

Estudo comparativo das complicações obstétricas e neonatais de Gestações Gemelares após Fertilização In Vitro / Injeção Intracitoplasmática de Esperma vs Gestações Gemelares Espontâneas

Comparative study of the obstetric and neonatal complications of in vitro fertilization/intracitoplasmatic sperm injection twin pregnancies vs naturally conceived twin gestations

Rodrigues M, Pinelo S¹, Carvalho I¹, Figueiredo H², Felgueira E², João A³, Manuela Pinho¹

¹Serviço de Ginecologia / Obstetrícia, Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia ²Unidade de Medicina da Reprodução, Serviço de Ginecologia / Obstetrícia, Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia, ³Unidade de Neonatologia, Serviço de Pediatria, Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia

Resumo

Objectivo: Determinar se as gestações gemelares após Fertilização In Vitro (FIV)/Injeção Intracitoplasmática de Esperma (ICSI) têm maior risco de complicações obstétricas/neonatais quando comparadas com as espontâneas. **Desenho do Estudo:** Análise retrospectiva dos resultados obstétricos e neonatais das gestações gemelares bicoriónicas/biamnióticas após FIV/ICSI quando comparados com gestações gemelares espontâneas bicoriónicas/biamnióticas, com parto entre 1999-2003. **Âmbito:** Unidade de Medicina da Reprodução, Serviço de Obstetrícia e Unidade de Neonatologia, num centro hospitalar terciário. **População:** Vinte e quatro gestações gemelares resultantes de FIV/ICSI e trinta e oito gestações gemelares espontâneas, todas bicoriónicas/biamnióticas. **Intervenções:** Fertilização In Vitro. Injeção Intracitoplasmática de Esperma. **Resultados:** No grupo das gestações gemelares após FIV/ICSI encontrou-se maior percentagem de mulheres com mais de 30 anos, do que no grupo das gestações espontâneas (79,2% vs 39,5%, $p < 0,05$). Vinte e três mulheres (95,8%) no grupo das FIV/ICSI e vinte e uma (55,3%) no grupo das gestações espontâneas eram nulíparas ($P=0,001$). Em termos de riscos maternos e resultados perinatais não se observaram diferenças significativas entre os dois grupos. No grupo FIV/ICSI a taxa de cesarianas urgentes foi significativamente mais alta (71,4%), sendo catorze casos por estado fetal não tranquilizador e seis casos por trabalho de parto estacionário. **Conclusões:** As complicações obstétricas e neonatais das gestações gemelares após FIV/ICSI são comparáveis às das gestações gemelares espontâneas. Para uma maior credibilidade de

Correspondência: Dra. Marta Rodrigues
Serviço de Ginecologia / Obstetrícia
Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia, Unidade II
Rua Dr. Francisco Sá Carneiro
4400 Vila Nova de Gaia
Portugal
E-mail: martaacrodriques@gmail.com

resultados, no futuro, serão necessários estudos prospectivos, mais alargados, que envolvam uma equipa multidisciplinar das áreas da Medicina de Reprodução, Obstetrícia e Neonatologia.

Palavras Chave: Técnicas de reprodução medicamente assistida. Gestações gemelares. Complicações obstétricas

Summary

Objective: To determine whether in vitro fertilization/ intracytoplasmic sperm injection (IVF/ICSI) twin pregnancies carry adverse obstetric or neonatal outcome when compared with naturally conceived gestations. **Study Design:** Retrospective analysis of the obstetric and neonatal outcomes of bichorionic, biamniotic IVF/ICSI twin pregnancies in comparison with bichorionic, biamniotic naturally conceived twin gestations, delivered from 1999 to 2003. **Setting:** Reproduction Medicine Unit, Obstetric and Neonatal Services at a tertiary medical center. **Patients:** Twenty four IVF/ICSI twin gestations and thirty eight naturally conceived twin gestations, all bichorionic, biamniotic. **Interventions:** In vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. **Results:** In the group of IVF/ICSI a higher percentage of women with more than 30 years was found (79,2% vs 39,5%, $p < 0,05$). Twenty three women undergoing IVF/ICSI (95,8%) and twenty one (55,3%) of the other group were nuliparous ($P=0,001$). In terms of maternal risks and perinatal outcome no significant differences were observed between the two groups. The acute caesarean delivery rate was significantly higher in cases of twins conceived by IVF/ICSI (71,4%), with fourteen cases due to suspect of fetal distress and six cases due to labour distocia. **Conclusions:** Maternal and neonatal risks and outcome in IVF/ICSI twin pregnancies are comparable with spontaneous twin pregnancies. In the future, in order to raise the power calculation, prospective and larger studies should be conducted, including a multidisciplinary team of the areas of Assisted Reproduction Techniques, Obstetrics and Neonatology.

Key Words: Assisted reproductive technology. Twin gestation. Obstetric complications

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos tem-se assistido a um aumento das taxas de infertilidade conjugal, com consequente aumento da procura de técnicas de procriação medicamente assistida (TPMA). Em 1999, 24% das gestações resultantes de Fertilização in Vitro (FIV) ou Injeção Intracitoplasmática de Esperma (ICSI) na Europa foram gemelares (1).

Relativamente às gestações simples que resultaram de TPMA quando comparadas com as espontâneas, vários estudos têm mostrado risco aumentado de parto pré-termo (PPT), baixo peso ao nascimento, necessidade de indução do trabalho de parto (TP), cesariana e hipertensão arterial (HTA) induzida pela gestação (2, 3).

Já em relação às gestações gemelares, os resultados são mais contraditórios quando se comparam as que resultaram de TPMA com as espontâneas. Alguns estudos descrevem maior mortalidade perinatal (4,5), maior taxa de prematuridade (5-7) e pesos mais baixos ao nascimento (4, 5, 7, 8), enquanto que outros concluíram não existirem diferenças, (9-11). Há mesmo um estudo que reporta menores riscos de

desfecho adverso para as gestações gemelares que resultaram de TPMA (12).

Estes achados discordantes podem ficar a dever-se a diferenças na metodologia usada, inclusão de gestações simples e múltiplas no mesmo estudo e, muito importante, não levar em consideração a corionicidade. A maioria das gestações resultantes de TPMA são bicoriónicas, pelo que, no que ao desfecho obstétrico diz respeito, só deverão ser comparadas com as gestações gemelares espontâneas bicoriónicas.

Os próprios casais inférteis podem constituir uma população diferente daqueles em que a concepção foi espontânea. Se, por um lado, aqueles são frequentemente de um nível sócio-económico mais elevado, podendo por isso beneficiar de uma melhor alimentação e de melhores e mais precoces diagnóstico e cuidados pré-natais, por outro, há estudos que apontam para que a infertilidade por si só, e não os tratamentos hormonais e semicirúrgicos desta entidade, seja um factor de prognóstico negativo (13-15).

Esta ausência de consenso da literatura coloca o médico obstetra numa posição difícil no aconselhamento dos casais relativamente aos riscos e ao prognóstico das gestações gemelares após TPMA.

Este estudo propôs-se comparar as complicações obstétricas e os resultados neonatais de gestações gemelares após FIV/ ICSI, com os de gestações gemelares espontâneas.

MATERIAL E MÉTODOS

Estudo de natureza retrospectiva analisando todas as gestações gemelares com parto no Centro Hospitalar de Vila Nova de Gaia (CHVNG) entre Janeiro de 1999 e Dezembro de 2003. A amostra foi classificada em: Grupo 1 - gestações gemelares após FIV/ICSI e Grupo 2 - gestações gemelares espontâneas.

Foram incluídas apenas as gestações bicoriônicas/biamnióticas e, em todos os casos, a corionicidade estava bem definida, quer por exame ecográfico, quer por exame anatomopatológico da placenta.

Excluíram-se as mulheres submetidas somente a indução da ovulação, cujo parto ocorreu antes das 24 semanas e as que foram seguidas ou tiveram parto em outra instituição.

Através da consulta dos processos clínicos das grávidas foram recolhidos dados relativos à idade materna, paridade, modo de concepção, antecedentes patológicos maternos, infertilidade, complicações obstétricas (diabetes gestacional, patologia hipertensiva da gravidez, ameaça de trabalho de parto pré-termo (ATPPT), oligoâmnios, crescimento discordante, rotura prematura de membranas (RPM)), internamentos e tipo de parto (vaginal, cesariana electiva ou urgente). Através da consulta dos processos clínicos dos gémeos recolheram-se dados relativos a: prematuridade, crescimento discordante, índices de apgar, necessidade de internamento na neonatologia, evolução e presença de anomalias maior e menor.

A idade gestacional, no grupo das gestações espontâneas, foi calculada a partir da data da última menstruação ou ecografia do 1º trimestre e, no grupo das TPMA, a partir da data de transferência de embriões.

Na análise dos processos clínicos, utilizaram-se as seguintes definições:

Patologia hipertensiva da gravidez: TA > 140/90 mmHg, em duas medições distintas, diagnosticada após as 20 semanas gestacionais, numa mulher previamente normotensa, com ou sem proteinúria.

Parto Pré-termo: nascimento antes das 37 semanas gestacionais completas

Parto Extremamente Prematuro: nascimento antes das 32 semanas completas.

Atraso de Crescimento Intra-uterino (ACIU): peso ao nascimento menor que o percentil 10 das curvas de gestações simples, de acordo com a idade gestacional ao parto.

Discordância: diferença de peso ao nascimento >25%.

Taxa de mortalidade perinatal: mortes ocorridas entre as 28 semanas gestacionais (ou mais de 1000g) e o 7º dia de vida pós-natal.

A análise estatística dos dados foi efectuada através do programa Statistical Packages for Social Sciences-13 (SPSS-13), utilizando-se os testes de qui-quadrado ou a prova exacta de Fisher e a correlação de Pearson. Considerou-se estatisticamente significativo um $p < 0,05$.

RESULTADOS

No período analisado ocorreram 92 partos gemelares no CHVNG. Após a exclusão de 15 gestações monocoriônicas, 10 cujo seguimento se perdeu, 4 conseguidas apenas após indução da ovulação com citrato de clomifeno e 1 abortamento tardio (parto às 22 semanas), restaram 62 gestações gemelares que foram incluídas neste estudo: 24 após TPMA (grupo 1) e 38 espontâneas (grupo 2).

A mediana da idade no grupo 1 foi 33 anos e no grupo 2 foi 28,5 anos e verificou-se um predomínio de mulheres com idade superior a 30 anos no primeiro grupo (79,2% vs 39,5%, $p < 0,05$).

Relativamente aos antecedentes patológicos maternos, encontrou-se fundamentalmente patologia ginecológica (endometriose e doença inflamatória pélvica) e digestiva (colite ulcerosa) no grupo 1 (8 casos), e patologia respiratória (asma brônquica e rinite alérgica) no grupo 2 (4 casos), mas estas diferenças não tiveram significado estatístico

No grupo 1, a proporção de nulíparas foi superior

Tabela 1
Causas de Infertilidade

		%
Factor masculino	9	37,5
Factor mecânico	4	16,7
Factor masculino e feminino	3	12,5
Outro factor feminino	2	8,3
Factor hormonal	1	4,2
Idiopática	5	20,8

(95,8% vs 55,3%, p=0,001). A média de anos de infertilidade foi 5,4±2,5 anos (com um mínimo de 1 e

Tabela 2

Distribuição grupo versus complicações obstétricas

	Total	FIV/ICSI	Espontâneas	P
HTA	8,1%	8,3%	7,9%	0,951
Diabetes	11,3%	20,8%	5,3%	0,059
RPM	11,3%	20,8%	5,3%	0,059
Oligoâmnios	1,6%	4,2%	0	0,205

máximo de 10 anos) e esta foi maioritariamente primária (81% primária vs 19% secundária) (Tabela 1).

Em relação às complicações da gravidez, ainda que, no grupo das TPMA, tenha ocorrido mais HTA induzida pela gravidez (8,3% vs 7,9%), diabetes gestacional (20,8% vs 5,3%), RPM (20,8% vs 5,3%) e oligoâmnios (4,2% vs 0%), estas diferenças não tiveram significado estatístico (Tabela 2).

Nos dois grupos a cesariana foi o tipo de parto mais frequente (68,5%); o parto foi eutócico em 25% ou auxiliado por ventosa em 6,5% dos casos.

Tabela 3

Distribuição Grupo versus Tipo de Parto e Tipo de Cesariana

Tipo de Parto		FIV/ICSI	Espontâneas	p
Tipo de Parto	Eutócico	25%	25%	0,282
	Ventosa	2,1%	9,2%	
	Cesariana	72,9%	68,5%	
Tipo de Cesariana	Electiva	28,6%	52%	0,031
	Urgente	71,4%	48%	

Relativamente ao tipo de parto, não foram encontradas diferenças com significado estatístico entre os dois grupos (p= 0,282).

Analisando a natureza electiva ou urgente da cesariana verificamos que no grupo 1 predominaram as cesarianas urgentes (71,4%), enquanto que no grupo 2 as cesarianas foram, em maior percentagem, electivas (52%) (p = 0,031) (Tabela 3).

Considerando os partos de ambos os gémeos, verificamos que, no grupo 1, as cesarianas foram efectuadas principalmente por estado fetal não tranquilizador (14 casos) ou trabalho de parto estacionário (6 casos) (p = 0,006), enquanto que a presença de cesariana anterior (6 casos), patologia da gravidez (2 casos), ou a situação/apresentação fetal anómala (30 casos), foram os principais motivos de cesariana no outro grupo.

No grupo 2, mais mulheres foram submetidas a cesarianas electivas (16/38), por apresentarem 1º gé-

meo em pelve ou situação transversa, ao contrário do grupo 1 (5/24), justificando a maior percentagem de cesarianas urgentes neste grupo.

Não foram encontradas diferenças relativamente à

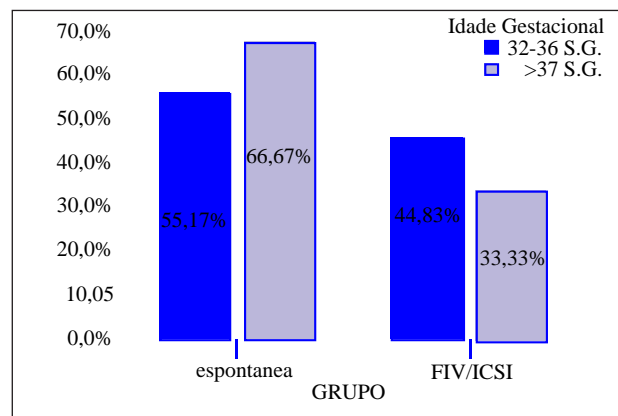


Gráfico 1

Distribuição por Grupo vs Idade Gestacional

idade gestacional à data do parto: a idade gestacional média no grupo 1 foi 36, 2 semanas e no grupo 2, 36,3 semanas. De igual modo, não se encontraram diferenças entre os dois grupos, quer em relação ao número de partos de termo, quer aos partos pré-termo ocorridos entre as 32-36 semanas completas. Não houve nenhum parto extremamente prematuro (< 32 semanas). (Gráfico 1)

Os dois grupos foram semelhantes tanto em relação ao peso dos RN (2353 g no grupo 1 vs 2366 g no grupo 2), como à presença de ACIU (20,8% vs 21,1%, respectivamente nos grupos 1 e 2).

Noventa e quatro por cento dos recém-nascidos apresentou um índice de apgar ao 5º minuto de vida > 7, não se verificando diferenças estatisticamente sig-

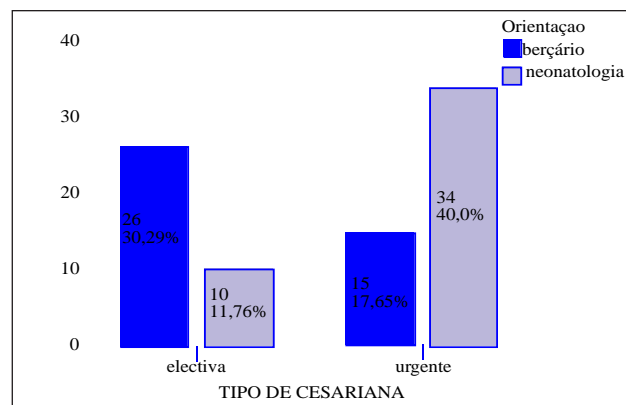


Gráfico 2

Distribuição por Grupo e tipo de cesariana

Tabela 4
Distribuição Grupo vs Tipo de Parto vs Apresentação do 1º Gêmeo

Grupo	Tipo de Parto do 1º gêmeo	n	Apresentação do 1º gêmeo			Total
			V	P	T	
Espontânea p=0,001	eutócico	n	11	0	0	11
	ventosa	n	4	0	0	4
	cesariana	n	7	15	1	23
Total		n	22	15	1	38
FIV/ICSI p=0,627	eutócico	n	6	0	0	6
	ventosa	n	1	0	0	1
	cesariana	n	12	4	1	17
Total		n	19	4	1	24

nificativas entre os dois grupos. A proporção de recém-nascidos com necessidade de internamento na unidade de cuidados intensivos neonatais (47,9% no grupo 1 vs 50% no grupo 2), bem como o número médio de dias de internamento nessa unidade foram semelhantes. A necessidade de internamento ocorreu predominantemente nos partos por cesariana urgente (69,4%, $p = 0,000$) (Gráfico 2).

Os principais motivos de internamento foram a prematuridade (25,8%), dificuldade respiratória ao nascimento com ou sem necessidade de ventilação mecânica (13,7%) e gemido/risco infeccioso (7,3%). Analisando a distribuição pelos dois grupos não se verificou diferença estatisticamente significativa. Ocorreram duas mortes no período neonatal, uma em

tações gemelares após FIV/ICSI apresentam maior risco de complicações obstétricas/neonatais quando comparadas com as espontâneas. Os resultados deste estudo revelaram que os riscos são semelhantes.

A percentagem de gestações gemelares monozigóticas (MZ) e consequentemente monocoriônicas resultantes de FIV/ICSI é menor que a que resulta de gestações gemelares espontâneas (0,95% vs 30%) (16, 17).

Uma vez que as gestações gemelares monocoriônicas apresentam maior morbidade e mortalidade (18, 19), foram excluídas deste estudo, já que a sua inclusão poderia condicionar piores resultados no grupo das gestações gemelares espontâneas.

As mulheres submetidas a TPMA são normalmente mais velhas e mais frequentemente nulíparas que as que engravidam espontaneamente (8, 11, 20). Essas mulheres mais velhas, quando comparadas com mulheres mais jovens, têm maior risco de complicações obstétricas como as perturbações hipertensivas, diabetes gestacional, PPT, parto por cesariana e morte in útero (21). Como seria esperado, no nosso estudo, as mulheres do grupo submetido a TPMA eram em média mais velhas e mais frequentemente nulíparas do que as do grupo das gestações gemelares espontâneas. Contudo, esses dois aspectos não condicionaram um pior desfecho obstétrico no grupo após FIV/ICSI da nossa amostra, uma vez que não houve diferença significativa na necessidade de cuidados intensivos nos recém-nascidos dos dois grupos.

Tal como na maioria dos estudos publicados, não encontramos diferenças relativamente à incidência de diabetes gestacional ou HTA induzida pela gravidez entre os dois grupos (6, 8, 11, 12, 22). Dois estudos encontraram resultados contraditórios. Daniel et al compararam 104 gestações gemelares após TPMA com 193 gestações gemelares espontâneas; encontraram incidência aumentada de HTA induzida pela gestação no primeiro grupo (23). Já Lambalk et al, num

Tabela 5
Tipo de anomalias minor

Anomalias	n	%
Ectasia piélica	9	64,3
Cordão c/ 2 vasos	2	14,3
Apêndice pré-auricular	1	7,1
Dedo supranumerário	1	7,1
Ventriculomegalia	1	7,1
Total	14	100%

cada grupo: no grupo 1, devido a hemorragia pulmonar num recém-nascido com encefalopatia hipóxico-isquémica; no grupo 2, devido a enterocolite necrosante.

Foram encontradas anomalias minor em 14 recém-nascidos, correspondendo a 25% dos casos do grupo 1 e 18,4% dos casos do grupo 2 ($p = 0,530$) (Tabela 5).

DISCUSSÃO

Este estudo apresenta a nossa experiência com gestações gemelares, resultantes de TPMA e espontâneas, num centro hospitalar de cuidados terciários. O objectivo primário foi procurar determinar se ges-

estudo de 2001, encontraram menor incidência de tensão arterial diastólica acima de 90 mmHg nas gestações gemelares dizigóticas após FIV relativamente às gestações gemelares dizigóticas espontâneas (4). Também em relação à RPM e ao aparecimento de oligoâmnios não encontramos diferenças entre os dois grupos. À semelhança de estudos anteriores, os nossos resultados revelaram que os resultados obstétricos de gestações gemelares após TPMA são comparáveis com os de gestações gemelares espontâneas (9, 10, 13, 20, 24, 25). Um estudo de 2002 (Schieve), incluindo mais de 18000 gestações gemelares após FIV mostrou que o risco de baixo peso ao nascimento nas gestações gemelares após FIV era semelhante ao das gestações gemelares espontâneas (26), o que está de acordo com os nossos resultados. Koudstaal et al (6) e Bernasko et al (8) descreveram uma incidência aumentada de peso fetal discordante nos gémeos após FIV; contudo, nós não encontramos essa diferença. No nosso estudo encontramos 4 anomalias congénitas minor no grupo das TPMA (25%) e 4 no outro grupo (18,4%), percentagens superiores aos 5% descritos na literatura (CooKe 28) e para as quais não conseguimos encontrar justificação.

A elevada taxa de cesarianas que encontramos (68,5% no total) é característica de todos os estudos envolvendo gémeos (8, 10, 11, 23). Os nossos resultados não revelaram diferenças com significado estatístico entre os dois grupos relativamente à percentagem de cesarianas, contrariamente ao descrito em vários estudos (8, 10, 20). Estes estudos sugerem que a maior percentagem de cesarianas realizadas nas gestações gemelares após TPMA deve-se à ansiedade que rodeia o seguimento destas crianças de "ouro", quer por parte de pais, quer dos obstetras (8, 10, 11). Contudo, apenas 28,65% das cesarianas efectuadas no grupo das TPMA foram electivas, contra 52% no das gestações espontâneas ($p=0,031$). Se por um lado situações de estado fetal não tranquilizador foram responsáveis por elevada proporção de cesarianas urgentes no grupo 1, no grupo das 2, a elevada taxa de cesarianas electivas relaciona-se com a apresentação não cefálica do 1º gémeo.

Relativamente à mortalidade perinatal, embora com resultados divergentes, a maioria dos estudos prévios que compararam as gestações gemelares após TPMA com gestações gemelares espontâneas, não encontraram diferenças significativas (6, 10, 13, 25), à semelhança dos nossos resultados. Um estudo com apenas 69 gestações gemelares após FIV revelou uma mortalidade perinatal mais elevada no grupo dos gémeos dizigóticos após FIV do que no grupo dos gémeos dizigóticos resultantes de gestações espontâneas, mas não se

encontraram diferenças para as crianças que nasceram com mais de 29 semanas de gestação (4).

Os dois grupos do nosso estudo foram semelhantes relativamente à orientação para o berçário ou neonatologia após o parto, o que se poderá dever às idades gestacionais à data do parto semelhantes. Como seria esperado, em ambos os grupos, dos partos por cesariana, as crianças internadas na neonatologia foram maioritariamente as nascidas por cesariana urgente.

Os nossos resultados, semelhantes entre os dois grupos, não estão de acordo com alguns estudos que defendem que os casais inférteis possuirão factores intrínsecos responsáveis por resultados obstétricos adversos para as gestações gemelares após TPMA (13, 14, 15).

O presente estudo apresenta algumas limitações inerentes à sua natureza retrospectiva. Em teoria, alterações na conduta obstétrica ao longo dos cinco anos a que o estudo se reporta, poderiam influenciar os resultados de algumas variáveis; contudo, entre 1999 e 2003 não se verificaram essas alterações no nosso centro. Procuramos diminuir o viés na recolha dos dados através da utilização de uma grelha igual para todos os casos; no entanto, foi inevitável o viés inerente à realização deste estudo num hospital de cuidados terciários, onde será esperado o seguimento de gestações gemelares de alto risco. O poder estatístico constitui outra limitação deste estudo, devido ao número limitado de casos incluídos e consequente diminuto número de complicações. Serão necessárias séries mais alargadas para confirmar estes dados.

Dois estudos (Wolner-Hansen et al. 28 e De Sutter et al. 29) que compararam os custos e resultados da transferência de 1 ou 2 embriões, mostraram que a transferência de 1 embrião único é mais custo-eficiente do que a transferência de 2 embriões, relativamente à morbilidade a longo prazo das crianças resultantes de FIV. Atendendo ao maior número de complicações e custos inerente às gestações gemelares e seu seguimento, deverão no futuro ser instituídos protocolos que limitem as indicações das TPMA e o resultante número de embriões transferidos. Na nossa instituição, a idade limite para aceder às TPMA é 38 anos e, nos últimos dois anos, com o objectivo de diminuir a taxa de gemelaridade, em regra, passou a transferir-se apenas 2 embriões resultantes de ICSI e 1 de FIV.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Nygren KG, Andersen AN.:** Assisted reproductive technology in Europe, 1999. Results generated from European registers by ESHRE. Hum Reprod 2002; 17:3260-74

2. **Maman E, Lunenfeld E, Levy A, Vardi H, Potashnik G.:** Obstetric outcome of singleton pregnancies conceived by in vitro fertilization and ovulation induction compared with those conceived spontaneously. *Fertil Steril* 1998; 7: 240-5
3. **Reubinoff B, Samueloff A, Ben-Haim M, Friedler S, Schenker J, Lewin A.:** Is the obstetric outcome of in vitro fertilized singleton gestations different from natural ones? A controlled study. *Fertil Steril* 1997; 67: 1077-83.
4. **Lambalk C, Van Hooff M.:** Natural versus induced twinning and pregnancy outcome: a Dutch nationwide survey of primiparous dizygotic twin deliveries. *Fertil Steril* 2001; 75: 731-6
5. **Moise J, Laor A, Armon Y, Gur I, Gale R.:** The outcome of twin pregnancies after IVF. *Hum Reprod* 1998; 13: 1702-5
6. **Koudstaal J, Bruinse H, Helmerhorst F, Vermeiden J, Willemsen W, Visser G.:** Obstetric outcome of twin pregnancies after in-vitro fertilization: a matched control study in four Dutch University hospitals. *Hum Reprod* 2000; 15:935-40
7. **Nassar A, Usta I, Rechdan J, Harb T, Adra A, Abu-Musa A.:** Pregnancy outcome in spontaneous twins versus twins who were conceived through in vitro fertilization. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189:513-18
8. **Bernasko J, Lynch L, Lapinski R, Berkowitz R.:** Twin pregnancies conceived by assisted reproductive techniques: maternal and neonatal outcomes. *Obstet Gynecol* 1997; 89:368-72
9. **Pinborg A, Loft A, Schmidt L, Langhoff-Roos J, Andersen A.:** Maternal risks and perinatal outcome in a Danish national cohort of 1005 twin pregnancies: the role of in vitro fertilization. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2004; 83: 75-84
10. **Dhont M, De Sutter P, Ruysinck G, Martens G, Bekaert A.:** Perinatal outcome of pregnancies after assisted reproduction: a case-control study. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181:688-95
11. **Olivennes F, Kadhel P, Rufat P, Fanchin R, Fernandez H, Frydman R.:** Perinatal outcome of twin pregnancies obtained after in vitro fertilization: comparison with twin pregnancies obtained spontaneously or after ovarian stimulation. *Fertil Steril* 1996; 66:105-9
12. **Fitzsimmons B, Bebbington M, Fluker M.:** Perinatal and neonatal outcomes in multiple gestations: assisted reproduction versus spontaneous conception. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179:1162-7
13. **Bergh T, Ericson A, Hillensjo T, Nygren KG, Wennerholm UB.:** Deliveries and children born after in-vitro fertilisation in Sweden 1982-95: a retrospective cohort study. *Lancet* 1999; 354: 1579-85
14. **Henriksen TB, Baird DD, Olsen J, Hedegaard M, Secher NJ, Wilcox AJ.:** Time to pregnancy and preterm delivery. *Obstet Gynecol* 1997; 89:594-9
15. **Draper ES, Kurinczuk JJ, Abrams KR, Clarke M.:** Assessment of separate contributions to perinatal mortality of infertility history and treatment: a case-control analysis. *Lancet* 1999; 353:1746-9
16. **Schachter M, Raziel A, Shevach F, Strassburger D, Bern O, Ron-El R.:** Monozygotic twinning after assisted reproductive techniques: a phenomenon independent of micromanipulation. *Hum Reprod* 2001; 16:1264-9
17. **Sperling L, Tabor A.:** Twin pregnancy: the role of ultrasound in management. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2001; 80: 287-99
18. **Loos R, Derom C, Vlietinck R, Derom R.:** The East Flanders Prospective Twin Survey (Belgium): a population-based register. *Twin Res* 1998; 1: 167-75
19. **Bryan E, Little J, Burn J.:** Congenital anomalies in twins. *Bailliere's Clin Obstet Gynaecol* 1987; 1: 697-721
20. **Ágústsson T, Geirsson RT, Mires G.:** Obstetric outcome of natural and assisted conception twin pregnancies is similar. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1997; 76: 45-9
21. **Seoud MA-F, Nassar AH, Usta IM, Melhem Z, Kzama A, Khalil.:** Impact of advanced maternal age on pregnancy outcome. *Am J Perinatol* 2002; 19:1-8
22. **Koivurova S, Hartikainen AL, Karinen L, Gissler M, Hemminki E, Martikainen H et al.:** The course of pregnancy and delivery and the use of maternal healthcare services after standard IVF in Northern Finland 1990-1995. *Hum Reprod* 2002; 17: 2897-903
23. **Daniel Y, Ochshorn y, Fait G, Geva E, Bar-Am A, Lessing J.:** Analysis of 104 twin pregnancies conceived with assisted reproductive technologies and 193 spontaneously conceived twin pregnancies. *Fertil Steril* 2000; 74: 683-9
24. **Koivurova S, Hartikainen AL, Gissler M, Hemminki E, Sovio U, Jarvelin MR.:** Neonatal outcome and congenital malformations in children born after in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 2002; 17: 1391-8
25. **Westergaard HB, Johansen AM, Erb K, Andersen AN.:** Danish National In-Vitro Fertilization Registry 1994 and 1995: a controlled study of births, malformations and cytogenetic findings. *Hum Reprod* 1999; 14: 1896-902
26. **Schieve LA, Meikle SF, Ferre C, Peterson HB, Jeng G, Wilcox LS.:** Low and very low birth weight in infants conceived with use of assisted reproductive technology. *N Engl J Med* 2002; 346: 731-7
27. **Wolner-Hansen p, Rydhstroem H.:** cost-effectiveness analysis of in-vitro fertilization: estimated costs per successful pregnancy after transfer of one or two embryos. *Hum Reprod* 1998; 13: 88-9428. **Cooke RWL.:** Neonatal care of twins. In: Ward RH, Whittle M, editors. *Multiple pregnancy* London: RCOG Press; 1995. p283-96
29. **De Sutter P, Gerris J, Dhont M.:** A health-economic decision-analytic model comparing double with single embryo transfer in FIV/III. *Hum Reprod* 2002; 17:2891-6