

Influencia de la transferencia electiva de dos embriones en las tasas de gestación en un programa de FIV/ICSI

Influences of the elective transference of two embryos in the rates of gestation in a FIV/ICSI program

Ana Clavero, M^a Carmen Gonzalvo, Luis Martínez, Rafael Ruiz de Assin, Sandra Zamora, Ana Fernández, Juan Fontes, Rocío López-Jurado, M^a Ángeles Calderón, José A. Castilla.

Unidad de Reproducción. Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Granada. España

Resumen

Objetivos: *Ante el aumento de las tasas de gestaciones múltiples debidas a las técnicas de Reproducción Asistida (RA), actualmente se tiende a disminuir el número de embriones transferidos. Con este estudio nos planteamos el objetivo de analizar el impacto en las tasas de gestación y de embarazo múltiple que tiene en un centro de RA la Transferencia Embrionaria (TE) selectiva de dos embriones.* **Material y métodos:** *Se ha realizado un estudio descriptivo retrospectivo de los datos incluidos en la base de datos de la Unidad de Reproducción del H.U. Virgen de las Nieves de Granada entre enero de 2004 y diciembre de 2007, analizando un total de 1607 ciclos de FIV/ICSI con TE. La política de transferencia embrionaria se modificó a partir del 1 de enero de 2006, pasando a transferir 2 embriones en un 59,6% de las TE en 2007. Se analizaron datos como las tasas de gestación, tasas de gestación múltiple, nº de transferencias totales, de dos y de tres embriones realizadas por año y nº medio de embriones transferidos por año.* **Resultados:** *El número medio de embriones transferidos disminuyó de un 2,25 en 2005 a un 1,91 en 2007, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,001$). Las tasas de gestación no variaron significativamente en los años estudiados. El aumento de las gestaciones únicas a partir de la introducción de la nueva política de TE fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$).* **Conclusiones:** *Ante la evidencia de que es posible mantener las tasas de embarazo mientras se reducen las de embarazo múltiple considerablemente y, por tanto, también los riesgos para los niños nacidos de técnicas de RA, no encontramos excusas para seguir transfiriendo tres embriones en mujeres de buen pronóstico.*

Palabras clave: Transferencia electiva. Tasa de gestación. Hospital público. FIV/ICSI.

Correspondencia: Dra. Ana Clavero Gilabert
Unidad de Reproducción
H. Maternal. 1^a planta Consultas externas.
Hospital Universitario Virgen de las Nieves
18014 Granada

Summary

Objectives: *First and foremost the increase in the rates of multiple gestations due to the techniques of Assisted Reproduction (AR), which at the moment tends to diminish the number of transferred embryos. With this study we considered the objective to analyze the impact in the rates of gestation and multiple pregnancy that the Embryonic Transference (ET) selective of two embryos has in a AR center.*

Material and methods: *A retrospective descriptive study has been made from the data from the Virgen de las Nieves of Granada Reproduction Unit, date base between January 2004 and December 2007, analyzing in total 1607 cycles of FIV/ICSI with ET. The policy of embryonic transference was modified the first of January 2006, changing to transfer 2 embryos in 59.6% of ET in 2007. The data was as well as gestation rates, multiple gestation rates, n° of total transferences, two and three embryos made per year, and n° average of embryos transferred per year.*

Results: *The average number of transferred embryos diminished from 2.25 in 2005 to 1.91 in 2007, showing a significant statistical difference ($p < 0.001$). Gestation rates did not vary significantly during the years studied. The increase in singular gestations originating from the introduction of the new ET policy was statistically significant. ($p < 0.05$).*

Conclusions: *According to the evidence it is possible to maintain pregnancy rates while reducing multiple pregnancies considerably and, thus, the risks to children born by AR techniques, we did not find reasons to continue transferring three embryos to women of good prognosis.*

Key words: Elective embryo transfer. Pregnancy rate. Public hospital. IVF/ICSI.

INTRODUCCIÓN

La complicación más importante asociada a las técnicas de Reproducción Asistida (RA) es la gestación múltiple, dada su elevada frecuencia y las complicaciones asociadas para los recién nacidos. Los datos del registro europeo (European in vitro monitoring) sitúan en un 22,8% la tasa de embarazo múltiple en Europa, mientras que en España es de un 26,9% en 2004 (1).

Estudios realizados sobre registros amplios de actividad han destacado el desarrollo menos favorable de los niños nacidos mediante técnicas de RA, comparados con los nacidos de concepción natural, siendo en la mayoría de los casos estas diferencias atribuibles al mayor porcentaje de embarazos múltiples (2).

La reacción a este aumento de embarazos múltiples en RA ha consistido principalmente en disminuir el número de embriones transferidos en FIV/ICSI, dada la evidencia científica de que en parejas de buen pronóstico las tasas de gestación no son mayores en mujeres que reciben tres embriones que en las que reciben dos, siendo sin embargo menores las tasas de gestación múltiple en las últimas (3-5). Para ello se hace necesaria una correcta identificación de los embriones con mayor poder implantatorio, así como la determinación de los factores que predicen un riesgo elevado de multigestación en una pareja concreta. Todas estas dificultades se encuentran entre las cita-

das por los centros a la hora de implantar una política de transferencia con un menor número de embriones. Sin embargo, también hay que tener en cuenta el temor de comprometer las tasas de embarazo y la presión ejercida por la pareja, sobre todo en centros públicos con limitación en el número de ciclos ofrecidos a los usuarios. Además, la percepción de las parejas respecto al embarazo gemelar es incluso positiva. Según una encuesta realizada en Dinamarca en 588 parejas, el 58,7% preferían tener gemelos frente a un 37,9% que preferían un embarazo simple. Las razones aducidas eran definir en un solo ciclo el número definitivo de hijos minimizando así el estrés producido por las técnicas de RA (6).

Por otra parte, ante la aparición de los casos de embarazos múltiples de alto orden ≥ 3) se introdujo la técnica de la reducción embrionaria, que convertía el embarazo en un gemelar. Sin embargo, en un estudio reciente se ha puesto de manifiesto que estos embarazos siguen asociados a mayor tasa de prematuridad extrema (menor de 28 semanas gestacionales), siendo el riesgo de un 1,8% en gemelares no reducidos y de un 4,5% en gemelares reducidos ($p=0,035$) (7). Además, incluso siendo realizada por médicos experimentados, la técnica conlleva un 10% de riesgo de aborto (8). Estos resultados constituyen una razón adicional para limitar el número de embriones transferidos evitando así los embarazos múltiples de alto orden.

Otro aspecto a tener en cuenta es el económico, dado que los costes de los partos simples son mucho

menores que los de los gemelares o triples, ya que hay que sumar a éstos los costes de los tratamientos de las complicaciones que pueden surgir, tanto en la madre como en los recién nacidos, en los que a veces son de por vida, como en el caso de la parálisis cerebral cuya incidencia afecta a un 1,5% en el caso de los gemelares y un 7-8% en el caso de los triples (4,9). Callahan et al. (1994) (10) estimaron el coste de un embarazo único en Estados Unidos en 9845 dólares, mientras que los gemelares ascendían a 37947 y los triples a 109765 dólares. En un estudio reciente Dixon et al. (2008) (11) estimaron los costes de conseguir un embarazo mediante técnicas de RA, incluyendo los costes de atención materna y pediátrica posteriores, resultando un coste de 8817 libras para el embarazo simple, 22081 para el gemelar y 65297 para el triple.

En España, a partir de la ley 45/2003 de 21 de noviembre, se limitó el número de embriones a transferir en cada ciclo de estimulación a tres como máximo, lo que ha provocado una disminución de la incidencia de embarazos múltiples de alto orden, sin embargo el porcentaje de embarazos gemelares sigue siendo elevado.

Con este estudio nos planteamos el objetivo de analizar el impacto en las tasas de gestación y de embarazo múltiple que tiene en un centro de Reproducción Asistida la Transferencia Embrionaria (TE) selectiva de dos embriones.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha realizado un estudio descriptivo retrospectivo de los datos incluidos en la base de datos de la Unidad de Reproducción del H.U. Virgen de las Nieves de Granada entre enero de 2004 y diciembre de 2007, analizando un total de 1607 ciclos de FIV/ICSI con TE. Los ciclos cancelados o puncionados pero sin transferencia (ya sea por no obtener ovocitos, no fecundación o detención del desarrollo embrionario) no fueron incluidos en el estudio.

Las pacientes fueron estimuladas mediante un protocolo de análogo largo. La punción folicular se realizó a las 36 horas tras la administración de la hCG, mediante aspiración transvaginal ecoguiada de los líquidos foliculares. Tras la búsqueda de los cúmulos ovocitarios en los líquidos foliculares se procedió a la microinseminación de los mismos mediante la técnica de FIV/ICSI. Los embriones obtenidos se clasificaron morfológicamente según la gradación de Veeck (1998)(12).

La política de transferencia embrionaria se modi-

ficó a partir del 1 de enero de 2006, pasando a realizar TE electiva de 2 embriones en un 59,6% de las TE en 2007, siguiendo la siguiente tabla de decisión (Tabla 1).

La transferencia embrionaria ecoguiada se realizó en día 2 o día 3 tras la punción folicular. El embarazo se diagnosticó mediante test de hCG en orina y posterior ecografía en la séptima semana gestacional.

Se analizaron datos como las tasas de gestación por transferencia, tasas de gestación múltiple, tasas de gemelares y de triples, nº de transferencias realizadas por año, nº de transferencias electivas realizadas por año, nº de transferencias de tres embriones realizadas por año, nº de transferencias de tres embriones realizadas y no recomendadas por el laboratorio, nº medio de embriones transferidos por año. Los resultados obtenidos se ajustaron en términos de edad materna, número de intentos previos de TRA, causa de la esterilidad y número de ovocitos fecundados.

Los datos de variables cualitativas se analizaron mediante test chi-cuadrado y los de variables cuantitativas mediante análisis de la varianza. Se consideró significación estadística una $p < 0,05$.

Tabla 1

Número de embriones a transferir según la edad de la mujer, calidad embrionaria y existencia de TE previas.

Edad	Transfer	Calidad Embriones	Nº Embriones
<30	No influye	No influye	2
30-34	1º	No influye	2
35-37	1º	Buena	2
35-37	1º	Regular/Mala	3
3-37	2º	Buena	2
30-37	2º	Regular/Mala	3
>37	No influye	Buena	2
>37	No influye	Regular/Mala	3

RESULTADOS

El número total de transferencias realizadas en este periodo fue de 1607. De ellas las transferencias electivas de dos embriones fueron 461 a partir del 1 de enero de 2006, mientras que anteriormente no se realizó ninguna. Las TE de tres embriones anteriores al cambio en la política de TE fueron 390, mientras que posteriormente realizamos 106.

El número medio de embriones transferidos disminuyó de un 2,25 en 2005 a un 1,91 en 2007 (Tabla 2), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,001$).

Tabla 2

Nº de TE totales, de tres embriones, selectivas de dos embriones y nº medio de embriones transferidos.

	2004	2005	2006	2007
Nº TE	349	389	369	500
Nº DETs	0 (0)	0 (0)	163 (44.2) ^{a,b}	298 (59.6) ^{a,b}
Nº TET	178 (51.0)	212 (54.5)	74 (20.1) ^{a,b}	32 (6.4) ^{a,b}
Nº medio embriones TE	2.25± 0.84	2.33±0.80 ^a	2.02±0.61 ^{a,b}	1.91±0.46 ^{a,b}

^a p<0.001 vs 2004

^b p<0.001 vs 2005

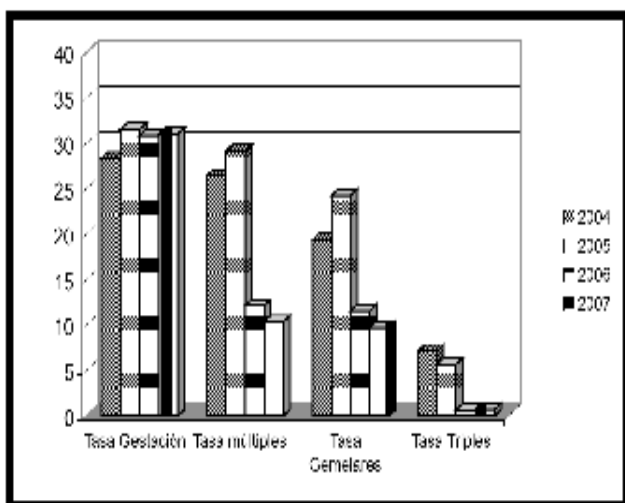
El número entre paréntesis corresponde a un porcentaje

TE: Transferencia Embrionaria

DETs. Transferencia Embrionaria selectiva de dos embriones

TET: Transferencia Embrionaria de tres embriones

Las tasas de gestación por transferencia en los años 2004, 2005, 2006 y 2007 fueron 28,3%, 31,5%,

**Figura 1**

Tasa de gestación, de embarazos múltiples, de gemelares y triples de 2004-2007

30,8% y 31% respectivamente, no existiendo diferencias significativas (Figura 1).

Del total de gestaciones obtenidas cada año, fueron gemelares un 19,3%, 24,4%, 11,7% y 9,6% en 2004, 2005, 2006 y 2007 respectivamente. Las gestaciones triples constituyeron un 7,1%, 5,7%, 0,9% y 0,6% respectivamente. El aumento de las gestaciones únicas a partir de la introducción de la nueva política de TE fue estadísticamente significativa (p<0,05).

Desde el comienzo de la nueva política de TE 23 parejas decidieron transferirse tres embriones cuando lo recomendado eran dos. De éstas quedaron embarazadas 11 mujeres resultando 4 embarazos múltiples (36,4%).

Tanto la edad materna, como el nº de ovocitos fecundados en el ciclo, los intentos de FIV/ICSI previos y el porcentaje de mujeres con factor tubárico fueron similares en todos los periodos estudiados (Tabla 3), así como en los grupos de gestación única vs múltiple (Tabla 4), no existiendo diferencias significativas.

DISCUSIÓN

A pesar de la evidencia ampliamente demostrada de la efectividad en la reducción de la tasa de embarazos múltiples que posee la transferencia de dos embriones (3, 13, 4, 5), en España se siguen realizando un elevado porcentaje de transferencias de tres embriones comparado con el resto de países europeos. En concreto, en el último registro publicado por la ESHRE (1) la media europea se situaba en un 22,1%, mientras que en nuestro país las transferencias de tres embriones ascendían a un 36,9%. Las diferencias son aún mayores si nuestros datos se comparan con los de países del norte de Europa como Dinamarca (5,2%), Finlandia (0,3%), Noruega (0,4%) y Suecia (0,1%).

Aún así, los datos son esperanzadores cuando observamos la tendencia al alza del porcentaje de transferencias de 2 embriones en España (en 2004 un 49,8%) (14), aunque seguimos sin acercarnos a la media de Europa, situada en un 55,3%. Respecto a las transferencias de un embrión, los países más avanza-

Tabla 3

Edad media de la mujer, nº de ovocitos fecundados en el ciclo, intentos de FIV/ICSI previos y porcentaje de mujeres con factor tubárico en mujeres embarazadas tras ciclo de FIV/ICSI

	2004 n=99	2006 n=123	2006 n=111	2007 n=156
Edad media	32.37±3.94	32.91±3.52	32.68±3.7	32.67±3.74
Nº ovocitos fecundados	4.45±2.12	5.01±3.07	4.96±2.63	5.36±3.09
Nº ciclos previos	0.74±0.28	0.63±0.31	0.76±0.29	0.69±0.19
Mujeres factor tubárico	2 (2.0)	7 (5.7)	3 (2.7)	10 (6.4)

NS

Los datos corresponden a media ± desviación estándar

El número entre paréntesis corresponde a un porcentaje

Tabla 4

Edad media de la mujer, nº de ovocitos fecundados en el ciclo, intentos de FIV/ICSI previos y porcentaje de mujeres con factor tubárico en mujeres a las que se realizó DETs

	Gestación única n=293	Gestación múltiple n=84
	32.96±3.62	32.1±3.56
Nº Ovocitos fecundados	4.62±2.76	4.91±2.61
Nº Ciclos	0.63±0.29	0.79±0.31
Mujeres con factor tubárico	9 (3.1)	4 (4.8)

NS

El número entre paréntesis corresponde a un porcentaje

dos en este terreno son Suecia y Bélgica, con un 67,4% y un 48,9% de transferencias de este tipo respectivamente, mientras que nosotros nos encontramos en un discreto 13,3% (1).

Por tanto, parece claro que el objetivo de los centros españoles debería ser acercarse no sólo a la media europea del 55,3% de transferencias de dos embriones, sino mirar más allá e intentar una aproximación a los citados países noreuropeos, no tanto en sus tasas elevadas de transferencias de un embrión, sino en sus reducidas tasas de transferencias de tres embriones. Creemos que la tasa del 36,9% alcanzada por España en 2004 debería ser inaceptable, debido a la relación existente entre este tipo de transferencia y la proporción de embarazos múltiples (5).

En nuestro centro decidimos implantar la TE de dos embriones con ciertas premisas: la pareja debía ser de buen pronóstico y eran necesarios más de dos

embriones aptos para transferir (siendo uno de ellos de óptima calidad). Esto nos llevó a una reducción significativa de la tasa de embarazos múltiples. Si clasificamos las tasas de gestación múltiples en gemelares y triples se observa una disminución muy acusada en estos últimos. En concreto pasamos de un 7,1% de embarazos triples en 2004 a un 0,6% en 2007. Estos datos confirman la utilidad de la transferencia electiva de dos embriones en la disminución casi total del porcentaje de embarazos triples en RA. Además, la tasa de gemelares también se ha visto reducida de manera importante, de un 19-24% a un 9-11%, todo ello sin modificar significativamente la tasa de gestación global. Estos datos son particularmente esperanzadores, ya que la bibliografía consultada respecto de las tasas de gemelares con DET suelen ser más elevadas, alrededor del 20% (3, 15, 16, 5).

Respecto a los factores de confusión estudiados, se ha demostrado que la edad materna está relacionada con la probabilidad de gestación múltiple (17). En nuestro caso la edad media de las mujeres era similar en todos los años estudiados. Así mismo sucede con el número de ovocitos fecundados en el ciclo, intentos de FIV/ICSI previos y porcentaje de mujeres con factor tubárico (3), que resultaron sin diferencias significativas en los distintos grupos de nuestro estudio.

Siendo nuestro centro un hospital público, sólo ofrecemos dos ciclos a las parejas, por lo que algunas rechazan la eDET aún estando indicada, prefiriendo la transferencia de tres embriones. Por tanto, estas parejas constituyen un modelo ideal para evaluar la efectividad en la disminución en la tasa de embarazos múltiples de la eDET. Los datos extraídos de nuestro estudio indican que cuando transferimos 3 embriones por decisión de la pareja (cuando nosotros recomen-

damos transferir 2), la tasa de gestación múltiple se triplica (11,4% vs 36,4%). Estos datos nos hacen pensar que los criterios escogidos para seleccionar a las parejas para eDET son correctos, coincidiendo además con los propuestos actualmente por grupos como Shibahara et al. (2007)(18), y que en este grupo de pacientes la eDET es efectiva en la reducción de la tasa de embarazo múltiple.

Un ejemplo del uso de la limitación en el número de embriones transferidos es el proyecto de reembolso Belga. Este consistía en la disminución del número de embriones transferidos a uno o dos, con lo que disminuyeron los gemelares (de un 28% a un 14%) y los triples (de un 5% a un 0,5%). Por tanto, se redujo el número partos múltiples, de estancias en Unidades de Cuidados Intensivos Neonatales, y de tratamientos por handicaps en niños, lo que supuso un ahorro de 7 millones de euros a corto plazo. Este dinero se reembolsó en RA aumentando la oferta a 6 ciclos por pareja en el sistema nacional de salud belga, no disminuyendo la tasa de embarazo tras 6 ciclos (19).

Respecto a la transferencia electiva de un solo embrión (eSET), existen estudios que defienden su uso prácticamente generalizado. Estos autores se basan en que las tasas de embarazo tras eSET más un ciclo posterior de criotransferencia si no resultara embarazada la mujer, resultarían menores, pero no substancialmente, a las de un ciclo con transferencia de dos embriones (DET) (20). Sin embargo, hay que tener en cuenta que en la mayoría de los estudios que defienden el uso de eSET los grupos no son estrictamente comparables, ya que las mujeres que recibían una eSET eran de mejor pronóstico que las que recibían dos embriones. Si nos basamos en una revisión Cochrane sobre el tema (21), se recomienda el uso exclusivo de la eSET en parejas de elevado riesgo de gestación múltiple, pero no su generalización, dado que, aunque se reduzcan las tasas de embarazos múltiples, las tasas de embarazo y de recién nacido vivo disminuyen significativamente respecto a las transferencias de dos embriones (DET).

En EEUU las políticas de TE difieren de modo importante a las europeas. Autores como Gleicher y Barad (2006) (22) se posicionan claramente en contra de ampliar la utilización de la eSET. De hecho, en la Guía de la Sociedad Americana se recomienda transferir cuatro embriones a las mujeres entre 38 y 40 años, y cinco embriones a las mayores de 40 (23), mientras que recientes recomendaciones de sociedades canadienses aceptan la transferencia de cuatro embriones en mujeres mayores de 39 años (24). Esto ha tenido como consecuencia que mientras que las tasas de gestación han sufrido un continuo incremento

en EEUU (25), en los países de Europa más restrictivos en el número de embriones transferidos (Bélgica, Finlandia, Suecia) las tasas de gestación por transferencia se estabilizaron alrededor del 25-30%. Sin embargo, las tasas de embarazo múltiple estadounidenses son muy elevadas (36,2% en 2002), mientras que las suecas se han situado en un 5,6% en 2004, siendo las de los países noreuropeos similares en general (1).

Si atendemos a indicadores de actividad que reflejan la calidad en el tratamiento, como la tasa de nacimientos por embrión transferido, los datos suecos (23,5%) (1) se sitúan muy por encima de los estadounidenses (13%). Por tanto, si pretendemos acercarnos a unas tasas de embarazo múltiple parecidas a las de países del norte de Europa, parece lógico que el camino sea el seguido por dichos países, es decir, la disminución de la media de embriones transferidos, que en países como Suecia se encuentra en un 1,3.

En nuestro país parece difícil reducir las transferencias a un solo embrión de modo prácticamente generalizado, en parte por el miedo a reducir las tasas de embarazo, y también, en los hospitales públicos, debido a la limitación en el número de ciclos que se ofrece a cada pareja. Al implantar la SET podríamos reducir la posibilidad de cada pareja de conseguir un embarazo, lo cual constituye un impedimento en muchos centros para que el personal sanitario se decida a implantar la SET. Además se une la percepción positiva que gran parte de las parejas tienen hacia el embarazo gemelar, ya que en un solo ciclo podrían definir el número deseado de hijos. Parece necesario para salvar este obstáculo el que la información facilitada a la pareja sobre SET y riesgos de embarazos múltiples esté mejor documentada, lo que no implica dar una información sesgada para respetar la autonomía de las parejas y facilitar la toma de decisiones (6).

En la actualidad, y siguiendo la filosofía de "primum non nocere", nuestra meta es alcanzar el máximo posible de DET, transfiriéndose tres embriones sólo en circunstancias excepcionales, y hemos comenzado a realizar eSET en casos escogidos de muy buen pronóstico. Creemos que vamos por buen camino, ya que en 2008 sólo el 7,3% de las transferencias realizadas fueron de tres embriones, y empezamos con un discreto 5,7% de eSET (con un 39,4% de tasa de gestación), estando las parejas cada vez más concienciadas con los riesgos de los embarazos múltiples con lo que no nos demandan la transferencia de tres embriones como sucedía anteriormente.

En resumen, ante la evidencia de que es posible mantener las tasas de embarazo mientras se reducen las de embarazo múltiple considerablemente y, por tanto, también los riesgos para los niños nacidos de

técnicas de RA, no encontramos excusas para seguir transfiriendo tres embriones en mujeres de buen pronóstico.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Andersen AN, Goossens V, Ferraretti AP, Bhattacharya S, Felberbaum R, de Mouzon J, Nygren KG.:** Assisted reproductive technology in Europe, 2004: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod* 2008; 23:756-771.
2. **Helmerhorst FM, Perquin DA, Donker D, Keirse MJ.:** Perinatal outcome of singletons and twins after assisted conception: a systematic review of controlled studies. *BMJ* 2004; 328: 261-265.
3. **Templeton A, Morris JK.:** Reducing the risk of multiple births by transfer of two embryos after in vitro fertilization. *N Eng J Med* 1998; 339: 573-577.
4. **Wimalasundera RC, Trew G, Fisk NM.:** Reducing the incidence of twins and triplets. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2003; 17:309-29.
5. **Dowling-Lacey D, Jones E, Mayer J, Bocca S, Stadtmauer L, Oehninger S.:** Elective transfer of two embryos: reduction of multiple gestations while maintaining high pregnancy rates. *J Assist Reprod Genet*, 2007; 24:11-15.
6. **Højgaard A, Ottosen LDM, Kesmodel U, Ingerslev HJ.:** Patient attitudes towards twin pregnancies and single embryo transfer - a questionnaire study. *Hum Reprod* 2007; 22:2673-2678.
7. **Cheang C, Huang L, Lee T, Liu C, Shih Y, Lee M.:** A comparison of the outcomes between twin and reduced twin pregnancies produced through assisted reproduction. *Fertil Steril*, 2007; 88:47-52.
8. **Evans MI, Kramer RL, Yaron Y.:** What are the ethical and technical problems associated with multifetal pregnancy gestation. *Clin Obstet Gynecol*, 1998; 4:47-54.
9. **Doyle P.:** The outcome of multiple pregnancy. *Hum Reprod*, 1996; 11(S4):118-120.
10. **Callahan TL, Hall JE, Ettner SL.:** The economic impact of multiple gestation pregnancies and the contribution of assisted-reproduction techniques to their incidence. *New Eng J Med*, 1994; 331:244-249.
11. **Dixon S, Faghhi Nasiri F, Ledger W, Lenton E, Duenas A, Sutcliffe P, Chilcott J.:** Cost-effectiveness analysis of different embryo transfer strategies in England. *BJOG*, 2008;115:758-766.
12. **Veeck LL.:** Oocyte assessment and biological performance. *Ann NY Acad Sci*, 1998; 541:259-274.
13. **Staessen C, Janssenswillen C, Van der Abeel E, Devroey P, van Steirtghem AC.:** Infertility: avoidance of triplet pregnancies by elective transfer of two good quality embryos. *Hum Reprod*, 1993; 8:1650-1653.
14. **RegistroSEF.:** *Rev Iber Fert*, 2004; 24 (S2):1-38.
15. **Martikainen H, Tiitinen A, Tomas C.:** One versus two embryo transfer after IVF and ICSI: a randomized study. *Hum Reprod*, 2001; 16:1900-1903.
16. **Vilksa S, Tiitinen A, Hyden-Granskog C.:** Elective transfer of one embryo results in an acceptable pregnancy rate and eliminates the risk of multiple birth. *Hum Reprod*, 1999; 14:2392-2395.
17. **Schieve LA, Peterson HB, Meikle SF, Jeng G, Danel I, Burnett NM, Wilcox LS.:** Live-birth rates and multiple-birth risk using in vitro fertilization. *JAMA*, 1999; 282:1832-1838.
18. **Shibahara H, Hirano Y, Okajima T, Shimada K, Kikuchi K, Suzuki T, Takamizawa S, Suzuki M.:** Establishment of criteria for elective single embryo transfer at day 2 or day 3 by analyzing cases with successful implantation of all embryos transferred. *J Obstet Gynaecol Res*, 2007; 33:501-505.
19. **Gerris J.:** The near elimination of triplets in IVF. *Reprod Biomed Online*, 2007; 15(S3):40-44.
20. **Thurin A, Hausken J, Hillensjö T, Jablanoswka B, Pinborg A, Strandell A, Bergh C.:** Elective single-embryo transfer versus double-embryo transfer in in vitro fertilization. *New Eng J Med* 2004; 351: 2392-2402.
21. **Pandian Z, Templeton A, Serour G, Bhattacharya S.:** Number of embryos for transfer after IVF and ICSI: a Coch rane review. *Hum Reprod* ; 20: 2681-2687.
22. **Gleicher N, Barad D.:** The relative myth of elective embryo transfer. *Hum Reprod*, 2006; 21:1337-1344.
23. **ASRM Practice Committee.:** Guidelines on number of embryos transferred. *ASRM*, 2006; 86 (S4): 51-52.
24. **SOGC-CFAS.:** Guidelines for the number of embryos to transfer following in vitro fertilization. *Int J Gynaecol Obstet*. 2008;102:203-16.
25. **CDC.:** Assisted reproductive technology success rates. *National Summary and Fertility Clinic Reports*. 2002.
26. **Ley 45/2003**, de 21 de noviembre, por la que se modifica la Ley 35/1988, de 22 de noviembre, sobre Técnicas de Reproducción Asistida. *BOE num. 280*, de 22-11-2003, pp 41458-41463.
27. **Wennerholm UB, Bergh C.:** Outcome of IVF pregnancies. *Fetal Matern Med Rev* 2004; 15: 27-57.