales de FSH y estradiol y causas de infertilidad (Tabla 1).

Asimismo, no hubo diferencias significativas en el día de la hCG, días de estimulación, o dosis de FSH entre los dos grupos (Tabla 2). La tasa de fecundación, número de folículos mayores de 15mm al final de la estimulación, número de ovocitos recuperados, y número de ovocitos maduros fue similar en ambos grupos (Tabla 3).

El análisis de los resultados no mostró diferencias estadísticamente significativas en el número de embriones ($8 \pm 3,4$ vs $7,5 \pm 2,9$), número de embriones transferidos ($2,29 \pm 0,5$ vs $2,4 \pm 0,5$), tasa de embarazo clínico ($45,2\%$ vs $54,1\%$), tasa de implantación (25% vs $26,3\%$), tasa de aborto ($21,9\%$ vs $7,6\%$) y tasa de embarazo múltiple ($29,4\%$ vs $15,3\%$) entre las pacientes del grupo A y B. (Tabla 3). No se registraron casos de SHO severo ni casos de embarazo triple (Tabla 3).

DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio randomizado apoyan la hipótesis de que la determinación del nivel de estradiol en sangre en ciclos de FIV no proporciona ninguna ventaja en cuanto a tasas de gestación, y no

Tabla 1

Datos demográficos basales (media y desviación estándar)

	Grupo A (US* + EP**)	Grupo B (solo US*)	p
Edad mujer	32,7 ± 2,56	33 ± 2,41	0,5
Edad hombre	34,55 ± 2,9	36,1 ± 4,9	0,06
Nivel basal de FSH (mU/ml)	7,87 ± 1,04	8,01 ± 0,9	0,5
Nivel basal de estradiol (pg/ml)	43,45 ± 6,7	42,6 ± 7	0,5
BMI	22,85 ± 0,99	22,8 ± 1	0,8
Causas de infertilidad			
Causas femeninas	23,8%	20,8%	0,7
Causas masculinas	47,6%	58,3%	0,3
Factor mixto	14,2%	8,3	0,3
Ori gen desconocido	14,2%	12,5	0,8

*Ultrasonidos; **Nivel de estradiol plasmático

Tabla 2

Características del ciclo (media y desviación estándar)

	Grupo A (US* + EP**)	Grupo B (solo US*)	p
Días de estimulación	9,55 ± 1,27	9,45 ± 0,89	0,6
Día de la hCG	12,6 ± 1,2	12,4 ± 0,9	0,4
Dosis de FSH (unidades)	1841,2 ± 687,7	1979,2 ± 522,8	0,3

*Ultrasonidos; **Nivel de estradiol plasmático

es necesario para valorar el riesgo de aparición de SHO y, en consecuencia, de evitarlo.

Ha habido cambios considerables desde que los primeros ciclos de FIV se llevaron a cabo. En los inicios de la FIV, se realizaban diariamente ecografías y mediciones de estradiol en sangre, para monitorizar la estimulación ovárica (1).

Era también considerado esencial medir el nivel de estradiol antes de empezar con la administración de gonadotropinas para poder predecir la baja respuesta. Se pensaba que los altos niveles de estradiol o la caída de los mismos durante la estimulación ovárica, predecían resultados adversos. Además, se creía que la medición del estradiol era útil para identificar las pacientes con riesgo de presentar SHO (10).

Estos hechos han sido cuestionados recientemente. Algunos autores creen que el nivel basal de estradiol no es útil como predictor de mujeres con baja respuesta (13-16). Otros autores creen que altos niveles de estradiol o caídas durante la administración de gonadotropinas, no implican resultados adversos (11,

Tabla 3
Resultados

	Grupo A (US* + EP**)	Grupo B (sólo US*)	p
ICSI (%)	80,9	85,5	0,5
Tasa de fertilización	80,7	79	0,6
Tasa de embarazo dínico	45,2	54,1	0,4
Tasa de implantación	25	26,3	0,5
Tasa de aborto	21	7,6	0,1
Tasa de embarazo ectópico	5	3,8	0,8
Tasa de embarazo múltiple	29,4	15,3	0,2
Tasa de SHO	0	0	
Número de Folículos > 15 mm	10,2 ± 3,3	9 ± 2,7	0,3
Número de Ovocitos recuperados	10,9 ± 4,2	9,9 ± 3,1	0,2
Número de Ovocitos metafase II	9,2 ± 3,9	8,3 ± 2,9	0,2
Número de embriones	8 ± 3,4	7,5 ± 2,9	0,4
Número de Embriones de calidad óptima	2,8 ± 2,2	2,2 ± 1,7	0,2
Número de embriones transferidos	2,29 ± 0,5	2,4 ± 0,5	0,3
* Ultrasonidos; ** Nivel de estradiol plasmático			

19) y algunos grupos creen que las pacientes con riesgo de SHO pueden ser identificadas usando exclusivamente ecografía (5).

Recientemente ha sido propuesto un protocolo simplificado, para disminuir las molestias a las pacientes. Se llevó a cabo un estudio prospectivo de 81 ciclos de FIV en los que se hizo un solo control ecográfico tras 8 o 9 días de estimulación en un protocolo fijo con leuprolide en fase lútea previa. No se realizó ningún control hormonal. La tasa de gestación fue del 42% y no se registró ningún caso de SHO (3). Wikland et al. encontraron la misma tasa de embarazo y de SHO con solo un control ecográfico (9). Por el contrario, Vlasisavljevic et al creen que en ciclos no estimulados, monitorizar la FIV mediante estradiol sérico y ecografías hace que se alcance un aceptable tasa de gestación (20).

Llegados a este punto, cabe plantearse entonces si determinar el nivel de estradiol es útil en algún caso o no es nunca necesario. Algunos autores siguen creyendo que los altos niveles de estradiol indican un riesgo de presentar SHO (10).

Antes de este estudio, en nuestra Unidad de Reproducción Asistida se habían llevado a cabo más de 200 ciclos en los que sólo la ecografía se había utilizado para monitorizar la estimulación ovárica. Sólo

en los casos con alto riesgo de SHO, se había medido el estradiol una o dos veces. Nosotros observamos que los resultados fueron los mismos que cuando habíamos utilizado tanto la ecografía como el nivel de estradiol. El presente estudio prospectivo ha sido llevado a cabo para analizar los resultados tras utilizar o no la medición del nivel de estradiol. Las tasas de implantación y de embarazo fueron similares cuando usamos estradiol y ecografía o sólo ecografía. Ningún caso de SHO fue registrado en ningún grupo.

Otros autores también han encontrado resultados similares si han realizado o no la medición del estradiol en sangre (21, 22), y creen que añadir la relación estradiol/folículo a la monitorización con ecografía de los ciclos de FIV en normorespondedoras no hace aumentar la tasa de gestación y no hace disminuir la tasa de SHO (2). Kwan et al, en un reciente estudio establece que no hay evidencia de estudios randomizados que apoyen que monitorizar el ciclo mediante ecografía más estradiol es más eficaz que utilizar solo la ecografía cuando se analizan las tasas de embarazo y de nacido vivo. Sería necesario realizar un estudio randomizado de gran tamaño muestral para poder analizar en profundidad los resultados derivados de aplicar diferentes protocolos de monitorización ovárica. Hasta que tal estudio sea factible, monitorizar el

ciclo mediante ecografía más estradiol sérico puede ser cuestionado como buena práctica clínica (23).

En otro estudio, los niveles de estradiol no se correlacionan con los resultados de FIV, puesto que los niveles de estradiol son poco predictores de éxito del tratamiento y su medida de forma rutinaria no reduce la incidencia de SHO. Es sólo necesario medir el estradiol en las pacientes que tienen alto riesgo de presentar un SHO (4).

CONCLUSIONES

En mujeres normorrespondedoras, los resultados de FIV (implantación y embarazo) y la incidencia de SHO son similares cuando la monitorización de la estimulación ovárica se realiza mediante ecografía y estradiol en suero o sólo mediante ecografía. La no determinación del estradiol hace disminuir las molestias a las pacientes. Sería únicamente necesaria la medición de estradiol en sangre en las pacientes con alto riesgo de SHO.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro sincero agradecimiento a Schering-Plough, por su inestimable ayuda y colaboración para la realización del presente trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Quigley MM, Sokoloski JE, Richards SI.**: Timing human chorionic gonadotropin administration by days of estradiol rise. *Fertil Steril.* 1985, Dec; 44(6): 791-5.
2. **Lass A.**: Monitoring of in vitro fertilization-embryo transfer cycles by ultrasound versus by ultrasound and hormonal levels: a prospective, multicenter, randomized study. *Fertil Steril.* 2003 Jul; 80(1): 80-5.
3. **Hurst BS, Tucker KE, Schlaff WD.**: A minimally monitored assisted reproduction stimulation protocol reduces cost without compromising success. *Fertil Steril.* 2002 Jan; 77(1): 98-100.
4. **Thomas K, Searle T, Quinn A, Wood S, Lewis-Jones I, Kingsland C.**: The value of routine estradiol monitoring in assisted conception cycles. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2002 Jun; 81(6): 551-4.
5. **Al-Shawaf T, Zosmer A, Hussain S, Tozer A, Panay N, Wilson C, et al.**: Prevention of severe ovarian hyperstimulation syndrome in IVF with or without ICSI and embryo transfer: a modified 'coasting' strategy based on ultrasound for identification of high-risk patients. *Hum Reprod.* 2001 Jan; 16(1): 24-30.
6. **Noyes N, Hampton BS, Berkeley A, Licciardi F, Grifo J, Krey L.**: Factors useful in predicting the success of oocyte donation: a 3-year retrospective analysis. *Fertil Steril.* 2001 Jul; 76(1): 92-7.
7. **Papanikolaou EG, Pozzobon C, Kolibianakis EM, Camus M, Tournaye H, Fatemi HM, et al.**: Incidence and prediction of ovarian hyperstimulation syndrome in women undergoing gonadotropin-releasing hormone antagonist in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril.* 2006 Jan; 85(1): 112-20.
8. **Roest J, Verhoeff A, van Heusden AM, Zeilmaker GH.**: Minimal monitoring of ovarian hyperstimulation: a useful simplification of the clinical phase of in vitro fertilization treatment. *Fertil Steril.* 1995 Sep; 64(3): 552-6.
9. **Wikland M, Borg J, Hamberger L, Svalander P.**: Simplification of IVF: minimal monitoring and the use of subcutaneous highly purified FSH administration for ovulation induction. *Hum Reprod.* 1994 Aug; 9(8): 1430-6.
10. **Aboulghar M.**: Prediction of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS). Estradiol level has an important role in the prediction of OHSS. *Hum Reprod.* 2003 Jun; 18(6): 1140-1.
11. **Shara FI, McClamrock HD.**: High estradiol levels and high oocyte yield are not detrimental to in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril.* 1999 Sep; 72(3): 401-5.
12. **Chang MY, Chiang CH, Hsieh TT, Soong YK, Hsu KH.**: Use of the antral follicle count to predict the outcome of assisted reproductive technologies. *Fertil Steril.* 1998 Mar; 69(3): 505-10.
13. **Hendriks DJ, Klinkert ER, Bancsi LF, Looman CW, Habbema JD, te Velde ER, et al.**: Use of stimulated serum estradiol measurements for the prediction of hyperresponse to ovarian stimulation in in vitro fertilization (IVF). *J Assist Reprod Genet.* 2004 Mar; 21(3): 65-72.
14. **Chen Y, Yu Q, Zhang YW, He FF, Sun ZY.**: Value of serum inhibin B measurement in predicting ovarian response in controlled ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization cycle. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* 2006 Jun; 41(6): 368-71.
15. **Bahceci M, Ulug U, Turan E, Akman MA.**: Comparisons of follicular levels of sex steroids, gonadotropins and insulin like growth factor-1 (IGF-1) and epidermal growth factor (EGF) in poor responder and normoresponder patients undergoing ovarian stimulation with GnRH antagonist. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2007 Jan; 130(1): 93-8.
16. **Vladimirov I, Tacheva D, Blagoeva V.**: Prognostic value of some hormonal and ultrasound ovarian reserve tests. *Akush Ginekol (Sofia).* 2003; 42(5): 14-20.
17. **Friedler S, Zimmerman A, Schachter M, Raziel A,**

- Strassburger D, Ron El R.:** The midluteal decline in serum estradiol levels is drastic but not deleterious for implantation after in vitro fertilization and embryo transfer in patients with normal or high responses. *Fertil Steril.* 2005 Jan; 83(1): 54-60.
18. **Meyer WR, Beyler SA, Baker ST, Somkuti SG, Lowden DA, Grainger DA.:** Value of estradiol response after human chorionic gonadotropin administration in predicting in vitro fertilization success. *Fertil Steril.* 1999 Sep; 72(3): 542-5.
 19. **Forman RG, Robinson J, Egan D, Ross C, Gosden B, Barlow DH.:** Follicular monitoring and outcome of in vitro fertilization in gonadotropin-releasing hormone-agonist-treated cycles. *Fertil Steril.* 1991 Mar; 55(3): 567-73.
 20. **Vlaisavljevic V, Kovacic B, Reljic M, Lovrec VG.:** Three protocols for monitoring follicle development in 587 unstimulated cycles of in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. A comparison. *J Reprod Med.* 2001 Oct; 46(10): 892-8.
 21. **Murad NM.:** Ultrasound or ultrasound and hormonal determinations for in vitro fertilization monitoring. *Int J Gynaecol Obstet.* 1998 Dec; 63(3): 271-6.
 22. **Kyrou D, Popovic-Todorovic B, Fatemi HM, Bourgain C, Haentjens P, Van Landuyt L, Devroey P.:** Does the estradiol level on the day of human chorionic gonadotropin administration have an impact on pregnancy rates in patients treated with recombinant FSH/GnRH antagonist?. *Human reprod. Advance access published August 11, 2009.*
 23. **Kwan I, Bhattacharya S, McNeil A, van Rumste MM.:** Monitoring of stimulated cycles in assisted reproduction (IVF and ICSI). *Cochrane Database Syst Rev.* 2008(2): CD005289.