

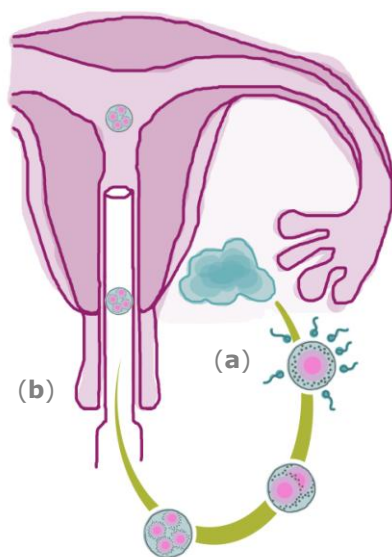
Kersti Lundin

Reproduktionsmedicin,  
Sahlgrenska Universitetssjukhuset, 413 45 Göteborg

## Provrörsbefruktning – Var står vi nu?

### Historik

Provrörsbefruktning (IVF = *In vitro* fertilisering) – "befruktning utanför kroppen" - har varit möjlig för människan sedan slutet på 1970-talet, när den första "provrörsbarn", Louise Brown föddes. Tillgängligheten till IVF varierar mycket i världen, framför allt beroende på om det finns system för kostnadsersättning. I t.ex. Danmark där det finns ett liberalt ersättningssystem från sjukvården, kommer idag drygt 5% av alla barn till med hjälp av IVF-behandling, medan motsvarande siffra i Latinamerika är ca 0,1%. I Sverige föddes år 2006 3% av alla barn med hjälp av IVF och denna teknik anses vara ett viktigt bidrag mot den minskande populationen i västvärlden. I de nordiska länderna anser man att 10 till 15% av alla par i fertil ålder har någon sorts fertilitetsproblem, vilket ses som ett omfattande hälsoproblem.



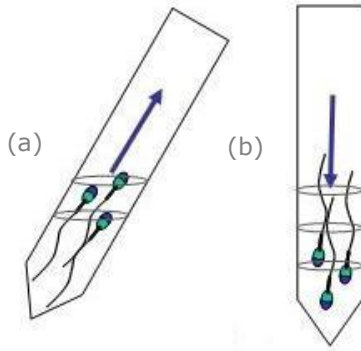
**Fig 1.** (a) Bilden visar en "äggutplockning" där äggen sugts ut med hjälp av en ultraljuds-guidad nål som förs genom vaginalväggen in till varje äggblåsa i äggstocken. (b) Vid embryoåterföring sugts embryot in i en kateter som förs in i livmodern, där embryot placeras. (Illustration av Karolina Kristensson.)

### Hormonstimulering och äggutplockning

Den månatliga ägglossningen resulterar vanligen endast i ett moget ägg (oocyt). Det är emellertid vanligen otillräckligt – åtminstone med dagens teknik – att endast inseminera ett ägg i taget *in vitro*. IVF-metoden innefattar därför hormonstimulering av kvinnan så att antalet ägg som mognar samtidigt i ovarierna ökar, s.k. kontrollerad ovariestimulering. Genom att injicera follikelstimulerande hormon (FSH) dagligen under 10-12 dagar ökar hormonnivån i blodet och i ovarievävnaden och ett större antal folliklar/oocyter mognar i ovariet. När folliklarna har nått en viss storlek (mäts med hjälp av ultraljud), injiceras en dos av ett annat hormon, human chorionic gonadotropin (hCG). Detta hormon startar slutstadiet av follikelutvecklingen och äggmognaden. Detta slutstadium induceras *in vivo* (vid naturlig mognad) av ett annat hormon – det luteiniserande hormonet (LH). hCG stimulerar samma receptorer som LH och ersätter därför den naturliga LH-toppen, som startas av ökande estradiol nivåer i den naturliga hor-

KORRESPONDENS  
till Kersti Lundin  
Epost: [Kersti.Lundin@vgregion.se](mailto:Kersti.Lundin@vgregion.se)

moncykeln. Vanligen erhåller man 5-15 mogna ägg genom denna behandling. Äggen suggs ut från ovarierna med en transvaginal nål som guidas till folliklarna med hjälp av ultraljud och som är ansluten till en pump (Fig 1). Efter denna s.k. "äggutplockning" överförs äggen till skålar med cellodlingsmedium och förvaras i en inkubator (37°C, 5% CO<sub>2</sub>) med hög luftfuktighet tills insemination med spermier sker.



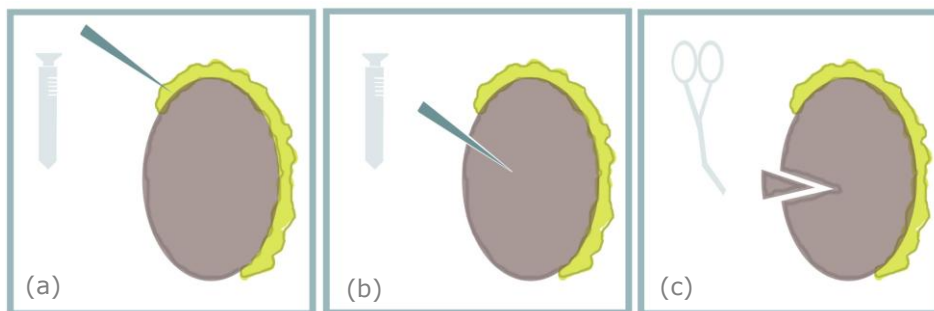
**Fig 2.** Rörliga spermier kan separeras från resten av ejakulatet **och** från orörliga spermier och andra celler genom t. ex. (a) "swim-up" metoden, då spermaprovet placeras i botten av ett provrör med ett lager av buffrat odlingsmedium ovanpå. Efter 45 minuter vid 37°C har en stor del av de rörliga spermerna simmat uppåt och befinner sig i mediefractionen. Denna fraktion suggs därefter av och förs över i ett annat rör. I (b) centrifugeras spermerna genom en gradient av ett visköst medium. De rörliga spermerna hamnar i botten av röret, där de samlas upp och förs över till ett annat rör och tvättas med medium. (Illustration av Kersti Lundin.)

### Preparation av spermier

Samtidigt som äggen tas ut från kvinnan får mannen lämna ett spermaprov som prepareras. Avsikten är att välja ut och koncentrera spermerna och att separera dem från resten av ejakulatet, sädesvätskan. Sädesvätskan består av vätska från testiklarna, liksom från prostatan och andra körtlar från mannens reproduktionskanaler. Den förser spermerna med näring, tillväxtfaktorer och hormoner under passagen genom sädesledaren. Den innehåller också faktorer som trycker ner spermernas aktivitet och tas därför bort innan äggen insemineras med spermerna. Denna separation kan ske antingen genom att man låter spermerna själva simma bort från sädesvätskan in i en buffertlösning ("swim-up"), eller centrifugering av ejakulatet genom en viskös gradient lösning. De levande spermerna passerar då genom lagren medan sädesvätskan stannar överst (Fig 2).

Sista steget i spermiepreparationen är att späda ut spermerna med odlingsmediet till en koncentration som är lämplig för insemination, vanligen omkring 200 000 spermier per ml. En cellräkningskammare används för att kontrollera spermiekoncentrationen.

Om mannen har en mycket låg spermaproduktion eller en normal produktion men blockering i sädesledaren (vas deferens) kan man använda kirurgiska metoder för att suga spermier direkt från testikeln eller från bitestikeln (epididymis), där spermerna genomgår de sista mogningsstadierna (Fig 3).



**Fig 3.** Om vas deferens (sädesledaren) är blockerad, eller om det är en extremt låg spermiekoncentration i ejakulatet, kan spermier sugas ut med hjälp av en nål antingen från (a) epididymis (bitestikel), eller från (b) testiklarna. Man kan också göra en öppen biopsi direkt från testikeln (c), detta är emellertid en betydligt mer avancerad procedur. (Illustration av Karolina Kristensson.)

När endast mycket få spermier erhålls kan mikroinjektionsbehandling (eller ICSI, se nedan) användas.

### Befruktning av ett ägg

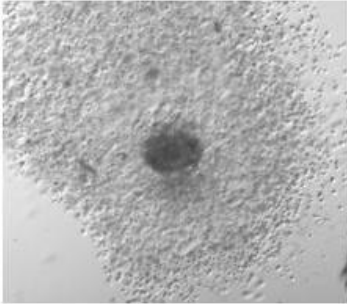


Fig 4. Ett ägg inuti en stor massa av cumulus celler. (Foto av Kersti Lundin.)

När ägget lämnar follikeln – antingen i en cykel vid normal ägglossning eller vid äggutplockning vid *in vitro* befruktning – är det omgivet av flera lager av stödjeceller, så kallade cumulusceller (Fig 4). Befruktning *in vivo* av en äggcell med en spermie sker i äggledarna. Spermier tränger då först genom cumuluscellerna och kan därefter binda till "zona pellucida" (äggskalet) (Fig 5). Spermier borrar sig sedan genom zona pellucida genom att använda sig av en kombination av propellerörelser och enzym som frisätts från spermie huvudet. Efter att spermien trängt igenom zona pellucida simmar den genom det s. k. perivitellina mellanrummet mellan zona pellucida och själva ägget. När den når oolemmat (äggcellens plasmamembran), smälter spermiecellens och äggcellens membraner ihop och spermiecellen är därmed innesluten i äggets cytoplasma. Att mer än en spermie släpps in i ägget förhindras genom två mekanismer. En är den s.k. snabba vitelline blockeringen, vilket innebär att den första spermien som når oolemmat omedelbart inducerar (inom millisekunder) en kraftig ökning av oolemmats membranpotential, vilket hindrar fler spermier att fästa och sammansmälta med oolemmat. Den andra mekanismen, som är långsammare men mer långverkande, innebär ett frisättande av s.k. corticala granula från oolemmat. Dessa granula innehåller enzymer som gör att zona pellucida blir hårdare och de spermiebindande liganderna på zonan bryts ner, vilket förhindrar att fler spermier binder och/eller tränger igenom zona pellucida.

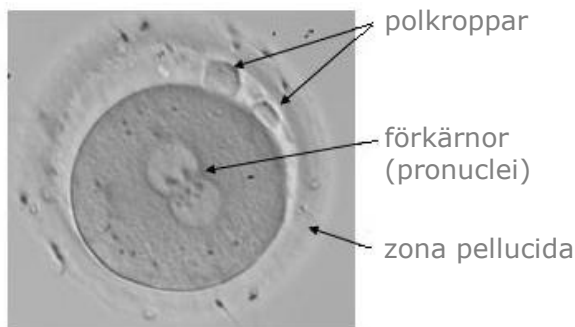
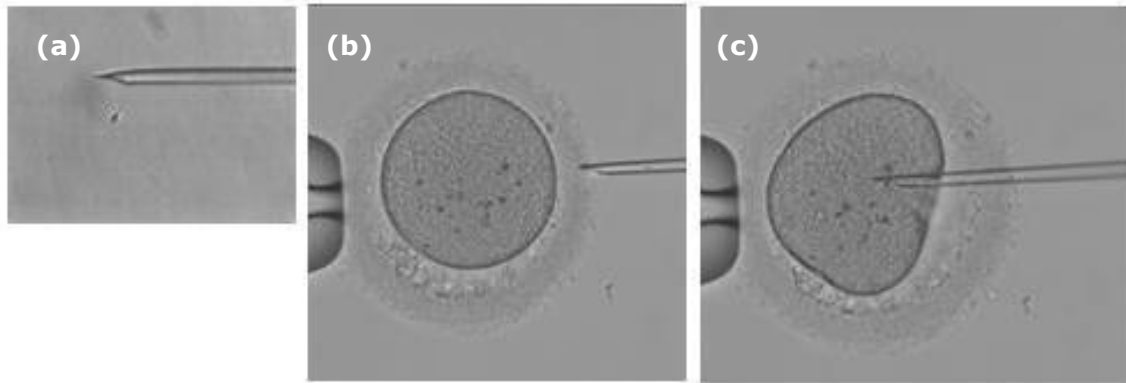


Fig 5. Ett befruktat ägg (zygot) med två förkärnor (pronuclei), en från spermien och en från ägget. Dessa kärnor sammansmälter efter några timmar och bildar det nya genomet. De två polkropparna (innehåller DNA utstött från ägget under meios I respektive meios II) kan ses i utrymmet mellan zona pellucida och äggmembranet (oolemma). (Foto av Kersti Lundin.)

När spermien är inne i ägget bildar spermiecellens DNA en "spermie-förkärna" (pronucleus). Denna kärna innehåller hälften av mannens DNA, dvs. en enkel kopia av varje kromosom. Faktorer som släpps fria från spermiecellens cytoplasma aktiverar ägget via kalciumflöden att bilda en motsvarande "oocyt-förkärna", som består av en enkel uppsättning av äggets kromosomer (Fig 5). Ägget är nu befruktat. Efter cirka 5 – 10 timmar smälter de två förkärnorna ihop och det nya diploida genomet, med hälften av kromosomerna från mannen och hälften från kvinnan, har bildats.

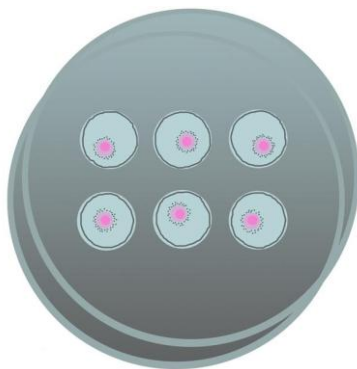
### Metoder vid *in vitro* befruktning

För närvarande finns det två metoder att utföra provrörsbefruktning. Det ursprungliga sättet är att överföra ägg och processade (separerade från seminal plasman) spermier i en petriskål med odlingsmedium och förvara skålen över natten i en inkubator. Detta sätt liknar *in vivo* situationen, d v s spermier måste kunna ta sig igenom cumuluscellerna och zona pellucida och binda till och smälta samman med oocyten's plasmamembran.



**Fig 6.** Under ICSI proceduren sugs spermien in i injektionspipetten (a). Ägget hålls fast med sugkraft av en sk hållpipett (b) och injektionspipetten som innehåller spermien placeras intill äggskålet, "zona pellucida". Injektionspipetten förs därefter in genom zona pellucida (c) och in i äggets cytoplasma (ooplasma) där spermien placeras. (Foto av Kersti Lundin.)

En nyare metod är att injicera en enda spermie i äggcellen (mikroinjektion eller ICSI, intracytoplasmatisk spermie injektion). ICSI används när det endast finns få spermier eller när man tidigare gjort en vanlig IVF-behandling och denna inte har lett till befruktning av äggen. En enda spermie suggs upp i en tunn injektionsnål som är ansluten till ett hydragiskt mikromanipulatorsystem och ett inverterat mikroskop. Nålen som innehåller spermien förs in genom zona pellucida och genom ooplasman och spermiecellen placeras i äggcellens cytoplasma (Fig 6). Innan man kan utföra ICSI, måste man ta bort cumuluscellerna. Detta görs genom en kombination av enzymbehandling och mekanisk "skrubbande" (äggcellen suggs in och ut ur en tunn pipett, se Fig 4 och 5). Under ICSI proceduren har man äggcellerna i en petriskål i 10-15 ml droppar av ett buffrat medium, som är täckt med varm mineralolja (Fig 7).



**Fig 7.** Embryon kan odlas antingen tillsammans i ett öppet system (ca. 0,5 ml medium utan att täckas av olja, visas inte på denna bild) eller ett och ett i droppar av odlingsmedium, täckta med mineralolja. (Illustration av Karolina Kristensson.)

När man utför ICSI behöver spermien inte själv kunna tränga genom zona pellucida eller plasmamembranet. Den måste emellertid för att befrukta äggcellen kunna lösa upp sitt kärnmateriel (bilda en hanlig förkärna) och aktivera äggcellen så att den går igenom den andra meiosen för att bilda den honliga förkärnan.

## Embryodling, embryoutveckling samt embryoföring

Efter inseminationen eller mikroinjektionen odlas äggcellerna i petriskålar, antingen i ett öppet system i cirka 0,5 ml odlingsmedium eller i små droppar (10-15 µL) under mineralolja. För att temperatur, pH och osmolari- tet skall vara konstanta, hålls skålarna med oocyterna/embryonerna i tempererade inkubatorer med en speciell gasblandning och hög fuktighet.

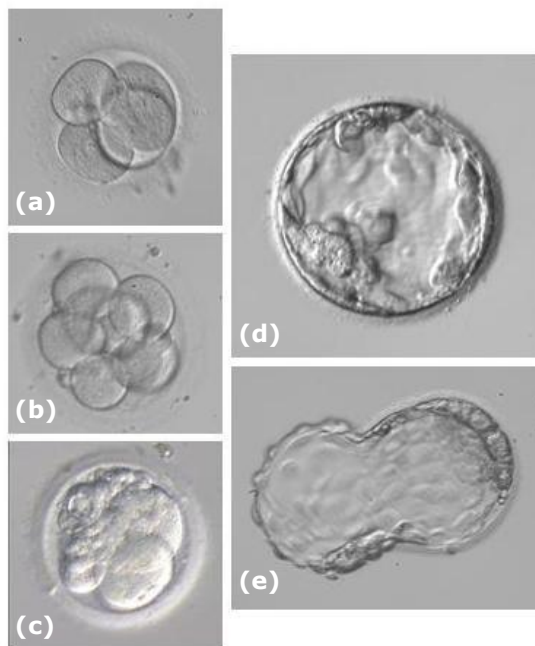
16-18 timmar efter inkubationen kontrollerar man om befruktning skett. En normalt befruktad oocyt (kallas zygot) har två förkärnor (en från spermien och en från ägget) och två sk polkroppar som innehåller det DNA som avskiljts från oocyten när den genomgått meios I och II (Fig 5).

För att erhålla en optimal graviditetsfrekvens är det viktigt att välja ut de embryon med högst potential att fästa i livmodern och utvecklas till ett foster. De huvudsakliga parametrarna som används idag är embryots delningshastighet och dess morfologi. Ett embryo skall dela sig med optimal hastighet, inte för långsamt men inte heller för snabbt. Det har visat sig att ett embryo som består av 4 celler efter 2 dagar (44 timmar efter inseminationen) och 8 celler efter 3 dagar (68 timmar

efter inseminationen) har en högre implantationsfrekvens än ett embryo som delar sig långsammare eller snabbare. Ett embryo av "god kvalitet" skall inte heller ha en stor andel cellfragment, skall ha lika stora celler och inte ha mer än en synlig kärna i varje cell (Fig 8). Ett embryo som odlats fram till blastocyststadiet (5 till 6 dagar efter inseminationen) består av cirka

100-200 celler. En blastocyst av "god kvalitet" skall expandera till nästan dubbel storlek (beroende på att vätska pumpas in i blastocysten och bildar en inre hållighet, sk. blastocoel), ha en tydlig inre cellmassa och ett yttre lager med **trofoblastceller** (= "extra-embryonal vävnad", dvs. bildar ej själva fostret utan t. ex. hinnsäckar) utan några degenererade celler (Fig 8).

**Fig 8.** (a) Ett "topp-kvalitet" embryo två dagar efter befruktningen, med fyra jämnstora celler och utan fragmentering. (b) Ett "topp-kvalitet" embryo tre dagar efter befruktningen, med åtta jämnstora celler och utan fragmentering. (c) Ett embryo av "låg kvalitet" två dagar efter befruktningen, med tre celler av olika storlek och en avsevärd mängd fragment. (d) En blastocyst av "topp-kvalitet" dag 5 efter befruktningen. Den har börjat utvidgas och uppvisar klar och distinkt inre cellmassa med ett yttre lager av trofoblastceller. (e) En blastocyst som kläcks ut från sitt skal, "zona pellucida", (ses här som ett tunnt skal, som täcker högra delen), på dag 6 efter befruktningen. (Foto av Kersti Lundin.)



Överföring av embryot till livmodern kan ske 2-3 dagar efter inseminationen (4-8 celler, tidigt delningsstadium) eller efter 5-6 dagar (100-200 celler, blastocyststadiet). Embryot/embryonerna sugas in i en återföringskateter tillsammans med lite odlingsmedium. Med hjälp av ultraljud förs katetern via vaginan in i livmodern, där embryot deponeras (Fig 1).

### Graviditet och implantation

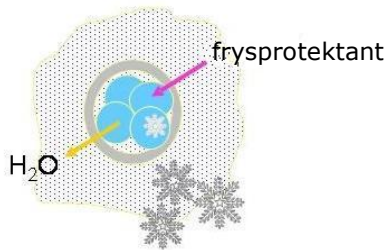
Om ingen blödning inträffat 2-3 veckor efter embryoåterföringen (embryotransfer, ET), görs ett graviditetstest. Om detta är positivt utförs efter ca 6-7 veckor efter ET en ultraljudundersökning för att fastställa existensen av hinnsäck, foster och hjärtljud.

Graviditetsfrekvensen kan räknas ut per äggutplockning eller per embryoåterföring. Den kan presenteras som totala antalet graviditeter (=positivt hCG-test) eller endast som kliniska graviditeter (=bekräftade med hjälp av ultraljud). Graviditeter som inte kan bekräftas med hjälp av ultraljud (p g a en mycket tidig spontan abort) räknas som biokemiska graviditeter. Det allra viktigaste är förstås att ett friskt barn föds, något som sker i ungefär 20-40% av alla påbörjade hormonstimulerade cyklar.

”Implantationsfrekvensen” definieras som antal foster per antal återförda embryon, d v s det är ett mått på hur många embryon som förs tillbaka till kvinnans livmoder och som implanteras och utvecklas till ett foster.

Som ett resultat av större kunskaper och förbättrad teknik vid behandling vid *in vitro* befruktning har implantations- och graviditetsfrekvenserna ökat. Detta har lett till ett ökat antal flerbarnsfödslar. I en del länder har antalet både trebarns- och fyrbarnsfödslar ökat kraftigt. Detta har lett till krav från vården, samhället i stort, liksom från läkarvetenskapen, att minska antalet embryoner som återförs till kvinnan. I Sverige rekommenderade Socialstyrelsen 2003 att endast i undantagsfall återföra mer än ett embryo. Detta har resulterat i att mellan 2003 och 2006 har antalet patienter som endast fått ett embryo återfört ökat från ca 20% till ca 70%. Samtidigt har antalet tvillingar minskat från nästan 30% till ca 6%.

Många länder i norra Europa tillämpar numera liknande strategier, medan stora delar av världen i övrigt fortfarande diskuterar att reducera antalet embryon per återföring till två eller t o m till tre.



**Fig 9.** Vid frysning av ett embryo orsakar ökande koncentration av den skyddande frysprotektanten utanför cellerna att intracellulärt vatten dras ut ur cellerna genom osmos och frysprotektanten passerar in i cellerna. Vid upptining placeras embryot i ett medium med låg koncentration av frysprotektanten (lägre än inne i cellerna), vilket gör att processen går åt andra hållet. (Illustration av Kersti Lundin.)

**Fig 10.** (a) Bilden visar ett strå och en ampull, som kan användas vid frysbevaring av embryo och/eller spermier. (b) Nedfrysta celler förvaras i stora behållare fyllda med flytande kväve. (Foto av Kersti Lundin.)

### Frysbevaring

“Extra” embryon av “god kvalitet”, dvs embryon som anses ha stor potential att kunna implantera och som inte används direkt för återförande, kan frysbevaras och återföras i en senare hormoncykel. Under frysningen flyttas embryot genom ökande koncentrationer av en s.k. frysprotektant (vanligen propandiol eller etylen-glykol), som ersätter det intracellulära vattnet och därmed minskar risken för intracellulär iskristallbildning under processen (Fig 9). Nedfrysta embryon kan antingen förvaras i ampuller eller, vanligare, i små strån, som sänks ned i kärl med flytande kväve (-196) (Fig 10), där de kan bevaras under många år. Olika länder har olika lagar och/eller rekommendationer för hur länge embryon får hållas nedfrysta. Vanligen är tiden mellan 1-5 år. I några länder, som Italien och Tyskland, tillåts inte frysbevaring av embryon som hunnit dela sig. De får emellertid bevaras som obefruktade äggceller eller som befruktade ägg som inte har delat sig (s. k. “zygoter”).



För att tina embryon utförs motsatt process mot när man fryser dem, d v s man låter dem passera lösningar med mer och mer utspädda frysprotektanter. Därmed ersätts frysprotektanten inuti cellerna av vatten.

Frysbevaring av embryon är idag en viktig del av IVF behandlingen och bidrar allt mer till den ökade graviditetsfrekvensen. Speciellt i länder där återföring av endast ett embryo praktiseras, har frysförvaring av embryon ökat i betydelse. Stora studier har visat att implantation av frysförvarade embryon kan öka den totala graviditetsfrekvensen för en IVF behandling med 15-20%.

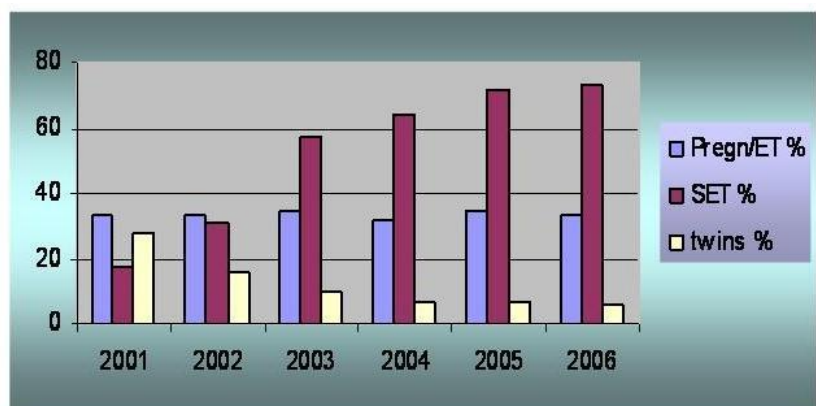
## Resultat

Stora ansträngningar görs för att samla in IVF data från olika kliniker i världen. I Europa samlas data in av ESHRE (European Society for Human Reproduction and Embryology), från majoriteten av centra och samma görs i USA av SART (Society for Assisted Reproductive Technology). Dessa stora databanker innehåller resultat från ett stort antal cykler ("färska" samt frysförvarade), antal embryoåterföringar, graviditetsdata etc, uppdelat på ett flertal variabler (t. ex. ålder, infertilitetsorsak). Under de senaste åren finns också data som beskriver t. ex. hur IVF barnen har utvecklats och hur bra man lyckats med preimplantatorisk genetisk diagnos.

Beroende på att det tar tid att samla in och bearbeta data, så presenteras dessa med några års fördröjning. Data för Europa från 2002 publicerades först 2006. Från denna publikation, som presenterar data från 25 länder och 631 kliniker, kan man se, att 257 682 "färska" IVF cykler och 57 162 frysåterföringar utfördes. Graviditetsfrekvensen för alla kliniker tillsammans var 29,5% per embryoåterföring och antalet flerbarnsfödslar var 24,5%.

Skillnaderna mellan de olika länderna är mycket stor och som jämförelse kan visas att graviditetsfrekvensen per återföring och frekvensen av flerbarnsfödslar under denna period (2003) i Sverige var 34,0% resp. 19,4%. I Fig 11 presenteras resultaten från Sahlgrenska Universitetssjukhuset, Göteborg, Sverige.

**Fig 11.** Data från Sahlgrenska Universitetssjukhuset 2001-2006. Graviditetsfrekvensen per embryoåterföring (Pregn/ET) har förblivit konstant trots att andelen ett-embryoåterföringar (Single embryo transfer, SET) har ökat från mindre än 20% till över 70% och medeltalet för antalet återförda embryon har minskat från 1,9 år 2001 till 1,2 år 2006. Tvillingfödslar har för samma tid reducerats från nästan 30% till 6%. Dessa tal kan anses representativa för Sverige. (Illustration av Kersti Lundin.)



## Framtida möjligheter

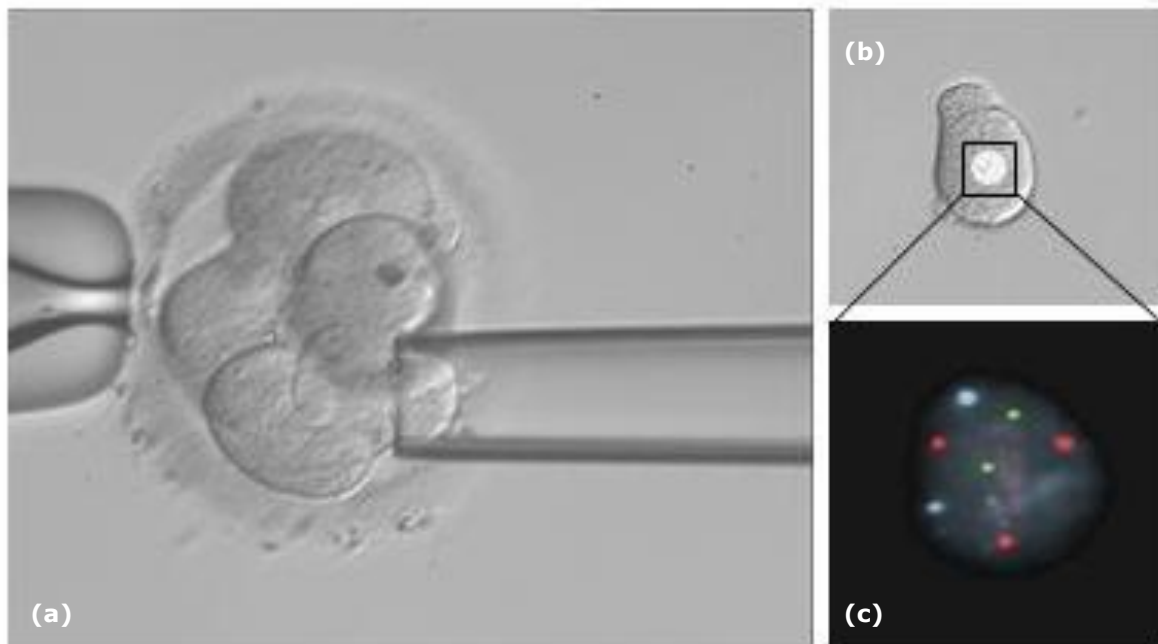
Sedan starten av IVF har graviditetsfrekvensen hela tiden ökat. Även om det ser ut som frekvensen i Sverige inte ökat under de sista åren, så måste man ta med i beräkningen att trots trenden att sätta in färre embryon, något som minskar graviditetsfrekvensen jämfört med om man använder ett större antal embryon, så har frekvensen inte minskat utan varit stabil under denna



utveckling (Fig 11). Detta kan förklaras av en ökad implantationsfrekvens. En ökad implantationsfrekvens innebär att en större andel av de återförda embryonerna implanteras i livmodern. Anledningen till detta är flera; bättre metoder vid hormonstimulering, bättre *in vitro* odling och förbättrade urvalsmetoder.

Drygt 60% av alla par med fertilitetsproblem, som kommer till en klinik i Sverige, föder ett barn efter i genomsnitt 2,3 embryoåterföringar (med färsk eller frysbevarade embryon).

Det finns sannolikt ytterligare möjligheter till förbättringar. Det är t.ex. känt, att också embryon som har en "bra" morfologi har en hög frekvens av kromosomala och troligen också metaboliska, fel. Vi måste alltså hitta metoder som gör att vi inte bara kan välja de morfologiskt bästa embryonerna, utan också de utan kromosomskador och med optimal metabolism.



**Fig 12.** Vid preimplantatorisk genetisk analys tas en eller två celler från embryot genom biopsi (a). Cellerna fixeras på ett objektglas (b), och cytoplasman löses upp så att endast kärnan återstår. Kärnan hybridiseras med fluorescerande prover för vissa utvalda kromosomer. (Foto: (a) och (b) av Kersti Lundin; (c) av Charles Hanson.)

En metod som används i många länder, även om den är kontroversiell, är så kallad preimplantatorisk genetisk screening (PGS). Ursprungligen utvecklades denna teknik, då kallad preimplantatorisk genetisk diagnostik (PGD), för att selektera embryon som inte bär på sjukdomsanlag, från par där en partner bär på en svår genetisk sjukdom. Under de senaste åren har emellertid samma metod använts för att försöka finna de kromosomalt mest optimala embryonerna vid IVF. Vid PGS tas en eller två celler ut ur embryot under dag 3 efter befruktningen (=8 cellstadiet) (Fig 12). Denna cell analyseras med hjälp av fluorescence *in situ* hybridisering

(FISH) för att upptäcka eventuella numerära kromosomfel. Ett embryo med normalt kromosomantal väljs därefter ut och återförs. För par som har en svår ärftlig sjukdom är PGD metoden viktig och ger relativt goda resultat, men PGS tycks inte fungera så bra när den används för att förbättra embryourval och födelsetal. Det kan finnas flera anledningar till detta; biopsiproceduren kan i sig själv vara skadlig för embryoutvecklingen, att välja ett kromosomalt normalt embryo framför det som ser bäst ut morfologiskt kanske inte heller är optimalt. Vi vet också att embryon vid 8-celstadiet har en hög grad av mosaicism och att den cell som tagits ut för undersökning därför kanske inte är representativ för hela embryot. Inte heller vet man för tillfället hur mycket kromosomfel ett embryo kan ha och ändå överleva och utvecklas. Om endast en eller några få celler av de åtta är kromosomalt onormala, kan kanske embryot ändå utvecklas och implantera och den preimplantatoriska analysen vara utan betydelse.

Den ultimata metoden för embryoselektion skulle vara om man bara kunde ta ett litet prov från odlingsmediet i vilket embryot har utvecklats, analysera det och därav urskilja det bästa embryot, dvs det med bästa möjliga potential för utveckling och implantation i uterus. Vissa studier idag indikerar att detta skulle kunna vara möjligt inom en inte alltför avlägsen framtid. Intressanta metaboliska markörer skulle kunna vara aminosyresammansättning och/eller hCG metaboliter. Även analyser av genexpression (microarray) i en cell i embryot har setts som en framkomlig metod att välja ut de metaboliskt bästa embryonerna.

Som slutsats kan man säga att *in vitro* befruktning idag kan anses som mer eller mindre rutinbehandling för många par med fertilitetsproblem. Resultaten är relativt goda, drygt 60% av alla par med fertilitetsproblem får ett barn efter 1-3 äggutplockningar med efterföljande frys-återföringar. Riskerna med assisterad befruktning anses små. Den höga frekvensen av flerbarnsfödslar har ansetts som den största risken för mor och barn. Minskningen av antalet embryoner vid återföring reducerar nu frekvensen av flerbarnsfödslar i många länder.

## Övningar

Med hjälp av följande länk

[http://www.eshre.com/file.asp?filetype=doc/04/008/eim\\_2002.pdf](http://www.eshre.com/file.asp?filetype=doc/04/008/eim_2002.pdf)

kan du ta reda på:

1. Vilket europeiskt land hade flest IVF-behandlingar under 2002?
2. Vilket europeiskt land hade störst antal tvillingfödslar efter IVF?

## Referens litteratur

Oxford Journals; Human Reproduction

[http://humrep.oxfordjournals.org/misc/free\\_articles.dtl](http://humrep.oxfordjournals.org/misc/free_articles.dtl)

*En lärobok i in vitro och assisterad befruktning*. The Bourn Hall guide to clinical and laboratory practice (1999). (Second edition) ed. Brinsden, PR. London: Parthenon Publishing. ISBN: 1-85070-000-1

*Laboratory aspects of in-vitro fertilization* (2000) (Second edition) eds. Elder, K and Dale, B. Cambridge: Cambridge University Press. ISBN: 0 521 77863 8

*Infertilitet* (2005) eds. Hreinsson J, Hamberger L and Hardarson Th. Lund: Studentlitteratur. ISBN: 91-44-03867-4

Nyboe Andersen A., Gianaroli L., Felberbaum R., de Mouzon J. and Nygren K.G. (2006) Assisted reproductive technology in Europe, 2002. Results generated from European registers by ESHRE. *Human Reproduction* 21 (7)1680-1697

Society for Assisted Reproductive Technology and the American Society for Reproductive Medicine. (2007) Assisted reproductive technology in the United States: 2001 results generated from the American Society for Reproductive Medicine/Society for Assisted Reproductive Technology registry. *Fertility and Sterility* Feb 1; [Epub ahead of print]