

Las transferencias ecoguiadas no mejoran los resultados en ciclos FIV-ICSI.

Ultrasound-guided embryo transfer do not improve the results in IVF-ICSI cycles

Luna C, Sánchez P, Sánchez F, Hebles M, Migueles B, Tena J.A, Masferrer M.

GINEMED. Sevilla. España

Resumen

Se pretende determinar si la transferencia embrionaria ecoguiada mejora los resultados en ciclos FIV-ICSI. Se seleccionan 196 ciclos FIV-ICSI en las cuales se realizó la transferencia de al menos 1 embrión de buena calidad. En todos estos ciclos la edad de las pacientes, y el número y la calidad de los embriones transferidos fue similar. Las transferencias se realizaron vía transvaginal. Se comparan 78 ciclos en los que se realizó transferencia ecoguiada con los de un grupo control de 118 ciclos en los que se realizó transferencia clásica. Además se determinan los resultados según la dificultad de la transferencia, la cual se definió cuando se requirió al menos 2 intentos y/o la presencia de sangre en el catéter, según la edad de la paciente y según el número de embriones transferidos. Entre los grupos de transferencia ecoguiada y el control las tasas de embarazo e implantación no presentaron diferencias significativas, ni tampoco cuando se seleccionan las transferencias fáciles. Aunque no observamos una mejora en las tasas de embarazo e implantación frente a la transferencia embrionaria "clásica", pensamos que la transferencia embrionaria ecoguiada debería ser utilizada de forma rutinaria ya que se visualiza el lugar donde se depositan los embriones en el fondo del saco uterino, y produce una disminución de la ansiedad que conlleva el proceso de la transferencia en la paciente.

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

Recibido: 15-06-01

Aceptado: 26-07-01

Correspondencia: Dra. Clara Luna Cañas

Avda. República Argentina 6, entr A y B

41010 Sevilla

e-mail: cluna@weisser.com

Summary

This study is to determine if ecoguided embryo transfer improves the results in IVF-ICSI cycles. We choose 196 IVF-ICSI cycles which it has transferred at least one embryo of good quality. In all cycles patients age, transferred embryo number and quality were similar. All transfers were realised transvaginal way. We compared 78 cycles in which we realised ecoguided transfer with a control group of 118 cycles in which we used classic transfer. Also it were determined the results according to the difficult of the transfer (which it were defined when it were required at least 2 attempts and/or the presence of blood in the catheter) according to the age of the patient and to the number of transfer embryos. There were no significant differences in pregnancy and implantation rates. When easy transfers were seleccioned neither were significant differences, in this way the pregnancy and implantation rates were similar in both groups. Although it were not increased in pregnancy and implantation rates in ecoguided versus classic transfers, we think it should be used the ecoguided embryo transfer, because it can visualize the deposition site of embryos in the fundus of the uterine cavity, and so decrease the anxiety that the transfer process produced in the patient.

Key words: IVF-ICSI. Ecoguided transfer. Pregnancy rate: Implantation rate.

INTRODUCCIÓN

El éxito de un ciclo FIV viene determinado principalmente por el protocolo de inducción de la estimulación, la técnica de captación ovocitaria, la calidad embrionaria, los medios de cultivo utilizados y la transferencia embrionaria. Desde el nacimiento del primer niño nacido mediante FIV (1) se ha producido un gran desarrollo en las técnicas de inducción de la ovulación (2), el uso del ICSI (3) y medios de cultivo (4), pero la técnica de transferencia embrionaria (TE) no ha sufrido grandes cambios.

A pesar de estos avances la gran mayoría de embriones transferidos no implantan. Estos fallos en los ciclos FIV son atribuidos generalmente a una mala calidad embrionaria, a la pérdida de receptividad uterina o a la técnica de la transferencia embrionaria (5).

Recientemente se han descrito nuevas variables que pueden influir en los resultados de ciclos FIV entre los que se incluyen las contracciones uterinas (6): se vio que un aumento de estas en el momento de la TE estaba relacionada con una menor tasa de embarazo clínico y viable; y también el tipo de catéter utilizado (7).

Los ultrasonidos se utilizan de forma rutinaria para monitorizar el crecimiento folicular y en las captaciones ovocitarias. Su utilización para las transferencias embrionarias se ha descrito en algunos trabajos, con el fin de mejorar la visualización de la zona de deposición de los embriones dentro de la cavidad uterina, sugieren un incremento en las tasas de embarazo (8, 9). Sin embargo otros grupos no obtuvieron ventajas significativas (10).

El objetivo de este estudio es determinar si el uso

de las transferencias embrionarias transvaginales ecoguiadas puede aumentar las tasas de embarazo e implantación comparándolas con transferencias embrionarias "clásicas". Además dividimos el grupo de estudio según la facilidad de la transferencia, la edad de la paciente y el número de embriones transferidos.

MÉTODOS

El estudio consta de 78 ciclos de FIV e ICSI correspondientes a 72 pacientes, realizados desde Noviembre de 1999 a Diciembre de 2000, donde se realizó transferencia ecoguiada. Estos se comparan con 118 ciclos control donde la transferencia fue clásica. La selección de los 196 ciclos para realizar transferencia ecoguiada o clásica se hizo al azar. En todos ellos se transfirió al menos un embrión.

Los ciclos FIV/ICSI se iniciaron con la desensibilización de la hipófisis usando análogos de la aGnRH (Nafarelina - Synarel) en la fase lútea del ciclo menstrual previo. Cuando los niveles séricos de estradiol son inferiores a 50 pg/ml se inicia la estimulación ovárica con hormona folículo estimulante (FSH) (Gonal-F, Serono; Puregon, Organon), media 2300 UI, rango 1400-3300, 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 y el estradiol menor de 4000 pg/ml. La administración de aGnRH y FSH se suspende el día de la administración de la HCG.

Criterios utilizados para la determinación de la técnica a realizar: para FIV, esterilidad de origen tubárico, causa masculina no severa, endometriosis, factor cervical, ovarios poliquísticos, esterilidad de origen desconocido, o fallos tras otras técnicas; para ICSI, factor masculino severo, fallos previos de FIV, presencia de anticuerpos antispermatozoide en el semen, azoospermias, necrospemia, sémenes valiosos, baja respuesta ovárica o mala calidad ovocitaria.

Para la capacitación espermática se realiza una valoración de la concentración y motilidad de la muestra en fresco en cámara Mackler. La técnica de preparación del semen utilizada en nuestro laboratorio tanto para FIV como para ICSI es la técnica de Swim-Up consistente en lavados del semen por centrifugación con medio de cultivo IVFTM (Scandinaviam IVF Science AB, Guthenburg) en el caso de FIV o GameteTM (Scandinaviam IVF Science AB, Guthenburg) en el caso de realizarse microinyección intracitoplasmática, e incubación en una atmósfera del 5% de CO₂ a 37°C. Tras una hora de incubación se recuperan los espermatozoides de mejor calidad, en cuanto a motilidad y morfología, que serán los utilizados para la inseminación o microinyección de los ovocitos.

Las punciones se realizaron a las 36 horas de la administración de la hCG por vía vaginal guiada por ecografía. Se practicaron con sedación, bien con remifentanilo (Ultiva intravenoso 2 mgr, GlaxoWellcome) o bien con una mezcla de Midazolam 2 mg (Dormicum 5mgr/5 ml amp., Roche), Fentanilo 0.05 mg (Fentanest 0.15 mgr/3ml, Roche) y Propofol 25 mg (Propofol Fresenius EFG, Fresenius Lab.). Los ovocitos se recuperan y se incuban a 37°C en una atmósfera del 5% de CO₂, en medio IVF. La inseminación se realizó entre las 3 y 6 horas de la captación ovocitaria. La concentración de espermatozoides para inseminar se ajusta hasta 25.000-50.000 / ovocito en cada microgota de 25 (l 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, catalogando los embriones según el número de blastómeras y el grado de fragmentación (11).

La recuperación y cultivo de ovocitos para ICSI se realizó del mismo modo que la FIV convencional. La eliminación del complejo cúmulo-corona se realizó a las 4-6 h de la captación con hialuronidasa 80 UI/ml (HyaseTM-10X; Scandinaviam IVF Science AB, Guthenburg). Sólo se microinyectaron los ovocitos en estadio de metafase II. El movimiento de los espermatozoides se enlentece con pirlivinilpirrolidona (IC-

SITM-100; Scandinaviam IVF Science AB, Guthenburg) 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.

Para la transferencia de embriones se escogieron los embriones de mejor calidad (consideramos los de buena calidad los de grado 1-2), y los demás se criopreservaron. En nuestro centro se transfieren 3 ó 4 embriones, dependiendo de la edad y el diagnóstico de la paciente. La transferencia se realiza en medio IVF. Solo se han incluido en este estudio ciclos en los que se llegó a la transferencia de al menos un embrión.

La paciente es colocada en posición supina y se le coloca el espéculo para visualizar el cérvix. Se realiza una ecografía vaginal para visualizar la posición del útero. Previamente se ha recomendado a la paciente que traiga la vejiga de la orina llena con el fin de que el cuello del útero esté lo mas recto posible. El extremo cervical externo se lava con medio Gamete. Todas las transferencias se realizan con cánulas Gynetics (Gynetics (Belgium) conectadas a una jeringa de insulina estéril. Estos catéteres constan de tres partes: una cánula interna metálica rígida que sirve de guía para canalizar el canal cervical a una cánula externa de teflón, que a su vez sirve de guía a la cánula donde irán depositados los embriones. El clínico introduce la cánula guía en el canal cervical. Es en este momento donde se produce la diferencia entre los dos grupos. En el grupo control la inserción se realiza según la sensación del clínico de que está tan cerca posible del fondo sin llegar a tocarlo. En el grupo de las ecoguiadas la inserción y posicionamiento del catéter se facilita por ultrasonidos transabdominales. Los embriones son depositados cuando los ultrasonidos muestran que el catéter está a 1 cm del fondo uterino. Además se pueden observar las pequeñas burbujas de aire que acompañan a los embriones cuando estos han sido depositados.

En todas las transferencias aproximadamente 40 (l de medio acompañando a los embriones son depositados en la cavidad uterina. Tras la transferencia se lava el catéter en medio IVF bajo la lupa binocular para comprobar que todos los embriones han sido transferidos.

La facilidad del proceso se determino cuando no hubo que repetir la transferencia ya que todos los embriones quedaron depositados en un primer y único

intento, y cuando la cánula de transferencia estaba totalmente limpia de sangre.

A los 12-14 días post-transferencia se determinan los valores plasmáticos de la β -hCG para la determinación de la gestación, y si es positiva (5 pg/ml) se realiza una ecografía vaginal a las 4-6 semanas de amenorrea.

Para la comparación de los diferentes grupos se utilizó el test t-Student para las medias y el (2 para las proporciones. El valor de $p < 0,05$ fue considerado como significativo.

RESULTADOS

Al comparar los resultados en ciclos donde se ha transferido al menos 1 embrión de buena calidad (Tabla 1) los resultados son: en el grupo de las transferencias ecoguiadas se obtienen 523 ovocitos, de los que el 75,1% son maduros (metafase II). Fecundan normalmente el 85,6% de estos, transfiriéndose 134 embriones, de los que 114 son de buena calidad (grado 1-2). En el grupo de las no ecoguiadas se obtiene 1442 ovocitos, de los que el 75,7% son maduros. Fecundan normalmente el 86,04%, transfiriéndose 409 embriones, 317 de ellos de buena calidad.

Tabla 1

Resultados en ciclos donde se ha transferido al menos 1 embrión de buena calidad

	Ecoguiada x±sd	No ecoguiada x±sd	p
Ciclos (n)	78	118	
Pacientes (n)	72	86	
Edad	34,2 ± 4,0	33,3 ± 4,2	NS*
Ovocitos captados	13,4 ± 7,5	12,2 ± 7,4	NS
Ovocitos maduros	10,1 ± 5,3	9,3 ± 5,2	NS
Tasa de fecundación	85,6 %	86,04 %	NS
Embriones totales	7 ± 3,7	7,2 ± 4,7	NS
Embriones totales de buena calidad	4,54 ± 2,5	4,46 ± 3,4	NS
Embriones transferidos	3,4 ± 0,8	3,5 ± 0,8	NS
Embriones transferidos de buena calidad	2,9 ± 0,9	2,7 ± 1,1	NS
Tasa de embarazo / transfer	33,3 %	33,9 %	NS
Tasa de implantación	14,9 %	13,9 %	NS
* NS: diferencias no significativas			

No se observan diferencias significativas en ninguno de los parámetros estudiados.

Al comparar los resultados en ciclos donde se ha transferido al menos 1 embrión de buena calidad y además las transferencias han sido perfectas (Tabla 2) los resultados son: el 89,8% del total de las transferencias realizadas fueron consideradas perfectas. En el grupo de las transferencias ecoguiadas se obtienen 499 ovocitos, de los que el 76% son maduros (metafase II). Fecundan normalmente el 85,8% de estos, transfiriéndose 130 embriones, de los que 110 son de

Tabla 2

Resultados en ciclos donde se ha transferido al menos 1 embrión de buena calidad y la transferencia ha sido perfecta

	Ecoguiada	No ecoguiada	p
Nº ciclos	76	100	
Nº pacientes	70	76	
Edad	33,97 ± 3,9	33,3 ± 3,9	NS
Ovocitos captados	13,1 ± 7,4	11,6 ± 6,3	NS
Ovocitos maduros	9,97 ± 5,3	8,8 ± 4,7	NS
Tasa de fecundación	85,8 %	85,6 %	NS
Embriones totales	6,95 ± 3,8	6,8 ± 4,2	NS
Embriones totales de buena calidad	4,5 ± 2,5	4,3 ± 3,4	NS
Embriones transferidos	3,42 ± 0,8	3,43 ± 0,9	NS
Embriones transferidos de buena calidad	2,9 ± 0,9	2,6 ± 1,1	NS
Tasa de embarazo / transfer	34,2 %	36,0 %	NS
Tasa de implantación	15,4 %	15,2 %	NS

buena calidad (grado 1-2). En el grupo de las no ecoguiadas se obtiene 1156 ovocitos, de los que el 76,2% son maduros. Fecundan normalmente el 85,6%, transfiriéndose 343 embriones, 261 de ellos de buena calidad.

En estas tampoco se encontraron diferencias significativas, lo cual indica que el hecho de que no haya que repetir la transferencia ni que haya sangre en el catéter mejora los resultados.

Pasamos a comparar las tasas de embarazo según las edades para determinar si los resultados están influenciados por la edad (Tabla 3): tampoco se encontraron diferencias significativas en cuanto a la edad.

Del mismo modo comparamos los resultados se-

Tabla 3
Tasa de embarazo según la edad

	Ecoguiada	No ecoguiada	P
≤ 35 años	40,74 %	40,24 %	NS
> 35 años	16,67 %	19,44 %	NS

Tabla 4
Tasa de embarazo según el número de embriones transferidos

	Ecoguiada	No ecoguiada	P
≤2	0%	25%	NS
3	38,9%	46,7%	NS
≥4	33,3%	26,2%	NS

gún el número de embriones transferidos (Tabla 4): tampoco se encontraron diferencias significativas en cuanto a este parámetro.

DISCUSIÓN

La transferencia embrionaria es una parte crucial en los ciclos FIV-ICSI. Se han estudiado muchos aspectos de este proceso, como el tipo de catéter utilizado (12), la presencia de sangre en el catéter (13) y la necesidad de una "estancia en cama" tras el proceso (14).

Asimismo se ha visto que la dificultad en la TE está relacionada con la posibilidad de un aumento en la incidencia de embarazos ectópicos (15).

Los primeros estudios realizados de TE ecoguiada se llevaron a cabo por Strickler (17). Se determinó que el uso de ultrasonidos facilitaba el posicionamiento del catéter en el fondo de la cavidad uterina y la visualización de las "burbujas" de medio que contenían los embriones (18).

La realización de transferencias embrionarias (TE) mediante ecografía ha supuesto una pequeña actualización de la técnica. Esta permite una mejor canalización cervical mediante la visualización del recorrido que realiza la cánula, lo que permite reducir el trauma que implica la técnica y el sangrado (19) y la visualización del punto exacto donde quedan depositados los embriones en relación con la superficie endometrial y el fundus uterino (20).

Recientes estudios en cuanto a la utilización de TE ecoguiada indican una mejora en los resultados de los ciclos FIV-ICSI en cuanto a tasas de embarazo e

implantación (7, 8, 9) pero no en todos se obtuvieron unas diferencias estadísticamente significativas (10). Se ha pensado que estas diferencias pudieron deberse al posicionamiento del extremo del catéter con respecto al fondo de la cavidad uterina: el grupo de Kan (10) depositaba los embriones a 1 cm del fondo uterino, mientras que el de Coroleu (8) a 1,5 cm. Algunos estudios vieron que no había relación entre el sitio de deposición de los embriones y los resultados obtenidos en cuanto a embarazo (21) mientras que en otros se vio lo contrario (22). El sitio de deposición puede ser importante ya que se ha determinado que el contacto entre el catéter y el fondo uterino produce contracciones en la zona de unión que pueden reducir la posibilidad de embarazo (23) y que un aumento de estas en el momento de la TE estaba asociada con un descenso en las tasas de embarazo clínico, pero nuestros resultados nos indican que no hay diferencias en los resultados al realizar la transferencia ecoguiada o la clásica, ya que a pesar de comparar grupos de características similares, en cuanto a calidades ovocitarias y embrionarias, no se obtienen diferencias significativas. Habría que comparar en otro trabajo si seleccionando pacientes según otros parámetros se obtienen diferencias.

En cuanto a la repetición de la transferencia es frecuente que la presencia de moco cervical, el sangrado o la propia dificultad de la transferencia produzca en algunos casos la retención de parte o todos los embriones al transferirlos. En estas condiciones se deben cargar de nuevo en la cánula y volverlos a transferir. Pero la repetición inmediata de la TE parece que no produce disminución de la tasa de gestación (16).

Otra de las más frecuentes complicaciones durante las TE es la presencia de sangre en el catéter producida por el trauma ejercido sobre el canal cervical o sobre el endometrio. Tanto la cantidad como la localización son importantes por estar relacionadas con la procedencia del sangrado. Goudas et al (13) observaron un descenso en las tasas de gestación e implantación relacionadas con la presencia de sangre en la parte exterior del catéter.

Para eliminar la posible repercusión que puede tener la realización de una transferencia difícil seleccionamos las transferencias fáciles y los resultados (Tabla 2) nos indican que aún visualizando el lugar donde se depositan los embriones no hay mejoras significativas en los resultados, e incluso la tasa de embarazo fue ligeramente superior en el grupo de las no ecoguiadas.

Cuando comparamos las tasas de embarazo según la edad (Tabla 3) los resultados nos indican que la posibilidad de embarazo no depende del tipo de transfe-

rencia realizada. Incluso se observa que en el grupo de las mayores de 35 años la tasa de embarazo es ligeramente superior, pero no significativa, cuando se realiza transferencia no ecoguiada.

Mas tarde nos pasamos a preguntar si puede depender del número de embriones transferidos (Tabla 4). Al comparar las tasas de embarazo según el número de embriones transferidos se obtuvo una mayor tasa de embarazo cuando se transferían 3 embriones y se realizaba transferencia no ecoguiada, y cuando se transferían al menos 4 embriones y la transferencia era ecoguiada, pero en ambos casos las diferencias no fueron significativas.

Todo esto nos indica que la realización de transferencias ecoguiadas no mejoran los resultados en ciclos FIV-ICSI, ni aún cuando se seleccionan ciclos con transferencias "fáciles", ni dependiendo de la edad de la paciente, ni dependiendo del número de embriones transferidos. A pesar de ella pensamos que la transferencia embrionaria ecoguiada debería ser utilizada de forma rutinaria ya que aunque no aumenta la tasa de embarazo e implantación frente a la transferencia embrionaria "clásica", ayuda a visualizar el lugar donde se depositan los embriones en el fondo del saco uterino, y de esta manera disminuye la ansiedad que el proceso de la transferencia le ocasiona a la paciente.

BIBLIOGRAFIA

1. **Edwards RG, Steptoe PC, Purdy JM.:** Establishing full-term human pregnancies using cleaving embryos grown in vitro. *Br. J. Obstet. Gynecol* 1980; 87, 737-756.
2. **Diedrich K, Van der ven H, Al-Hasani S, Krebs D.:** Ovarian stimulation for in-vitro fertilization. *Hum. Reprod* 1998; 3, 39-44.
3. **Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steinghem ACM.:** Pregnancies after intracytoplasmic injection of a single spermatozoon into an oocyte. *Lancet* 1992; 340, 17-18.
4. **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.
5. **Speirs AL.:** The changing face of infertility. *Am. J. Obstet. Gynecol* 1988; 158, 1390-1394.
6. **Fanchin R, Righini FO, Taylos S, et al.:** Uterine contractions at the time of embryo transfer after pregnancy rates after in-vitro fertilization. *Hum. Reprod* 1998; 13, 1968-1974.
7. **Wood AG, Batzer FR, Go KJ, et al.:** Ultrasound-guided soft catheter embryo transfer will improve pregnancy rates in in-vitro fertilization. *Hum. Reprod* 2000; 15(1), 107-112.
8. **Woolcott R, Stanger J.:** Ultrasound tracking of the movement of embryo-associated air bubbles on standing after transfer. *Hum. Reprod* 1998; 13(8): 2110-2119.
9. **Coroleu B, Carreras O, Veiga A, Martell A, et al.:** Embryo transfer under ultrasound guidance improves pregnancy after in-vitro fertilization. *Hum. Reprod* 2000; 15(3): 616-620.
10. **Lindheim SR, Cohen MA, Sauer MV.:** Ultrasound guided embryo transfer significantly improves pregnancy rates in women undergoing oocyte donation. *Int. J. Gynecol. Obstet* 1999; 66(3): 281-284.
11. **Kan AKS, Abdalla HI, Gafar AH, Nappi L, et al.:** Embryo transfer: ultrasound-guided versus clinical touch. *Hum. Reprod* 1999; 14(5): 1259-1261.
12. **Woolcott R, Stanger J.:** Potentially important variables identified by transvaginal ultrasound-guided embryo transfer. *Hum. Reprod* 1997; 12(5): 963-966.
13. **Letterie GS, Marshall L, Angle M.:** A new coaxial catheter system with an echodense tip for ultrasonographically guided embryo transfer. *Fertil. Steril* 1999; 72(2): 266-268.
14. **Noyes N, Licciardi F, Grifo J, Krey L, Berkeley A.:** In vitro fertilization outcome relative to embryo transfer difficulty: a novel approach to the forbidding cervix. *Fertil. Steril* 1999; 72(2): 261-265.
15. **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): 878-882.
16. **Gonen Y, dirnfeld M, Goldman S, et al.:** Does the choice of catheter of embryo transfer influence the success rate of in-vitro fertilization?. *Hum. Reprod* 1991; 6, 1092-1094.
17. **Sharif K, Afnan M, Lashen H, et al.:** Is bed rest following embryo transfer necessary?. *Fertil. Steril* 1998; 69, 478-481.
18. **Strickler RC, Christianson C, Crane JP, et al.:** Ultrasound guidance for human embryo transfer. *Fertil. Steril* 1985; 43, 54-61.
19. **Rosenlund B, Sjöblom P, Hillensjö T.:** Pregnancy outcome related to the site of embryo deposition in the uterus. *J. Assist. Reprod. Genet* 1996; 13, 511-513.
20. **Naaktgeboren N, Broers FC, Heijnsbrock I, et al.:** Hard to believe, hardly discussed, nevertheless very important for the IVF/ICSI results; embryo transfer technique can double or halve the pregnancy rate. *Hum. Reprod* 1997; 12, 1188-1190.
21. **Lesny P, Killick SR, Tetlow RL, et al.:** Embryo transfer - can we learn anything new from the observation of junctional zone contractions?. *Hum. Reprod* 1998; 13, 1540-1546.
22. **Lesny P, Killick SR, Robinson J, Maguiness SD.:** Transcervical embryo transfer as a risk factor for ectopic pregnancy. *Fertil. Steril* 1999; 72, 305-309.
23. **Veeck L.:** Evaluación de ovocitos y preembriones en el laboratorio F.I.V.. En: Remohi J, Pellicer A, Bonilla-Musoles F (Eds): *Avances en Reproducción*.