

Strokovni prispevek/Professional article

DVAJSET LET POSTOPKA ZUNAJTELESNE OPLODITVE IN MNOGOPLODNA NOSEČNOST*

MULTIPLE PREGNANCY IN THE TWENTY YEARS OF IVF/ET IN SLOVENIA

*Tomaž Tomaževič¹, Irma Virant-Klun¹, Brigita Valentinčič-Gruden¹, Helena Meden-Vrtovec¹,
Veljko Vlasisavljevič², Borut Kovačič², Primož Reš³, Ivan Verdenik¹*

¹ Klinični oddelek za reprodukcijo, Ginekološka klinika, Klinični center, Šlajmerjeva 3, 1525 Ljubljana

² Oddelek za reproduktivno medicino in ginekološko endokrinologijo, Služba za ginekologijo, Splošna bolnišnica Maribor, Ljubljanska 5, 2000 Maribor

³ Bolnišnica za ginekologijo in porodništvo, Prečna 4, 6230 Postojna

Prispelo 2003-05-14, sprejeto 2003-06-19; ZDRAV VESTN 2003; 72: Supl. II: 105-8

Ključne besede: mnogoplodna nosečnost; IVF/ICSI; elektivni prenos 2 blastocist

Izvleček – Izhodišča. *Mnogoplodna nosečnost je v primerjavi z enoplodno nosečnostjo povezana z večjim perinatalnim tveganjem. Prikazujemo slovenske podatke o jatrogeni mnogoplodnosti po postopkih zunajtelesne oploditve. Ocenjujemo vpliv prenosa dveh izbranih kakovostnih zarodkov na pogostost jatrogene mnogoplodnosti.*

Metode. *Retrospektivno smo analizirali slovenske podatke o 17436 ciklusih IVF/ET v obdobju 1984–2000.*

Rezultati. *V 17436 ciklusih IVF/ET je bilo doseženih 3068 nosečnosti. Med 2308 porodi je bilo 369 (16%) porodov dvojčkov in 49 (2%) porodov trojčkov. Med novorojenci je bilo 26% dvojčkov in 5% trojčkov. Po uvedbi prenosa dveh izbranih kakovostnih zarodkov v dveh slovenskih centrih za OBMP, je delež zanositve na prenos zarodka v letih 1999 in 2000 porasel (32 nosečnosti na 100 prenosov zarodkov v letu 2000), delež porodov dvojčkov je ostal visok 111/492 porodov (23%), delež porodov trojčkov se je statistično pomembno ($p < 0,0000$) znižal na 2/492 (0,4%) porodov.*

Zaključki. *Potem ko smo v dveh centrih uvedli prenos dveh izbranih kakovostnih zarodkov in zamrzovanje preostalih kakovostnih zarodkov, smo v Sloveniji skoraj povsem odpravili vprašanje jatrogene tri- in več plodne nosečnosti, delež porodov dvojčkov pa je ostal še vedno zelo visok (23%). Visokemu deležu mnogoploдных nosečnosti po postopkih zunajtelesne oploditve se bo možno povsem izogniti le s pomočjo prenosa enega samega zarodka.*

Key words: multiple pregnancy; IVF/ICSI; elective transfer of 2 blastocysts

Abstract – Background. *Slovene data on iatrogenic multiple pregnancy after IVF/ICSI procedures are presented. The influence of elective transfer of two high-quality embryos on the incidence of iatrogenic multiple pregnancy were evaluated.*

Methods. *Retrospective analysis of the Slovene IVF/ICSI data in the period 1983–2000.*

Results. *In 17436 IVF/ICSI cycles 3068 pregnancies were achieved. Of the 2308 deliveries 369 (16%) were twins and 49 (2%) triplets. Of the 2827 newborns 738 (26%) were twins and 148 (5%) triplets. With elective transfer of two high quality embryos in 1999 and 2000 in two of the three Slovene centres for assisted reproduction, the pregnancy rate per transfer increased (32%), triplet deliveries decreased to 2/492 deliveries (0.4%) ($p < 0.000$), and twin deliveries remained unchanged 111/492 deliveries (23%).*

Conclusions. *After elective transfer of two high-quality embryos and cryopreservation of surplus high-quality embryos in two of the three Slovene centres in the years 1999 and 2000, the problem of iatrogenic triple and higher rate multiple pregnancies has been successfully resolved, but the twin delivery rate still remains too high. Only by elective transfer of a single high-quality embryo the high multiple pregnancy rate after IVF/ICSI procedures could be avoided.*

* Delo je plod skupnega poročanja treh centrov za OBMP v Sloveniji. Kot avtorji so posebej naštetih le poročevalci v mednarodni register podatkov. Delo je nastalo po dolgotrajnih prizadevanjih in s strokovnim sodelovanjem naslednjih sodelavcev, biologov in zdravnikov, ki so po posameznih centrih naštetih po abecednem redu.

Ljubljana – Poročilo 1983–2000: L. Bačer-Kermavner, I. Bernjak, S. Drobnič, D. Kos-Gril, H. Meden-Vrtovec, J. Mivšek, B. Pinter, M. Pompe-Tanšek, M. Ribič-Pucelj, T. Tomaževič, B. Valentinčič-Gruden, H. Vencelj-Hren, A. Veble, I. Virant-Klun, A. Vogler, E. Vrtačnik-Bokal, B. Zorn, Ž. Žemva

Maribor – Poročilo 1991–1998, 2000: M. Čížek-Sajko, V. Gavrič-Lovrec, V. Kovač, B. Kovačič, V. Petrovič, M. Reljič, V. Vlasisavljevič

Postojna – Poročilo 1999, 2000: D. Kastelic, J. Reš, P. Reš**

** do 1993 – Ljubljana

Uvod

Poleg sorazmerno slabe vgnezditevne sposobnosti zarodkov je jatrogena mnogoplodnost najšibkejša točka zunajtelesne oploditve (1, 2). Hormonsko spodbujanje čezmerne števila foliklov v jajčniku omogoči prenos večjega števila zarodkov in po eni strani izboljša uspešnost postopka, po drugi strani pa povzroči nastanek nenačrtne mnogoplodne nosečnosti (3). Čeravno si nekateri pari mnogoplodne nosečnosti celo želijo, ne moremo mimo pogosto neugodnih perinatalnih posledic. Ugotavljajo, da je zaradi nedonošenosti smrtnost in zbolewnost pri dvojčkih štirikrat, pri trojčkih pa celo šestkrat večja kot pri enojčkih (3). Pri dvojčkih je petkrat večja, pri trojčkih pa 17-krat večja incidenca kasnejših možganskih okvar (4). Tudi pri nosečnicah je zaradi mnogoplodnih nosečnosti več zapletov: pogostejša je predeklampsija, anemija pa tudi poporodne krvavitve so pogostejše (5).

V našem prispevku prikazujemo slovenske podatke o jatrogeni mnogoplodnosti po postopkih zunajtelesne oploditve. Poleg ocene pogostnosti jatrogene mnogoplodnosti v primerjavi s podatki v drugih državah (1, 6–10), smo v prispevku izmerili vpliv prenosa dveh izbranih kakovostnih zarodkov na pogostnost mnogoplodne nosečnosti v Sloveniji (11–15). Po novem zakonu o zdravljenju neplodnosti in o postopkih OBMP iz leta 2000 je v Sloveniji dovoljeno prenesti v telo ženske v enem ciklusu največ tri zarodke (16). Da bi se izognili čezmerni mnogoplodnosti, pa v dveh slovenskih centrih za OBMP: v Ljubljani in v Mariboru, med prvimi v Evropi že od leta 1999 dalje prenesemo v enem ciklusu največ po dva izbrana kakovostna zarodka (11–15).

Rezultate naše analize bomo uporabili za usmerjanje nadaljnjih ukrepov pri zmanjševanju jatrogene mnogoplodnosti po postopkih zunajtelesne oploditve v Sloveniji.

Podatki in postopki

Analizirali smo slovenske statistične podatke o postopkih zunajtelesne oploditve, ki jih zbiramo od vseh začetkov dela na področju zunajtelesne oploditve od leta 1983 dalje. Od leta 1991 dalje smo poročila redno pošiljali kot člani mednarodne skupine za zbiranje podatkov o OBMP za svetovna poročila (7–9), od leta 2001 pa evropskemu združenju za humano reprodukcijo (ESHRE) (10). Iz omenjenih podatkov smo želeli oceniti pogostnost jatrogene mnogoplodne nosečnosti po postopkih zunajtelesne oploditve v Sloveniji. Posebej smo analizirali tri- in večplodne nosečnosti ter posebej dvoplodne nosečnosti.

Po podatkih iz omenjenih poročil smo v obdobju med 1. 5. 1983 in 31. 12. 2000 ne glede na indikacijo za postopek zunajtelesne oploditve, ne glede na način postopka (klasični IVF ali ICSI), ne glede na starost bolnic (22–45 let), postopek zunajtelesne oploditve uporabili v 17436 ciklusih. Po 13705 prenosih zarodkov smo dosegli 3068 nosečnosti. O postopkih smo poročali v prejšnjih poročilih (12, 17–20). Postopkom je sledilo 2308 porodov enega ali več živorojenih otrok. Porode smo razčlenili glede na to, ali je šlo za porode pri nosečnicah z enoplodnimi ali z mnogoplodnimi nosečnostmi. Novorojenke iz teh nosečnosti smo razčlenili glede na to, ali so se rodili kot enojčki, dvojčki ali kot trojčki. Za oceno statistične značilnosti razlik smo uporabili hi kvadratni test.

Med seboj smo primerjali dve obdobji, in sicer obdobje od 1983 do 1999, ko smo v postopku zunajtelesne oploditve prenašali po tri ali celo po več zarodkov, in obdobje od 1999 do 2000, ko smo v Ljubljani in v Mariboru v postopkih zunajtelesne oploditve prenašali največ po dva izbrana kakovostna zarodka. Ostale kakovostne zarodke smo od leta 1999 dalje v 30% vseh spodbujenih ciklusov shranili z zamrzovanjem za prenos v kasnejših ciklusih. Kolikšna je pogostnost dvoplodnih nosečnosti po prenosu dveh odmrznjenih zarodkov, smo poročali na drugem mestu (19).

Rezultati

V razpredelnici 1 prikazujemo podatke o mnogoplodnih porodih po postopkih zunajtelesne oploditve po letih. V letih 1983–93 so zajeti le ljubljanski podatki, v letih 1994–98 ljubljanski in mariborski podatki, v letu 1999 so prikazani ljubljanski in postojnski podatki, za leto 2000 pa so skupno prikazali podatke za Ljubljano, Maribor in Postojno.

Razpr. 1. Slovenski podatki o mnogoplodnih porodih po postopkih zunajtelesne oploditve v letih 1983–2000.

Table 1. Slovene data on multiple deliveries in the years 1983–2000.

Leto	Število ciklusov	Nosečnosti	Porodi	Dvojčki	Trojčki
Years	No. of cycles	Pregnancies	Deliveries	Twins %	Triplets %
1983–1993	7091	958	702	13	3
1994	1357	170	134	13	5
1995	1335	247	197	16	3
1996	1670	320	249	19	2
1997	1309	273	219	11	1
1998	1238	293	228	14	0,5
1999	1433	296	157*	12	0,3
2000	2003	511	402	22	0,2
Skupaj Total	17436	3068	2308	16	2

* podatki o porodih v poročilu za leto 1999 niso bili popolni (7) delivery data from the 1999 report were incomplete (7)

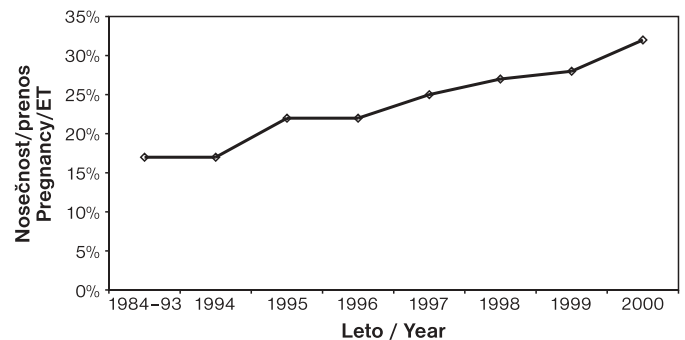
V razpredelnici 2 prikazujemo strukturo novorojencev iz postopkov zunajtelesne oploditve v Sloveniji v letih 1984–2000 glede na to, ali so se rodili kot enojčki, dvojčki ali kot trojčki.

Razpr. 2. Struktura novorojencev glede na njihovo mnogoplodnost: v obdobjih 1983–1998 ter 1999–2000.

Table 2. Structure of newborns regarding multiplicity in the years 1983–1998 and 1999–2000.

Obdobje	Število novorojencev	Dvojčki	Trojčki	Otroci iz mnogoplodnih nos.
Period	No. of newborns	Twins %	Triplets %	Newborns of multiple preg. %
1983–1998	2140	24	7 (p < 0,000)	31 NS.
1999–2000	687	32	1 (p < 0,000)	33 NS.
Skupaj Total	2827	26	5	32 NS.

V sliki 1 prikazujemo delež nosečnosti na prenos zarodkov po letih.



Sl. 1. Podatki o zunajtelesni oploditvi: nosečnost na prenos zarodkov po letih.

Figure 1. IVF/ICSI data: pregnancy/embryo transfer rates by years.

Razpravljanje

Indukcija ovulacije in postopki zunajtelesne oploditve so povzročili nesorazmeren porast mnogoploдных nosečnosti (4). V svetovnem poročilu o tehnikah asistirane reprodukcije (ART) iz leta 1993, ki združuje podatke 27 držav, so poročali o 16619 nosečnostih. Med porodi je bilo 23,7% porodov dvojčkov, 4,3% trojčkov in 0,3% četvorčkov (9). Ameriško združenje za reproduktivno medicino za leto 1994 navaja podatke o 27000 ciklusih zunajtelesne oploditve s 6114 nosečnostmi in 25% mnogoploдных nosečnosti (18,3% dvoploдных, 5,9% triploдных in 0,6% še večploдных nosečnosti) (4). Francosko desetletno poročilo navaja 23,5% dvoploдных, 3,3% triploдных in 0,1% še več ploдных nosečnosti. V 2,4% vseh nosečnosti so opravili selektivno redukcijo plodov oziroma splav nadštevilnih plodov (6). V svetovnem poročilu za leto 1998 je bilo po postopkih zunajtelesne oploditve 27,3% dvoploдных in 3,4% triploдных nosečnosti (10). Poročilo poudarja, da se je v nekaterih državah pojavila težnja k zmanjševanju števila zarodkov pri prenosu. Najnovejše poročilo Evropskega združenja za reproduktivno medicino (ESHRE) je pokazalo, da so bili deleži mnogoploдных nosečnosti po postopkih OBMP zelo visoki – delež dvojčkov je bil 29% (24,6–46,5%), delež trojčkov pa od 0,6% do 11,9% (7). Po podatkih švedskega registra je bilo 27% mnogoploдных nosečnosti in verjetnost, da bo otrok rojen kot dvojček, je po postopkih OBMP najmanj dvajsetkrat višja kot v normalni populaciji. Nosečnosti in neonatalni zapleti iz postopkov OBMP so bili ozko povezani s prezgodnjimi porodi, ki so v mnogoploдных nosečnostih veliko pogostejši (4). Po podatkih švedskega registra za IVF je bilo leta 1998 24% dvojčkov in 3% trojčkov. Delež nedonošenosti je bil pri dvojčkih 47%, pri enojčkih pa v istem obdobju 11%. Med dvojčki je bilo 43%, med enojčki pa le 8% otrok z nizko porodno težo (4). Tudi podatki o razvojnih nepravilnostih plodov so bili povezani z mnogoploдно nosečnostjo (4). Celo pri dvojčkih je bila v primerjavi z enojčki veliko večja nevarnost za neugoden izid nosečnosti (4). Podobne rezultate so našli tudi naši pediatri. Patologija otrok po postopkih zunajtelesne oploditve je bila povezana predvsem z vprašanjem nedonošenosti novorojencev iz mnogoploдных nosečnosti (21). Na oddelek za intenzivno nego in zdravljenje novorojencev je bilo sprejetih kar 40% vseh dvojčkov in 100% vseh trojčkov (21). Med vzroki je bila na prvem mestu nezrelost pljuč, na drugem mestu so bile možganske krvavitve (21). Po teh ugotovitvah bi skrb za preprečevanje mnogoploдных nosečnosti morala postati ena temeljnih nalog dela na področju zunajtelesne oploditve.

Zaradi zdravstvenih, socialnih in ekonomskih tveganj, povezanih z mnogoploдно nosečnostjo, je omejitev števila zarodkov za prenos v postopkih zunajtelesne oploditve po vsem svetu postala predmet številnih razprav (22). Ne glede na drugačna strokovna priporočila so po podatkih iz leta 2001 v mnogih državah še vedno prenašali v enem ciklusu po več kot tri zarodke (22). V Sloveniji smo po uvedbi preventivnega sistematičnega prenosa dveh izbranih kakovostnih zarodkov v Ljubljani in v Mariboru po letu 1999 zabeležili statistično značilno zmanjšanje rojstev trojčkov. Kot je razvidno iz slike 1, se je delež zanositve na prenos zarodkov kljub prenosu manjšega števila zarodkov celo povečal. Celokupni delež mnogoploдных nosečnosti, pa tudi delež otrok iz mnogoploдных nosečnosti, se kljub temu ukrepu ni spremenil. Dvaindvajset odstotkov porodov dvojčkov po uvedbi prenosa dveh izbranih kakovostnih zarodkov pomeni, da je med otroki po zunajtelesni oploditvi še vedno 30% otrok iz dvoploдных nosečnosti. Mnogoploдна nosečnost s svojimi slabimi posledicami zato tudi pri nas še vedno ostaja šibka točka postopka zunajtelesne oploditve.

Za zmanjšanje pogostosti dvoploдных nosečnosti sta v bližnji prihodnosti pred nami dve možnosti. Prva je nadaljnje iz-

boljšanje postopka zunajtelesne oploditve v naravnem ciklusu, kjer v enem ciklusu prenesemo le po en zarodek (23, 24). Druga, veliko stvarnejša možnost pa je izboljšanje postopka selekcije za prenos enega samega zarodka v spodbujenih ciklusih (25).

Po uspešni realizaciji laboratorijskega in kliničnega programa prenosa dveh zarodkov v stadiju blastociste in po realizaciji uspešnega programa zamrzovanja zarodkov v stadiju blastociste (11–13, 15, 20) nas v bližnji prihodnosti čaka še uredničev programa izboljšanja možnosti za uspešen prenos enega samega zarodka.

Zaključki

Mnogoploдна nosečnost je pri postopkih zunajtelesne oploditve tudi v Sloveniji 20-krat pogostejša kot po naravni zanositvi. V Sloveniji smo v zadnjih treh letih s pomočjo prenosa dveh kakovostnih izbranih zarodkov in zamrzovanja preostalih kakovostnih zarodkov skoraj povsem odpravili vprašanje jatrogene tri- in večploodne nosečnosti. Uspešnost postopka zunajtelesne oploditve se je po uvedbi prenosa dveh izbranih kakovostnih zarodkov izboljšala, delež otrok iz mnogoploдных nosečnosti pa je ostal nespremenjen.

Zahvala

Za zbiranje ljubljanskih podatkov dolgujemo zahvalo medicinskim sestram: B. Gradišek, Z. Gorše, A. Kisel-Vovko, G. Milič, Z. Mramor, A. Peterlin, J. Tekavec, J. Šimonka, M. Štucin. Gospe Mojci Pirc se zahvaljujemo za pregled teksta.

Literatura

- Jones HW. Multiple births: how are we doing? *Fertil Steril* 2003; 79: 17–21.
- Tomažević T. Mnogoploдна nosečnost po IVF ET. Načini redukcije. In: Cerar V, Novak-Antolič Z, Premru-Sršen T, Barbič M eds. *Preoblemi ultrazvoka v perinatologiji*. Zbornik prispevkov. Lokve: Sekcija za perinatalno medicino. 1996: 150–3.
- Meden-Vrtovec H. Ali je mnogoploдна nosečnost po postopkih zunajtelesne oploditve z vzpodbujanjem jajčnikov neizogibna? In: Tomažević T, Virant-Klun I, Petkovšek N, Vogler A eds. *Mnogoploдна nosečnost po postopkih oploditve z biomedicinsko pomočjo*. Zbornik predavanj. Ljubljana: Slovensko društvo za reproduktivno medicino. 2002: 5–8.
- Wennerholm UB. Obstetric and neonatal complications in multiple gestation. In: Healy DL, Kovacs GT, McLachlan R, Rodriguez-Ermas O eds. *Reproductive medicine in the twenty-first century*. Proceedings of the 17th World Congress on Fertility and Sterility. Melbourne: Parthenon Publishing Group, 2002: 182–94.
- Požlep B. Mnogoploдна nosečnost in zapleti pri nosečnici. In: Tomažević T, Virant-Klun I, Petkovšek N, Vogler A eds. *Mnogoploдна nosečnost po postopkih oploditve z biomedicinsko pomočjo*. Zbornik predavanj. Ljubljana: Slovensko društvo za reproduktivno medicino. 2002: 42–6.
- Boulot P, Vignal J, Dechaud H, Faure JM, Hedon B. Obstetrical complications of ART and selective reduction. In: Kempers ED, Cohen J, Haney AF, Younger JB eds. *Fertility and reproductive medicine*. Proceedings of the XVI World Congress on Fertility and Sterility. San Francisco: Elsevier 1998: 187–97.
- Nygren KB, Andersen AN. Assisted reproductive technology in Europe, 1999. Results generated from European Registers by ESHRE. *Hum Reprod* 2002; 17: 3260–9.
- Testart J, Plachot M, Mandelbaum J, Salat-Baroux J, Frydman R, Cohen J. World collaborative report on IVF-ET and GIFT: 1989. *Hum Reprod* 1992; 7: 362–9.
- Cohen J, de Mouzon J, Lancaster P. World collaborative report 1991. VIIIth World Congress on In vitro Fertilization and Alternative Assisted Reproduction, Kyoto 1993.
- International working group for Registers on Assisted Reproduction: Adamson D, Lancaster P, deMouzon J, Nygren KG, Zegers B, Hochchild F. World collaborative report on assisted reproductive technology, 1998. In: Healy DL, Kovacs GT, McLachlan R, Rodriguez-Ermas O eds. *Reproductive medicine in the twenty-first century*. Proceedings of the 17th World Congress on Fertility and Sterility. Melbourne: Parthenon Publishing Group, 2002: 209–20.
- Vlaisavljevič V, Gavrič-Lovrec V, Reljič M, Kovač V, Kovačič B, Petrovič V, Čížek-Sajko M. *Mnogoploдна nosečnost po OBMP – Izkušnje v Mariboru*. In: Tomažević T, Virant-Klun I, Petkovšek N, Vogler A eds. *Mnogoploдна*

- nosečnost po postopkih oploditve z biomedicinsko pomočjo. Zbornik predavanj. Ljubljana: Slovensko društvo za reproduktivno medicino. 2002: 10-3.
12. Virant-Klun I, Tomažević T, Zorn B, Bačer-Kermavner L, Mivšek J, Valentinčič-Gruden B, Meden-Vrtovec H. Successful freezing and thawing of blastocysts in sequential media using modified method. *Fertil Steril* 2003; 79: 1-7.
 13. Virant-Klun I, Tomažević T, Zorn B, Bačer-Kermavner L, Mivšek J, Meden-Vrtovec H. Blastocyst formation-good indicator of clinical results after ICSI with testicular spermatozoa. *Hum Reprod* 2003; 18: 1070-6.
 14. Kovačič B, Vlasisavljevič V, Petrovič V, Čížek-Sajko M, Reljič M, Gavrič-Lovrec V. Biološka kakovost zarodkov in mnogoplodna nosečnost po postopkih IVF in ICSI. In: Tomažević T, Virant-Klun I, Petkovšek N, Vogler A eds. *Mnogoplodna nosečnost po postopkih oploditve z biomedicinsko pomočjo*. Zbornik predavanj. Ljubljana: Slovensko društvo za reproduktivno medicino. 2002: 82-6.
 15. Tomažević T, Korošec S, Meden-Vrtovec H, Virant-Klun I. Indukcija ovulacije v nesposodbuženem ciklusu. In: Meden-Vrtovec H ed. *Zdravljenje s hormoni v ginekologiji in andrologiji*. Zbornik predavanj. Ljubljana: Slovensko društvo za reproduktivno medicino. 2002; 35-43.
 16. Zupančič K, Meden-Vrtovec H, Tomažević T, Žnidaršič V. The future law on infertility treatment and on biomedically assisted procreation in Slovenia. *J Assisted Reprod Genet* 2000; 17: 496-7.
 17. Tomažević T, Meden-Vrtovec H, Ribič-Pucelj M et al. Po desetih letih IVF na Ginekološki kliniki v Ljubljani. *Zdrav Vestn* 1994; 63: 561-5.
 18. Zorn B, Virant-Klun I, Drobnič S et al. Nosečnost in otroci po metodi neposrednega vnosa semečice v citoplazmo jajčne celice na Ginekološki kliniki v Ljubljani. Retrospektivna študija ob rojstvu 101. otroka. *Zdrav Vestn* 2000; 69: 67-73.
 19. Meden-Vrtovec H, Virant-Klun I, Tomažević T et al. Program zunajtelesne oploditve na Ginekološki kliniki v Ljubljani. *Zdrav Vestn* 2001; 70: 89-95.
 20. Virant-Klun I, Tomažević T, Bačer-Kermavner L, Mivšek J, Meden-Vrtovec H. Zamrzovanje zarodkov in mnogoplodna nosečnost. In: Tomažević T, Virant-Klun I, Petkovšek N, Vogler A eds. *Mnogoplodna nosečnost po postopkih oploditve z biomedicinsko pomočjo*. Zbornik predavanj. Ljubljana: Slovensko društvo za reproduktivno medicino 2002: 87-90.
 21. Talan-Bručan T, Tomažević T. Otroci po mnogoplodni nosečnosti. In: Tomažević T, Virant-Klun I, Petkovšek N, Vogler A eds. *Mnogoplodna nosečnost po postopkih oploditve z biomedicinsko pomočjo*. Zbornik predavanj. Ljubljana: Slovensko društvo za reproduktivno medicino. 2002: 47-51.
 22. Cohen J, Maas WMJ. IFFS surveillance 01. *Fertil Steril* 2001, 76: Suppl 2: 1-36.
 23. Tomažević T, Geršak K, Meden-Vrtovec H, et al. Clinical variables influencing the success of IVF-ET in the natural cycle. *Adv Reprod* 1999; 3: 34-8.
 24. Reljič M, Vlasisavljevič V, Gavrič-Lovrec V, Kovačič B, Čížek-Sajko M. The value of serum estradiol level on the day of HCG injection and on the day after in predicting the outcome in natural IVF/ICSI cycles. *Fertil Steril* 2001; 75: 539-43.
 25. Martikainen H. Single embryo transfer after in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. In: Healy DL, Kovacs GT, McLachlan R, Rodriguez-Ermas O eds. *Reproductive medicine in the twenty-first century*. Proceedings of the 17th World Congress on Fertility and Sterility. Melbourne: Parthenon Publishing Group, 2002: 194-200.