

Embarazo múltiple derivado de FIV-ICSI en España: incidencia y criterios sobre la transferencia embrionaria

Multiple pregnancies after IVF-ICSI in Spain: incidence and criteria for embryo transfer

Bruna Catalán I¹, Pérez Milán F², Tur Padró R³, Ricciarelli E⁴, De la Fuente Hernández A⁵, Monzó Miralles A⁶, Martínez-Salazar J⁷, Fernández-Shaw S⁸, Ardoy Vilches M⁹, Torelló Ybáñez MJ³, Vila Alvarez J¹⁰: Grupo de Interés en Salud Embrionaria. Sociedad Española de Fertilidad

¹Hospital de Madrid-Montepríncipe, ²Hospital Clínico Universitario de Valladolid, ³Instituto Universitario Dexeus, ⁴Clínica FIV-Madrid, ⁵Fundación Jiménez Díaz, ⁶Hospital Universitario La Fe. Valencia, ⁷IVI. Madrid, ⁸Hospital de la Zarzuela. Madrid, ⁹Hospital Universitario La Paz. Madrid, ¹⁰Laboratorios Serono. Madrid

Resumen:

Se pretende establecer la incidencia de gestación múltiple derivada de fecundación in vitro y microinyección espermática en España, y los criterios que determinan el número de embriones transferidos en centros de reproducción asistida españoles. Se realiza un estudio transversal sobre 13.316 transferencias embrionarias llevadas a cabo a lo largo de 2.002, en 41 centros españoles de reproducción asistida que contestaron un cuestionario específico. La tasa de gestación por transferencia fue del 38,9%, la de gestación múltiple del 35,2% y la de gestaciones múltiples de alto grado (tres o más sacos) del 6,4%. El 60,9% de los centros establecieron en 4 embriones el límite máximo en la planificación de la transferencia. La realizada con mayor frecuencia fue la de 3 embriones (47,5% de los casos), seguida de la de 2 embriones (32,0%). Sólo en el 1,2% de los ciclos se apeló a la transferencia electiva de 1 embrión. Existe gran heterogeneidad en la definición de la calidad embrionaria óptima. Los factores valorados con mayor frecuencia en orden a decidir el número idóneo de embriones transferibles fueron: edad de la paciente, calidad embrionaria, número de ciclos previos fallidos y número de embriones óptimos disponibles. Más del 90% de los centros aplicó estos criterios sin la ayuda de algoritmos cuantitativos, y más del 80% mantuvo un registro de resultados obstétricos y perinatales. El 60% de los equipos consideró aceptable la reducción embrionaria cuando existían tres o más sacos gestacionales. Se constata una mayor incidencia de gestación múltiple en nuestro país en relación con los datos procedentes registros internacionales, proponiéndose un cambio de actitud sobre la prevención de la gestación múltiple asociada a fecundación in vitro con respecto a los indicadores de éxito de esta técnica.

Palabras clave: Gestación múltiple. Fecundación in vitro. Transferencia embrionaria. Complicaciones. Prevención.

Correspondencia: Dr. I. Bruna Catalán
Unidad de Medicina de la Reproducción
Hospital de Madrid-Montepríncipe
Avda de Montepríncipe, 26
Boadilla del Monte 28660 Madrid

Patrocinio: Trabajo elaborado bajo los auspicios de la Sociedad Española de Fertilidad y el soporte de Laboratorios Serono (Socio Colaborador de la SEF)

Summary:

We have studied retrospectively 13.316 embryo transfers carried out during 2.002 in 41 spanish assisted reproduction centres. Pregnancy rates per embryo transfer was 38,9 %, multiple pregnancy rate was 35,2%, and high grade multiple pregnancy (3 or more) occurred in 6,4% of cases. Transfer was limited to 4 embryos as a maximum in 60,9% of answering centres. Three embryos transfer was the most frequent one (47,5%), followed by 2 embryos transfer (32,0%). Selective single embryo transfers represented only 1,2% of cases. There was a wide diversity on optimal embryo quality criteria. More frequently considered factors concerning embryo number selection for transfer were patient's age, embryo quality, number of previous unsuccessful cycles and number of available maximum quality embryos. More than 90% of centres applied their criteria for choosing number of embryos for transfer without a defined score, and more than 80% considered embryo reduction as an acceptable procedure when there were 3 or more gestational sacks. Multiple pregnancy in Spain shows a high frequency as compared with international registries data; we propose new attitudes and concepts about IVF-related multiple pregnancy prevention and success indicators of this treatment.

Key words: Multiple pregnancy. In vitro fecundation. Embryo transfer, complications. Prevention.

INTRODUCCIÓN

El incremento en la incidencia de la gestación múltiple (general y de alto grado) generado por la aplicación de las técnicas de reproducción asistida (TRA) produce consecuencias socio-sanitarias de indudable importancia (1-11), y se ha convertido en uno de los aspectos más candentes de la medicina reproductiva clínica. Esta cuestión constituye un motivo de preocupación compartido por los equipos de reproducción asistida, los perinatólogos, las autoridades sanitarias y, cada vez en mayor medida, por los propios pacientes. Los profesionales del ámbito de la reproducción asistida deben ser conscientes de los riesgos derivados de la multifetalidad y de la prematuridad a la hora de adoptar decisiones encaminadas a la búsqueda eficaz de descendencia. En el ámbito europeo, diversos países han emprendido programas destinados a la corrección de esta tendencia, que han sido alentados por equipos terapéuticos, sociedades científicas y administraciones sanitarias.

Según los datos relativos al año 2.001 publicados recientemente por la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (ESHRE), nuestro país ocupa un lugar destacado en la incidencia de gestaciones múltiples subsidiarias a la aplicación de técnicas de reproducción asistida, con una tasa de gestación triple que, aunque ha descendido con respecto a la de años anteriores, casi triplica al de la media europea (4,1% frente a 1,5%) (12)

Por otro lado, España es uno de los países en los que se transfiere un mayor número de embriones, ya que, según el citado registro, la transferencia de cuatro embriones se realizó en nuestro país en el 13,9%

de los ciclos de FIV-ICSI, frente al 5,5% de la media de la media Europea. Hay que recordar que en el 2.001 aún no existía limitación legal del número de embriones transferibles, introducida posteriormente por la Ley 45/2003 de 22 de noviembre.

Los registros de población española ponen de manifiesto que entre 1.980 y 2.002 se ha producido un descenso global del número de nacimientos, y paralelamente, un sensible incremento en las tasas de partos gemelares y triples. Según datos publicados por el Instituto Nacional de Estadística, en los últimos veinte años, la tasa de partos gemelares se ha duplicado (75 cada 10.000 partos en el año 1980; 168 en el 2002) y la tasa de partos triples se ha incrementado siete veces (11 cada 100.000 partos en el año 1.980; 76 cada 100.000 partos en el 2.002). (Figura 1). Aunque en la actualidad resulta imposible determinar el número de ciclos de TRA que se realizan en España, es indudable que durante las dos últimas décadas se ha incrementado notablemente el número de unidades de reproducción y el número de ciclos de TRA que se han llevado a cabo. Una estimación orientativa podría extraerse a partir de la evolución del mercado de las gonadotropinas y del material fungible de laboratorio necesario para la aplicación de estas técnicas. Según esta aproximación, en el 2.003 se iniciaron en España entre 27.000 y 30.000 ciclos de FIV-ICSI (comunicación personal: Dr. Bruna Catalán), cifra estimativa ya que en realidad sólo el 30-35% de las unidades de reproducción españolas comunican sus registros a la SEF. Es obvio que una gran parte los de partos múltiples registrada en España son subsidiarios a la aplicación de las TRA. Si nos referimos particularmente a los ciclos de FIV-

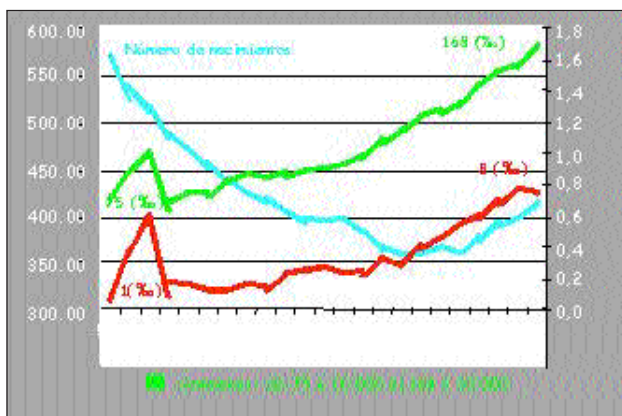


Figura 1

Nacimientos y partos múltiples en España entre 1.980 y 2.002

(Fuente: Instituto Nacional de Estadística. Datos elaborados por la Dra. Rosa Tur Padró. Institut Universitari Dexeus)

ICSI reflejados en el registro europeo de 2.001, nuestro país se situaba muy por encima de la media de la Unión Europea (UE) en cuanto a frecuencia de transferencia de 4 embriones por ciclo. Así, mientras en el 2.001 se transferían en España 4 embriones en el 13,9% de los ciclos, en la UE sólo se llevaba a cabo dicha transferencia en el 5,5% de los mismos (13, 14).

De ello se derivaba un porcentaje del 4,1% de embarazos triples, casi tres veces superior al de la media europea (1,5%). Estos resultados justificaron que tanto los responsables de la ESHRE, como de la propia SEF, destinaran una llamada de atención a los grupos españoles relacionados con la medicina reproductiva.

El registro de la ESHRE de 2.001 puso de manifiesto un ligero incremento de la transferencia de dos embriones en centros españoles, que supuso el 24,8% de los ciclos, frecuencia muy inferior al 51,7% de la media europea.

En relación con el año 2.000, se constata así mismo que la tasa de transferencia de 3 embriones se incrementa en España del 44,4% al 51,2%, mientras que en la media de la U.E. este porcentaje se reduce discretamente durante ese mismo periodo (33,3% en el 2.000; 30,8% en el 2.001), a expensas de un incremento de la transferencia de 2 embriones y de un decremento en la de 4 ó más embriones. Todo ello se tradujo en un sostenimiento de la tasa de partos triples en España (4,0% en el 2.000; 4,1% en el 2.001), frente a una reducción de los mismos en la media europea (2,0% en el 2.000; 1,5% en el 2.001)

La Sociedad Española de Fertilidad (SEF) auspició la creación de varios grupos de trabajo con interés

preferente en diversas áreas de la reproducción asistida. El Grupo de interés "Salud Embrionaria", constituido en 2003, decidió emprender una línea de trabajo orientada a analizar la cuestión del embarazo múltiple en el contexto de la reproducción asistida y proponer estrategias para su prevención. El objetivo final que el Grupo de interés definió fue concienciar a los profesionales dedicados a la reproducción asistida de la necesidad de reducir la incidencia de la gestación múltiple, para evitar su efecto negativo sobre la salud materno-fetal, derivado especialmente de la prematuridad. Este cambio de actitud sobre la buena práctica clínica en reproducción asistida debe fundamentarse en las siguientes ideas:

- * La intención esencial que motiva la transferencia de un número elevado de embriones es la aspiración de ofrecer a los pacientes las mayores probabilidades de éxito y las máximas tasas de embarazo. Sin embargo, como han puesto de manifiesto múltiples estudios, es posible reducir la incidencia del embarazo múltiple, manteniendo los niveles de eficacia de las técnicas, es decir, sin una reducción sustancial de las tasas globales de gestación (15-21)
- * Ello conlleva aumentar la seguridad de los procedimientos, evitando los efectos colaterales negativos.
- * El recurso a la reducción embrionaria como procedimiento habitual para evitar la gestación múltiple es inaceptable. Esta técnica sólo puede ser justificable cuando la gestación múltiple de alto grado no ha podido ser evitada a pesar de haber aplicado todas las medidas efectivas para su prevención.
- * Las estrategias encaminadas a la reducción de la gestación múltiple no sólo deben perseguir la erradicación inmediata de los embarazos triples y cuádruples, sino también la reducción a medio plazo de la incidencia de embarazos gemelares.
- * Es necesario modificar los indicadores de referencia sobre rendimiento de la fecundación in vitro, incorporando índices como la tasa de gestación y de nacido sano por embrión transferido, que permiten analizar los resultados de un programa concreto, considerando el grado de multiplicidad de las gestaciones obtenidas.

Se pretende, pues, propiciar un verdadero cambio de actitud hacia la gestación múltiple, transmitiendo la convicción de que constituye un problema de primer orden, que requiere medidas específicas y eficaces para su prevención. También es necesario modificar la idea, compartida por muchos pacientes, de que el embarazo gemelar es un objetivo deseable que les permite completar más fácilmente sus planes de descendencia.

Con este fin, el Grupo de Interés consideró necesario conocer más profundamente diversos aspectos del problema, como el estado actual de la incidencia de embarazos múltiples derivados de las técnicas de reproducción asistida (comenzando por los obtenidos mediante FIV-ICSI) y los criterios de evaluación de la calidad embrionaria para la determinación del número de embriones que habrán de ser transferidos.

MATERIAL Y MÉTODO

Hemos realizado un estudio descriptivo retrospectivo destinado a establecer la incidencia de gestación múltiple derivada de ciclos de FIV-ICSI en centros españoles de reproducción asistida, a los que también se ha encuestado para conocer los criterios aplicados en la elección del número de embriones que han de ser transferidos. Se remitió un cuestionario a todos los centros de reproducción asistida legalmente autorizados como laboratorios de fecundación in vitro, solicitando los datos de interés para el estudio referidos al año 2.002. Los centros contestaron la encuesta de forma anónima, para garantizar la confidencialidad y con ello favorecer la participación. Se solicitó información sobre las siguientes variables:

- * Comunidad autónoma de ubicación.
- * Titularidad del centro (pública, privada o mixta).
- * Número de ciclos de FIV-ICSI con transferencia realizados.
- * Número de embriones transferidos por ciclo.
- * Número de transferencias electivas de un único embrión.
- * Número de embarazos clínicos obtenidos, equivalente a número de sacos gestacionales constatados ecográficamente, con independencia de su evolución posterior.
- * Clasificación de la morfología embrionaria aplicada en el centro.
- * Criterios de evaluación de calidad embrionaria aplicados en el centro. Se recabaron expresamente los relativos a número, tamaño y simetría de las blastómeras, grado de fragmentación, granulación citoplasmática, morfología de pronúcleos y de nucleolos. Se solicitó la inclusión de criterios adicionales valorados en la evaluación embrionaria y no especificados en la encuesta.
- * Existencia de límite máximo de embriones transferibles.
- * Número máximo de embriones transferibles.
- * Número de embriones recomendables para transferencia en función de la edad de la paciente. Para sistematizar las respuestas se definieron in-

tervalos etarios concretos (menos de 30 años, 30-34 años, 35-39 años, 40 o más años).

- * Factores valorados para modificar la norma general sobre número de embriones recomendables según la edad de la paciente: calidad embrionaria, número total de embriones disponibles, número de embriones óptimos disponibles u otros.
- * Existencia de algoritmos predefinidos para la determinación del número de embriones a transferir.
- * Existencia de registro de resultados obstétricos y perinatales.
- * Criterios para la indicación de la reducción embrionaria.
- * Práctica de la reducción embrionaria en el propio centro.

Los datos relativos al número de embarazos y de sacos gestacionales se expresan en términos de tasa de gestación por transferencia, tasa global de gestación múltiple, tasa de gestación múltiple de alto grado (3 o más sacos gestacionales). Las variables numéricas y las categóricas se han descrito mediante su distribución de frecuencias.

RESULTADOS

Tras la remisión de un total de 126 encuestas, se recibió contestación de 43 centros, lo que representa una tasa de respuesta del 34,12%. Dos de los centros sólo realizaban inseminación artificial en el periodo de estudio, por lo que finalmente se analizaron los datos procedentes de 41 centros.

La ubicación geográfica de los centros se muestra en la tabla 1; las comunidades de Andalucía, Cataluña y Madrid concentraron en conjunto más del 65% de los centros participantes. La titularidad de los centros era privada en 30 casos, pública en 7 y mixta en los 4 restantes (Tabla 1).

Tabla 1
Distribución de centros por Comunidad Autónoma

Comunidad	Nº centros	Nº ciclos
Andalucía	9	1615
Cataluña	8	2737
Madrid	8	4054
Comunidad Valenciana	4	2821
Castilla León	3	623
Galicia	3	203
País Vasco	3	551
Castilla La Mancha	1	216
Canarias: 1 centro	1	118
Murcia	1	378

Los centros que cumplimentaron el cuestionario, realizaron durante el año 2.002 un total de 13.316 ciclos de FIV-ICSI con transferencia embrionaria. Como puede apreciarse en la figura 2, la transferencia más frecuente fue la de 3 embriones, que se efectuó en el 47,4% de los ciclos, seguida de la de 2 embriones (32,0% del total de transferencias). Las transferencias de 1 y 4 embriones presentaron unas frecuencias similares y próximas al 10%. En 56 casos (0,4%) se transfirieron más de 4 embriones. Únicamente en 159 casos se transfirió selectivamente 1 embrión, lo que supone un 11,7 % de las transferencias de un embrión y tan sólo el 1,2% del total de transferencias.

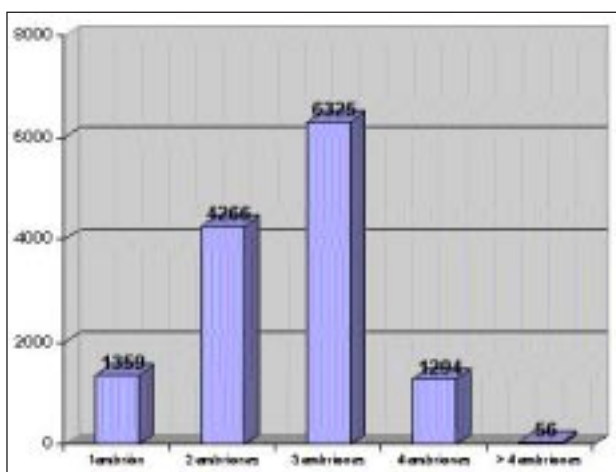


Figura 2

Distribución de transferencias según número de embriones transferidos.

Se obtuvieron 5.179 gestaciones (38,9% de las transferencias), cuya distribución según número de sacos visibles en el primer examen ecográfico se recoge en la figura 3. El 63,1% de las gestaciones fueron únicas, mientras que las gestaciones gemelares representaron el 28,7% de los casos y las de tres o más sacos el 6,4% restante. Este último grupo incluyó 17 gestaciones cuádruples. La tasa global de gestación múltiple fue del 35,21%, y la de grandes múltiples (3 ó más sacos) del 6,4%.

En relación con los criterios empleados en la elección del número de embriones para su transferencia, 39 de los 41 centros (91,5%) manifestaron haber definido un límite máximo de embriones transferibles. El límite máximo aplicado con mayor frecuencia fue de 4 embriones, vigente en el 60,9% de los centros, seguido de 3 embriones, vigente en 12 centros (29,2%). Sólo uno de los equipos limitaba sistemáticamente a

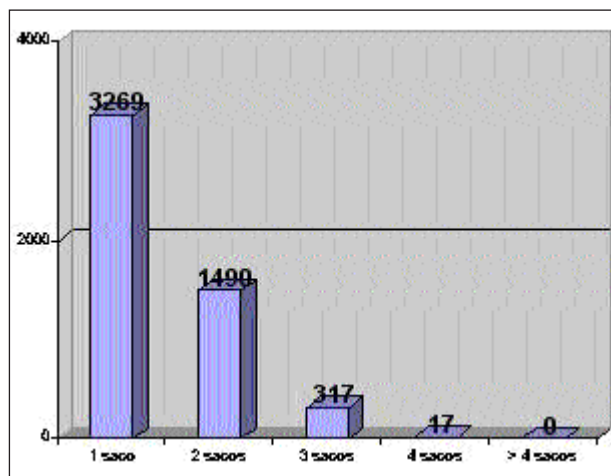


Figura 3

Distribución de las gestaciones según el número de sacos.

2 el máximo de embriones transferibles, mientras que el límite era de 5 también en un único centro.

La totalidad de los centros manifestó utilizar la clasificación descrita por Lucinda Veeck para la evaluación de la calidad embrionaria (22, 23) o alguna de sus modificaciones. Con gran frecuencia se valoran conjuntamente variables complementarias como morfología pronuclear o citoplasmática.

Los criterios utilizados para la definición de la calidad embrionaria óptima se resumen en la tabla 2. La ausencia de blastómeras multinucleadas se aplica en la gran mayoría de los centros (85,4%). En relación con el porcentaje de fragmentación de las blastómeras, sólo cuatro centros (10,2%) exigen una fragmentación igual o menor del 5% para calificar como óptimo al embrión. Un 23% de los centros considera compatible con la condición de máxima calidad embrionaria una fragmentación del 10%, y un 33% de los equipos eleva ese límite al 20%. El número de blastómeras considerado óptimo en segundo día de desarrollo embrionario se sitúa entre 2 y 4 para el 41,4% de los grupos, mientras que el 29,2% de los centros estiman que debe alcanzar entre 4 y 6. El nivel de coincidencia es superior en la definición del número óptimo de blastómeras en día +3, que debe ser de 6-8 para el 65,8% de los centros consultados. La morfología pronuclear se valora en la estimación de la calidad embrionaria en más del 75% de los centros, y el patrón nucleolar en el 50% de los mismos. La tabla 2 recoge otros criterios considerados por los distintos centros para la definición de la condición de embrión óptimo.

Los criterios aplicados en la determinación del nú-

Tabla 2
Criterios para la definición de embrión óptimo y frecuencia de aplicación

Criterio	N	Centros %
Ausencia de Blastómeras multinucleadas		
Sí	35	85,4
No	6	14,6
Porcentaje máximo de fragmentación en día +3		
0%	2	5,1
5%	2	5,1
10%	9	23,0
15%	6	15,3
20%	13	33,3
25%	4	10,2
30%	3	7,6
No contestan	2	5,1
Número de blastómeras en día +2:		
2-4	17	41,4
2-5	1	2,4
3-5	3	7,3
2-6	1	2,4
3-4	1	2,4
4	5	12,1
4-5	1	2,4
4-6	12	29,2
Número de Blastómeras en día +3:		
4-8	1	2,4
6	1	2,4
6-8	27	65,8
6-9	1	2,4
6-10	3	7,2
7-8	1	2,4
7-9	2	4,8
8-10	5	12,0
Evaluación de pronúcleos		
Sí	31	75,6
No	9	21,9
No contesta	1	2,4
Evaluación de polaridad de nucleolos		
Sí	20	48,8
No	20	48,8
No contesta	1	2,4
Otros criterios de evaluación no especificados en el cuestionario		
Ritmo de división celular		
Simetría de las Blastómeras		
Grado de compactación		
Granulación citoplasmática		
Vacuolización citoplasmática		
Ausencia de anillo acitoplasmático en blastómeras		
Citoplasma claro y homogéneo (Transparencia citoplasmática)		
Células uninucleadas		
Tamaño de los Pronúcleos		
Rotura pronuclear en la primera división		
Grosor de la Zona Pelúcida		
Espacio perivitelino		
Polarización de citoplasma del cigoto (efecto halo)		

mero de embriones propuesto para la transferencia y su frecuencia de aplicación se detallan en la tabla 3. El 90% de los centros consideran determinante la edad de la paciente para estimar el número de embriones que recomiendan transferir. En pacientes menores de 30 años, el 75% de los centros prefieren la transferencia de 2 embriones y sólo un 17,0 % de los grupos participantes en el estudio recomiendan la transferencia de 3 embriones. Cuando la edad de la paciente está comprendida entre 30 y 34 años, la frecuencia con la que se prefieren ambos tipos de transferencia es comparable (46,3 %). En pacientes de 35 a 39 años de edad, el 75,0% de los equipos considera recomendable la transferencia de 3 embriones, mientras que un 12,1 % de los centros escogen la transferencia de 4 embriones. A partir de 40 años de edad, se incrementa hasta el 39,0% el porcentaje de centros que eligen la transferencia de 4 embriones como mejor opción. Algunos de los equipos encuestados manifestaron corregir la norma general según la edad de las pacientes, por medio de variables no contempladas específicamente en el cuestionario, como edades muy bajas (menos de 26 años) y antecedente de gestaciones previas.

Más del 80% de los grupos modifican el número de embriones que proponen transferir en función del número previo de ciclos de tratamiento sin éxito. El 42,3% de los equipos incrementa el número de embriones a partir del segundo ciclo y el 57,6% a partir del tercero, es decir, tras dos fracasos previos.

Ciertos factores causales de esterilidad (factor masculino, patología uterina, factor tubárico, endometriosis) son apreciados por el 56% de los grupos a la hora de incrementar o disminuir el número idóneo de embriones que han de ser transferidos.

El número total de embriones y el de embriones de buena calidad disponibles en el momento de la transferencia constituyen factores de pronóstico que son considerados por cierto número de grupos. El 34,1% de los centros concede valor pronóstico al número total de embriones disponibles, considerando diferentes puntos de corte (disponer en el momento de la transferencia de 4, 5 ó 9 embriones) para definir las clases de mejor pronóstico y adaptar el número de embriones transferidos. Más frecuentemente se valora el número de embriones disponibles de buena calidad, que contribuye a tomar la decisión sobre la transferencia embrionaria en más del 65% de los centros. Casi la mitad de los que valoran este parámetro establecen la existencia de 3 embriones de buena calidad como punto de corte para condicionar la decisión final sobre el número de embriones que se propondrá transferir a la paciente.

Tabla 3

Criterios para la selección del número de embriones para su transferencia y frecuencia de aplicación

Criterios	Centros	N	%
Edad			
Sí		37	90,2
No		4	9,7
Número máximo de embriones recomendable según la edad			
< 30 años:			
2 embriones		31	75,6
3 embriones		7	17,0
2-3 embriones		1	2,4
No contestan		2	4,8
30-34 años			
2 embriones		19	46,3
3 embriones		19	46,3
2-3 embriones		1	2,4
No contestan		2	4,8
35-39 años			
2 embriones		2	4,8
3 embriones		31	75,6
4 embriones		5	12,1
3-4 embriones		1	2,4
No contestan		2	4,8
≥40 años			
2 embriones		1	2,4
3 embriones		19	46,3
4 embriones		16	39,0
>4 embriones		2	4,8
No contestan		3	7,2
Criterios que modifican la norma general según edad no especificados en el cuestionario			
Antecedente de embarazos previos: reducir número de embriones			
Edad <26 años: reducir número de embriones			
Número de ciclo			
Sí		31	82,9
No		7	17,1
Conducta ante fracaso de ciclos previos*			
Incrementar el número de embriones desde 2º ciclo	11	42,3	
Incrementar el número de embriones desde 3er ciclo	15	57,6	
Factor de esterilidad			
Sí		23	56,0
No		18	43,9
Conducta ante factor de esterilidad			
Factor masculino severo: incrementar o reducir el número de embriones			
Patología uterina: incrementar el número de embriones			
Fallo previo de implantación: incrementar el número de embriones			
Endometriosis: incrementar número de embriones			
Factor tubárico: reducir el número de embriones			
Número de embriones totales en el momento de la transferencia			
Sí		14	34,1
No		27	65,8
Punto de corte*			
4 embriones		3	30,0
5 embriones		6	60,0
9 embriones		1	10,0
Número de embriones óptimos en el momento de la transferencia			
Sí		27	65,8
No		14	34,1
Punto de corte*			
2 embriones		1	7,6
3 embriones		6	46,1
4 embriones		1	7,6
>70% embriones		1	7,6
5 embriones		3	23,0
>7 embriones		1	7,6
Calidad embrionaria			
Sí... 39 centros (95,1% de los centros)		39	95,2
No... 2 centros (4,8% de los centros)		2	4,8

* Los porcentajes se calculan sobre el total de centros que aplica el criterio

La calidad embrionaria, valorada con arreglo a los criterios antes mencionados, es incluida en las evaluaciones de decisión por 39 de los 41 centros.

Sólo 4 de los equipos biomédicos sistematizan la aplicación de sus criterios de transferencia mediante un algoritmo definido, mientras que los 37 restantes llevan a cabo las transferencias sin apelar a un score matemático o a una puntuación cuantitativa.

Con respecto al seguimiento de los resultados obstétricos y perinatales, 34 centros registran información (83%) y 7 afirmaron no disponer de la misma (17%).

La reducción embrionaria se considera un procedimiento aplicable en 27 de los 41 centros, ya que 2 contestaron no recomendarla en ningún caso y otros 2 centros no se manifestaron al respecto. La existencia de tres sacos gestacionales constituye indicación para proponer la reducción embrionaria en 25 centros (60,9%), y en 12 se requiere la existencia de más de 3 sacos. El 50% de los centros que admiten la práctica de la reducción embrionaria la llevan a cabo en sus propio centro, y el resto la deriva a centros externos.

DISCUSIÓN

Los resultados de nuestro estudio constituyen una aproximación al conocimiento de los criterios y actitudes clínicas aplicados por los centros españoles de reproducción asistida para individualizar la propuesta sobre el número de embriones a transferir y sobre los ofrecimientos que se transmiten a las pacientes incluidas en sus programas de FIV-ICSI.

Como en todo estudio transversal, los condicionantes fundamentales de la validez de los resultados vienen determinados por la estructura del cuestionario utilizado en la recogida de datos, la tasa de respuesta y la representatividad de los centros encuestados que proporcionan una respuesta, en relación con la población total de unidades asistenciales que aplican estos tratamientos.

Para la recogida de datos, se optó por la modalidad de cuestionario, dirigido con opciones predeterminadas en la mayoría de las variables, con objeto de facilitar el análisis de los resultados. No obstante, se permitió la adición de opciones suplementarias en variables numéricas de intervalo o en variables categóricas, tales como los criterios de evaluación de calidad embrionaria o la modificación del número de embriones transferibles según la edad, con el fin de reflejar con la máxima fidelidad posible la práctica biomédica habitual de los centros participantes.

Los 41 centros que proporcionaron datos analiza-

bles representan menos de un 30% del número total de centros acreditados para la realización de tratamientos de FIV-ICSI durante el periodo de estudio. No obstante, el número de centros que proporcionaron respuesta es muy similar al de centros participantes en los dos últimos registros de la SEF, cuyos datos han sido incorporados a los registros europeos de 2.000 y 2.001 (13, 24)

El número total de ciclos comunicados por los centros participantes es ligeramente superior al aportado por los centros españoles participantes en el último registro español y europeo publicado (24).

La tasa global de gestación por transferencia objetivada (38,9%) puede considerarse adecuada, y está en consonancia con la buena posición que las tasas españolas de gestación por ciclo y por transferencia suelen ocupar en el contexto de los registros europeos. Sin embargo, hay que subrayar que este rendimiento terapéutico se logra a costa de transferir un número elevado de embriones, muy superior a los registrados en países europeos con tasas de gestación por transferencia comparables a las observadas por nuestro estudio (13, 24). A ello se añade que la transferencia selectiva de un solo de embrión apenas tiene cabida como indicación en nuestro medio, ya que nueve de cada diez transferencias de un solo embrión se realizan cuando éste es el único disponible, y sólo una tiene carácter electivo y no selectivo. El efecto global de estas políticas de transferencia se traduce en una elevada tasa de embarazos múltiples (35%) y especialmente de triples (6,4%), que no solo no se han reducido desde los registros de 1.997, sino que incluso se han elevado (27,6% de gemelares y 4,1% de triples).

La entrada en vigor de la Ley 45/2003, que modificó la Ley 35/1998 sobre técnicas de reproducción asistida, introdujo, entre otras, la limitación del número de embriones transferibles en cada ciclo, que no puede ser superior a tres. La promulgación de dicha norma fue precedida de un proceso de alegaciones que permitió que diversas instancias, entre las que se encontraban las sociedades científicas relacionadas con la reproducción asistida en España, manifestaran su opinión sobre el contenido de la nueva ley en su fase de tramitación, durante el otoño de 2.003. Aunque otros contenidos normativos del anteproyecto de ley fueron ampliamente criticados, la limitación en el número de embriones a transferir fue valorada positivamente, ya que se consideró similar a la impuesta por los criterios estrictamente científicos. No obstante, casi dos terceras partes de los centros incluidos en nuestro estudio reconocieron transferir como máximo

4 embriones durante el año 2.002, año precedente a la modificación de la ley.

La edad de la paciente es reconocida por la casi totalidad de los equipos participantes en el estudio como uno de los principales determinantes de la probabilidad de implantación embrionaria. La información sobre la selección del número de embriones en función de la edad de la paciente, se solicitó estratificando la edad por medio de intervalos definidos que permitieran uniformizar los datos y acometer su análisis. También se solicitaban detalles sobre la aplicación de intervalos etarios diferentes o sobre puntos de corte adicionales. En pacientes con edades inferiores a 30 años, predomina claramente el criterio de transferir 2 embriones, pero resulta destacable que ninguno de los centros consultados contempla la posibilidad de ofrecer la transferencia selectiva de 1 embrión. A medida que se incrementa la edad de la paciente, es más axiomática la inclinación a transferir un mayor número de embriones, aunque sólo un centro admite la transferencia de 4 en pacientes de 35 a 40 años de edad, como opción frente a la de 3 embriones.

El antecedente de fracaso de ciclos previos de tratamiento modifica la conducta con respecto a la transferencia embrionaria en la sistemática de más del 80% de los centros que aportaron datos. Algo más del 40% de los equipos que consideran este criterio, incrementa el número de embriones transferidos tras un único ciclo fallido, mientras que los restantes lo hacen a partir del fracaso de dos transferencias previas. No se solicitó información, acerca de si este criterio se aplicaba de manera uniforme o en dependencia de la edad, dato que reviste de un indudable interés. Sin embargo, una interpretación holística de la encuesta, parece sugerir que el temor a la no consecución del embarazo tras dos ciclos previos fallidos, pesa más en el ánimo de los equipos que el lograrlo a costa de un embarazo múltiple, independientemente de la edad de la paciente.

El factor causal que obligó a recurrir al tratamiento, fue valorado como determinante adicional del número de embriones adecuado para su transferencia sólo por 23 de los 41 grupos participantes. Es decir, la mitad de los grupos no reconoce al diagnóstico un carácter de factor pronóstico independiente de la probabilidad de obtener gestación, a diferencia de lo que ocurre con los parámetros "edad de la paciente", "calidad embrionaria", "número de embriones transferidos" o "posibilidad de seleccionarlos entre una cohorte mayor", en consonancia con los resultados de diversos estudios (25-27)

Este último factor modifica el número de embri-

nes a transferir en el 34% de los centros. En algunos casos, el número de embriones disponibles puede determinar el número de transferidos en función de otros criterios, como el evitar criopreservaciones embrionarias que no aporten gran probabilidad de gestación posterior.

La existencia de un número mínimo de embriones de buena calidad es valorada en mayor medida, ya que constituye un criterio de decisión para las dos terceras partes de los centros de reproducción participantes. La mitad de los mismos considera que la existencia de tres o más embriones de buena calidad constituye un factor de buen pronóstico en cuanto a la probabilidad de gestación, y considera esta circunstancia en el momento de decidir sobre el número de embriones que serán transferidos. Este punto de corte resulta similar al propuesto por diversos estudios previos (15-18, 20, 21).

En relación con la valoración de la calidad embrionaria, la totalidad de los centros que respondieron a la encuesta aplican clasificaciones basadas en la publicada por el grupo de Norfolk, aunque con gran cantidad de matizaciones y criterios complementarios, algunos de los cuales derivan de avances recientes en el conocimiento del desarrollo embrionario y su relación con el potencial de implantación. Así, el criterio de la "ausencia de blastómeras multinucleadas" como característica propia de un embrión óptimo es compartido por una amplia mayoría de centros (85,3%). El grado de consenso con respecto al máximo porcentaje de fragmentación celular admisible en un embrión óptimo es inferior, aunque se perfila también un criterio claramente mayoritario: dos tercios de los equipos sostienen que un embrión óptimo debería tener menos del 15% de fragmentos, y casi el 90% suscriben que el embrión de máxima calidad no debe presentar más de un 10% de fragmentación. Se hace necesario un consenso embriológico sobre las características del embrión óptimo, o más propiamente, sobre el embrión con alto potencial de implantación. Los estudios de correlación entre las características embrionarias y la tasa de implantación presentan, como es sabido, las dificultades derivadas de que la mayoría de las transferencias no son de embrión único o de embriones de morfología similar.

El análisis de la dispersión de criterios en cuanto al número de blastómeras que idealmente debe alcanzar un embrión en día +2, se ve limitado por el diseño de la encuesta. El 100% de los centros consideran como embrión óptimo aquél que presenta 4 blastómeras en día +2, aunque un porcentaje elevado de equipos considera óptimos embriones con un número inferior de células. Tras la sistematización de los datos obte-

nidos, consideramos que la pregunta sobre el número óptimo de blastómeras, debería haber incluido una petición de información sobre el intervalo de observación. Puede suponerse que la homogeneidad de las respuestas a esta cuestión habría sido mayor acotando temporalmente el criterio, e inquiriendo sobre el número de blastómeras óptimas a las 44-47 horas post inseminación. Es claro que el límite superior podría corresponder a 6 blastómeras, pero que dentro de este intervalo de tiempo, sería quizá igualmente correcto aceptar el desarrollo de hasta 5 blastómeras.

Respecto al desarrollo en día +3, el 80,5% de los centros coinciden en que un embrión óptimo debe alcanzar como mínimo las 6 blastómeras. Acotar el límite superior es más difícil, ya que los embriones con una velocidad de desarrollo elevada, podrían alcanzar fácilmente las 8 ó más células. Utilizando al argumento que hemos esgrimido para el día +2, si hubiéramos limitado el tiempo de observación a 67-71 horas post inseminación y añadido la premisa de que al menos el 70% de las células observadas en D+2 se hubieran duplicado, el grado de concordancia entre los embriólogos sería superior. Así mismo, el 97,6% de los centros están de acuerdo en considerar como óptimo en día +3 un embrión con 8 blastómeras, si bien los embriólogos suelen aceptar que los embriones de máxima calidad con un número superior de células pueden haber iniciado el proceso de compactación.

El 75,6% de los embriólogos afirman conceder importancia a la evaluación de los pronúcleos a la hora de definir un embrión como óptimo, mientras que la polaridad de los nucleolos es un parámetro relevante sólo para la mitad de ellos.

Respecto al número de embriones a transferir, y partiendo del hecho de que la modificación sobre la ley de Reproducción asistida de 1.988, promulgada el 22 de Noviembre de 2.003 ya sólo permite la transferencia de un máximo de 3 embriones, la encuesta revela unos criterios similares pero no universales. Los resultados de nuestro estudio confirman la tendencia al descenso de la frecuencia con que se transfieren 4 embriones, ya apuntada en los registros europeos que van de 1.998 a 2.001 (del 31,9% al 5,5%). Por el contrario, la transferencia de 3 embriones se ha elevado del 44,4% al 51,2%, siendo previsible que la modificación de la ley, mantenida en el anteproyecto de nueva ley de reproducción asistida, contribuya a incrementar este porcentaje, si no logramos sensibilizar a los centros a favor de otras prácticas clínicas. La transferencia de 1 embrión se ha elevado discretamente del 9,3% al 10,1%, pero no como consecuencia de una estrategia voluntaria para minimizar el riesgo

de embarazo múltiple, sino como expresión, en la gran mayoría de los casos, de la existencia de un único embrión disponible. En consecuencia, parece patente el escaso eco de las experiencias sobre eficacia y seguridad de la transferencia selectiva de un único embrión entre los centros españoles de reproducción asistida, que ya habían sido publicadas con anterioridad al periodo al que comprende el estudio (28-36).

Resulta llamativo que no se utilicen algoritmos o scores cuantitativos para facilitar y sistematizar la aplicación de los criterios de decisión sobre el número de embriones a transferir, elaborados bien a partir del análisis de la propia casuística o bien procedentes de la literatura (37, 38). Este hecho puede expresar la existencia entre los equipos biomédicos de cierto recelo sobre el posible efecto de las normas preestablecidas sobre la tasa de gestación, a la hora de definir la propuesta de transferencia, o un conocimiento insuficiente sobre los indicadores de eficacia del propio programa y su trascendencia.

En este sentido, también es llamativo que no siempre se realice un seguimiento obstétrico de las pacientes, y que en el momento de recurrir a la reducción embrionaria el 50% las deriven a otro centro.

La implicación directa de los equipos de reproducción asistida en el control y seguimiento de las complicaciones derivadas de las gestaciones múltiples y en la aplicación de técnicas destinadas a su resolución, contribuiría de manera indudable a acrecentar la sensibilidad de sus profesionales hacia la relevancia de las mismas, y a una mayor difusión de una nueva cultura del éxito terapéutico en el ámbito de la salud reproductiva. La consecución de una gestación a "costa de todo", como objetivo exclusivo y final de la atención a la paciente tributaria de FIV-ICSI, es un concepto reduccionista y caduco, que debe extinguirse y ser sustituido por los principios ya vigentes en los países más avanzados de nuestro entorno:

- * El embarazo múltiple de alto grado debe ser considerado como una complicación inaceptable de las TRA.
- * El embarazo gemelar es un éxito terapéutico relativo de las TRA, ya que incrementa de forma sustancial el riesgo de mortalidad fetal, morbilidad neonatal y morbilidad materna.
- * Es necesario emprender estrategias terapéuticas encaminadas a erradicar el embarazo triple y a disminuir los embarazos gemelares a tasas no superiores al 20%.
- * Puesto que en la mayoría de casos la transferencia de tres embriones no supone un aumento de las tasas de embarazo, conviene limitarla a casos de

muy mal pronóstico (edad >38 años y mala calidad embrionaria).

- * Es posible promover la transferencia selectiva de un solo embrión en casos seleccionados. Para difundir la eficacia de este procedimiento sería útil promover estudios destinados a comparar los resultados obtenidos mediante la transferencia electiva de un embrión frente a la de dos embriones, en una población adecuadamente identificada.
- * La calidad embrionaria debería ser definida en términos de potencial implantatorio, por medio de un amplio consenso embriológico que derivase en normas aplicables a la práctica clínica.
- * Los pacientes que precisen la aplicación de TRA deben recibir información objetiva sobre los riesgos que comportan los embarazos múltiples y sobre la eficacia de las estrategias destinadas a su prevención.
- * Las sociedades científicas deben elaborar recomendaciones, basadas en el estado del conocimiento, sobre el número idóneo de embriones a transferir para prevenir la gestación múltiple derivada de FIV-ICSI sin menoscabar las tasas de eficacia.
- * Los indicadores de eficacia actualmente utilizados en la evaluación de los resultados de las técnicas de FIV-ICSI deben ser sustituidos por otros que contemplen también el final del proceso. Así, sería conveniente reemplazar o complementar los índices tradicionales (“tasa de embarazo por ciclo”, “tasa de embarazo por transferencia”) por otros como la “tasa de implantación”, “tasa de recién nacido único por transferencia” y “tasa de recién nacido por embrión transferido”.

BIBLIOGRAFÍA:

1. **Devine PC, Malone FD, Athanassiou A, Harvey-Wilkes K, D’Alton ME.:** Maternal and neonatal outcome of 100 consecutive triplet pregnancies. *Am J Perinatol.* 2001 Jun;18(4): 225-35.
2. **Petterson B, Nelson KB, Watson L, Stanley F.:** Twins, triplets, and cerebral palsy in births in Western Australia in the 1980s. *BMJ.* 1993 Nov 13;307 (6914): 1239-43.
3. **Sibai BM, Hauth J, Caritis S, Lindheimer MD, MacPherson C, Klebanoff M, VanDorsten JP, Landon M, Miodovnik M, Paul R, Meis P, Thurnau G, Dombrowski M, Roberts J, McNellis D.:** Hypertensive disorders in twin versus singleton gestations. National Institute of Child Health and Human

- Development Network of Maternal-Fetal Medicine Units. *Am J Obstet Gynecol.* 2000 Apr;182 (4): 938-42.
4. **Mastrobattista JM, Skupski DW, Monga M, Blanco JD, August P.:** The rate of severe preeclampsia is increased in triplet as compared to twin gestations. *Am J Perinatol.* 1997 May;14 (5): 263-5.
5. **Kaufman GE, Malone FD, Harvey-Wilkes KB, Chelmow D, Penzias AS, D’Alton ME.:** Neonatal morbidity and mortality associated with triplet pregnancy. *Obstet Gynecol.* 1998 Mar; 91 (3): 342-8.
6. **Skrablin S, Kuvacic I, Pavicic D, Kalafatic D, Goluza T.:** Maternal neonatal outcome in quadruplet and quintuplet versus triplet gestations. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2000 Feb; 88 (2): 147-52.
7. **Suri K, Bhandari V, Lerer T, Rosenkrantz TS, Hussain N.:** Morbidity and mortality of preterm twins and higher-order multiple births. *J Perinatol.* 2001 Jul-Aug; 21 (5): 293-9.
8. **Yokoyama Y, Shimizu T, Hayakawa K.:** Prevalence of cerebral palsy in twins triplets and quadruplets. *Int J Epidemiol.* 1995 Oct; 24 (5): 943-8.
9. **Thorpe K, Golding J, MacGillivray I, Greenwood R.:** Comparison of prevalence of depression in mothers of twins and mothers of singletons. *BMJ.* 1991 Apr 13; 302 (6781): 875-8.
10. **Garel M, Salobir C, Blondel B.:** Psychological consequences of having triplets: a 4-year follow-up study. *Fertil Steril.* 1997 Jun; 67 (6): 1162-5.
11. **Collins J, Graves G.:** The economic consequences of multiple gestation pregnancy in assisted conception cycles. *Hum Fertil (Camb).* 2000; 3 (4): 275-283.
12. **Boletín de la SEF. 2.003.:** Vol 12, nº 1.
13. **Nygren KG, Andersen AN.:** Assisted reproductive technology in Europe, 1997. Results generated from European registers by ESHRE. European IVF-Monitoring Programme (EIM), for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). *Hum Reprod.* 2001 Feb; 16 (2): 384-91.
14. **Boletín de la SEF 2.001.:** Nº 10 (2).
15. **Staessen C, Camus M, Bollen N, Devroey P, Van Steirteghem AC.:** The relationship between embryo quality and the occurrence of multiple pregnancies. *Fertil Steril.* 1992 Mar; 57 (3): 626-30.
16. **Nijs M, Geerts L, van Roosendaal E, Segal-Bertin G, Vanderzwalmen P, Schoysman R.:** Prevention of multiple pregnancies in an in vitro fertilization program. *Fertil Steril.* 1993 Jun; 59 (6): 1245-50.
17. **Staessen C, Janssenswillen C, Van den Abbeel E, Devroey P, Van Steirteghem AC.:** Avoidance of triplet pregnancies by elective transfer of two good quality embryos. *Hum Reprod.* 1993 Oct; 8 (10): 1650-3.
18. **Devreker F, Emiliani S, Revelard P, Van den Bergh M, Govaerts I, Englert Y.:** Comparison of two elective transfer policies to two embryos to reduce multiple

pregnancies without impairing pregnancy rates. *Hum Reprod.* 1999 Jan; 14 (1): 83-9.

19. **Gardner DK, Vella P, Lane M, Wagley L, Schlenker T, Schoolcraft WB.:** Culture and transfer of human blastocysts increases implantation rates and reduces the need for multiple embryo transfers. *Fertil Steril.* 1998 Jan; 69 (1): 84-8.
20. **Templeton A, Morris JK.:** Reducing the risk of multiple births by transfer of two embryos after in vitro fertilization. *N Engl J Med.* 1998 Aug 27; 339 (9): 573-7.
21. **Hu Y, Maxson WS, Hoffman DI, Ory SJ, Eager S, Dupre J, Lu C.:** Maximizing pregnancy rates and limiting higher-order multiple conceptions by determining the optimal number of embryos to transfer based on quality. *Fertil Steril.* 1998 Apr; 69 (4): 650-7.
22. **Veeck LL.:** The morphological assessment of human oocytes and early concepts. Handbook of the laboratory diagnosis and treatment of infertility. Boca Raton (FL): CRC Press 1.990: 353-369.
23. **Veeck LL.:** An Atlas of Human Gametes and Conceptuses. London, England: Parthenon Publishing; 1.999.
24. **Nygren KG, Andersen AN; European IVF-monitoring programme (EIM).:** Assisted reproductive technology in Europe, 1998. Results generated from European registers by ESHRE. European Society of Human Reproduction and Embryology. *Hum Reprod.* 2001 Nov; 16 (11): 2459-71.
25. **Gerris J, De Neubourg D, Mangelschots K, Van Royen E, Van de Meerssche M, Valkenburg M.:** Prevention of twin pregnancy after in-vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection based on strict embryo criteria: a prospective randomized clinical trial. *Hum Reprod.* 1999 Oct; 14 (10): 2581-7.
26. **De Neubourg D, Gerris J, Mangelschots K, Van Royen E, Vercruyssen M, Elseviers M.:** Single top quality embryo transfer as a model for prediction of early pregnancy outcome. *Hum Reprod.* 2004 Jun; 19 (6): 1476-9.
27. **Ozturk O, Bhattacharya S, Templeton A.:** Avoiding multiple pregnancies in ART. Evaluation and implementation of new strategies. *Hum Reprod.* 2001 Jul; 16 (7): 1319-21.
28. **Vilka S, Tiitinen A, Hyden-Granskog C, Hovatta O.:** Elective transfer of one embryo results in an acceptable pregnancy rate and eliminates the risk of multiple birth. *Hum Reprod.* 1999 Sep; 14 (9): 2392-5.
29. **Coetsier T, Dhont M.:** Avoiding multiple pregnancies in in-vitro fertilization: who's afraid of single embryo transfer?. *Hum Reprod.* 1998 Oct; 13 (10): 2663-4.
30. **Gerris J, De Sutter P, De Neubourg D, Van Royen E, Vander Elst J, Mangelschots K, Vercruyssen M, Kok P, Elseviers M, Annemans L, Pauwels P, Dhont M.:** A real-life prospective health economic study of elective single embryo transfer versus two-embryo transfer in first IVF/ICSI cycles. *Hum Reprod.* 2004 Apr; 19 (4): 917-23.
31. **De Sutter P, Gerris J, Dhont M.:** A health-economic decision-analytic model comparing double with single embryo transfer in IVF/ICSI: a sensitivity analysis. *Hum Reprod.* 2003 Jun; 18 (6): 1361.
32. **De Sutter P, Gerris J, Dhont M.:** A health-economic decision-analytic model comparing double with single embryo transfer in IVF/ICSI. *Hum Reprod.* 2002 Nov; 17 (11): 2891-6.
33. **Gerris J, De Neubourg D, Mangelschots K, Van Royen E, Vercruyssen M, Barudy-Vasquez J, Valkenburg M, Ryckaert G.:** Elective single day 3 embryo transfer halves the twinning rate without decrease in the ongoing pregnancy rate of an IVF/ICSI programme. *Hum Reprod.* 2002 Oct; 17 (10): 2626-31.
34. **Neubourg DD, Mangelschots K, Van Royen E, Vercruyssen M, Ryckaert G, Valkenburg M, Barudy-Vasquez J, Gerris J.:** Impact of patients choice for single embryo transfer of a top quality embryo versus double embryo transfer in the first IVF/ICSI cycle. *Hum Reprod.* 2002 Oct; 17 (10): 2621-5.
35. **Martikainen H, Orava M, Lakkakorpi J, Tuomivaara L.:** Day 2 elective single embryo transfer in clinical practice: better outcome in ICSI cycles. *Hum Reprod.* 2004 Jun; 19 (6): 1364-6.
36. **Van Montfoort AP, Dumoulin JC, Land JA, Coonen E, Derhaag JG, Evers JL.:** Elective single embryo transfer (eSET) policy in the first three IVF/ICSI treatment cycles. *Hum Reprod.* 2005 Feb; 20 (2): 433-6.
37. **Tur R, Barri PN, Coroleu B, Buxaderas R, Martinez F, Balasch J.:** Risk factors for high-order multiple implantation after ovarian stimulation with gonadotropins: evidence from a large series of 1878 consecutive pregnancies". *Hum Reprod.* 2001 Oct; 16 (10): 2124-9.
38. **Tur R, Barri PN, Coroleu B, Buxaderas R, Parera N, Balasch J.:** Use of a prediction model for high-order multiple implantation after ovarian stimulation with gonadotropins. *Fertil Steril.* 2005 Jan; 83 (1):116-21.