

## Reproducción Asistida: ¿Debemos solo transferir un embrión?

## Assisted Reproduction: Should be transferred only one embryo?

Eric Saucedo de la Llata, Israel Obed Carmona Ruiz, María Rosa, Moraga Sánchez, Jesús Julián López Reyes, Inmaculada Riquelme Candel, Alberto Romeu Sarrió

Imar Fertilidad

### RESUMEN

**Objetivo:** Comparar resultados obstétricos y perinatales de embarazos únicos espontáneos con los obtenidos por reproducción asistida, tanto únicos como gemelares. **Material y método:** Estudio descriptivo observacional retrospectivo. Se analizan un total de 1 096 embarazos de pacientes que acuden a control obstétrico en una clínica privada y se clasifican en tres grupos según el modo de concepción y número de fetos: Grupo 1, embarazo único espontáneo; Grupo 2, embarazo único por técnica de reproducción asistida (TRA) y, Grupo 3, embarazo gemelar por reproducción asistida. Se analizan los resultados obstétricos y perinatales entre los tres grupos. Se considera que hay diferencia estadística con un valor menor a  $<0.01$  utilizando la prueba de chi cuadrado. **Resultados:** La tasa de diabetes gestacional fue mayor en el grupo de embarazo único por TRA (23,78%) comparada a la de embarazo único espontáneo (6,66%) y gemelar por TRA (0%), presentando diferencia estadísticamente significativa. Hubo mayor presencia de anemia gestacional en el grupo de embarazo único espontáneo (76,66%) que en los grupos de TRA (19,51% y 31,25% para único y gemelar respectivamente) con diferencia estadística. Se presenta diferencia significativamente estadística a favor del grupo de embarazo gemelar por TRA en cuanto a un mayor número de casos de amenaza de parto pretérmino (25 %), una mayor ganancia de peso materno a final del embarazo ( $12,33 \pm 3,2$  Kg), un mayor número de nacimientos por cesárea (81,25%), menor edad en semanas de gestación al parto ( $35,28 \pm 3,6$ ), menor peso del recién nacido ( $2\,388,69 \pm 378$  g) y un mayor número de casos que requieren ingreso a unidad de cuidados intensivos neonatales (18,75%). **Conclusiones:** El embarazo gemelar tiene un peor pronóstico perinatal que el embarazo único sea espontáneo o por TRA.

( Rev. Iberoam. Fert Rep Hum, 2015; 32; 16-21 © Revista Iberoamericana de Fertilidad y Reproducción Humana)

**Palabras clave:** *Transferencia única de embrión, embarazo único versus gemelar, resultados perinatales*

Aceptado 15/2/ 2015

Correspondencia: Eric Saucedo de la Llata. Imar Fertilidad

C/Miguel Hernández, 3. 30011 Murcia

administracion@clinicaimar.com

SOLICITUD REIMPRESIÓN: Email: editorialmedica@editorialmedica.com

---

## SUMMARY

**Objectives:** To compare obstetric and perinatal outcomes in spontaneous single pregnancies, assisted reproduction single pregnancies and assisted reproduction twin pregnancies. **Material and method:** Observational retrospective study. Patients that attend pregnancy control and delivery in a gynecologic-obstetric and assisted reproduction clinic. A total of 1,096 pregnancies were analysed and classified: Group 1, spontaneous single pregnancy; Group 2, assisted reproduction single pregnancy and; Group 3, assisted reproduction twin pregnancy. Obstetric and perinatal outcomes were analyzed. Statistical difference is defined as a value of  $<0.01$  after applying the chi square test. **Results:** Gestational diabetes rate is higher in assisted reproduction (AR) single pregnancies (23.78%) than in that of spontaneous single pregnancies (6.66%) or AR twin pregnancies (0%), there was statistical significance. There was a higher rate of gestational anaemia in spontaneous single pregnancies (76.66%) than in AR groups (19.51%, 31.25% single and twin respectively)  $p = <0.001$ . There were statistical significance favouring AR twin pregnancies in terms of preterm labour (25%), higher maternal weight gain ( $12.33 \pm 3.2$  Kg), higher c-section delivery (81.25%), lower gestational weeks at delivery ( $35.28 \pm 3.6$ ), lower fetal weight ( $2388.69 \pm 378$  g) and a higher admission to a neonatal intensive care unit (18.75%). **Conclusions:** Twin pregnancies have adverse obstetric and perinatal outcomes than single spontaneous or assisted reproduction pregnancies.

(Rev. Iberoam. Fert Rep Hum, 2015; 32; 16-21 © Revista Iberoamericana de Fertilidad y Reproducción Humana)

**Keywords:** *Single embryo transfer, single vs twin pregnancies, perinatal outcomes.*

## INTRODUCCIÓN

El embarazo múltiple tiene una mayor frecuencia de complicaciones obstétricas y perinatales que el embarazo único como parto pretérmino (OR 5,2), bajo peso al nacimiento (OR 2,2), ingreso a unidad de cuidados intensivos neonatales (OR 2), y mortalidad perinatal (OR 2,3) (1-4).

El embarazo gemelar espontáneo, tiene una incidencia del 1-1,5% (5). El uso cada vez más frecuente de las Técnicas de Reproducción Asistida (TRA) han ocasionado una mayor incidencia de embarazo múltiple. En el último informe de la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (ESHRE) se muestra una incidencia del 19,6% (6). La Sociedad Española de Fertilidad, en el Registro SEF 2012 para las técnicas de reproducción asistida, publica una incidencia del 21,9% para el parto gemelar a partir de ovocitos propios y del 27,8% con ovocitos de donante (7).

En el intento de garantizar el embarazo en las técnicas de reproducción asistida las clínicas se resisten a disminuir el número de embriones por transferencia (6) dando lugar a la que es considerada la complicación más común de un tratamiento de fertilidad: el embarazo múltiple (8).

El objetivo del presente estudio es comparar los resultados obstétricos y perinatales de embarazos únicos espontáneos con aquellos obtenidos por técnicas de reproducción asistida, tanto únicos como gemelares.

## MATERIAL Y MÉTODO

El siguiente es un estudio descriptivo, observacional, retrospectivo. Se incluyeron pacientes que acudieron a control de

embarazo y atención del parto en una clínica privada de ginecología, obstetricia y medicina reproductiva durante enero 2009 y diciembre 2013. Pacientes con enfermedades previas al embarazo que suponían un resultado perinatal adverso fueron excluidas.

Según la manera de concepción y el número de fetos, se clasificaron a las pacientes en 3 grupos: Grupo 1, pacientes con embarazo único espontáneo; Grupo 2, pacientes con embarazo único por TRA; y Grupo 3, pacientes con embarazo gemelar obtenido por TRA.

La edad gestacional se calculó por la fecha de última menstruación y se confirmó por ecografía del primer trimestre. Parto pretérmino y parto prematuro se definieron como el parto antes de las 37 y 32 semanas de gestación, respectivamente.

### Variables estudiadas

Para cada paciente incluida en el estudio, se analizaron los siguientes datos: edad materna al momento del parto, modo de concepción, número de gestaciones, consumo de tabaco durante el embarazo, edad gestacional en el momento del parto, tipo de parto, complicaciones anteparto, episodios de amenaza de parto pretérmino.

Los resultados perinatales que se estudiaron fueron: peso al nacimiento, ingreso a unidad de cuidados intensivos del recién nacido (UCIN), anomalías congénitas mayores (Clasificación Internacional de Enfermedades 10), morbilidad y mortalidad neonatal.

El análisis de los datos se realizó mediante el software SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) Version 21 para

Mac. Las variables continuas se compararon mediante la t de student y las variables categóricas mediante chi cuadrado.

## RESULTADOS

Entre enero 2009 y diciembre del 2013 se analizaron un total de 1 150 embarazos de los cuales, 947 fueron embarazos espontáneos únicos; y 203 obtenidos por TRA (171 únicos y 32 gemelares). Se excluyeron 54 casos debido a que la madre presentaba una enfermedad preexistente quedando conformados los grupos de la siguiente manera: 900 para el grupo de embarazo único espontáneo; 164, embarazo único por TRA; y 32, embarazo gemelar por TRA (Tabla 1).

Se encontró una diferencia con significación estadística entre la edad media de las pacientes del grupo de embarazo único espontáneo ( $32,36 \pm 3,2$  años) al compararse con las edades de los grupos obtenidos por TRA (embarazo único por TRA  $35,81 \pm 3,1$  y embarazo gemelar por TRA de  $34,38 \pm 4,4$  años) (Tabla 1).

La paridad también demostró una diferencia estadística ( $p < 0,05$ ). En el grupo de embarazo único espontáneo, el 33,33 % de las pacientes eran nulíparas; en el embarazo único por TRA el 90,24 %; y en el grupo de embarazo gemelar por TRA, el 71,87 % (Tabla 1). No hubo diferencia estadística en el índice de masa corporal obtenido previo al embarazo entre los grupos (Tabla 1).

Con relación al tabaquismo materno, se encontró presente en el 12,5 % de las mujeres del grupo de embarazo gemelar por TRA y mostró una diferencia significativa al ser comparado con el grupo de embarazo único espontáneo (30 %) y único por TRA (38,41 %). El tabaquismo por parte de los varones, mostró la misma tendencia encontrando una menor proporción de tabaquismo en el grupo de gemelar por TRA (9,37 %) al ser comparado con los grupos de embarazo único espontáneo (23,33 %) y único por TRA (38,41 %) (Tabla 1).

Con relación a las patologías durante el embarazo que presentaron las pacientes, observamos una mayor frecuencia de casos de diabetes gestacional en el grupo de embarazo único por TRA (23,78 %) que en el de embarazo único espontáneo (6,66 %) o gemelar por TRA. El resultado fue estadísticamente significativo (Tabla 2). El grupo de embarazo único espontáneo presentó anemia en el 76,66 % de los casos y fue mayor que en los embarazos por TRA (19,51 % para el embarazo único y 31,25 % para el gemelar) (Tabla 2).

Existió una mayor prevalencia de amenaza de parto pretérmino en el grupo de embarazo gemelar por TRA (25 %) al ser comparado con los grupos de embarazo único (6,66 y 4,87 % para el espontáneo y el de TRA respectivamente) (Tabla 2).

La mayor ganancia de peso materno se observó en el grupo de embarazo gemelar por TRA, (12,33 kg comparado a 7,32 y 9,82 kg de los embarazos único espontáneo y de TRA, respectivamente) (Tabla 2).

Características generales de las pacientes				
	Embarazo único espontáneo (EUE) n= 900	Embarazo único por TRA (EUTRA) n= 164	Embarazo gemelar por TRA (EGTRA) n= 32	P
Edad	32,36 $\pm$ 3,2	35,81 $\pm$ 3,1	34,38 $\pm$ 4,4	<0,051,2
Nuliparidad	300 (33,33%)	148 (90,24%)	23 (71,87%)	<0,051,2,3
IMC	23,67 $\pm$ 2,6	25,91 $\pm$ 2,3	25,05 $\pm$ 3,2	NS
Tabaquismo en la Mujer	270 (30%)	63 (38,41%)	4 (12,50%)	<0,051,2,3
Tabaquismo en el Varón	210 (23,33%)	63 (38,41%)	3 (9,37%)	<0,051,2,3
FSH UI/L	7,82 $\pm$ 2,7	8,53 $\pm$ 2,5	9,75 $\pm$ 2,2	NS

**RA: Reproducción Asistida**  
**P: Significación estadística**  
**NS: No Significación (P  $\geq$  0.05)**  
**1EUE vs EUTRA 2EUE vs EGTRA 3EUTRA vs EGTRA**  
**IMC: Índice de Masa Corporal**  
**FSH: Hormona folículo estimulante**

TABLA 2

## Comparación de los resultados perinatales entre los 3 grupos de estudio

	Embarazo único espontáneo n= 900	Embarazo único por TRA n= 164	Embarazo gemelar por TRA n= 32	P
Diabetes Gestacional	60 (6,66%)	39 (23,78%)	0	<0,05
Preeclampsia	0	0	0	NS
Anemia gestacional	690 (76,66%)	32 (19,51%)	10 (31,25%)	<0,05
Amenaza de parto pretérmino	60 (6,66%)	8 (4,87%)	8 (25%)	<0,05
Ganancia de peso materno en el embarazo (Kg)	7,32 ±4,6	9,82 ±4,3	12,33 ±3,2	<0,05
Nacimiento por Cesárea	150 (16,66%)	78 (47,56%)	26 (81,25%)	<0,05
Edad gestacional en el momento del parto	38,04 ±1,07	38,32 ±1,32	35,28 ±3,6	<0,05
Peso promedio del recién nacido (g)	3 186,31 ±352	3 063,81 ±399	2 388,69 ±378	<0,05
Ingreso en UCIN	0	0	6 (18,75%)	<0,05
Malformaciones	0	0	2 (6,25%)	NS

**RA: Reproducción Asistida**  
**NS: No Significación (P ≥0.05)**  
**UCIN: Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales**

Se realizaron un alto porcentaje de cesáreas en los embarazos obtenidos por TRA (81,25 % para el gemelar y 47,56 % para el embarazo único), existiendo una diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) cuando se comparó con el grupo de embarazo único espontáneo (16,66 %) (Tabla 2).

La edad gestacional en el momento del parto, fue similar en los grupos de embarazo único (38,04 semanas para embarazo espontáneo y 38,32 semanas para TRA) y dicha edad gestacional fue más baja en el grupo de embarazo gemelar por TRA (35,28 semanas) de manera estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ) (Tabla 2).

El peso promedio del recién nacido también fue superior en los grupos de embarazo único espontáneo y por TRA (3 186g y 3 063g, respectivamente) que la media del embarazo gemelar por TRA (2 388,69g) ( $p < 0,05$ ) (Tabla 2).

Se presentaron solo 6 casos de nacimientos que requirieron ingreso en Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN) y todos fueron del grupo de embarazo gemelar por TRA. Hubo dos casos de anomalías congénitas mayores en el grupo de embarazo gemelar por TRA (un síndrome de Axenfeld Rieger y una anencefalia) (Tabla 2).

## DISCUSIÓN

Aún existe controversia respecto a los peores resultados perinatales que se presentan en los embarazos concebidos por técnicas de reproducción asistida. Henningsen (9) y Talaulikar (10), describen mayores complicaciones como mayor riesgo de parto pretérmino, bajo peso al nacer, mayor práctica de cesárea e inclusive, el Estudio Nacional para la Prevención de Defectos al Nacimiento (NBDPS) informa mayor riesgo de defectos del septum cardíaco (OR=2,1), atresia esofágica (OR 4,5) y atresia anorectal (OR 3,7) en los recién nacidos a través de TRA (11).

Por otro lado, Reubinoff, et al (12), Olivennes et al (13) y Barros Delgadillo et al (14), no encuentran que los embarazos obtenidos por reproducción asistida, muestren una mayor tendencia a complicaciones obstétricas y perinatales.

Existen muchas publicaciones que demuestran un mayor porcentaje de complicaciones en los embarazos gemelares sean espontáneos o por técnicas de reproducción asistida al ser comparado con embarazos únicos (4, 8, 15).

En el actual trabajo hemos comparado la evolución y el pronóstico de gestaciones obtenidas espontáneamente y por reproducción asistida.

Coincidiendo con los trabajos de Caserta y cols (8), así como de Kallen y cols (16), encontramos que las mujeres que concibieron por medio de TRA presentaron mayor edad y tendencia a la nuliparidad que el grupo de embarazo único espontáneo.

Domingues et al (17) y Ashrafi et al (18) encontraron una mayor tendencia de desarrollar Diabetes Gestacional en los embarazos obtenidos por TRA. En nuestro trabajo encontramos que el 23,78 % de las mujeres del grupo de embarazo único por TRA desarrollaron diabetes gestacional, y sorprendentemente, ninguna de aquellas del grupo gemelar obtenido por TRA.

Es ampliamente conocido el mayor riesgo de los embarazos gemelares de desarrollar enfermedad hipertensiva del embarazo (19, 20). En nuestro estudio buscamos la presencia o desarrollo de preeclampsia, complicación que no observamos en ninguno de los grupos. La ausencia de casos pudo ser debido a la edad media de las pacientes en el grupo de embarazo único espontáneo y, en el caso de los grupos de embarazo por TRA, al tamaño muestral.

Beltrán y cols (15) encontraron una mayor prevalencia de anemia en mujeres que concibieron de manera espontánea (30 %) al ser comparada con mujeres que se realizó TRA (21,4 %), acorde a esta publicación, en el presente trabajo se presentó anemia en el 76,66 % de los embarazos espontáneos y existió una diferencia significativa con el 20 % encontrado en los embarazos únicos con TRA y 31 % de los gemelares por TRA. Nuestra hipótesis es que las pacientes a quienes se prepara para un ciclo de TRA llevan un control pre-concepcional con suplementos nutricionales.

Con relación al porcentaje de cesárea como forma de terminación del embarazo se encontró una diferencia significativa entre los grupos siendo mayor en aquellas a quienes se realizó TRA (47,5 % para el único y 85 % para el gemelar) que aquellas con embarazo espontáneo (16,66 %). El porcentaje de cesárea en mujeres que se realizan ciclos de TRA según la literatura mundial, varía del 47 % (21) hasta un 95 % inclusive (8).

Como era de suponer, la edad gestacional en el momento del nacimiento, fue menor para el grupo de embarazo gemelar por TRA (35,28 semanas) y significativamente menor que los grupos de embarazo único espontáneo y por TRA (38,04 semanas y 38,32 semanas respectivamente). Caserta y cols (8) obtienen una edad gestacional media al momento del nacimiento de 35 semanas en embarazo gemelar por TRA.

El peso promedio del recién nacido en embarazo gemelar se encontró en  $2\ 388,69\ g \pm 378$  y fue estadísticamente menor al compararse con los de embarazo único espontáneo ( $3\ 186,31\ g \pm 352$ ) y por TRA ( $3\ 063,81\ g \pm 399$ ),  $p < 0,001$ .

Esta misma tendencia se observa en trabajos previos (8, 22). Encontramos que el 18,75 % de los recién nacidos provenientes de embarazos gemelares requirieron ingreso a UCIN. Caserta y cols (8) al estudiar este parámetro, informa de un 28 % al igual que Beltrán y cols (15).

Encontramos 2 casos de malformaciones en los recién nacidos, ambas en el grupo de embarazo gemelar por TRA. Uno de los recién nacidos se diagnosticó como un síndrome de Axenfeld Rieger y otro, como anencefalia. Consideramos estos hallazgos de manera puntual, sin tener relación con la técnica de reproducción asistida. En el meta-análisis publicado por Hansen y cols (23) se informa de un riesgo relativo mayor (RR 1,32, IC95 % 1,24-1,42) para presentar malformaciones congénitas en los nacidos por TRA.

Los estudios que comparan resultados perinatales de embarazos gemelares espontáneos y aquellos de fertilización in vitro son inconsistentes; algunos muestran resultados similares (24-26), mientras que otros encuentran un aumento en los casos de diabetes gestacional, enfermedad hipertensiva del embarazo, parto pretérmino, bajo peso al nacer, práctica de cesárea y un aumento en la admisión a las unidades de cuidados intensivos neonatales (27-29). Nuestros resultados apoyan que el embarazo gemelar obtenido por TRA tiene un peor pronóstico perinatal que el de aquellos embarazos únicos espontáneos o por TRA.

Como conclusión, podemos decir que el embarazo gemelar tiene un peor pronóstico perinatal que el embarazo único ya sea espontáneo o por TRA. Consideramos que podemos disminuir las complicaciones obstétricas de este tipo de gestación si cambiamos la política de transferencia de embriones con un máximo de uno por procedimiento.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Luke B, Brown MB. Contemporary risks of maternal morbidity and adverse outcomes with increasing maternal age and plurality. *Fertility and sterility* 2007, 88 (2):283-293.
2. Sibai BM, Hauth J, Caritis S, Lindheimer MD, MacPherson C, Klebanoff M, VanDorsten JP, Landon M, Miodovnik M, Paul R et al. Hypertensive disorders in twin versus singleton gestations. National Institute of Child Health and Human Development Network of Maternal-Fetal Medicine Units. *American journal of obstetrics and gynecology* 2000, 182 (4):938-942.
3. Sivan E, Maman E, Homko CJ, Lipitz S, Cohen S, Schiff E. Impact of fetal reduction on the incidence of gestational diabetes. *Obstetrics and gynecology* 2002, 99 (1):91-94.
4. Moini A, Shiva M, Arabipoor A, Hosseini R, Chehrazhi M, Sadeghi M. Obstetric and neonatal outcomes of twin pregnancies conceived by assisted reproductive technology compared with twin pregnancies conceived spontaneously: a prospective follow-up study. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology* 2012, 165 (1):29-32.
5. Bortolus R, Parazzini F, Chatenoud L, Benzi G, Bianchi MM, Marini A. The epidemiology of multiple births. *Human reproduction update* 1999, 5 (2):179-187.

6. Kupka MS, Ferraretti AP, de Mouzon J, Erb K, D'Hooghe T, Castilla JA, Calhaz-Jorge C, De Geyter C, Goossens V, The European IVFm et al. Assisted reproductive technology in Europe, 2010: results generated from European registers by ESHREddagger. *Human reproduction* 2014.
7. **Fertilidad SED. Registro SEF.** In.; 2012.
8. Caserta D, Bordi G, Stegagno M, Filippini F, Podagrosi M, Roselli D, Moscarini M. Maternal and perinatal outcomes in spontaneous versus assisted conception twin pregnancies. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology* 2014, 174:64-69.
9. Henningsen AK, Pinborg A, Lidegaard O, Vestergaard C, Forman JL, Andersen AN. Perinatal outcome of singleton siblings born after assisted reproductive technology and spontaneous conception: Danish national sibling-cohort study. *Fertility and sterility* 2011, 95 (3):959-963.
10. Talaulikar VS, Arulkumaran S. Maternal, perinatal and long-term outcomes after assisted reproductive techniques (ART): implications for clinical practice. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology* 2013, 170 (1):13-19.
11. Reefhuis J, Honein MA, Schieve LA, Correa A, Hobbs CA, Rasmussen SA, National Birth Defects Prevention S. Assisted reproductive technology and major structural birth defects in the United States. *Human reproduction* 2009, 24 (2):360-366.
12. Reubinoff BE, Samueloff A, Ben-Haim M, Friedler S, Schenker JG, Lewin A. Is the obstetric outcome of in vitro fertilized singleton gestations different from natural ones? A controlled study. *Fertility and sterility* 1997, 67 (6):1077-1083.
13. Olivennes F, Rufat P, Andre B, Pourade A, Quiros MC, Frydman R. The increased risk of complication observed in singleton pregnancies resulting from in-vitro fertilization (IVF) does not seem to be related to the IVF method itself. *Human reproduction* 1993, 8 (8):1297-1300.
14. Barros Delgadillo JC, Alvarado Mendez LM, Gorbea Chavez V, Villalobos Acosta S, Sanchez Solis V, Gavino Gavino F. (Perinatal results in pregnancies obtained with embryo transfer in vitro fertilization: a case-control study). *Ginecologia y obstetricia de Mexico* 2006, 74 (12):626-639.
15. Beltran Montoya J, Reyes Munoz E, Cruz Rivera E, Lopez Villaseñor B, Francisco de la Jara Diaz J, Herrerias Canedo T. (Adverse perinatal outcomes in Mexican women with twin pregnancy achieved by assisted reproduction techniques vs. spontaneous twin pregnancies). *Ginecol Obstet Mex* 2012, 80 (7):445-453.
16. Kallen B, Finnstrom O, Nygren KG, Otterblad Olausson P. In vitro fertilization in Sweden: maternal characteristics. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica* 2005, 84 (12):1185-1191.
17. Domingues AP, Dinis SR, Belo A, Couto D, Fonseca E, Moura P. Impact of induced pregnancies in the obstetrical outcome of twin pregnancies. *Fertility and sterility* 2014, 101 (1):172-177.
18. Ashrafi M, Gosili R, Hosseini R, Arabipoor A, Ahmadi J, Chehrizi M. Risk of gestational diabetes mellitus in patients undergoing assisted reproductive techniques. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology* 2014, 176:149-152.
19. Taguchi T, Ishii K, Hayashi S, Mabuchi A, Murata M, Mitsuda N. Clinical features and prenatal risk factors for hypertensive disorders in twin pregnancies. *The journal of obstetrics and gynaecology research* 2014, 40 (6):1584-1591.
20. Krotz S, Fajardo J, Ghandi S, Patel A, Keith LG. Hypertensive disease in twin pregnancies: a review. *Twin research : the official journal of the International Society for Twin Studies* 2002, 5 (1):8-14.
21. Ombelet W, Cadron I, Gerris J, De Sutter P, Bosmans E, Martens G, Ruysinck G, Defoort P, Molenberghs G, Gyselaers W. Obstetric and perinatal outcome of 1655 ICSI and 3974 IVF singleton and 1102 ICSI and 2901 IVF twin births: a comparative analysis. *Reproductive biomedicine online* 2005, 11 (1):76-85.
22. Boulet SL, Schieve LA, Nannini A, Ferre C, Devine O, Cohen B, Zhang Z, Wright V, Macaluso M. Perinatal outcomes of twin births conceived using assisted reproduction technology: a population-based study. *Human reproduction* 2008, 23 (8):1941-1948.
23. Hansen M, Kurinczuk JJ, Milne E, de Klerk N, Bower C. Assisted reproductive technology and birth defects: a systematic review and meta-analysis. *Human reproduction update* 2013, 19 (4):330-353.
24. Vasario E, Borgarello V, Bossotti C, Libanori E, Biolcati M, Arduino S, Spinelli R, Delle Piane L, Revelli A, Todros T. IVF twins have similar obstetric and neonatal outcome as spontaneously conceived twins: a prospective follow-up study. *Reproductive biomedicine online* 2010, 21 (3):422-428.
25. Pinborg A, Loft A, Schmidt L, Langhoff-Roos J, Andersen AN. Maternal risks and perinatal outcome in a Danish national cohort of 1005 twin pregnancies: the role of in vitro fertilization. *Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica* 2004, 83 (1):75-84.
26. Dhont M, De Sutter P, Ruysinck G, Martens G, Bekaert A. Perinatal outcome of pregnancies after assisted reproduction: a case-control study. *American journal of obstetrics and gynecology* 1999, 181 (3):688-695.
27. McDonald S, Murphy K, Beyene J, Ohlsson A. Perinatal outcomes of in vitro fertilization twins: a systematic review and meta-analyses. *American journal of obstetrics and gynecology* 2005, 193 (1):141-152.
28. Lambalk CB, van Hooff M. Natural versus induced twinning and pregnancy outcome: a Dutch nationwide survey of primiparous dizygotic twin deliveries. *Fertility and sterility* 2001, 75 (4):731-736.
29. Koudstaal J, Bruinse HW, Helmerhorst FM, Vermeiden JP, Willemsen WN, Visser GH. Obstetric outcome of twin pregnancies after in-vitro fertilization: a matched control study in four Dutch university hospitals. *Human reproduction* 2000, 15 (4):935-940.