

16. Indicaciones de FIV-ICSI

INDICACIONES DE FIV-ICSI POR FACTOR FEMENINO Y MIXTO

Indicaciones de FIV

Los dos motivos más frecuentes para indicar una FIV por factor femenino, lo constituyen el factor tubárico y la endometriosis.

Factor tubárico

Se estima que los factores tubáricos representan el 14% de las causas de subfertilidad en las mujeres. Existen diversos tipos de oclusión de acuerdo a su localización: proximal, media y distal.

Dentro de la enfermedad tubárica se incluyen:

- la obstrucción por adherencias pélvicas secundarias a infección,
- la endometriosis,
- la cirugía pélvica previa.

En la actualidad uno de los factores más claros de esterilidad tubárica es la presencia de hidrosalpinx. A las mujeres con diagnóstico de hidrosalpinx se les debe recomendar salpinguectomía preferentemente por vía laparoscópica, previa a un ciclo de fecundación *in vitro*. Se ha encontrado que, en los ciclos de FIV, las pacientes con hidrosalpinx tienen la mitad de tasas de gestación que las pacientes que no lo tienen^(1,2).

La salpinguectomía realizada por hidrosalpinx antes de la fecundación *in vitro* incrementa sustancialmente las tasas de embarazo, implantación y recién nacido vivo. Los datos existentes en la actualidad son suficientes para poner de manifiesto que la ligadura proximal es tan eficaz como la salpinguectomía de la trompa afectada^(3,4).

Existen numerosas técnicas para realizarla, sin embargo en diversas revisiones se opta por la vía laparoscópica por tener menos efectos adversos, menos días de hospitalización y menos trauma comparados con una laparotomía.

Se han propuesto diversas técnicas quirúrgicas para el tratamiento de los hidrosalpinx (salpingostomía, drenaje del hidrosalpinx), pero no hay estudios que comparen dichas técnicas.

En caso de contraindicación laparoscópica-laparotómica, varios grupos están trabajando con la vía histeroscópica para la oclusión de *ostium* tubárico; no existen estudios prospectivos randomizados que fundamenten su utilización.

La microcirugía cornual anastomótica se utiliza como tratamiento estándar en los casos de oclusión proximal de las trompas. Sin embargo, no hay estudios randomizados controlados observacionales que comparen la utilidad de la microcirugía con la FIV. Un estudio de casos y controles en mujeres a las que se les realizó microcirugía de anastomosis tubo-cornual, muestra un 27%, 47% y 53% de recién nacidos vivos al año, dos y tres años respectivamente.

Un estudio de cohorte con un seguimiento de un periodo de 3 años reseña altas tasas de embarazo en mujeres a las que se les realizó anastomosis de las trompas (24%) *versus* pacientes a las que no se les realizó ningún tratamiento (12%).

La cirugía es más efectiva en mujeres con enfermedad pélvica en estadios bajos. Las tasas de embarazo obtenidas con cirugía, frente a la obtenida en pacientes que no fueron intervenidas en estadio I fueron 67% vs 24% sin cirugía; en estadio II, 41% vs 10%; en estadio III, 12% vs 3 y en estadio IV, 0% con o sin cirugía.

Diversas series de casos y controles comunican tasas de embarazo tras la cirugía tubárica comparables con los resultados en FIV en mujeres con adherencias firmes, oclusión distal y bloqueo tubárico proximal.

Otra revisión de cinco casos reporta una tasa acumulativa de embarazo del 8% en mujeres con reanastomosis tubo-cornual por oclusión proximal.

Una revisión sistemática analizó los diferentes tipos de cirugía analizando 14 estudios. Valorando las diferentes técnicas no encontraron diferencias significativas entre láser de CO₂ vs utilización de diatermia.

La terapéutica apropiada en casos de infertilidad tubárica depende de la selección de la paciente y ésta debe hacerse de acuerdo a circunstancias clínicas específicas con el fin de ofrecer a las parejas el mejor porcentaje de éxito.

Endometriosis

En los documentos de consenso de la SEGO, el grupo de expertos en endometriosis aconseja que el diagnóstico de endometriosis sólo debe hacerse mediante laparoscopia, y además insta a un diagnóstico laparoscópico ante una tumoración ovárica mayor de 3 cm. Sobre todo porque no existe certeza de que sea un endometrioma hasta no realizarse una laparoscopia⁽⁵⁾.

El impacto de los endometriomas en TRA es controvertido. La endometriosis en estadios avanzados podría alterar la anatomía fisiológica, dando lugar a problemas de fertilidad. La presencia de endometriomas puede alterar la calidad ovocitaria (exposición a productos inflamatorios del líquido peritoneal) en el ovario ipsilateral, al igual que la tasa de fertilización e implantación. No obstante, el mecanismo preciso por el cual la endometriosis puede afectar la fertilidad es desconocido. Algunos autores sostienen que la endometriosis en sí afecta al número de ovocitos recuperados, pero no a la calidad embrionaria ni a la tasa de embarazo⁽⁶⁾.

La teoría clásica de que los endometriomas requieren tratamiento quirúrgico para mejorar la fertilidad no ha sido probada. En realidad, estudios retrospectivos han publicado que las mujeres jóvenes intervenidas de endometriosis presentan una menor respuesta a las gonadotropinas. Tales resultados sugieren que, al final, los efectos adversos de la endometriosis sobre la fertilidad se deben más bien a la cirugía, que a la endometriosis en sí (la cirugía lesiona el ovario, comprometiendo la reserva folicular, dando lugar a una pobre respuesta del ovario a las gonadotropinas y un incremento del riesgo de menopausia precoz)⁽⁷⁾.

García Velasco *et al.*⁽⁸⁾, realizaron un estudio retrospectivo donde comparaban los resultados de FIV obtenidos en mujeres intervenidas de endometriosis *versus* mujeres no intervenidas. No encontraron diferencias significativas en cuanto al tiempo de estimulación. Sin embargo, observaron que las mujeres que fueron objeto de estimulación ovárica sin cirugía previa necesitaron una dosis inferior de gonadotropinas, mientras que los niveles de estradiol el día de la HCG fueron superiores. A pesar de ello, ambos grupos presentaron similar número de ovocitos maduros, tasa de fertilización, embriones obtenidos por ciclo, embriones transferidos, tasa de embarazo o abortos.

El tratamiento quirúrgico de la endometriosis en mujeres infértiles asintomáticas es controvertido, ya que la cirugía provoca un daño ovárico con descenso de la reserva folicular, comprometiéndose, por tanto, la respuesta del mismo a la estimulación con gonadotropinas. Sin embargo, Canis *et al.* en un estudio retrospectivo, exponen que la realización de una quistectomía laparoscópica en manos expertas no compromete la respuesta ovárica en mujeres sometidas a TRA.

Los parámetros que indican la realización de una cirugía son la edad de la paciente y presencia de síntomas (dolor pélvico) fundamentalmente. El tratamiento quirúrgico es de primera línea en pacientes con dolor. El intervalo de tiempo entre la realización de una cirugía y el inicio de una TRA no tiene impacto en los resultados de un ciclo de FIV. La reintervención tampoco se ha demostrado que comporte beneficios. La cirugía de pequeños endometriomas no ofrece beneficios en los resultados de FIV-ICSI.

El equipo de García Velasco, concluye que la quistectomía laparoscópica no compromete ni el número ni la calidad ovocitaria obtenidos tras una TRA, como tampoco ofrece beneficios o mejoras en los resultados de FIV. En mujeres endometriósicas asintomáticas se optará directamente a FIV, mientras que en mujeres sintomáticas se realizará previamente una quistectomía laparoscópica.

Un estudio prospectivo randomizado controlado informa sobre un incremento en la tasa de embarazo tras FIV en pacientes con endometriosis, tras haber sido tratadas con análogos durante 3 meses⁽⁹⁾. En un reciente estudio retrospectivo⁽¹⁰⁾ se comunica que las mujeres con endometriosis moderada-severa presentan peores resultados en FIV que el grupo control (menor respuesta ovárica, tasa de fertilización e implantación). El tratamiento quirúrgico no parece incrementar la respuesta ovárica a las gonadotropinas ni incrementar la tasa de implantación, por tanto, no debemos realizar cirugía previa a un tratamiento de FIV en pacientes asintomáticas, reservándose sólo para aquellos casos sintomáticos o que precisen un diagnóstico^(11,12).

Un reciente metaanálisis sugiere un descenso en los resultados de FIV en pacientes con endometriosis estadio III o IV vs estadios I y II⁽¹³⁾, pero otros estudios demuestran mejores resultados con FIV que con estimulación ovárica más inseminación intrauterina⁽¹⁴⁾.

En las pacientes con endometriosis avanzada el tratamiento con análogos de la GnRH tres meses previos a la FIV incrementa las posibilidades de éxito.	B
En ausencia de dolor, no se recomienda el tratamiento laparoscópico de pequeños endometriomas antes de la FIV.	RSAA
El pronóstico de la FIV empeora en las endometriosis avanzadas.	C
Durante la aspiración folicular debe evitarse la punción de los endometriomas, por el riesgo de infección que conlleva.	RSAA

Indicaciones de FIV-ICSI

Fracaso de inseminación conyugal (IAC)

El fracaso de la inseminación artificial ocurre en aproximadamente en un 30-40% de las parejas que han sido sometidas a dicha técnica. En algunos centros el número máximo óptimo de ciclos a realizar es de 4 y en otros 6. Lo que sí parece claro es que no hay ninguna indicación para realizar más de 6 ciclos de inseminación⁽¹⁵⁾.

Existen varios estudios en los que se asocia fallo de inseminación con posibilidad de fallo de fecundación. Se ha descrito en torno a un 8% de fallos de fecundación tras el fracaso de IAC, por lo que para paliarlo se puede aconsejar ICSI. La falta de gestación en los casos de inseminación puede darse por cuatro factores: calidad e interacción de los gametos, desarrollo embrionario, transporte intratubárico y fallo de la implantación. El uso de la FIV es aconsejable no sólo por razones terapéuticas, sino también para filiar la probable causa de esterilidad en estas parejas. Es sabido que parejas con esterilidad de origen desconocido presentan hasta un 20% de fallo de fecundación tras FIV.

En los casos de fracaso de IAC, en ausencia de patología tubárica u ovulatoria, se recomienda la realización de ICSI.

RSAA

Baja respuesta

En un metaanálisis de la Cochrane (Van Rumste *et al.*, 2003), no se observan diferencias significativas entre las tasas de gestación cuando se utiliza FIV o ICSI para esterilidades que no incluyan el factor masculino⁽¹⁶⁾.

Moreno *et al.*, en 1998, hicieron un estudio prospectivo randomizado a pacientes con baja respuesta, teniendo como criterio haber obtenido menos de 6 ovocitos, y no encontraron diferencias entre FIV e ICSI⁽¹⁷⁾.

Otros autores corroboran esta afirmación^(18,19).

En las bajas respondedoras no se observan diferencias significativas entre las tasas de gestación cuando se utiliza FIV o ICSI para esterilidades que no incluyan el factor masculino.

A

Indicaciones de ICSI

Diagnóstico preimplantacional

Aunque la FIV y la ICSI son igualmente eficaces para identificar anomalías cromosómicas, la mayoría de los centros prefieren utilizar ICSI para asegurar la fecundación.

Existen algunos trabajos que predicen los resultados de gestación de acuerdo al número de embriones obtenidos, y de ahí que asegurar la fecundación sea de crucial importancia para ofrecer los mejores resultados.

Otro motivo muy importante para realizar ICSI en los casos de DPI es que al existir células de la granulosa pegadas a la superficie del ovocito, éstas podrían contaminar la blastómera en el momento de la biopsia, y por tanto, existiría más riesgo de realizar un diagnóstico erróneo.

Un estudio comparó las anomalías cromosómicas numéricas en embriones producidos por ICSI o FIV convencional⁽²⁰⁾. Los embriones fueron clasificados de acuerdo a morfología, edad materna y características de desarrollo, comparando las anomalías cromosómicas en ICSI y en FIV. No se encontraron diferencias entre los porcentajes de anomalías cromosómicas numéricas detectadas en el FIV (61%) y en ICSI (52%) en los embriones analizados. Si los padres presentan cromosomas normales, los resultados indican que la selección embrionaria ha de ocurrir en el útero. La ICSI no produce más anomalías cromosómicas que la FIV convencional.

No se observan diferencias significativas en los porcentajes de anomalías cromosómicas numéricas detectadas en los embriones si se utiliza FIV o ICSI como método de fecundación.

C

Fallo de fecundación

Cuando nos encontramos ante un caso de fallo de fecundación con FIV en un ciclo previo, aunque no exista causa aparente para el mal pronóstico de fecundación, la inseminación con FIV convencional no ofrece tasas de fecundación superiores al 20%.

En un estudio aleatorio realizado en pacientes con fallo de fecundación con FIV en un ciclo previo, la mitad de los ovocitos fueron inseminados aumentando las concentraciones de espermatozoides, y en la otra mitad se realizó ICSI. La tasa de fecundación FIV fue de 0%, mientras que el 62,5% de los ovocitos del ICSI fecundaron.

En las parejas con fallo de fecundación en un ciclo previo de FIV debe realizarse ICSI. Los resultados dependen de otras indicaciones. Un estudio de casos-control encontró que la ICSI era mejor para el tratamiento de infertilidad por factor masculino severo que para tratar fallos de fecundación en FIV cuando el parámetro seminal era normal.

Otros estudios encuentran que los parámetros seminales no están asociados con los resultados de ciclos de ICSI, y que las tasas de fertilización y de embarazo no son diferentes entre casos con un fallo de fecundación en una FIV convencional, sémenes con una calidad moderadamente baja, sémenes con concentraciones de espermatozoides entre 1-10 millones, y sémenes con menos de un millón de espermatozoides por ml⁽²¹⁾.

Los pobres resultados de ICSI en el fallo de fecundación quizá están relacionados con una peor calidad de los ovocitos. Numerosos estudios han encontrado una significancia negativa al correlacionar la edad femenina y las tasas de embarazo, especialmente en mayores de 35 años. Esto quizá sea por una baja cantidad y calidad de ovocitos y pone de manifiesto que no siempre la ICSI es la solución para estos problemas.

La ICSI es mejor para el tratamiento de infertilidad por factor masculino severo que para tratar fallos de fecundación en FIV cuando el parámetro seminal es normal.	B
Los parámetros seminales habituales no están asociados con los resultados de ciclos de ICSI.	C
La calidad ovocitaria suele ser la responsable de los malos resultados en la ICSI tras el fallo de fecundación.	C

Número de ciclos de FIV-ICSI

Uno de los factores a tener en cuenta a la hora de aconsejar y tratar a las parejas con fallos en los ciclos previos de reproducción asistida, así como de valorar la efectividad de los próximos tratamientos con técnicas *in vitro*, es el número de ciclos que se han realizado previamente. Así, las tasas de embarazo y de recién nacido vivo disminuyen conforme aumenta el número de ciclos realizados⁽²²⁾.

Si observamos los estudios realizados en Inglaterra sobre un total de 35.714 pacientes que realizaron tratamientos mediante FIV, se aprecia cómo la tasa de embarazo por punción disminuye del 20,2% en el primer ciclo a un 17,4% en el segundo, 16% en el tercero, 13,3% en el cuarto, 13,4 en el quinto, 12,7% en el sexto y 7,3 en el séptimo⁽²³⁾. En otro estudio similar en Australia, la diferencia es más marcada entre el tercer y cuarto ciclo, pasando de un 17,5% a un 6,2%. En otro estudio multicéntrico y retrospectivo llevado a cabo en USA, la diferencia es más marcada a partir del cuarto ciclo⁽²⁴⁾.

En definitiva, del 4º ciclo en adelante, las tasas de embarazo disminuyen de forma más marcada, por lo que este cuarto ciclo debe individualizarse y ofrecerse a las parejas en función de otros factores existentes, sobre todo la edad. Como demuestran Templenton *et al.* las tasas de embarazo son similares con ovocitos propios y donados en edades inferiores a los 35 años, disminuyendo de forma más marcada a partir de los 40 (8,1% frente a 18,8%) y de forma drástica a partir de los 44 (3,5% frente a 22%)⁽²²⁾.

Otros factores a tener en cuenta son el tiempo de esterilidad y la existencia o no de embarazos previos.

Uno de los problemas de los datos publicados en diversos estudios que hacen referencia a tasas de embarazo y número de ciclos es que, si no informan de la tasa de recién nacido por ciclo, no podemos conocer el impacto de los abortos sobre estas tasas de gestación⁽²⁵⁾, así como la incidencia de éstos conforme aumenta el número de ciclos realizados. La tasa de embarazo por punción no disminuye de forma tan marcada en el cuarto ciclo como lo hace la tasa de recién nacido⁽²⁶⁾.

En el Registro Nacional Francés ocurre algo parecido, sin embargo, cuando corrigen estos resultados con la edad, no encuentran una disminución significativa con el número de ciclos.

A partir del cuarto ciclo de FIV-ICSI (inclusive) las tasas de embarazo disminuyen notablemente.	C
La indicación de un 4º ciclo de FIV-ICSI de hacerse de modo individualizado, teniendo en cuenta los factores pronósticos asociados, especialmente la edad.	RSAA

INDICACIONES DE FIV E ICSI POR CAUSAS MASCULINAS

Introducción

Históricamente, el factor masculino ha sido el mayor obstáculo en el tratamiento de la pareja infértil debido, en parte, a las dificultades que conlleva su tratamiento etiológico. Sin embargo, el avance de las técnicas de reproducción asistida ha permitido que, en la actualidad, haya muy pocos varones a los que no se les pueda ofrecer la posibilidad de tener su propia descendencia.

Se estima que el factor masculino es la causa de la infertilidad en el 35-50% de los casos y se clasifica en varios grados dependiendo de la calidad espermática.

Factor masculino leve-moderado (subfertilidad masculina)

En los casos de factor masculino leve o moderado, la valoración de la morfología es determinante como factor pronóstico de fecundación con FIV. En este sentido, varios autores demuestran que, los resultados con FIV e ICSI con semen subfétil en general, sin ninguna alteración grave, son similares^(27,28).

En el factor masculino leve-moderado los resultados con FIV e ICSI son similares.	A
En caso de teratozoospermia moderada la tasa de embarazo disminuye con la FIV, por lo que debe realizarse ICSI.	A

Factor masculino grave

El problema de la FIV convencional en el factor masculino es que sus resultados están influidos por la calidad del semen, y las probabilidades de éxito son prácticamente nulas en el caso de factor masculino grave. Esta situación cambia con la incorporación de la ICSI a las técnicas de reproducción asistida, al permitir que estos pacientes tengan su propia descendencia incluso en situaciones extremas, como oligozoospermias, astenozoospermias y teratozoospermias muy graves, e incluso en criptozoospermias y azoospermias^(29,30).

En principio, el requerimiento mínimo suficiente es obtener tantos espermatozoides vivos como ovocitos se precisa fecundar, ya que se ha observado que en la ICSI, a excepción de la vitalidad, los parámetros espermáticos clásicos, como el recuento, la movilidad y la morfología, no predicen el resultado.

En caso de factor masculino grave sólo la ICSI ofrece buenos resultados.	A
--	----------

Los pacientes con teratozoospermia total o con azoospermia, constituyen una de las indicaciones más claras de ICSI si recurrimos a la biopsia testicular o a la aspiración de epidídimo. El éxito de esta práctica se incrementa con la posibilidad de congelación de los espermatozoides extraídos por esta técnica que ofrece resultados comparables a los ciclos con espermatozoides del mismo origen en fresco.

La ICSI ofrece las mismas tasas de embarazo con espermatozoides en fresco o congelados procedentes del testículo o del epidídimo.	A
La ICSI con espermatozoides obtenidos de testículo o epidídimo es una técnica segura, ampliamente contrastada y representa el tratamiento de primera elección en muchos casos en los que la ICSI con espermatozoides de eyaculado no es aplicable.	B

Hay casos en los cuales el paciente tiene dificultades para recoger una muestra de semen el día de la punción ovárica, o se va a someter a un proceso de quimio-radioterapia, o incluso a una vasectomía. En estos casos, también es recomendable congelar previamente el semen⁽³¹⁾.

La criopreservación de semen no afecta a la tasa de embarazo por ICSI.	B
--	----------

BIBLIOGRAFÍA

1. Stradell A, Lindhard A. Why does hydrosalpinx reduce fertility? The importance of hydrosalpinx fluid. *Hum Reprod* 2002; 17: 1141-5.
2. Ajonuma LC, Ng EH, Chan HC. New insights into the mechanisms underlying hydrosalpinx fluid formation and its adverse effect on IVF outcome. *Hum Reprod Update* 2002; 8: 255-64.
3. Johnson NP, Mak W, Sowter MC. Laparoscopic salpingectomy for women with hydrosalpinges enhances the success of IVF: a Cochrane review. *Hum Reprod* 2002; 17: 543-8.
4. Johnson NP, Mak W, Sowter MC. Surgical treatment for tubal disease in women due to undergo in vitro fertilisation. *Cochrane Database Syst Rev* 2004; (3): CD002125.
5. Neyro JL, Calaf J, Matorras R, Parrilla JJ, Pellicer A, Vanrell Ja. Grupo Endometriosis, Documentos de Consenso de la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia. *Meditex*. Madrid 1996; 65-113.
6. Suzuki T, Izumi S. Impact of ovarian endometrioma on oocytes and pregnancy outcome in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2005; 83: 908-13.
7. Brosens I. Endometriosis and the outcome of in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2004; 81: 1198-200.
8. Garcia-Velasco JA, Mahutte NG, Corona J, Zuniga V, Giles J, Arici A, Pellicer A. Removal of endometriomas before in vitro fertilization does not improve fertility outcomes: a matched, case-control study. *Fertil Steril* 2004; 81: 1194-7.
9. Surrey ES, Silverberg KM, Surrey MW, Schoolcraft WB. Effect of prolonged gonadotropin-releasing hormone agonist therapy on the outcome of in vitro fertilization-embryo transfer in patients with endometriosis. *Fertil Steril* 2002; 78: 699-704.
10. Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI, Al-Inany HG, Aboulghar MM. The outcome of in vitro fertilization in advanced endometriosis with previous surgery: a case-controlled study. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 188: 371-5.
11. Jacobson TZ, Barlow DH, Koninckx PR, Olive D, Farquhar C. Laparoscopic surgery for pelvic pain associated with endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2001; (4): CD001300.
12. Jacobson TZ, Barlow DH, Koninckx PR, Olive D, Farquhar C. Laparoscopic surgery for subfertility associated with endometriosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2002; (4): CD001398.
13. Barnhart K, Dunsmoor-Su R, Coutifaris C. Effect of endometriosis on in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2002; 77: 1148-55.
14. Dmowsky WP, Pry M, Ding J, Rana N. Cycle-specific and cumulative fecundity in patients with endometriosis who are undergoing controlled ovarian hyperstimulation-intrauterine insemination or in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 2002; 78: 750-6.
15. Ruiz A, Remohi J, Minguez Y, Guanes P, Simon C., Pellicer A. The role of in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection in couples with unexplained infertility after failed intrauterine insemination. *Fertil Steril* 1997; 68: 171-3.
16. van Rumste MM, Evers JL, Farquhar CM. Intra-cytoplasmic sperm injection versus conventional techniques for oocyte insemination during in vitro fertilisation in patients with non-male subfertility. *Cochrane Database Syst Rev* 2003; (2): CD001301.
17. Moreno C, Ruiz A, Simon C, Pellicer A, Remohi J. Intracytoplasmic sperm injection as a routine indication in low responder patients. *Hum Reprod* 1998; 13: 2126-9.
18. Surrey ES, Schoolcraft WB. Evaluating strategies for improving ovarian response of the poor responder undergoing assisted reproductive techniques. *Fertil Steril* 2000; 73: 667-76.
19. Raga F, Bonilla-Musoles F, Casan EM, Bonilla F. Recombinant follicle stimulating hormone in poor responders with normal basal concentrations of follicle stimulating hormone and oestradiol: improved reproductive outcome. *Hum Reprod* 1999; 14: 1431-4.
20. Munne S, Marquez C, Reing A, Garrisi J, Alikani M. Chromosome abnormalities in embryos obtained after conventional in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 1998; 69: 904-8.
21. Vidal F, Blanco J, Egozcue J. Chromosomal abnormalities in sperm. *Mol Cell Endocrinol* 2001; 183 Suppl 1: S51-4.
22. Templeton A, Morris JK, Parslow W. Factors that affect the outcome of in-vitro fertilization. *Lancet* 1996; 348: 1402-6.
23. Rufat P. Evolution of prognostic criteria of in vitro fertilization according to the rank of attempts. *FIVNAT. Contracept Fertil Sex* 1994; 22: 282-6.

24. de Mouzon J, Rossin-Amar B, Bachelot A, Renon C, Devecchi A. FIVNAT. Influence of attempt rank in in vitro fertilization. *Contracept Fertil Sex* 1998; 26: 466-72.
25. Rubio C, Simon C, Vidal F et al. Chromosomal abnormalities and embryo development in recurrent miscarriage couples. *Hum Reprod* 2003; 18: 182-8.
26. Meldrum DR, Silverberg KM, Bustillo M, Stokes L. Success rate with repeated cycles of in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril* 1998, 69: 1005-9.
27. Elizur SE, Levron J, Seidman DS, Kees S, Levrán D, Dor J. Conventional in vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection for sibling oocytes in couples with mild oligoteratoasthenozoospermia and couples with normal sperm. *Fertil Steril* 2004; 82: 241-3.
28. Pisarska MD, Casson PR, Cisneros PL, Lamb DJ, Lipshultz LI, Buster JE, Carson SA. Fertilization after standard in vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection in subfertile males using sibling oocytes. *Fertil Steril*, 1999; 71: 627-32.
29. Ombelet W, Fourie FL, Vandeput H, Bosmans E, Cox A, Janssen M, Kruger T. Teratozoospermia and in vitro fertilization: a randomized prospective study. *Hum Reprod* 1994; 9: 1479-84.
30. Fishel S, Aslam I, Lisi F, Rinaldi L, Timson J, Jacobson M, Gobetz L, Green S, Campbell A, Lisi R. Should ICSI be the treatment of choice for all cases of in-vitro conception? *Hum Reprod* 2000; 15: 1278-83.
31. Kuczynski W, Dhont M, Grygoruk C, Grochowski D, Wolczynski S, Szamatowicz M. The outcome of intracytoplasmic injection of fresh and cryopreserved ejaculated spermatozoa-a prospective randomized study. *Hum Reprod* 2001; 16: 2109-13.