

Influencia del emplazamiento de los embriones en el fondo endometrial en transferencias ecoguiadas sobre los resultados de ciclos de reproducción asistida

The influence of the depth of embryo replacement into the endometrial fundus in ultrasound guided transfer in the outcome of assisted reproduction cycles

Luna C¹, Sánchez Martín P¹, Sánchez Martín F¹, Hebles M¹, Migueles B², García JC¹.

¹GINEMED.Sevilla. España

²Fundación Guadalquivir de Investigación Médica. Sevilla. España

Resumen

Se quiso determinar si la distancia de colocación de los embriones en transferencias ecoguiadas respecto al fondo uterino tiene influencia en las tasas de embarazo e implantación. Se estudiaron 89 ciclos de FIV-ICSI desde Enero a Septiembre de 2002 en nuestro centro, seleccionando aquellos con al menos 4 ovocitos maduros, pacientes de edad inferior a 38 años, con al menos 2 embriones transferidos de buena calidad, y con facilidad en la transferencia. Se valoraron los resultados obtenidos en cuanto a las tasas de embarazo e implantación. Comparando los resultados obtenidos en los dos grupos de estudio, distancia de colocación de los embriones inferior y superior respectivamente a 15 mm respecto al fondo uterino, se observaron diferencias significativas en el número de los embriones transferidos y en el grosor endometrial el día de la transferencia, pero no en las tasas de embarazo y de implantación. Concluimos que la colocación de los embriones a una profundidad mayor de 15 mm con respecto al fondo uterino no mejora estadísticamente las tasas de embarazo e implantación, pero si mejora los resultados obtenidos, por lo que aconsejamos realizar las transferencias a una distancia superior de lo que se está realizando de forma rutinaria.

Palabras clave: FIV. ICSI. Transferencia ecoguiada. Tasa de embarazo. Tasa de implantación. Reproducción asistida.

Correspondencia: Dra. Clara Luna Cañas
Avda. República Argentina 6 entr. A y B
41010 SEVILLA.
laboratorio@ginemed.com

Summary

To evaluate if the distance of deposition of embryos in ecoguided transfers in relation to uterine fundus is influenced from pregnancy and implantation rates. It compare the results of 89 cycles IVF-ICSI from January to September 2002 in our centre, we selected those with at least 4 mature oocytes, patients aged lower 38 years old, at least 2 good quality embryos transfer, and easy transfers. It evaluate results in order a pregnancy and implantation rates. We compared 2 groups, when distance of deposition of embryos is lower or upper 15 mm with regard to uterine fundus. We observed significant differences in transfer embryos number and endometrial thickness in transfer day, but not in pregnancy and implantation rates. We concluded the depth of deposition of embryos at distance upper 15 mm to uterine fundus not increases the pregnancy and implantation rates but increases the results, which we think it should be realise transfers at upper depth it's realised at the moment.

Key words: IVF. ICSI. Ecoguided transfer. Pregnancy rate. Implantation rate. Assisted Reproduction.

INTRODUCCIÓN

El éxito de un ciclo FIV/ICSI depende de numerosos factores, como el número de ciclos realizados, la edad de la paciente, la causa de la infertilidad, la transferencia, etc. De todos estos factores los más ampliamente estudiados en los últimos años han sido los medios de cultivo utilizados (1), la mejora en las técnicas de laboratorio con la introducción del ICSI (2) y los métodos de inducción a la ovulación con la introducción de nuevas hormonas en el mercado.

Las transferencias de embriones es el último y posiblemente el paso con mayor cantidad de fracasos en los ciclos de TRA. Sin embargo ha sido la parte menos estudiada de los ciclos. Durante la transferencia clásica los embriones son depositados a una distancia variable del fondo uterino después de que la presión ejercida por la jeringa los expulse del catéter, de modo que su localización en la cavidad uterina está fuera de nuestro control.

El fallo de la implantación continúa siendo un problema. Se ha estimado que alrededor de un 85% de los embriones transferidos no implantan a pesar de que se seleccionan aquellos aparentemente normales (3).

Muchos son los factores que pueden afectar el éxito o no de la transferencia embrionaria: la calidad y el número de los embriones a transferir (4), el tipo de catéter utilizado (5, 6), la presencia de sangre o moco en la cánula (7, 8), la experiencia del ginecólogo y la presencia de contracciones uterinas (9), y últimamente se ha especulado sobre el no tocar el fondo uterino durante la transferencia de los embriones al lumen de la cavidad endometrial (10, 11) y la realización de transferencias ecográficamente guiadas (12, 13). Este último punto está siendo ampliamente estudiado con resultados diferentes: según algunos autores la reali-

zación de transferencias ecoguiadas produce una mejora en las tasas de embarazo e implantación (12), y otros han concluido que significativamente no se produce mejora alguna (14, 15). Dentro de este punto se ha pasado a "afinar": normalmente se depositan los embriones a aproximadamente 10 mm del fondo uterino, aunque se ha sugerido que la colocación en un punto más alejado podría aumentar la tasa de implantación (16).

En más del 25% de las transferencias clásicas el catéter se posiciona de forma inadecuada (17) al realizarlas "a ciegas". La realización de transferencias ecoguiadas puede solucionar este problema al visualizar en cada momento la posición del catéter y el lugar exacto de localización de los embriones respecto al fondo uterino.

Hemos realizado un estudio prospectivo, controlado y randomizado para ver si la colocación de los embriones a mayor o menor distancia del fondo uterino tiene influencia sobre las tasas de embarazo e implantación al realizar la transferencia de embriones ecoguiada.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio consta de 89 ciclos de FIV/ICSI correspondientes a 79 pacientes, realizados desde Enero a Septiembre de 2002. Con el fin de homogeneizar lo máximo posible los resultados hemos seleccionado aquellos ciclos con una buena respuesta ovárica (al menos 4 ovocitos maduros Metafase II), pacientes de menos o igual de 38 años, al menos 2 embriones transferidos de buena calidad y facilidad en la transferencia.

Los ciclos FIV se iniciaron con la desensibilización de la hipófisis usando análogos de la GnRH (aGnRH) (Nafarelina - Synarel®) en la fase lútea del ciclo menstrual previo. Según los niveles séricos de estradiol se inicia la estimulación ovárica con

hormona folículo estimulante (FSH) (Gonal-F, Serono; Puregon, Organon) manteniendo la frenación hipofisaria a mitad de dosis. La administración de estos se individualiza de acuerdo a valoraciones ecográficas. El criterio para la administración de la hormona gonadotrófica humana (HCG) (HCG 10.000 UI, Farma-Lepori) es la presencia de 2 o más folículos mayores de 16 mm de diámetro. La administración de aGnRH y FSH se suspende el día de la administración de la HCG.

Las punciones se realizaron a las 36 horas de la administración de la hCG por vía vaginal guiada por ecografía. Se practicaron con sedación. Los ovocitos se recuperan y se incuban a 37°C en una atmósfera del 5% de CO₂, en medio IVF. La inseminación o la microinyección se realizó entre las 3 y 6 horas de la captación ovocitaria. Para la técnica de FIV la concentración de espermatozoides para inseminar se ajusta hasta 25.000-50.000 / ovocito en cada microgota de 25 µl de medio conteniendo el complejo cúmulo-corona. La fecundación se evaluó a las 16-20 h, y la selección de los embriones a transferir a las 42-44 h (día +2) o a las 66-68 h (día +3) catalogando los embriones según el número de blastómeras, simetría de tamaño y la cantidad de fragmentos citoplasmáticos (5).

Para la técnica de ICSI la eliminación del complejo cúmulo-corona se realizó a las 4-6 h de la captación con hialuronidasa 80 UI/ml (Hyase™-10X; Scandinavian IVF Science AB, Göteborg). Sólo se microinyectaron los ovocitos en estadio de metafase II. El movimiento de los espermatozoides se enlentece con pirlivinilpirrolidona (ICSITM-100; Scandinavian IVF Science AB, Göteborg) y se seleccionan según su motilidad y morfología. El proceso de microinyección se realizó en un microscopio invertido (Nikon Eclipse TE200) provisto de óptica Hoffman y placa calefactora (Linkam, England) y dos micromanipuladores (Narishige, Japan). Los ovocitos se sitúan en microgotas de medio Gamete para ser microinyectados, y en microgotas de IVF una vez microinyectados.

La transferencia de embriones se realizó 2 ó 3 días tras la captación ovocitaria se escogieron los embriones de mejor calidad (consideramos los de buena calidad los de grado 1-2) (16), y los demás se criopreservaron. En nuestro centro se transfieren 2, 3 ó 4 embriones, dependiendo de la edad de la paciente, el diagnóstico, el número de ciclos previos, y el número y calidad de los embriones disponibles. Los embriones se ponen en una placa de doble pocillo (Falcon®, U.S.A.) con medio G2 (Scandinavian®, Vitrolife, Sweden). La paciente se coloca en posición ginecológica y se le coloca un espéculo. El moco cervical se elimina con un bastoncillo de algodón estéril. Antes de la transferencia se realiza una ecografía vaginal

(ecógrafo GE Logic 400 con sonda de 7.5 MHz) con el fin de medir el grosor endometrial, la distancia del orificio cervical interno al fondo endometrial, la longitud del canal cervical y se calcula el punto en el que el extremo del catéter de transferencia ha de quedar para depositar los embriones. El catéter utilizado es el Gynetics (Gynetics®, Belgium), que consta de una cánula interna, una externa y una guía metálica, que se conecta con una jeringa de insulina. Con ayuda de ecografía abdominal el ginecólogo introduce la cánula externa del catéter por el cervix a través del canal cervical interno, sin ayuda de la guía metálica siempre que es posible. Una vez que es colocada el embriólogo carga los embriones en la cánula interna del modo habitual. Se pasa a realizar la transferencia: se introduce suavemente la cánula interna, donde están los embriones, en la externa, hasta el punto donde el extremo de ambas están al mismo nivel. Todo este proceso se "visualiza" mediante ecografía abdominal con ayuda del embriólogo. En este punto, y siempre muy despacio y suavemente, se sigue introduciendo la cánula interna hasta el punto donde se realizará la descarga de los embriones escogiendo el principio del engrosamiento del endometrio con al menos 7 mm de espesor, o escogiendo el punto más lejano del fondo endometrial siempre que este tenga un mínimo de 7 mm de espesor. Todo este proceso es visualizado en la pantalla del ecógrafo. Tras la descarga se esperan unos 30 s aproximadamente con el émbolo de la jeringa apretado para que no se produzca reflujó del medio con los embriones, tras los cuales se comienza a sacar la cánula interna muy suavemente, y una vez que esta está dentro de la externa se sacan ambas a la vez. Durante la salida del catéter de transferencia se visualiza en la pantalla del ecógrafo que las burbujas de aire que acompañan la deposición no se muevan. Cuando se termina la transferencia el embriólogo chequea en la lupa binocular que no haya quedado en esta ningún embrión, haciendo lavados del catéter con el medio de la transferencia. Una vez terminado, el ginecólogo mide con ecografía vaginal la distancia del lugar donde se visualizan las burbujas de aire al fondo del endometrio. Esta es la distancia que utilizamos para el estudio. Al final del proceso se mantiene a la paciente en cama al menos 30 min.

Se establece la dificultad de la transferencia cuando se requieren pinzas de Pozzi para traccionar el cuello del útero, cuando se utiliza histerómetro para canalizar el orificio cervical interno, cuando hay sangre en la cánula interna del catéter o cuando hay que repetir la transferencia por haber quedado algún embrión fuera.

Solo se han incluido en este estudio ciclos en los

que se llegó a la transferencia de al menos dos embriones de buena calidad.

El diagnóstico de embarazo se efectuó a los 12-14 días post-transferencia, se determinaron los valores plasmáticos de la β -hCG, y si es positiva (≥ 5 pg/ml) se realiza una ecografía vaginal a las 4-6 semanas de amenorrea.

Los procedimientos utilizados en los pacientes han sido realizados tras la información del paciente y posterior complementación de un documento de solicitud y consentimiento informado.

Para la comparación de los diferentes grupos se utilizó el test t-Student para las medias y el χ^2 para las proporciones. El valor de $p \leq 0.05$ fue considerado como significativo.

RESULTADOS

Los valores se expresan como valores medios y desviaciones estándar.

Tabla 1: Se realizan un total de 89 ciclos correspondientes a 79 pacientes.

De los ciclos realizados, 32 correspondieron a transferencias donde los embriones fueron depositados a menos de 15 mm del fondo uterino (31 pacientes). El 75,9% de los ovocitos obtenidos fueron preovulatorios. Fecundaron normalmente el 73,7%. Se transfirieron 106 embriones, el resto fueron congelados. En total se obtuvieron 12 embarazos clínicos. No se produjo ningún aborto clínico.

Los 57 ciclos en los que la transferencia se realizó a más de 15 mm del fondo (26 pacientes) el 70,3% de los ovocitos fueron preovulatorios, y fecundaron el 72,5%. Se transfirieron 169 embriones. Se obtuvieron 26 embarazos clínicos, de los que 1 terminó en aborto clínico.

Las edades de las pacientes en cada grupo son similares, así como el número de ovocitos captados y de ovocitos maduros. Se observaron diferencias significativas en el número de embriones transferidos, pero no si solo tenemos en cuenta los embriones de buena calidad, y en el grosor endometrial el día de la transferencia de los embriones.

Las tasas de fecundación han sido similares, así como el número total de embriones obtenidos también son similares. Dado el número de embriones transferidos en nuestro centro, 2, 3 ó 4 según la edad y la indicación, este es similar en los dos grupos, así como la calidad de estos, ya que se eligen los mejores para ser transferidos.

No se observan diferencias significativas en las tasas de embarazo ni en la de implantación.

Tabla 1
Resultados obtenidos en ciclos FIV-ICSI

	Total	≤ 15 mm	> 15 mm	p
Ciclos	89	32	57	
Pacientes	79	31	53	
Edad	$32,0 \pm 3,3$	$32,8 \pm 2,7$	$31,6 \pm 3,6$	NS*
Ovocitos totales	$16,6 \pm 7,4$	$15,3 \pm 6,2$	$17,4 \pm 7,9$	NS
Metafase II	$12,0 \pm 5,4$	$11,6 \pm 4,9$	$12,2 \pm 5,7$	NS
Tasa de fecundación (%)	83,2%	80,7%	84,6%	NS
Embriones totales	$8,9 \pm 4,5$	$8,6 \pm 4,3$	$9,0 \pm 4,7$	NS
Embriones transferidos P<0.05	$3,1 \pm 0,7$	$3,3 \pm 0,6$	$3,0 \pm 0,7$	
Embriones transferidos de buena calidad	$2,8 \pm 0,6$	$2,8 \pm 0,6$	$2,8 \pm 0,6$	NS
Endometrio día transfer	$11,8 \pm 2,3$	$10,6 \pm 1,9$	$12,4 \pm 2,3$	P<0,05
Fondo endometrial	$16,9 \pm 3,2$	$13,3 \pm 1,6$	$18,9 \pm 2,0$	P<0,05
Tasa de embarazo / transferencia	42,7%	37,5%	45,6%	NS
Tasa de implantación	20,7%	17,0%	23,1%	NS

*NS: diferencias no significativas

DISCUSIÓN

Numerosos trabajos han estudiado los factores que intervienen en el éxito de los ciclos de Reproducción Asistida (RA) intentando siempre mejorar los resultados de estos en cuanto a tasas de embarazo e implantación. Actualmente es frecuente que en ciclos donde la respuesta ovárica, las tasas de fecundación y división embrionaria, y el número y calidad de los embriones transferidos son favorables no se produzca embarazo. Cabe con todo esto pensar que uno de los puntos claves en los ciclos de RA es la transferencia embrionaria (TE). El otro punto a valorar, si bien no es el motivo de este trabajo, sería la implantación.

Según un trabajo realizado por Salha y cols (11) los factores más importantes que influyen en las TE son la presencia o no de sangre en el catéter, el evitar tocar el fondo uterino o el tipo de catéter utilizado.

Los aspectos físicos de las TE han sido hasta ahora poco estudiados. Uno de los trabajos realizados refleja la importancia de los aspectos a tener en cuenta antes de realizar la transferencia (18): evitar las contracciones uterinas utilizando catéteres "suaves" y evitando tocar el fondo uterino, hacer una evaluación previa de la cavidad uterina midiendo por ecografía la angulación útero cervical y la longitud del útero, quitar el

moco cervical, y asegurarse que el catéter ha pasado el canal cervical interno y que los embriones han sido suavemente depositados en la cavidad uterina.

¿Qué beneficios puede proporcionar la transferencia ecoguiada?. Se facilita la introducción del catéter por el canal cervical, especialmente en el paso del orificio cervical interno en los casos dificultosos. La punta del catéter puede ser colocada con precisión en el punto que queramos de la cavidad uterina, la observación de la continuidad de las burbujas de aire en el endometrio conforta al paciente, haciendo que disminuya la ansiedad que este proceso produce. Además el hecho de que al hacer la transferencia se produzca la expulsión de las burbujas de aire que acompañan a los embriones permite extrapolar que el movimiento de las mismas sea el que llevan los embriones y conocer con exactitud el sitio donde han quedado. Hay que referir que en aproximadamente la mitad de los casos la distancia a la que se sitúa la punta del catéter y la distancia observada en la ecografía vaginal es diferente, probablemente por el desplazamiento de las burbujas de aire, y posiblemente de los embriones, dentro del endometrio una vez transferidos.

Numerosas clínicas de RA están incorporando la utilización rutinaria de las transferencias ecoguiadas. Han sido numerosos los trabajos donde ya se ha estudiado la repercusión de las transferencias ecoguiadas sobre las tasas de embarazo e implantación: desde los trabajos de Strickler (19) donde ya se habló de los beneficios de esta técnica hasta los últimos trabajos de Prapas (20) y Matorras (21) donde se indica que las transferencias ecoguiadas mejoraron significativamente las tasas de embarazo e implantación, aunque no todos los trabajos han sacado las mismas conclusiones: según García-Velasco (22) las tasas de embarazo no aumentaron en ciclos de donación de ovocitos realizando transferencias ecoguiadas; Kan y colaboradores (14) no vieron diferencias significativas en sus resultados entre transferencias ecoguiadas y transferencias clásicas, aunque los resultados eran mejores con las primeras; en un estudio previo de nuestro grupo las conclusiones fueron las mismas (15).

Nuestro grupo está realizando las transferencias ecoguiadas de rutina. De este modo hemos podido "visualizar" el lugar exacto de colocación de los embriones. La influencia del lugar de la deposición de los embriones ha sido poco estudiada. Tradicionalmente la mayoría de los grupos han realizado las transferencias a 1 ó 1,5 cm del fondo (12, 21, 23), aunque en algunos ha sido a una distancia menor (24), o en la parte más delgada del endometrio (20).

Este punto ha sido analizado por diferentes autores: se ha visto una mejora de los resultados transfiriendo en una zona más baja de la cavidad endome-

trial o en la parte superior del útero (25, 26). Otros autores ha reflejado que no hay relación con las tasas de implantación (27, 28). Un reciente trabajo al respecto concluyó que la profundidad en la colocación de los embriones puede influir en la tasa de implantación: en el refieren que si se depositan los embriones a 15-20 mm del fondo aumenta las tasas de embarazo e implantación (16).

Dada la discrepancia de los resultados en la literatura y teniendo en cuenta nuestra propia experiencia ya publicada (15), acerca de las transferencias ecoguiadas, en las que no encontramos diferencias en cuanto a tasas de implantación y de embarazo simplemente por hacerla de forma ecoguiada, quisimos avanzar un paso más y determinar si realmente la colocación de los embriones a una mayor distancia del fondo mejorará los resultados en ciclos de RA. Con el fin de homogeneizar lo máximo posible los resultados hemos seleccionado aquellos ciclos donde las principales variables fueron "similares": buena respuesta ovárica, edad de la paciente, número y calidad de los embriones transferidos, facilidad de la transferencia y tipo de catéter utilizado.

Como sesgo del estudio se encuentra el hecho de que en los casos de transferencias más alejadas del fondo se encuentra un endometrio más grueso, lo que también es lógico puesto que a más grosor endometrial mayor longitud del mismo, y dado que los embriones por diseño de estudio se dejan en la zona más alejada del fondo que tenga al menos 7 mm, en los endometrios más gruesos se suelen colocar más lejos.

Como hallazgo colateral referir el dato de que el número de embriones de buena calidad transferidos es el que se correlaciona con la tasa de embarazo, no el número total de embriones. Otro punto a aclarar que debe ser motivo de estudio es valorar si tiene relación con la tasa de embarazo el que los embriones, o al menos la imagen ecográfica del aire que los acompaña en la transferencia se relaciona con la tasa de embarazo, ya que es un hecho corriente que se deje la punta del catéter lejos del fondo uterino, y luego veamos en ecografía vaginal que la localización de los puntos ecorrefrigentes se sitúa cerca del fondo.

En base a los resultados obtenidos, podemos decir que depositar los embriones a una profundidad de más de 15 mm con respecto al fondo uterino no mejora estadísticamente los resultados, en cuanto a tasas de embarazo e implantación, pero si que se observa una mejora de los resultados obtenidos, por lo que, aunque sería aconsejable el realizar un nuevo estudio con un mayor número de casos. Concluimos que es conveniente realizar las transferencias a una profundidad superior de lo que se viene realizando de forma rutinaria, lo más lejos posible del fondo endometrial.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Gardner D, Phil D, Vella B, et al.:** Culture and transfer of human blastocysts increases implantation rates and reduces the need for multiple embryo transfer. *Fertil. Steril.* 1998; 69, 84-88.
2. **Palermo G, Joris H, Devroey P and Van Steinghem ACM.:** Pregnancies after intracytoplasmic injection of a single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 1992; 340, 17-18.
3. **Edwards RG.:** Clinical approaches to increasing uterine receptivity during human implantation. *Hum. Repr.* 1995; 10 (Suppl. 2), 60-66.
4. **Burke LM, Davenport AT, Russell GB, Deaton JL.:** Predictors of success after embryo transfer: experience from a single provider. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2000; 182(5), 1001-4.
5. **Gonen Y, Dirnfeld M, Goldman S, et al.:** Does the choice of catheter for embryo transfer influence the success rate of in-vitro fertilization?. *Hum. Repr.* 1991; 6, 1092-94.
6. **Karande V, Hazlett D, Vietzke M, Gleicher N.:** A prospective randomized comparison of the Wallace catheter and the Cook Echo-Tip(R) catheter for ultrasound-guided embryo transfer. *Fertil. Steril.* 2002; 77(4): 826-30
7. **Nabi A, Awonuga A, Birch H, et al.:** Multiple attempts at embryo transfer: does this affect in-vitro fertilization treatment outcome?. *Hum. Repr.* 1997; 12, 1188-90.
8. **Goudas VT, Hammitt DG, Damario MA, Session DR et al.:** Blood on the embryo transfer catheter is associated with decreased rates of embryo implantation and clinical pregnancy with the use of in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil. Steril.* 1998; 70(5), 878-82.
9. **Fanchin R, Righini C, Olivennes F, et al.:** Uterine contractions at time of embryo transfer after pregnancy rates after in-vitro fertilization. *Hum. Repr.* 1998; 13, 1968-74.
10. **Kovacs GT.:** What factors are important for successful embryo transfer after in-vitro fertilization?. *Hum. Repr.* 1999; 14, 590-592.
11. **Salha OH, Lamb VK and Balen AH.:** A postal survey of embryo transfer practice in the UK. *Hum. Repr.* 2001; 16, 686-690.
12. **Coroleu B, Carreras O, Veiga A, Martell A, et al.:** Embryo transfer under ultrasound guidance improves pregnancy rates after in-vitro fertilization. *Hum. Repr.* 2000; 15, 616-620.
13. **Wood EG, Batzer FR, Go KJ, et al.:** Ultrasound-guided soft catheter embryo transfers will improve pregnancy rates in in-vitro fertilization. *Hum. Repr.* 2000; 15, 107-112.
14. **Kan AKS, Abdalla HI, Gafar AH, et al.:** Embryo transfer: ultrasound-guided versus clinical touch. *Hum. Repr.* 1999; 14, 1259-61.
15. **Luna C, Sánchez P, Sanchez F, Hebles M, Migueles B, Tena JA, Masferrer M.:** Las transferencias eco-guiadas no mejoran los resultados en ciclos FIV-ICSI. *Rev. Ib. Fertil* 1999; 18(5), 369-375.
16. **Coroleu B, Barri P, Carreras O, Martínez F, et al.:** The influence of the depth of embryo replacement into the uterine cavity on implantation rates after IVF: a controlled, ultrasound-guided study. *Hum. Repr.* 2002; 17, 341-46.
17. **Woolcott R and Stanger J.:** Potentially important variables identified by transvaginal ultrasound-guided embryo transfer. *Hum. Repr.* 1997; 12, 963-66.
18. **Mansour RT, Aboulghar MA.:** Optimizing the embryo transfer technique. *Human. Reprod.* 2002; 17(5):1149-53.
19. **Strickler RC, Christianson C, Crane JP, Curato A, Knight AB, Yang V.:** Ultrasound guidance for human embryo transfer. *Fertil. Steril.* 1985; 43(1): 54-61
20. **Prapas Y, Prapas N, Hatziparasidou A, Venderzwalmen P, Nijs M et al.:** Ultrasound-guided embryo transfer maximizes the IVF results on day 3 and day 4 embryo transfer but has no impact on day 5. *Human. Reprod.* 2001; 16(9): 1904-08.
21. **Matorras r, Urquijo E, Mendoza R, Corcóstequi B et al.:** Ultrasound-guided embryo transfer improves pregnancy rates and increases the frequency of easy transfers. *Human. Reprod.* 2002; 17(7): 1762-66.
22. **Garcia-Velasco JA, Isaza V, Martinez-Salazar J, Landazabal A, Requena A, Remohi J, Simon C.:** Transabdominal ultrasound-guided embryo transfer does not increase pregnancy rates in oocyte recipients. *Fertil. Steril.* 2002; 78(3): 534-9
23. **Kojima K, Nomiya M, Kumamoto T, Matsumoto Y, Iwasaka T.:** Transvaginal ultrasound-guided embryo transfer improves pregnancy and implantation rates after IVF. *Human. Reprod.* 2001; 16(12): 2578-82.
24. **Egbase PE, Al-Sharhan MA and Grudzinskas JG.:** Influence of position and length of uterus on implantation and clinical pregnancy rates in IVF and embryo transfer treatment cycles. *Hum. Reprod.* 2000; 15(9): 1943-46.
25. **Brinsden PR.:** Oocyte recovery and embryo transfer. In Brinsden P.R. edn. *A textbook of In Vitro Fertilization and Assisted Reproduction*, 2nd edn. Parthenono, London, 1999; pp. 171-184.
26. **Krampl E, Zegermacher G, Eichler C, Obruca A, Strohmer H, Feichtinger W.:** Air in the uterine cavity after embryo transfer. *Fertil. Steril.* 1995; 63(2): 366-70.
27. **Nazari A, Askari HA, Check JH, O'Shaughnessy A.:** Embryo transfer technique as a cause of ectopic pregnancy in in vitro fertilization. *Fertil. Steril.* 1993; 60(5): 919-21.
28. **Roselund B, Sjöblom P and Hillensjö T.:** Pregnancy outcome related to the site of embryo deposition in the uterus. *J. Assist. Reprod. Genet.* 1996; 13, 511-513.