



Universidad Autónoma de Madrid  
Facultad de Medicina y Cirugía  
Departamento de Ginecología

Análisis de la influencia epigenética de los  
tratamientos de reproducción asistida en los resultados  
gestacionales y perinatales

Mónica Novelle García

Tesis presentada en la Universidad Autónoma de Madrid para optar al grado de Doctor

Madrid 2015



**Departamento de Ginecología**  
**Facultad de Medicina y Cirugía**  
**Universidad Autónoma de Madrid**

**Análisis de la influencia epigenética de los tratamientos  
de reproducción asistida en los resultados gestacionales y  
perinatales**

Doctorando:

Mónica Novelle García, licenciada en Medicina y Cirugía.

Presenta esta memoria para optar al título de Doctor

Por la Universidad Autónoma de Madrid.

Directores de Tesis:

Dr. Isidoro Bruna Catalán

Dra. María de la Calle Fernández-Miranda

El trabajo presentado en esta memoria para optar al grado de doctor ha sido realizado en el Hospital Universitario Madrid Montepíncipe bajo la dirección del Dr. Isidoro Bruna Catalán y la Dra. María de la Calle Fernández-Miranda

Madrid 2015



**Dr. Isidoro Bruna Catalán**

Doctor en Medicina por la Universidad Complutense de Madrid. Jefe de la Unidad de Medicina de la Reproducción del Hospital Universitario Madrid Montepíncipe. Co-Director y Profesor del Máster de Reproducción Humana de la Universidad Complutense de Madrid.

**Dra. María de la Calle Fernández-Miranda**

Doctora en Medicina por la Universidad Autónoma de Madrid. Médico adjunto del Servicio de Ginecología del Hospital Universitario La Paz y Profesora asociada de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid.

CERTIFICAN que:

**Mónica Novelle García**, licenciada en Medicina y Cirugía, ha realizado bajo nuestra dirección en la Unidad de Reproducción del Hospital Universitario Madrid Montepíncipe el trabajo titulado “Análisis de la influencia epigenética de los tratamientos de reproducción asistida en los resultados gestacionales y perinatales”.

El presente trabajo cumple, a nuestro juicio, con los requisitos necesarios para ser presentado y defendido como Tesis Doctoral.

En Madrid, a 20 de Febrero de 2015

Fdo. Dr. Isidoro Bruna Catalán

Fdo. Dra. María de la Calle Fernández-Miranda



***A MI HIJO JACOBO Y A MI MADRE***





***"LO IMPORTANTE ES NO DEJAR DE HACERSE PREGUNTAS"***

**Albert Einstein.**



# **AGRADECIMIENTOS.**



Quisiera comenzar este trabajo para mi proyecto de tesis agradeciendo al Dr. Isidoro Bruna Catalán, mi director, su constancia y su empeño para que no bajase la guardia y este proyecto viera por fin la luz.

Han sido unos años difíciles, donde compaginar lo profesional y lo personal apenas me dejaba tiempo para avanzar hasta su culminación. Por eso también quiero mencionar aquí a mi hijo Jacobo, cuya llegada retrasó su finalización, aunque, afortunadamente, no para siempre.

Tampoco quiero olvidarme de mis colaboradoras en la sombra, Esther y Bea. Sin ellas sacándome libros y buscándome algún que otro dato, seguro que no hubiera podido llegar hasta aquí y, por supuesto, a Virginia, mi inestimable “escudera”, quien tanto me ha ayudado desde la parte “menos vistosa”.

Para acabar, una mención especial a mi pareja y estadístico particular, Iago. Él, no sólo ha conseguido que todos estos datos recopilados cobren un maravilloso sentido y nos hayan traído hasta aquí, sino que también su cariño y su apoyo me han ayudado en los momentos difíciles a seguir adelante, ofreciéndome la energía necesaria para no rendirme y lograr mi objetivo. Sin él, estoy absolutamente segura que no habría llegado a conseguir ni la mitad de lo que conseguido en estos años, tanto a nivel personal como profesional.

También quiero agradecer a mis amigos, a mi padre y a mi madre, que ya no está, su apoyo incondicional y el haberme convertido en lo que soy ahora.

Muchas gracias a todos.



## ÍNDICE.





|   |           |
|---|-----------|
| <b>RESUMEN.....</b>                     | <b>21</b> |
| <b>ABREVIATURAS.....</b>                | <b>31</b> |
| <b>INTRODUCCIÓN.....</b>                | <b>35</b> |
| <b>OBJETIVOS DEL ESTUDIO.....</b>       | <b>73</b> |
| <b>MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>          | <b>79</b> |
| <b>1. Casos</b>                         | <b>81</b> |
| <b>2. Controles</b>                     | <b>81</b> |
| <b>3. Variables a estudio</b>           | <b>81</b> |
| 3.1 Variables cualitativas              | 82        |
| 3.2 Variables cuantitativas             | 82        |
| <b>4. Análisis estadístico</b>          | <b>83</b> |
| 4.1 Procesamiento de datos              | 83        |
| 4.2 Distribución de las variables       | 83        |
| 4.2.1 Test de Kolmogorov-Smirnov        | 83        |
| 4.3 Tablas de contingencia              | 83        |
| 4.3.1 Prueba de Chi-Cuadrado de Pearson | 83        |
| 4.4 Pruebas paramétricas                | 84        |
| 4.4.1 Prueba de T-Student               | 84        |
| 4.4.2 Regresión lineal múltiple         | 84        |
| <b>RESULTADOS.....</b>                  | <b>85</b> |

|                                  |            |
|----------------------------------|------------|
| <b>1. Análisis descriptivo</b>   | <b>87</b>  |
| 1.1 CASOS                        | 87         |
| 1.1.1 Diagnóstico de Esterilidad | 87         |
| 1.1.2 Técnicas de Reproducción   | 88         |
| 1.1.3 Gestaciones                | 88         |
| 1.1.4 Prematuridad               | 89         |
| 1.1.5 Complicaciones obstétricas | 91         |
| 1.1.6 Peso del Recién Nacido     | 92         |
| 1.1.7 Mortinatos                 | 93         |
| 1.1.8 Malformaciones congénitas  | 94         |
| 1.2 CONTROLES                    | 97         |
| 1.2.1 Gestaciones                | 97         |
| 1.2.2 Prematuridad               | 98         |
| 1.2.3 Complicaciones obstétricas | 99         |
| 1.2.4 Peso del Recién Nacido     | 99         |
| 1.2.5 Mortinatos                 | 100        |
| 1.2.6 Malformaciones congénitas  | 100        |
| <b>2. Análisis comparativo</b>   | <b>102</b> |
| <b>DISCUSIÓN.....</b>            | <b>105</b> |

|                                      |            |
|--------------------------------------|------------|
| <b>1. Gestaciones</b>                | <b>107</b> |
| <b>2. Prematuridad</b>               | <b>110</b> |
| <b>3. Peso del Recién Nacido</b>     | <b>112</b> |
| <b>4. Mortinatos</b>                 | <b>114</b> |
| <b>5. Complicaciones obstétricas</b> | <b>116</b> |
| <b>6. Malformaciones congénitas</b>  | <b>118</b> |
| <b>7. Limitaciones del estudio</b>   | <b>121</b> |
| <b>CONCLUSIONES.....</b>             | <b>125</b> |
| <b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>             | <b>131</b> |
| <b>ANEXO.....</b>                    | <b>149</b> |



## **RESUMEN.**



Han pasado muchos años desde que Louis Joy Brown naciera en 1978. Desde entonces hasta nuestros días se ha especulado mucho acerca de los efectos a largo plazo de las técnicas de reproducción asistida (TRA). De forma muy especial, a partir de su generalización como tratamientos contrastados, ha existido una preocupación concreta entre los profesionales de la medicina de la reproducción y desde otros ámbitos sociales, sobre la posibilidad de que las TRA pudieran ocasionar efectos adversos o negativos, tanto sobre el desarrollo embrio-fetal, como sobre el producto de la gestación o, incluso, sobre la propia paciente.

El primer estudio que planteó la posibilidad de que el pronóstico perinatal de las gestaciones obtenidas mediante TRA pudiera ser peor que el de las gestaciones espontáneas se publicó en 1985 (1), pero presentaba múltiples sesgos y factores de confusión. Desde entonces han sido muchos los trabajos publicados tanto a favor como en contra de dicha hipótesis.

La demanda de los tratamientos de reproducción asistida ha asistido a un incremento exponencial, hasta el punto de que se estima que en el momento actual se realizan alrededor de 1,5 millones de ciclos de TRA al año en todo el mundo, naciendo alrededor de 350.000 niños cada año (2). Esta cifra viene a representar del 1 al 4% de los nacimientos en países desarrollados (3-5), lo que nos obliga a acercarnos al conocimiento de nuestros resultados perinatales, ya que el objetivo final de cualquiera de las TRA es el de acabar obteniendo un “niño sano en casa”.

En los últimos quince años ha surgido en relación a los riesgos de las TRA el término “epigenética”.

¿Qué es la epigenética?. A menudo se atribuye a Conrad Waddington (1905-1975) la acuñación del término “epigenética” en el año 1942 como “la rama de la biología que

estudia las interacciones causales entre los genes y sus productos, dando lugar al fenotipo" (6). Las primeras aproximaciones a la epigenética en la literatura datan de mediados del siglo XIX, aunque los orígenes del concepto pueden encontrarse ya en Aristóteles (384-322 AC). Aristóteles creía en la epigénesis: el desarrollo de la forma orgánica del individuo a partir de materia amorfa. En el siglo XXI, la definición más comúnmente encontrada del término epigenética es "el estudio de los cambios reversibles y heredables de la expresión génica, que no conllevan alteraciones en la secuencia del ADN y que no siguen las leyes mendelianas." (7).

También en los últimos años han aparecido diversos estudios que sugieren que las TRA pueden producir alteraciones epigenéticas, actuando sobre la metilación de ciertos genes y condicionando su expresión (8, 9).

El proceso del desarrollo en humanos y otros organismos vivos está protegido contra cambios a nivel del genoma y del ambiente. Por eso la mayoría de los niños concebidos mediante TRA están sanos, aunque dichas técnicas eludan múltiples filtros biológicos y sometan a los gametos y al embrión a un estrés ambiental. Si la protección decae, el desarrollo de ciertos órganos o tejidos puede sufrir anomalías.

El desarrollo normal o anormal de los niños nacidos mediante TRA puede explicarse por mecanismos epigenéticos que controlan el mantenimiento de la expresión génica en la placenta y el feto. Existe evidencia de que factores genéticos y ambientales en las parejas infértiles pueden tener efectos adversos en el proceso epigenético que controla la implantación, la placentación, el desarrollo de los órganos y el crecimiento fetal (10).

El *imprinting*, en el marco específicamente epigenético, se refiere a la forma de manifestarse que tienen los genes sellados ("*imprintados*"), ligados a su origen parental. La *impronta* de genes es el silenciamiento permanente de un alelo, con objeto



de que predomine la herencia procedente del padre o de la madre. Un gen imprintado se manifiesta de una manera cuando su origen es paterno y de otra cuando proviene del gameto materno. Por eso, un mismo error genético en un mismo cromosoma, puede manifestarse a través de síndromes diferentes, según ese fragmento provenga de uno u otro progenitor.

El control epigenético del imprinting se encuentra alterado en varias enfermedades conocidas como el Síndrome de Prader-Willi, el Síndrome de Beckwith-Wiedeman o el Síndrome de Angelman.

Estudios recientes indican que las TRA pueden afectar al ciclo epigenético, de forma que pudieran incrementarse los síndromes de alteraciones del imprinting (11), lo que a su vez podría justificar un incremento de síndromes raros de imprinting asociados a las TRA. Estudios en humanos y ratones sugieren que el desarrollo folicular múltiple, inherente a las TRA, podría llevar a la producción de ovocitos sin el imprinting primario correcto, lo que pone de manifiesto la necesidad de más estudios al respecto (12). Otros estudios corroboran la vulnerabilidad del imprinting materno a las TRA (13).

Las marcas de imprinting genómico en la línea germinal masculina han sido establecidas en la población de células germinales adultas. Disponemos de estudios que muestran que, en varones con oligozoospermia severa, el análisis de metilación del genoma espermático sugiere que los defectos son específicos para los genes imprintados. Esto podría explicar el origen del Síndrome de Silver-Russell en los niños nacidos con hipometilación H19 después de una TRA (14).

Afortunadamente, la incidencia de síndromes derivados de un imprinting anómalo es muy baja (<1/12.000 nacimientos), por lo que el cribado rutinario de estas patologías en los niños conseguidos mediante TRA es muy difícil y no está recomendado. Se

necesitarían estudios ingentes de cohortes para determinar si existe una genuina asociación entre las mismas y los síndromes de imprinting derivados de las TRA (15).

Lo que resulta más sencillo y mucho más práctico es analizar los resultados perinatales de dichas gestaciones, con el propósito de poder corroborar o reprobar la hipótesis sobre que los resultados de los embarazos obtenidos mediante TRA son peores que los de aquéllos concebidos de forma natural.

Actualmente existe evidencia suficiente de que los niños nacidos mediante Fecundación *in vitro* (FIV) presentan un incremento en el riesgo de resultados perinatales adversos, malformaciones congénitas y síndromes epigenéticos poco comunes. Lo que no está tan claro es en qué casos, o si los problemas observados son el resultado del proceso de FIV en sí mismo o de los problemas de subfertilidad inherentes a los progenitores (16).

Si es plausible la hipótesis de que los resultados de los niños concebidos mediante técnicas de reproducción asistida son peores, su causa permanece todavía poco clara y serán necesarios amplios estudios que investiguen factores causales específicos como, por ejemplo, la propia subfertilidad subyacente (17). Aunque también disponemos de estudios que no encuentran que la subfertilidad "per se" pueda explicar por completo los peores resultados perinatales, sugiriéndose que podrían existir otros factores que influirían en la teórica asociación entre las TRA y unos resultados perinatales más pobres (18).

Sebastiani y colaboradores, analizando dichos resultados, tanto en embarazos gemelares como en únicos obtenidos mediante TRA, objetivan que en las gestaciones únicas sí existe una mayor tasa de prematuridad, bajo peso al nacimiento y complicaciones obstétricas, mientras que en gestaciones gemelares no existen diferencias en cuanto a

prematuridad y bajo peso, aunque sí una mayor tasa de complicaciones obstétricas como amenaza de aborto, diabetes gestacional (DG) o preeclampsia (19).

Woldringh y colaboradores encuentran un exceso de riesgo del 2,7 de preeclampsia en las gestaciones subsidiarias a FIV. La edad avanzada y la subfertilidad reflejan un descenso de la reserva ovárica que se relaciona directamente con la patología cardiovascular. La preeclampsia sería una complicación más de tipo vascular (20).

La estimulación ovárica también podría estar en el origen del bajo peso en la FIV convencional (21). En modelos animales, el cultivo *in vitro* de embriones fue un factor de riesgo para los resultados.

En humanos, la media de peso al nacimiento en gestaciones únicas mediante FIV es menor que en aquellas obtenidas mediante concepción natural, por lo que el cultivo *in vitro* de los embriones podría ser otro de los factores responsables (22). Existen tres metaanálisis que objetivan que el riesgo de prematuridad se duplica y que está incrementado el riesgo de bajo peso (2, 23-25).

Es también tema de controversia la asociación entre defectos congénitos y TRA, especialmente desde la introducción la microinyección espermática (ICSI).

El-Chaar y colaboradores encuentran un riesgo incrementado de defectos congénitos asociados a TRA, siendo ese riesgo mayor en FIV clásica e Inseminación Intrauterina (IUI), por lo sugiere que el riesgo potencial de malformaciones debería ser tomado en consideración a la hora de ofrecer una orientación a las parejas infértiles (26).

Disponemos también de otros estudios que no encuentran ningún incremento del riesgo de malformaciones congénitas ni de complicaciones neonatales en los niños concebidos mediante ICSI (27). Pero, por contra, existen estudios que reflejan tasas de defectos congénitos en recién nacidos procedentes de fecundación *in Vitro* del 5,3%, lo que

supondría un riesgo relativo de defecto congénito en niños FIV frente a fecundación natural del 4,83 (IC 95%: 2,14-10,83) (5). A este respecto, existe un amplio estudio prospectivo y controlado que compara niños nacidos por ICSI con aquellos concebidos espontáneamente, que concluye que existe un riesgo superior de malformaciones en niños provenientes de ICSI (28).

Finalmente, la transferencia de embriones criopreservados no parece afectar al resultado perinatal en términos de prematuridad, bajo peso o pequeño para edad gestacional, en comparación con la transferencia de embriones en fresco, siendo los resultados similares o, incluso mejores, en lo referente a crecimiento fetal. Todo ello parece evidenciar la seguridad de la transferencia de embriones congelados (29).

La primera consecuencia palpable de las TRA ha sido el incremento de la gestación múltiple. En la actualidad se estima que más del 70% de los embarazos gemelares y el 99% de las gestaciones múltiples de alto grado son resultado de los tratamientos de infertilidad (2). El argumento principal a favor de reducir la tasa de gestación gemelar derivada de las TRA sería el principio médico del "*primum non nocere*". A la gestación única se le presupone una mayor seguridad que a la de la múltiple, por lo que los tratamientos de fertilidad deben esforzarse en evitar el riesgo añadido de la gestación múltiple (30). Disponemos de estudios que realizan revisiones sistemáticas comparando resultados de gestaciones gemelares procedentes de TRA frente a embarazos gemelares espontáneos, cuyos resultados ofrecen un mayor riesgo de prematuridad y mayor bajo peso en el grupo derivado de TRA (31).

Por último, se ha intentado valorar la posible asociación entre TRA y cáncer en la descendencia, pero dada la baja prevalencia de procesos oncológicos en los niños nacidos de TRA serían precisos estudios mucho más extensos que demostraran una potencia suficiente para poder establecer una relación de causalidad (2, 32). La mayor

parte de los trabajos al respecto ofrecen muestras muy pequeñas, no son estudios controlados, carecen de un apropiado protocolo de registro de datos (tanto perinatal como neonatal), presentan déficits de exploraciones complementarias, unidos a un pobre seguimiento (2).

En Octubre del 2014 se publicó un estudio que valora las características antropométricas a los 5 años de niños nacidos mediante TRA, niños de parejas subfértiles y niños nacidos mediante concepción natural, sin que se encontraran diferencias entre ellos (33). El estudio de Carson y colaboradores, publicado en 2013, evalúa problemas de comportamiento a los 5 y 7 años de vida, sin que tampoco se encuentren diferencias significativas (34).

Por ello, cualquier afirmación al respecto debería ser tomada con cautela, haciéndose necesarios estudios más rigurosos que aporten luz sobre un tema tan relevante, ya que, como expusimos en el inicio de este resumen, el objetivo final de las TRA es el de ayudar a las parejas a conseguir el reto del “recién nacido sano en casa”.



## **ABREVIATURAS.**





**APP:** Amenaza de parto prematuro.

**ASEBIR:** Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción.

**CIV:** Comunicación interventricular.

**COMB:** Técnica combinada de FIV/ICSI.

**DG:** Diabetes Gestacional.

**DPG:** Diagnóstico Genético Preimplantacional.

**ECEMC:** Estudio Colaborativo Español de Malformaciones Congénitas

**EG:** Edad gestacional.

**EOD:** Esterilidad de origen desconocido.

**FIV:** Fecundación *in Vitro*.

**FSH:** Hormona folículo estimulante.

**GISE:** Grupo de interés sobre salud embrionaria de la Sociedad Española de Fertilidad (SEF).

**IAC:** Inseminación artificial conyugal.

**IAD;** Inseminación artificial de donante.

**ICRs:** "*Imprinting Control Regions*".

**ICSI:** Microinyección espermática.

**ILE:** Interrupción legal del embarazo.

**IUI:** Inseminación intrauterina.

**IVE:** Interrupción voluntaria del embarazo.

**MEST:** "*Mesodermal-specific transcript*".

**MIV:** Maduración *in vitro*.

**PEG 1:** "*Paternally expressed gene 1*".

**RN:** Recién nacido.

**SEF:** Sociedad Española de Fertilidad.

**SEGO:** Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia.

**SEM:** Semanas.

**TEC:** Transferencia de embriones criopreservados.

**TRA:** Técnicas de Reproducción Asistida.

# **INTRODUCCIÓN.**



Cuando comenzamos a pensar en este proyecto de tesis queríamos centrarnos en valorar a los niños nacidos de técnicas de reproducción asistida (TRA).

Desde el nacimiento de la primera niña mediante FIV clásica en 1978, procedente de un ciclo no estimulado, las técnicas de reproducción asistida han experimentado múltiples avances que, partiendo de un mejor diagnóstico de la pareja con disfunción reproductiva, han devenido en mejoras significativas en la eficacia, seguridad y comodidad de los tratamientos de estimulación para las pacientes, en la simplificación del procedimiento de obtención de los ovocitos, en un mejor control de los cultivos embrionarios y de la selección embrionaria, y en un marcado incremento de las tasas de gestación.

La introducción de técnicas como la microinyección espermática (ICSI) o la vitrificación ovocitaria y embrionaria no solo han mejorados nuestros resultados, sino que han posibilitado a muchas parejas, así como a mujeres jóvenes recién diagnosticadas de cáncer, mantener sus opciones de llegar a tener descendencia. Cada vez llevamos a cabo tratamientos más eficientes y ampliamos nuestro conocimiento sobre los ovocitos y los embriones en busca de la selección de aquéllos que consideramos de mejor calidad o con mayores posibilidades de implantar con éxito. La evaluación embrionaria, desde sus primeras fases de división, se realiza no sólo desde el punto de vista morfológico, sino desde el morfocinético (“time lapse”). Podemos eludir ciertas enfermedades hereditarias mediante la aplicación del Diagnóstico Genético Preimplantacional (DPG) que realizamos sobre el embrión en sus primeros estadios de desarrollo.

Todo este avance plantea importantes dilemas, muchas veces no sólo médicos sino también éticos. Con el incremento exponencial de los embarazos y de los recién nacidos derivados de las TRA: ¿podríamos también estar generando un perjuicio a las madres?;

¿podríamos estar incrementando el riesgo de aparición de complicaciones en estos niños?.

En el 2009, Laprise publica un estudio donde expone que no puede excluirse la contribución de la manipulación *in vitro* de gametos y embriones a las enfermedades relacionadas con fenómenos de imprinting. Se sugiere que el desarrollo multifolicular y/o la infertilidad en sí misma pudieran estar en el origen del mayor riesgo de enfermedades relacionadas con alteraciones del imprinting en niños nacidos de técnicas de reproducción asistida (9).

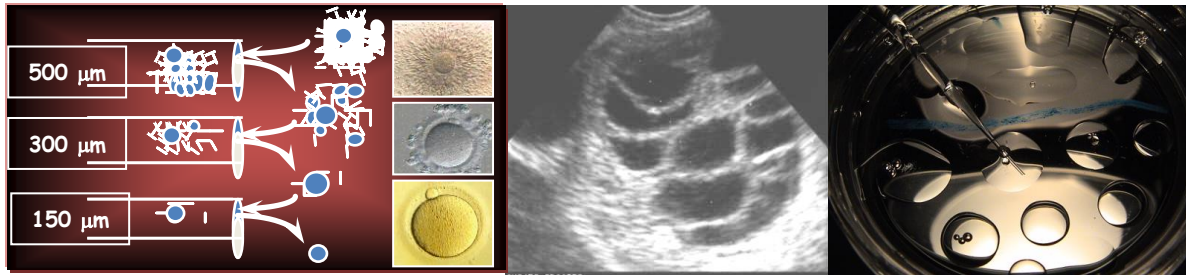
Pero dos importantes defectos en la mayor parte de los estudios hacen necesario un análisis más pormenorizado de estas controversias:

1°.- La falta de estudios longitudinales con un tamaño adecuado y con grupos específicos (niños nacidos mediante TRA vs niños concebidos naturalmente) (35, 36).

2°.- El déficit en el conocimiento sobre lo que rodea a la expresión y los datos epigenéticos primarios de ovocitos y embriones (9, 35, 36).

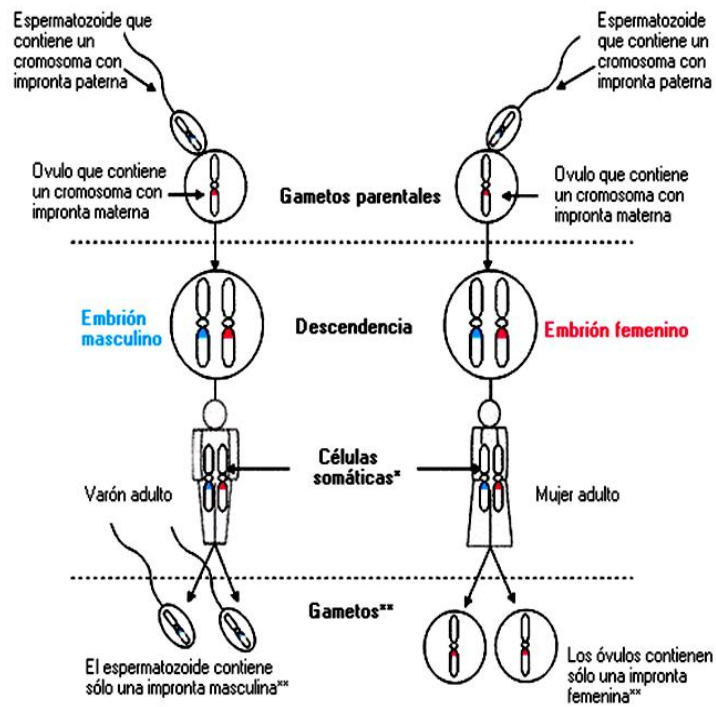
El examen de los datos disponibles nos dirige a la hipótesis de que es verosímil un riesgo incrementado de desórdenes de imprinting, lo que se observa en nacimientos de niños mediante TRA y se apoya en errores inducidos sobre el ovocito. Esto se basa en la coincidencia temporal entre las TRA y el establecimiento del imprinting durante la ovogénesis (37, 38), dada la conocida susceptibilidad del ovocito. En particular, la evidencia parece sugerir que el desarrollo folicular múltiple y/o la infertilidad en sí misma, pueden ser las principales responsables. El desarrollo de los embriones y de los ovocitos en medios de cultivo, la administración exógena de hormonas o la

manipulación mecánica tanto de ovocitos como de embriones podría conducir a la alteración de la expresión génica (9).



**Figura 1. La decumulación de los ovocitos para la ICSI, el desarrollo folicular múltiple, o el cultivo embrionario se sugieren como factores predisponentes de alteraciones en la expresión génica.**

Horsthemke y cols. publican en 2009 que las técnicas de reproducción eluden muchos filtros biológicos como la selección del gameto o la competición espermática, y sostienen que el gameto y el embrión están sometidos a un importante estrés ambiental (hormonas, medios de cultivo, estrés físico...). Añadido a ello, está la plasticidad que proporciona a los organismos la habilidad de desarrollar diferentes fenotipos en respuesta a la influencia ambiental. Dicha influencia probablemente afecta a la expresión génica mediante la inducción de cambios epigenéticos. Horsthemke y cols. suponen que el bajo peso (39), las malformaciones congénitas (28, 40) y las alteraciones del imprinting (36) en algunos de estos niños pueden, al menos en parte, atribuirse a variaciones epigenéticas. Estos problemas no sólo serían causados por la técnica, sino que es posible que las parejas subfértiles tengan una predisposición genética que haga a su descendencia más susceptible a cambios epigenéticos, independientemente de que hayan sido concebidos o no mediante TRA (10).

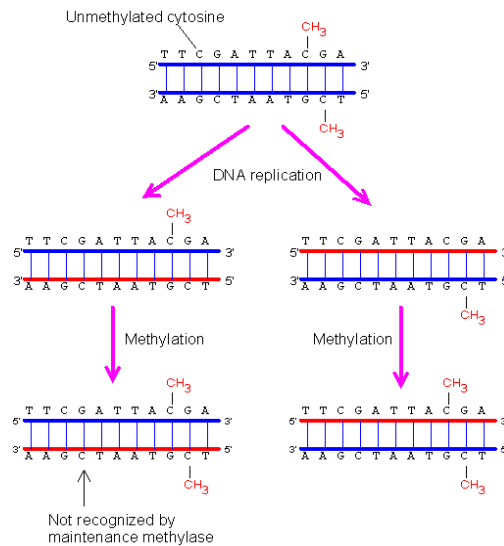


**Figura 2. Imprinting genómico**

Philippe Arnaud y Robert Feil publican en 2005 que los genes imprintados juegan un importante papel en la regulación del crecimiento y del desarrollo, mostrando varios influir en el comportamiento. Su expresión alelo-especifica depende de su herencia paterna o materna y están regulados por "imprinting control regions" (ICRs). Los ICRs están controlados por la metilación del DNA que está presente solo en uno de los dos alelos. Esta metilación se establece en cada una de las líneas germinales femenina y masculina, siguiendo la marca preexistente en las células germinales primordiales. Los ICRs o islas CpG (Citosina *fosfato* Guanina) son regiones genómicas de entre 300 y 3.000 pares de bases (0.5 - 5Kb) susceptibles de ser metiladas por las DNA metil transferasas (DNMT1, DNMT3a y DNMT3b). Suponen un 1% del genoma y están situadas en las cercanías de los genes promotores y su metilación impide la lectura del

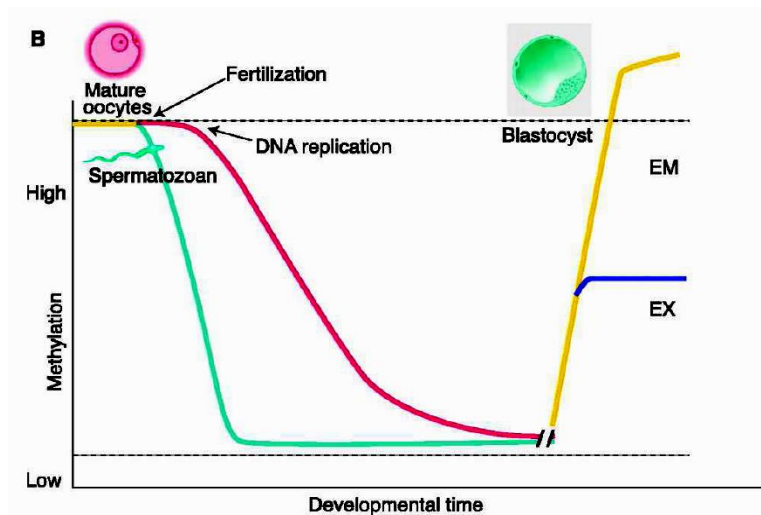


gen. De hecho, la presencia de metilaciones en estas islas indica que el gen adyacente está silenciado.



**Figura 3. Control de la expresión de ciertos genes mediante la metilación de los IRCs del DNA**

Después de la fecundación, dicha metilación se mantiene en todas las células del embrión en desarrollo. Durante la gametogénesis, los procesos de acetilación, metilación y remodelación de novo de la cromatina tienen lugar en todo el genoma, mientras que las marcas específicas de alelo se establecen en los loci sellados. Para el normal desarrollo embrionario es necesario un reajuste del imprinting. Los genomas paterno y materno alcanzan niveles equivalentes de metilación del ADN no antes de la etapa de Blastocisto. La reprogramación epigenética es pues necesaria para una correcta expresión y diferenciación genética en el embrión.

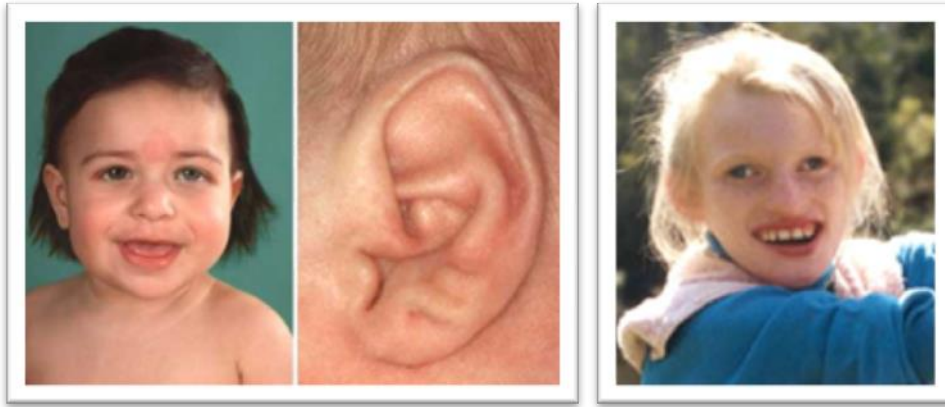


**Figura 4. Perfil de metilación durante el desarrollo embrionario**

Este ciclo vital puede verse interrumpido en varias enfermedades bien conocidas: Síndrome de Beckwith-Wiedeman, Síndrome de Prader-Willi, Síndrome de Angelman e, incluso, en la mola hidatiforme (41-44). Estudios recientes indican que, en ocasiones, las técnicas de reproducción asistida pueden afectar a este ciclo de imprinting epigenético y producir enfermedades de este tipo (11).

La revisión de David J. Amor y cols. del 2008 recoge que la asociación entre técnicas de reproducción asistida y alteraciones relacionadas con el imprinting genómico ha sido reconocida durante años, aunque la magnitud del riesgo y el espectro de los síndromes de imprinting directamente relacionados permanece oculta. Existen nueve síndromes de imprinting genómico conocidos en humanos, de los que sólo en tres existen evidencias de su relación con las técnicas de reproducción: el Síndrome Beckwith-Wiedeman (45-48), el Síndrome de Angelman (49, 50) y el más recientemente descrito Síndrome de hipometilación materna. Hoy en día no existe evidencia suficiente para relacionar las técnicas de reproducción asistida con los otros seis síndromes epigenéticos: Síndrome

de Prader Willy, Síndrome de Russell-Silver, Disomía uniparental materna y paterna del cromosoma 14, Pseudohipoparatiroidismo tipo Ib y Diabetes transitoria neonatal.



**Figura 5. Síndrome de Beckwith-Wiedeman y Síndrome Angelman**

La evidencia de los estudios clínicos parecía sugerir que la asociación entre el imprinting alterado y las TRA estaba restringida a síndromes donde el fallo se producía por una hipometilación del alelo materno. Sin embargo, estudios más recientes sobre gametos y embriones en los primeros estadios del desarrollo sugieren que el fallo puede estar producido tanto por una hipermetilación, como por una hipometilación, y que los cambios pueden suceder tanto en los alelos paternos, como maternos. El efecto sobre la salud de los cambios asociados a fenómenos de imprinting podría extenderse más allá de esos nueve síndromes reconocidos (8).

C. J. Marques y cols., en 2008, publican que las marcas de imprinting genómico en la línea germinal masculina ya están establecidas en la población de células madre germinales adultas. Estudian los modelos de metilación de H19 y MEST en los espermatozoides de pacientes control y de pacientes oligozoospermicos. De los siete pacientes con errores de imprinting, dos tuvieron tanto hipometilación H19 como hipermetilación MEST, mientras que los otros cinco sólo presentaron una alteración. La

frecuencia de pacientes con hipermetilación MEST fue mayor en el grupo con oligozoospermia severa, mientras que la hipometilación H19 fue mayor en el grupo de oligozoospermia moderada. En todos los casos el análisis global de metilación espermática sugería que los defectos eran específicos de genes imprintados. Estos hallazgos pueden contribuir a la explicación del Síndrome de Russell-Silver en niños nacidos con hipometilación H19 después de técnicas de reproducción asistida (51-53). Además la falta de metilación del sitio CTCF podría llevar a la inactivación del gen paterno IGF2 y relacionarse con una peor calidad embrionaria y el bajo peso a menudo asociado con las técnicas de reproducción asistida (14).

Sato y cols. en 2007 realizan un estudio que sugiere que el desarrollo ovárico multifolicular podía conducir a la producción de ovocitos sin un imprinting primario correcto. El estudio se basaba en que las modificaciones epigenéticas sexo-específicas se imponen durante la gametogénesis como un imprinting primario, para distinguir entre alelos maternos y paternos (54). El principal candidato para dicha marca es la metilación del DNA, pero el tiempo de dicha adquisición en la gametogénesis del adulto y el efecto de la superovulación permanece desconocido (55). Examinaron la metilación materna de PEG 1 (MEST), LIT 1 (KCNQ1OT1) y ZAC (PLAGL1) y la metilación paterna de H19 en ovocitos adultos de humanos y ratón, comparándolo con el estatus de metilación de ovocitos de ratón neonatales. Analizaron así mismo el efecto de la superovulación en humanos y en ratón. La metilación materna de estos genes ya se había iniciado en los ovocitos adultos humanos y de ratón, pero no en los ovocitos de ratón neonatales. También detectaron una desmetilación de PEG1 y una ganancia de metilación de H19 en los ovocitos algunas mujeres infértiles, así como cambios en la metilación asociados al desarrollo folicular múltiple en los ratones (12).

Manipalviratn y cols, en 2009, refieren que existe evidencia suficiente en los estudios de experimentación animal para demostrar alteraciones en genes imprintados en los embriones cultivados in vitro (15).

Publicaciones de Europa, EEUU y Australia sugieren la asociación entre el Síndrome de Beckwith-Wiedeman y las técnicas de reproducción asistida (45-48, 52, 56-60). Más del 90% de los niños con Síndrome Beckwith-Wiedeman nacidos tras TRA tenían defectos de imprinting, por solo un 40-50% de los niños concebidos de forma espontánea. También la mayoría de los niños con Síndrome de Angelman nacidos tras TRA presentan defectos de imprinting como etiología subyacente a una metilación anómala del alelo materno (15, 50, 61).

La incidencia absoluta de defectos de imprinting es pequeña ( $<1/12000$  nacimientos) por lo que no está recomendado el cribado rutinario de defectos de imprinting en niños nacidos mediante técnicas de reproducción asistida. Se necesitarían estudios de cohortes muy amplios en estos niños para determinar la asociación real entre TRA y este tipo de patologías (15).

Gomes y cols. publican en 2009 un estudio que analiza el efecto de las técnicas de reproducción asistida (FIV/ICSI) en la metilación de la región materna de control KvDMRI en niños normales, tanto de forma cualitativa como cuantitativa. Las vías de metilación en los concebidos mediante técnicas de reproducción asistida se compararon con pacientes procedentes de concepción espontánea y con 3 nacidos mediante concepción natural afectados de Síndrome de Beckwith-Wiedeman. 3/18 niños normales obtenidos mediante TRA presentaban hipometilación de la región KvDMRI (2 derivados de FIV clásica y 1 de ICSI). Estos hallazgos corroboran la hipótesis de la vulnerabilidad del imprinting materno a las técnicas de reproducción asistida (62, 63). La metilación discordante observada en gemelos dicigóticos puede deberse a una

diferente vulnerabilidad del imprinting materno entre los diferentes embriones, secundaria a epimutaciones que suceden durante la gametogénesis y que dan lugar a ovocitos sin el imprinting primario correcto en relación a la región KvDMRI (13).

En 2005 Rosanna Weksberg y cols. realizan un análisis del Síndrome de Beckwith-Wiedeman. Exponen que se trata de un síndrome muy heterogéneo que se asocia con un riesgo incrementado de desarrollar tumores embrionarios y que proporciona un modelo ideal para estudiar los mecanismos epigenéticos. Este síndrome está causado por una gran variedad de alteraciones genéticas o epigenéticas entre dos dominios de genes imprintados del cromosoma 11p15 (64-68). Los estudios moleculares han aportado importantes datos acerca de la correlación entre fenotipo y genotipo (o epigenotipo); por ejemplo, alteraciones del dominio 1 se relacionan con mayor riesgo de desarrollar un tumor de Wilms (66, 69, 70). El análisis de las bases moleculares podría definir el momento crítico de imprinting durante el desarrollo embrionario preimplantacional que permitiera, en un futuro, establecer un consejo genético dirigido (71).

Todos los autores citados ponen de manifiesto un supuesto incremento del riesgo de presentar algún tipo de alteración de los fenómenos de imprinting relacionados con las técnicas de reproducción asistida. El principal problema de estos estudios es que, dada la baja frecuencia de estas enfermedades, resulta altamente complicado validar una asociación lo suficientemente potente como para poder concluir que estos niños presentan un riesgo significativamente incrementado de padecer este tipo de síndromes.

Como se puede apreciar, la mayoría de estos estudios están basados en experimentación animal o en estudios *in vitro*. La extrapolación de estos resultados a nivel poblacional está, pues, limitada y pone de manifiesto la dificultad de establecer la asociación real entre este tipo de procesos.

Por ello es muy posible que a lo largo de nuestro devenir profesional nunca lleguemos a ver ninguno de estos síndromes. Analizar su frecuencia real en embarazos espontáneos frente a su frecuencia en embarazos obtenidos mediante TRA requiere de tamaños muestrales muy amplios y solo sería posible si existiese un registro unificado y bien diseñado a nivel mundial.

Dado que en nuestra casuística no hemos encontrado ningún síndrome relacionado con fenómenos de imprinting, nos propusimos valorar cuestiones más frecuentes y mucho más prácticas para el ejercicio cotidiano de nuestra especialidad: analizar los resultados perinatales y gestacionales de los niños derivados de FIV-ICSI en relación al peso del recién nacido, la edad gestacional al parto, la existencia de malformaciones, la tasa de mortinatos, y la incidencia de diabetes gestacional, amenaza de aborto, amenaza de parto prematuro (APP) o de preclampsia durante la gestación.

En la literatura también existen múltiples estudios que sugieren peores resultados perinatales en los niños nacidos de TRA, por lo que su análisis nos parece muy pertinente. Así mismo, nos planteamos explicar nuestros hallazgos en relación a lo que creemos que se trata de posibles factores de confusión o sesgos presentes en la literatura.

Cabañas y cols. recogen en 2009 el impacto de las técnicas de reproducción asistida en la salud de una cohorte de recién nacidos. Observan que la mayoría de los trabajos están realizados sobre tamaños muestrales pequeños, no son controlados, carecen de un adecuado protocolo de registro de datos (tanto perinatales como neonatales), de exploraciones complementarias, así como de un pobre seguimiento (2).

Por otro lado, la primera consecuencia de la generalización de las TRA ha sido el incremento de las gestaciones múltiples. En la actualidad se estima que más del 70% de

los embarazos gemelares y el 99% de los múltiples de mayor orden son resultado de los tratamientos de infertilidad. Aunque una de las consecuencias de los embarazos múltiples son los recién nacidos de bajo peso, por prematuridad o por retraso en el crecimiento intrauterino, los fetos únicos concebidos mediante TRA también presentan una mayor incidencia de bajo peso, por ambas circunstancias, respecto a la población de nacidos mediante concepción espontánea (23-25).

Finalmente, en la actualidad permanece como tema de controversia la asociación entre los defectos congénitos y las TRA. Numerosos estudios han concluido que no hay una evidencia de dicha asociación con las técnicas de FIV o ICSI (27, 72, 73). Pero existen meta-análisis que muestran un incremento de riesgo de malformaciones mayores de hasta un 30% después de FIV o ICSI, cuando se comparan con la concepción espontánea (74-76).

Todos los estudios realizados sobre este tema o son pequeños o están basados en registros de datos, por lo que tienen la desventaja de disminuir el control sobre la homogeneidad entre casos y controles. Por tanto el debate sigue abierto, ya que la metodología puede no haber sido la más adecuada y los estudios no han mostrado potencia suficiente para controlar los factores de confusión. (2)

Resulta difícil estimar el riesgo de malformaciones cuando en los estudios no se especifica si han sido incluidos únicamente los recién nacidos vivos o también los abortos espontáneos, las interrupciones legales de la gestación o los nacidos muertos. Igualmente, sería importante conocer cómo han sido definidas las malformaciones, tanto mayores como menores, y si han sido utilizado los mismos criterios en la población de estudio que en la de control (2).



Otro tema de preocupación han sido las posibles implicaciones que las TRA pudieran tener en el neuro-desarrollo. En general, en los estudios realizados en los niños entre los 2 y los 8 años de edad, los derivados de TRA que son producto de una gestación única a término, no presentan diferencias significativas con respecto los espontáneos (2, 77-81).

Sanchís Calvo y cols. publican un estudio en 2009 analizando las características de los recién nacidos tras fecundación in vitro. Recogen que el 1,61% de los recién nacidos procedían de FIV. Pese a su supuesta relación con los malos resultados perinatales, en su unidad, los nacidos por FIV no difieren sustancialmente de los nacidos por fecundación natural en cuanto a prematuridad, bajo peso o necesidad de reanimación al nacer, al compararlos teniendo en cuenta la gemelaridad. En su serie, los nacidos por TRA difieren en que combinan mayor edad materna y gemelaridad, una tasa de cesáreas más elevada en fetos únicos, así como un riesgo 4 veces superior de defectos congénitos, en relación con los nacidos por fecundación natural. El embarazo múltiple está relacionado con resultados adversos neonatales y con defectos congénitos (74). Aunque la tasa de gemelaridad asociada a TRA ha ido descendiendo desde el año 2000, sigue siendo muy alta respecto a la de población natural (56,6% vs 2,4%). La media de edad materna de los nacidos por FIV (únicos y gemelares) es estadísticamente superior a la de las madres de fecundación natural y su intervalo se sitúa en los 36-39 años (5, 82, 83).

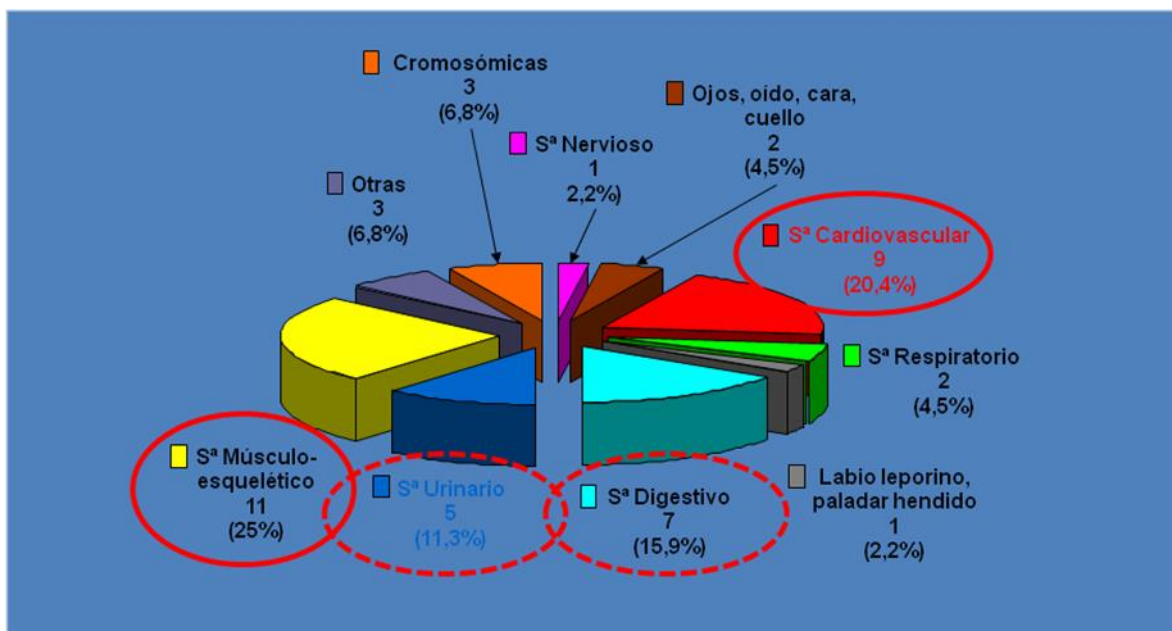
El estudio de Sebastiani y cols. en el 2009 tiene como resultado que el grupo de estudio (gestaciones conseguidas por FIV e ICSI) tiene mayor prematuridad (definida como gestación inferior a 37 semanas), menor peso al nacimiento (definido como peso inferior al percentil 10 para su edad gestacional y sexo), más embarazos múltiples, madres de mayor edad y más complicaciones obstétricas, como amenaza de aborto y

prematuridad, enfermedad placentaria, hipertensión arterial, diabetes gestacional y hemorragias. Los recién nacidos muestran una tasa de enfermedad y una mortalidad similar, aunque con más ingresos hospitalarios. Al analizar aisladamente las gestaciones únicas del grupo de nacidos por TRA, destaca una edad materna superior, mayor prematuridad y bajo peso al nacer, más complicaciones obstétricas, más enfermedades neonatales relacionadas con la prematuridad y un aumento de malformaciones. Paradójicamente, al analizar sólo las gestaciones múltiples no encuentran diferencias en prematuridad ni en peso al nacer, ni en número de malformaciones, aunque el grupo de múltiples derivado de TRA detenta una edad materna más avanzada y más complicaciones obstétricas, como amenaza de aborto, diabetes gestacional y toxemia. Aunque la ICSI tiende a asociarse a mayor riesgo de malformaciones, no objetivaron diferencias estadísticamente significativas con los nacidos de FIV clásica y el estudio multivariante no mostró una influencia independiente (19).

En el 2010, el Grupo de interés sobre Salud Embrionaria (GISE) de la Sociedad Española de Fertilidad (SEF), publica el primer análisis sobre gestaciones conseguidas en tratamientos de reproducción asistida en España en el periodo de un año. Recoge las malformaciones neonatales, prematuridad y mortinatos en gestaciones únicas y múltiples derivadas de las distintas técnicas de reproducción asistida en durante el año 2008 (84).

Aportan los datos de 5.303 gestaciones procedentes de 13 centros del estado Español derivadas de: Inseminación (599), FIV clásica (452), ICSI (1.805), FIV-ICSI combinadas (592), Transferencia de embriones congelados (799), DGP (96) y Ovodonación (960). El análisis se centró sobre las malformaciones neonatales, la prematuridad y los mortinatos en gestaciones únicas y múltiples. Las malformaciones se clasificaron de acuerdo al WHO ICD 10 code. Registraron algún tipo de malformación

en solo el 0,99% de los recién nacidos, lo que sumado a un 0,69% de ILES registrados en los embarazos procedentes de TRA, objetiva un total de un 1,52% de defectos congénitos. No encontraron diferencias significativas en la tasa de defectos congénitos entre embarazos únicos y múltiples, independientemente de la técnica aplicada. Tampoco encontraron diferencias significativas en la tasa de prematuridad ni en el peso de los RN, según multiplicidad, con respecto a los datos ofrecidos en los registros de la población española (84, 86).



**Figura 6. Distribución de los Defectos congénitos en el estudio del GISE del 2010 sobre 5.303 gestaciones derivadas de TRA en España (0,99% de malformaciones en los recién nacidos) (84).**

En 2008 Manon Ceelen y cols. publican una revisión de la literatura para evaluar el crecimiento y desarrollo de los niños nacidos tras fecundación in vitro. Concluyen que, hasta ese momento, existe suficiente evidencia de que los niños nacidos tras FIV tienen un mayor riesgo de resultado perinatal adverso, malformaciones congénitas y de presentar enfermedades epigenéticas raras. Permanece por dilucidar cuándo los

problemas observados proceden del propio tratamiento de fecundación in vitro o de la propia subfertilidad subyacente de los padres (87-90).

Los escasos estudios más recientes de seguimiento acerca del crecimiento postnatal o la morbilidad son ofrecen resultados discrepantes. Es importante continuar monitorizando a estos niños para evaluar posibles consecuencias a largo plazo como, por ejemplo, el desarrollo de enfermedades cardiovasculares (16).

Carrie Williams y Alastair Sutcliffe realizaron en 2009 una revisión que recogía los trabajos acerca de los resultados de los niños nacidos mediante técnicas de reproducción asistida. El embarazo múltiple es un riesgo bien documentado de las TRA. La mayoría son gemelos dicigóticos, resultado de la transferencia de más de un embrión. Sin embargo también existe una alta incidencia de gemelos monocigóticos (91, 92), al parecer relacionados con la manipulación de la zona pelúcida durante el hatching asistido o con el cultivo hasta el estadio de blastocisto (93-95). La gestación múltiple se asocia, en general, con resultados perinatales adversos como parto pretérmino, bajo peso, mortalidad neonatal, malformaciones congénitas y discapacidad entre los supervivientes (96). Para reducir estas complicaciones se plantea la transferencia de un máximo de dos embriones o la transferencia selectiva de un único embrión en los casos de mujeres más jóvenes con buen pronóstico (17).

Adverse perinatal outcomes in ART conceived singletons compared to naturally conceived singletons.

|                                      | Adverse perinatal outcomes— ART singletons compared with spontaneously conceived singletons |                                      |                             |                                  |                             |                            |
|--------------------------------------|---|--------------------------------------|-----------------------------|----------------------------------|-----------------------------|----------------------------|
|                                      | Number of ART conceived infants   | Preterm birth (< 37 weeks gestation) | Low birth weight (< 2500 g) | Very low birth weight (< 1500 g) | Small for gestational age   | Perinatal mortality        |
| Jackson et al. 2004 [17]             | 12283   | OR-2.0<br>(95% CI 1.7–2.2)           | OR-1.8<br>(95% CI 1.4–2.2)  | OR-2.7<br>(95% CI 2.3–3.1)       | OR-1.6<br>(95% CI 1.3–2.0)  | OR-2.2<br>(95% CI 1.6–3.0) |
| Meta-analysis                        |   |                                      |                             |                                  |                             |                            |
| Helmerhorst et al. 2004 [16]         | 5361  | RR- 3.0<br>(95% CI 2.1–4.3)          | RR-1.4<br>(95% CI 1.2–1.7)  | RR-3.0<br>(95% CI 2.1–4.4)       | RR- 1.5<br>(95% CI 1.4–1.7) | RR-1.7<br>(95% CI 1.1–2.5) |
| Meta-analysis                        |   |                                      |                             |                                  |                             |                            |
| McDonald et al. 2005 [18]            | Not available   | OR- 1.9<br>(95% CI 1.4–2.7)          | N/A                         | OR-3.8<br>(95% CI 4.3–5.8)       | OR-1.6<br>(95% CI 1.2–2.1)  | OR-2.4<br>(95% CI 1.5–5.8) |
| Meta-analysis                        |   |                                      |                             |                                  |                             |                            |
| Schieve et al. 2004 [3] <sup>a</sup> | 62 551  | RR-1.4<br>(95% CI 1.3–1.5)           | RR-1.6<br>(95% CI 1.5–1.8)  | RR-1.8<br>(95% CI 1.5–1.9)       | N/A                         | N/A                        |
| Large US register based study        |   |                                      |                             |                                  |                             |                            |

<sup>a</sup> Included as large cohort used.

**Figura 7. Resultados perinatales adversos de gestaciones únicas mediante TRA comparados con únicas de concepción natural (tomada de Williams y Sutcliffe. Infant outcomes of assisted reproduction. Early Human Development 2009) (17).**

Una revisión de la Cochrane Library recoge que la transferencia selectiva de un único embrión, seguida de las transferencias de embriones criopreservados en ciclos sucesivos, de no alcanzarse la gestación con la transferencia en fresco, tiene como resultado la misma tasa acumulada de nacido vivo que la transferencia de dos embriones en fresco, pero minimizando de forma significativa la tasa de embarazos múltiples (97).

Sin embargo, como hemos expuesto, no todos los investigadores están de acuerdo en si el resultado perinatal de las gestaciones múltiples derivadas de TRA varía con respecto al de las gestaciones múltiples espontáneas (17).

En cuanto a los resultados de las gestaciones únicas, sí parece existir una mayor unanimidad en los estudios que sugiere un peor resultado perinatal tras ajuste por edad materna. Pero está por dilucidar que los peores resultados sean debidos a las técnicas en sí, a la subfertilidad o a factores maternos (98).

Los estudios que sugieren un incremento en el riesgo de malformaciones están limitados por problemas metodológicos como escaso tamaño muestral, falta de grupos control adecuados, falta de ajustes de factores de confusión, e inadecuadas o inconsistentes definiciones sobre el concepto de defecto congénito. Tampoco está claro si la asociación con fenómenos de imprinting se debería a una predisposición genética de las parejas infértiles y/o a la interferencia de las propias técnicas sobre el imprinting primario durante la gametogénesis o durante el desarrollo embrionario. Se necesitarán estudios a muy largo plazo para poder llegar a evaluar la posible relación de causalidad (17).

Pelinck y colaboradores llevaron a cabo en 2010 un estudio para investigar la influencia de la estimulación ovárica en el resultado perinatal. Su investigación estaba basada en un estudio retrospectivo que analiza los resultados perinatales de gestaciones únicas mediante FIV, con o sin estimulación ovárica. En las FIV sin estimulación ovárica se

utilizó el protocolo de ciclo natural modificado. Sus resultados concluyen que el peso de los recién nacidos procedentes de ciclo natural modificado es superior al de los procedentes de estimulación ovárica. Ello plantea la posibilidad de que el bajo peso en los niños nacidos tras FIV que recoge la literatura podría estar relacionado con el protocolo de estimulación ovárica (99). El mecanismo por el cual la estimulación ovárica influye sobre el peso de los recién nacidos aún se desconoce, pero los niveles elevados de estrógenos inherentes a la estimulación ovárica podrían jugar un papel importante (21).

K. Kapiteijn y cols. publican en 2006 un estudio que trata de valorar si la subfertilidad podría explicar los peores resultados perinatales después de FIV y estimulación ovárica. Utilizaron los datos de la población holandesa, comparando resultados perinatales de gestaciones únicas obtenidas después de hiperestimulación ovárica controlada y FIV frente a los resultados perinatales de mujeres subfértiles que concibieron espontáneamente y con mujeres que sólo recibieron estimulación ovárica. En el grupo de estimulación y FIV la edad materna fue significativamente mayor que en el grupo de estimulación ovárica o en el de las mujeres subfértiles. El peso medio al nacimiento y la edad gestacional al parto de las gestaciones únicas nacidas mediante estimulación y FIV fue significativamente menor que la de los niños nacidos en el grupo de mujeres subfértiles. En conclusión este estudio sugiere que la asociación entre reproducción asistida y peor resultado perinatal no puede ser completamente explicado en base a la subfertilidad inherente (18).

Sin embargo, Zhu y cols. publican también en 2006 otro estudio, desde nuestro punto de vista muy relevante, que trata de examinar si las parejas subfértiles que acaban concibiendo espontáneamente o después de someterse a una TRA presentan un riesgo superior de malformaciones congénitas. Determinaron la prevalencia de

malformaciones congénitas mediante un estudio longitudinal en la población danesa, que recogía 50.897 únicos y 1.366 gemelos que nacieron de parejas fértiles, 5.764 únicos y 100 gemelos nacidos de parejas infértiles que acabaron concibiendo espontáneamente y 4.588 únicos y 1.690 gemelos nacidos después de tratamientos de fertilidad. Los nacidos únicos de parejas infértiles que concibieron espontáneamente o tras TRA presentaban una mayor prevalencia de malformaciones congénitas que los nacidos únicos de parejas fértiles. Cuando el análisis se restringía solo a las parejas subfértiles, los nacidos después de TRA presentaban más malformaciones en los órganos genitales que los concebidos espontáneamente. Pero, paradójicamente, no se encontraron diferencias significativas en la tasa de malformaciones de los gemelos. Su conclusión fue que el tratamiento hormonal de las mujeres infértiles podría estar asociado con un aumento de malformaciones en órganos genitales, pero que el incremento global en la prevalencia de las malformaciones está más relacionado con la disfunción reproductiva subyacente (100).

Una reciente revisión sistemática y meta-análisis de Pinborg y colaboradores, publicada en 2013, concluye que la subfertilidad es el factor de riesgo principal del resultado perinatal adverso en las gestaciones únicas derivadas de TRA. Pero que, dadas las discrepancias en los resultados perinatales de hermanos, unos concebidos de forma natural y otros mediante TRA, factores como la estimulación hormonal o el tipo y la duración del cultivo embrionario podrían tener también jugar algún papel (101).

G.H. Woldringh y cols. publican en 2006 un estudio para valorar si la baja reserva ovárica estaba relacionada con la aparición de preeclampsia en gestaciones obtenidas mediante FIV/ICSI. La preeclampsia afecta entre un 2-10% de todos los embarazos y supone la mayor causa de morbilidad y mortalidad materna y fetal (102). Comparados con la población general los embarazos de FIV se asocian con un incremento del riesgo

de preeclampsia de 2,7 veces (103). La edad avanzada y la subfertilidad asociada en el grupo de FIV reflejan el descenso de la reserva ovárica, que podría asociarse a la aparición de enfermedad cardiovascular (104, 105). Este estudio caso-control retrospectivo, de gestaciones procedentes de FIV-ICSI, compara 41 casos de pacientes que desarrollan una pre-eclampsia con 82 controles sin hipertensión ni pre-eclampsia. Plantea la hipótesis de si el compromiso en la reserva ovárica puede estar relacionado con la pre-eclampsia como una complicación vascular en las gestaciones de FIV/ICSI. El análisis multivariable evalúa a ambos grupos sobre varios indicadores de reserva ovárica, como la función ovárica basal y la respuesta a la hiperestimulación. También evalúan a los neonatos. El resultado fue que tanto una mayor dosis total de FSH durante la fase de estimulación, como la mayor cantidad de FSH por día o un menor número de ovocitos recuperados durante el tratamiento de FIV se asociaban con un mayor riesgo de pre-eclampsia en el embarazo subsiguiente. La proporción de FSH por folículo y por ovocito obtenido mostró la asociación más fuerte y con mayor valor predictivo. En conclusión, la dificultad para conseguir una respuesta ovárica suficiente a la estimulación con FSH en un ciclo de FIV refleja un compromiso de la reserva ovárica y se asocia con un incremento en el riesgo de desarrollar pre-eclampsia en caso de conseguirse el embarazo (20).

Maryse Bonduelle publica en 2002 un estudio para evaluar la seguridad de la técnica de microinyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), comparando los datos de los resultados perinatales y tasa de malformaciones de niños procedentes de FIV e ICSI. El estudio de seguimiento incluyó consejo genético, diagnóstico prenatal y un examen físico de los niños a los 2 meses, al año y a los 2 años. En ambas cohortes se observaron tasas de gestación múltiple similares. Las características maternas eran comparables en ambos grupos (FIV e ICSI) en cuanto a medicación recibida para la estimulación



folicular, duración de la gestación y nivel educacional, mientras que la edad materna era mayor en el grupo de ICSI, así como un mayor porcentaje de primeras gestaciones y primer hijo. El peso al nacimiento, el número de complicaciones neonatales, el bajo peso, la tasa de mortinatos y de muertes perinatales fueron similares en ambos grupos. La tasa de prematuridad fue ligeramente superior en el grupo de ICSI. Los nacidos con muy bajo peso fueron mayores en el grupo de FIV. Se observaron malformaciones mayores (definidas como aquellas que producen impotencia funcional o requieren corrección quirúrgica) en el 3,4% de los niños de ICSI y en el 3,8% de los niños de FIV, sin que se encontraran diferencias significativas. La tasa de malformaciones en ICSI no estaba relacionada con el origen de la muestra espermática o la calidad de las mismas. El número de mortinatos (nacidos más allá de las 20 semanas de gestación) fue del 1,69% en el grupo de ICSI y del 1,31% en el grupo de FIV. La tasa global de malformaciones, teniendo en cuenta malformaciones mayores en mortinatos, interrupciones y nacidos vivos, fue del 4,2% en el grupo de ICSI y del 4,6% en el grupo de FIV, sin que tampoco se encontraran diferencias significativas. Los resultados de este estudio ponen de relieve que no parece existir un mayor riesgo de malformaciones mayores ni de complicaciones neonatales en los niños nacidos mediante ICSI frente a los nacidos mediante FIV (27).

En 2010, Pelkonen y cols. se plantean la seguridad de los niños nacidos mediante transferencia de embriones criopreservados (TEC). Hasta ese momento existía un número limitado de estudios que evaluaran los resultados obstétricos y perinatales de los niños nacidos mediante TEC (106-116). El objetivo de este estudio era comparar los resultados perinatales de niños nacidos mediante TEC con los nacidos mediante la transferencia de embriones en fresco, utilizando como referencia los datos de niños nacidos mediante concepción espontánea procedentes del registro finlandés. Después de

ajustar por factores de confusión, sus resultados concluyen que los niños nacidos mediante transferencia de embriones congelados presentaban un menor riesgo de parto pretérmino, bajo peso al nacimiento y fetos pequeños para edad gestacional comparados con los nacidos de transferencia en fresco. El peso medio al nacimiento fue 134g superior en el grupo de las gestaciones únicas procedentes de embriones congelados frente a de las transferencias en fresco. Cuando las gestaciones únicas de embriones congelados se compararon con el grupo de gestaciones naturales se encontró un mayor riesgo de parto pretérmino y bajo peso al nacimiento y un menor riesgo de nacidos pequeños para edad gestacional. Por ello, este estudio concluía que la congelación embrionaria no solo no afectaba negativamente a los resultados perinatales en términos de prematuridad, bajo peso al nacimiento y pequeños para edad gestacional, sino que sus resultados eran comparables o incluso mejores que los transferidos en fresco. Además, como era de esperar, existían diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la edad de las madres entre los tres grupos, siendo superiores las del grupo de embriones congelados. También hubo significativamente más gestaciones múltiples en el grupo de embriones congelados y frescos frente a las gestaciones espontáneas (29).

John C. Dumoulin y cols. realizan un estudio en 2010 que trataba de valorar el efecto que el cultivo in vitro de los embriones humanos podía tener en el peso de los recién nacidos. Su estudio mostró que los medios de cultivos utilizados en los tratamientos de fecundación in vitro tienen un efecto significativo no sólo en el desarrollo embrionario sino también en el desarrollo fetal y en el recién nacido. Este estudio fue el primero en mostrar que las condiciones de cultivo pueden afectar al peso de los recién nacidos (22).

Diversos factores pueden afectar al peso de los recién nacidos. La edad gestacional al parto, el sexo fetal o si el niño procede de una gestación única o múltiple suelen ser los más importantes (117, 118). El resto incluye factores maternos como la paridad (119),

talla y peso materno, índice de masa corporal (117, 120) y raza (119). Finalmente, son también reseñables aquellos factores relacionados con la gestación como la diabetes gestacional, la hipertensión o la pre-eclampsia (120) y factores relacionados con el estilo de vida, como el hábito tabáquico (117). Además, la historia de subfertilidad se asocia con una mayor incidencia de complicaciones obstétricas y neonatales (121, 122). Recientemente se ha publicado que el número de embriones transferidos en los tratamientos de FIV se relaciona con el resultado perinatal, de forma que existe un bajo peso al nacimiento y mayor riesgo de parto pretérmino en gestaciones únicas que proceden de la transferencia de dos embriones, en comparación con las gestaciones únicas que proceden de la transferencia selectiva de un único embrión (123). Estos hallazgos parecen relacionarse con la relativa frecuencia del llamado “síndrome del gemelo evanescente” en las transferencias de dos embriones (123).

Como conclusión del estudio de Dumoulin se desprende que un periodo tan breve como 2 o 3 días de cultivo in vitro de los embriones humanos puede tener un importante efecto en el peso al nacimiento y podría explicar, por lo menos en parte, el mayor riesgo de bajo peso al nacimiento en las gestaciones únicas derivadas de FIV en comparación con la población general (22).

Sin embargo, también existen estudios recientes que no encuentran que los medios de cultivo tengan influencia alguna sobre el peso al nacimiento (124).

Anja Pinborg y cols., en 2009, publican un estudio que examina los resultados perinatales de gestaciones únicas nacidas tras criopreservación de embriones. Desde el primer nacimiento derivado de embriones criopreservados en 1984, esta técnica ha sido cada vez más utilizada en reproducción asistida (125). El objetivo del estudio era evaluar la morbilidad neonatal e infantil en 957 embarazos únicos procedentes de embriones congelados de FIV o ICSI, comparada con dos grupos: 6.904 nacidos de

*transfers* frescos de FIV y 3.425 de ICSI, y a 4.800 nacidos de embarazos espontáneos. La edad materna del grupo de embriones congelados fue significativamente mayor que la del grupo de embriones frescos y del grupo de gestaciones espontaneas. La media de peso al nacimiento de los nacidos tras transferencia de congelados fue comparable a la de las gestaciones espontaneas. La media de edad gestacional fue 2,4 días mayor en el grupo de embriones congelados frente al de frescos, pero comparada con el grupo de gestaciones espontaneas fue 2 días menor. En el análisis ajustado, el riesgo de bajo peso al nacimiento y parto pretérmino fue significativamente menor en el grupo de embriones congelados frente al de embriones frescos. Para el parto muy prematuro y el muy bajo peso al nacimiento las diferencias no fueron estadísticamente significativas. Tampoco se encontraron diferencias significativas en cuanto a malformaciones entre el grupo de embriones congelados, frescos o embarazos espontáneos, ni en las tasas de parálisis cerebral o retraso mental entre los tres grupos. La conclusión del estudio de Pinborg es que los niños nacidos de gestaciones únicas procedentes de embriones congelados tienen mayor peso y edad gestacional al nacimiento que aquellos que proceden de una transferencia de embriones frescos de FIV o ICSI, y que su riesgo de bajo peso y parto pretérmino es menor. Su peso al nacimiento es comparable al de las gestaciones espontáneas (109).

Wennerholm y cols. publican una revisión en 2009 para evaluar el estado del conocimiento acerca de los resultados de niños de FIV/ICSI nacidos después de criopreservación, tanto tras congelación lenta como tras vitrificación de ovocitos, embriones en estadio de células y de blastocisto. Para embriones criopreservados en estadios tempranos de desarrollo, los resultados de los estudios controlados recogían un mejor o, por lo menos, un adecuado resultado obstétrico en cuanto a parto pretérmino o bajo peso al nacimiento, en comparación con los nacidos de ciclos con transferencia

embrionaria en fresco. Para congelación lenta de blastocistos o para vitrificación de embriones, blastocitos u ovocitos, los datos son más limitados, lo que hace necesario más estudios controlados (115).

Ri-Cheng Chian y cols. evalúan en 2009 los resultados tras vitrificación de ovocitos *in vitro*. En contraste con la vitrificación de embriones, la criopreservación de ovocitos no requiere la participación de una pareja y evita las connotaciones éticas de la criopreservación de embriones. La vitrificación consiste en una congelación ultra-rápida, que finaliza en una solidificación vítrea, sin que dé tiempo a la formación intracelular de cristales de hielo (126). La vitrificación ovocitaria evita así el daño del huso meiótico (frecuentemente afectado en la congelación lenta) y tiene como resultado una tasa de supervivencia media, tras la desvitrificación, superior al 80-95% (127-131). La mayor parte de lo publicado sobre criopreservación ovocitaria está en relación con ovocitos procedentes de protocolos de estimulación ovárica, lo que tiene una indicación especial en pacientes jóvenes diagnosticadas de procesos oncológicos que desean preservar la fertilidad futura, ante un posible fallo ovárico derivado de los efectos gonadotóxicos de la quimio o la radioterapia. Este grupo ha desarrollado una nueva estrategia para la preservación de la fertilidad femenina mediante la cual se recolectan ovocitos inmaduros de ciclos no estimulados, que posteriormente son madurados *in vitro* (MIV) y vitrificados (132, 133). El estudio evalúa las tasas de gestación y los resultados obstétricos después de la vitrificación de ovocitos madurados *in vitro*. La vitrificación de ovocitos maduros tras protocolos de estimulación ovárica consigue unas adecuadas tasas de gestación clínica. Las gestaciones obtenidas después de vitrificación de ovocitos madurados *in vitro* no parecen asociarse con resultados obstétricos y perinatales adversos. Parece que los niños nacidos después de maduración *in vitro* no presentan unas tasas mayores de anomalías fetales comparados con aquellos nacidos

tras FIV o tras concepción natural (134). La vitrificación de ovocitos madurados *in vitro* resulta menos eficaz que la vitrificación de ovocitos maduros tras tratamientos de estimulación ovárica, pero sin embargo, la combinación de la maduración *in vitro* y la vitrificación ovocitaria tiene algunas ventajas como eliminar el coste de la medicación y la necesidad de monitorización. Este nuevo protocolo tiene la ventaja añadida de poder vitrificar ovocitos de pacientes con cáncer, eliminando el riesgo de la estimulación en caso de tumores hormono-sensibles (135).

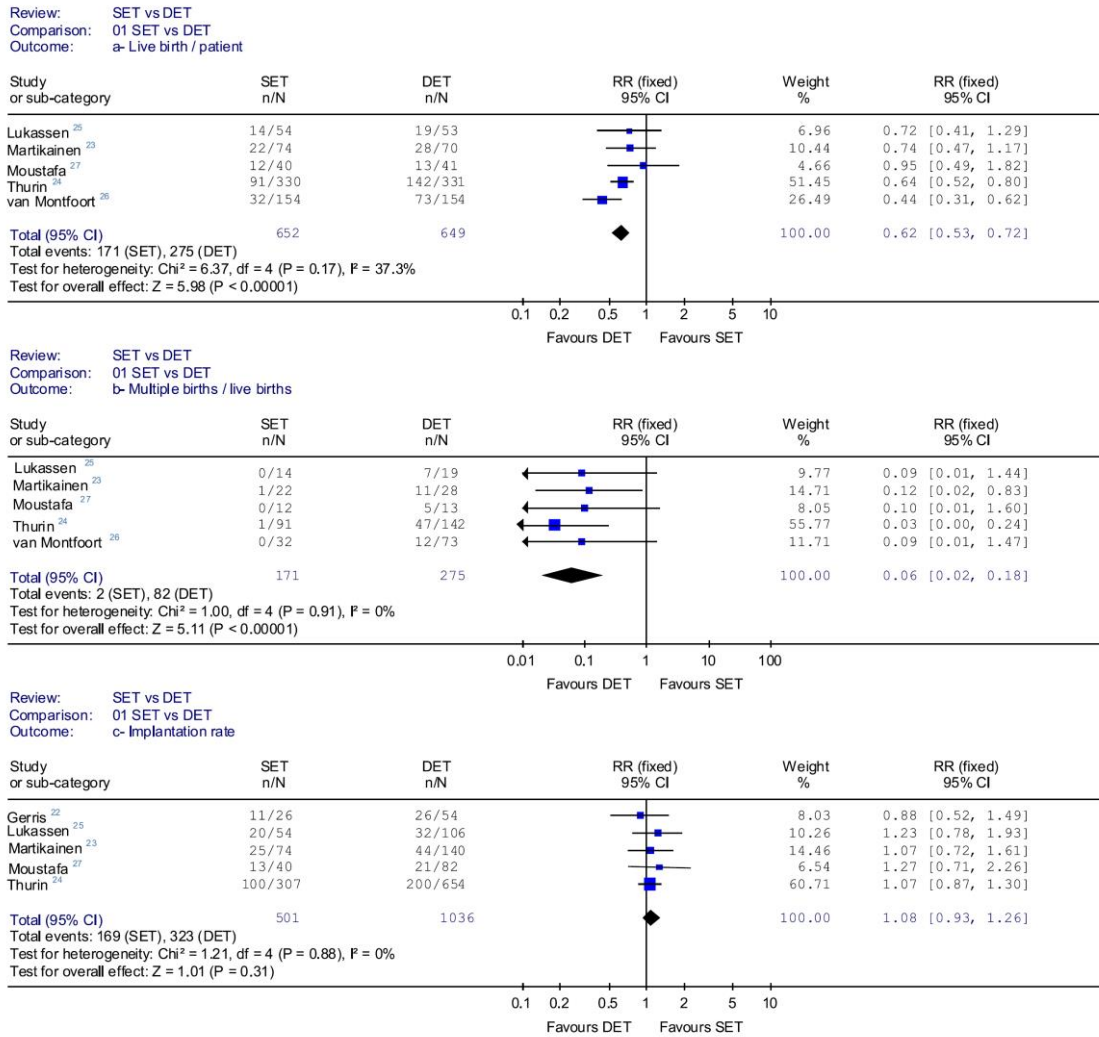
Existen así mismo diversos estudios recientes, entre ellos uno de Ana Cobo y cols., del grupo del Instituto Valenciano de Infertilidad (IVI), que tampoco encuentra peores resultados entre los niños concebidos mediante ovocitos vitrificados en comparación con ovocitos frescos (135-139).

Tarek A. Gelbaya y cols. realizan en 2009 una revisión para determinar si la política de transferencia de embrión único reducía la tasa de embarazo múltiple sin comprometer la tasa de nacido vivo. La transferencia de dos embriones en fecundación *in vitro* lleva a una elevada probabilidad de gestación múltiple, fundamentalmente de gemelos dicigóticos (140). El embarazo múltiple es, de forma aislada, el mayor condicionante de la salud y resultados de los niños nacidos tras FIV. No hay duda de que el embarazo gemelar se asocia con un riesgo significativamente mayor de complicaciones, tanto para la madre como para los recién nacidos (141, 142). El principal riesgo es la prematuridad, responsable tanto de la mayor mortalidad y morbilidad perinatal como de las complicaciones neurológicas a largo plazo (141, 143, 144). Por ello resulta de vital importancia desarrollar estrategias para prevenir esta complicación de las TRA. La política de transferencia de embrión único es un modo lógico de reducir la incidencia de embarazo múltiple en FIV, sobre todo en mujeres jóvenes con buen pronóstico (145, 146). La estrategia se basa en seleccionar los embriones de mejor calidad morfológica

y/o morfofocinética, es decir, con mayor potencial implantatorio, para transferir en fresco y criopreservar el resto para utilizarlos en ciclos sucesivos, de no conseguirse el embarazo tras la transferencia en fresco. El número de intentos que se necesitan para alcanzar una tasa equivalente de nacido vivo es mayor en mujeres a las que se transfiere un único embrión, pero el descenso en la tasa de gestaciones múltiples hace que sea una opción segura, deseable y coste-eficaz (147). Diversos estudios señalan que no existen diferencias estadísticamente significativas en las tasas acumuladas de gestación entre la transferencia selectiva de embrión único, unidas a las criotransferencias posteriores si no se ha alcanzado el embarazo, y la transferencia en fresco de dos embriones (148, 149).

Aunque dos de los tres estudios que recogen la tasa de embarazo por paciente muestran una reducción estadísticamente significativa en la tasa de embarazo de la transferencia en fresco de embrión único frente a la doble (150-152), ninguno de ellos encuentra diferencias estadísticamente significativas en la tasa de aborto o de gestación ectópica. Ningún estudio encuentra diferencias estadísticamente significativas en la tasa de gestación clínica acumulada. Dos ensayos señalan un efecto negativo de la transferencia de embrión único en la tasa de gestación evolutiva (152, 153). En conclusión, de la revisión sistemática y meta-análisis de Gelbaya se infiere que la transferencia de embrión único en mujeres de menos de 36 años reduce la tasa de nacido vivo en un 38% y la tasa de parto múltiple en un 94%. La evidencia científica disponible sugiere que el incremento en el número de transferencias de embrión único tendría como resultado una tasa acumulada de nacido vivo similar a la obtenida con la transferencia en fresco de dos embriones (148).

Forest plots showing the results of (A) live birth rate, (B) multiple birth rate, and (C) implantation rate in both elective single and double embryo transfer groups.



Gelbaya. IVF outcomes after e-SET or DET. Fertil Steril 2009.

**Figura 8. Tasa de nacidos vivos, embarazos múltiples y tasa de implantación de la transferencia selectiva de un embrión frente a la de dos embriones (tomado de Gelbaya et al. IVF outcomes after e-SET or DET. Fertil Steril 2010) (148).**

Por contra, también disponemos de literatura a favor de la inocuidad de la gestación gemelar, como la revisión publicada por Gleicher y cols. en 2008. El principal argumento a favor de reducir las gestaciones gemelares se basa en el principio ético médico “antes de nada, no hacer daño”, basándose en la consideración de que las gestaciones únicas son más seguras. Aun así, la gestación gemelar es un deseo manifiesto en una proporción significativa de parejas infértiles a las que no se les puede



garantizar que puedan concebir con éxito en un intento futuro. Para los obstetras, la comparación acerca de resultados maternos y fetales después de gestaciones únicas o múltiples tiene sentido, porque la mayoría tratan a mujeres embarazadas de forma natural y tratan de maximizar los resultados minimizando los riesgos en cada gestación. En opinión de Gleicher, el error conceptual procede de los propios profesionales que aplican ese “concepto obstétrico” a una población completamente diferente. Los gemelos procedentes de FIV presentan un 40% menos de riesgos perinatales que los concebidos espontáneamente. En la mayoría de los casos, las mujeres que tratan de concebir desean más de un hijo y, dependiendo del tratamiento de fertilidad, tienen la opción de elegir entre distintas probabilidades de embarazo múltiple. Este escenario refleja diferentes circunstancias y requiere distintos abordajes. Los esfuerzos para reducir los embarazos gemelares han demostrado reducir también las tasas globales de gestación (152, 154, 155) y conviene no olvidar que no hay nada más valioso para la pareja con disfunción reproductiva que la oportunidad de poder llegar a concebir (156). La práctica de la transferencia de embrión único como medida para reducir el riesgo de gemelaridad podría aplicarse a las pacientes que presenten claras contraindicaciones para embarazos gemelares o que sólo deseen un hijo por razones personales o sociales. En conclusión, para Gleicher, en las parejas subfértiles que desean más de un hijo, un parto gemelar representa un resultado favorable y coste-eficaz que debe ser comprendido en su contexto y en contraste con la visión del obstetra generalista (30).

Frans M Helmerhorst y cols. realizan una revisión, publicada en 2004, para comparar los resultados perinatales en gestaciones únicas y gemelares obtenidas mediante técnicas de reproducción asistida con aquellas obtenidas mediante concepción natural. Encuentran que las gestaciones únicas procedentes de TRA presentan un riesgo relativo de parto antes de la 32ª semanas de 3,2 y de 2,04 de parto antes de 37 semanas. Para

muy bajo peso (<1500g) el RR fue 3 veces superior para las gestaciones de TRA, de 1,7 para bajo peso (<2500g) y de 1,4 para pequeños para edad gestacional. En las gestaciones gemelares los riesgos relativos fueron del 0,95 para parto antes de 32 semanas, 1,07 para parto antes de la 37 semanas, 0,89 para muy bajo peso, 1,03 para bajo peso y 1,27 para pequeño para edad gestacional (todos los intervalos de confianza incluían la unidad). Sus conclusiones fueron que las gestaciones únicas derivadas de técnicas de reproducción asistida sí presentaban peores resultados perinatales que las obtenidas de forma natural, mientras que este riesgo era menor en las gestaciones gemelares. En los gemelos, la mortalidad perinatal puede llegar a ser incluso un 40% más baja después de TRA al ser comparada con la concepción natural (23).

Sarah D. McDonald y cols. llevan a cabo en 2009 un meta-análisis cuyo objetivo es determinar el riesgo de parto pretérmino y de bajo peso al nacimiento en gemelos concebidos mediante FIV o FIV/ICSI, comparados con gemelos concebidos espontáneamente, controlando por lo menos el factor de la edad materna. El parto pretérmino y el bajo peso al nacimiento son los dos determinantes más importantes de la mortalidad neonatal y también de la morbilidad infantil (157, 158). Se recogieron datos de 4.385 gemelos concebidos por FIV y 11.793 gemelos concebidos espontáneamente. En esta revisión sistemática se determinó que los gemelos de FIV tienen un riesgo pequeño, pero significativamente superior, de ambos determinantes de mortalidad y morbilidad perinatal (parto pretérmino y bajo peso al nacimiento) (159). Existen varias explicaciones potenciales de estos peores resultados perinatales, que incluyen: el propio procedimiento de la fecundación in vitro, factores de confusión residuales del tipo de la infertilidad o la enfermedad médica que provoca dicha infertilidad, una supervivencia incrementada de estos gemelos o una combinación de todos ellos. Algunos factores van a favor de mejores resultados entre los gemelos de FIV como un status socio-económico

más elevado o una menor proporción de madres fumadoras. La proporción inferior de gemelos monocoriales tras FIV sugiere que los gemelos de FIV tendrían mejores resultados que los que se encuentran en este estudio (160, 161). En conclusión, los gemelos procedentes de FIV presentan más riesgo de parto pretérmino y bajo peso al nacimiento, comparados con aquellos concebidos espontáneamente si se tiene controlado, por lo menos, el factor de confusión de la edad materna. (162)

El número de gemelos, tanto monocoriales como bicoriales, se está incrementando, en parte debido a la fecundación in vitro. El incremento del riesgo de peores resultados perinatales en los gemelos de FIV existe, a pesar del hecho de que sus resultados deberían ser mejores por la menor proporción de gemelos monocoriales comparados con los concebidos espontáneamente (162).

Quizás lo que más ha alarmado a la sociedad científica han sido los estudios que han puesto de relieve el riesgo incrementado de malformaciones en los fetos procedentes de TRA. A este respecto destacan los estudios de Darine El-Chaar y de Geraldine Viot.

El-Chaar y cols publican en 2009 un estudio para evaluar el riesgo de defectos congénitos en niños nacidos tras la aplicación de técnicas de reproducción asistida. Es un estudio de cohortes retrospectivo que recopila información del Niday Database de Ontario. El objetivo era evaluar la asociación entre TRA, incluyendo inducción de la ovulación, inseminación y fecundación in vitro, con el riesgo de defectos congénitos en los recién nacidos espontáneos en la población de Canadá durante el año 2005. Se recogieron 61.569 partos, de los cuales 1.399 procedían de TRA (298 inducciones de la ovulación, 173 de inseminaciones y 319 de FIV). Las madres del grupo de TRA eran de más edad y, con más frecuencia, nulíparas que el grupo control de concepción natural. De un total de 790 niños concebidos por TRA, el 2,91% fueron diagnosticados de un defecto congénito mayor en el periodo prenatal o neonatal inmediato. En comparación,

la prevalencia de defecto congénito en el grupo de niños nacidos mediante concepción natural fue del 1,86%. Los defectos significativamente más frecuentes en el grupo de TRA fueron gastrointestinales, cardiovasculares y musculoesqueléticos. No se encontraron diferencias significativas en los defectos del tubo neural ni en los faciales. Al estudiar cada tipo de técnica, objetivan un 2,35% de defectos congénitos en nacidos de inducciones de la ovulación, un 2,89% en inseminaciones y un 3,45% en FIV. En conclusión, los autores determinan una tendencia plausible de mayor riesgo de defectos congénitos en los recién nacidos derivados de TRA. Los elementos que sugieren poder estar interviniendo en estos hallazgos son la mayor edad de uno o ambos cónyuges de la pareja infértil, la causa de la disfunción reproductiva, la medicación utilizada en la inducción de la ovulación y/o el soporte de la fase lútea (26).

El estudio de la genetista Geraldine Viot y cols, presentado en el Annual Meeting of the European Society of Human Genetics (Gothenburg, Sweden) en 2010 y en el Annual Meeting of the American Society for Reproductive Medicine (Denver, Colorado) en el mismo 2010 (163), estudio no publicado en revistas científicas indexadas hasta la fecha, recoge datos de 33 centros franceses del 2003 a 2007, recopilando datos de 15.162 niños nacidos de TRA (fundamentalmente FIV/ ICSI). El seguimiento se realizó desde el nacimiento hasta los 60 meses de vida. La prevalencia de cada anomalía se comparó con la esperada para la población general. Se definió malformación mayor como aquella que requiere cirugía, causa un defecto funcional o la muerte. Registran un 19,9% de defectos congénitos, de los cuales un 4,24% se consideraron malformaciones mayores. El 51% de los defectos mayores fueron alteraciones urogenitales. El 10,57% de las malformaciones mayores fueron anomalías cardiovasculares. Se encontraron un 11,32% de malformaciones menores, un 0,73% de defectos genéticos con 10 síndromes relacionados con imprinting genético (163, 164).

En contra de estas prevalencias de defectos congénitos señaladas, se sitúa de nuevo el Grupo de Interés sobre Salud Embrionaria (GISE) de la Sociedad Española de Fertilidad (SEF), publicando en el 2013 el primer registro oficial español que recoge las malformaciones neonatales, prematuridad y mortinatos en gestaciones únicas y múltiples derivadas de las distintas técnicas de reproducción asistida en durante los años 2008 y 2009, y concluyendo solo en el 0,83% de los recién nacidos procedentes de TRA se objetivan defectos congénitos (165). Aportan los datos de 14.119 gestaciones procedentes del Registro de la SEF, derivadas de: Inseminación (1.065), FIV clásica (838), ICSI (5.080), Transferencia de embriones congelados (1.404) y DGP (295). El análisis se volvió a centrar sobre los defectos congénitos neonatales, la prematuridad y los mortinatos en gestaciones únicas y múltiples. Las malformaciones se clasificaron de acuerdo al WHO ICD 10 code. Registraron algún tipo de malformación en solo el 0,83% de los recién nacidos, sin diferencias significativas entre embarazos únicos y múltiples, independientemente de la técnica aplicada. Constataron diferencias significativas en la tasa de prematuridad sólo entre los embarazos únicos procedentes de DGP, sin diferencias en prematuridad en los niños derivados del resto de las TRA. Sin embargo, en las gestaciones múltiples no observaron asociación con la prematuridad en ninguna de las técnicas. Los mortinatos fueron significativamente menores en las gestaciones únicas (0,72%) que en las gestaciones múltiples (1,82%). Concluyen que el porcentaje de malformaciones observado en los niños españoles nacidos mediante técnicas de reproducción asistida es similar a la tasa observada en la población general española (85). Los autores sugieren que la multiplicidad es el factor asociado más importante, con una incidencia mayor de complicaciones neonatales, como prematuridad o mortinatos (165)

|                                   | IUI         | IVF         | ICSI           | FET           | PGD         | P     |
|-----------------------------------|-------------|-------------|----------------|---------------|-------------|-------|
| % Malformations in singletons (n) | 0.4 (4/927) | 0.7 (4/555) | 0.9 (32/3,510) | 0.2 (3/1,027) | 0.5 (1/188) | 0.224 |
| % Malformations in multiples (n)  | 1.1 (3/271) | 0.3 (2/509) | 0.9 (28/2,820) | 1.5 (10/653)  | 1 (2/193)   | 0.442 |

|  | IUI           | IVF            | ICSI             | FET             | PGD           | P     |
|--|---------------|----------------|------------------|-----------------|---------------|-------|
| % Prematurity in singleton pregnancies (n) | 8.3 (96/927)  | 8.5 (64/555)   | 8.2 (387/3,510)  | 9.4 (148/1,027) | 14.7 (35/188) | 0.001 |
| % Prematurity in multiple pregnancies (n)  | 44.9 (62/138) | 52.2 (148/283) | 49.8 (783/1,570) | 54.6 (206/377)  | 55.1 (59/107) | 0.220 |

|                                | IUI         | IVF          | ICSI           | FET           | PGD       | P     |
|--------------------------------|-------------|--------------|----------------|---------------|-----------|-------|
| % Stillbirth in singletons (n) | 0.8 (8/927) | 0.1 (1/555)  | 0.7 (25/3,510) | 0.8 (9/1,027) | 1 (2/188) | 0.530 |
| % Stillbirth in multiples (n)  | 1.4 (4/271) | 3.7 (19/509) | 1.5 (45/2,820) | 1.6 (11/653)  | 1 (2/193) | 0.017 |

**Figura 9. Tasa de malformaciones, prematuridad y mortinatos en 14.119 nacidos españoles por TRA. (Tomado de Ricciarelli E et al. Impact of assisted reproduction treatments on Spanish newborns: report of pregnancies. J Assist Reprod Genet 2013; 30 (7): 897-905) (165).**

Todos estos datos ponen de manifiesto el creciente interés de las personas que trabajamos en reproducción asistida por evaluar nuestros resultados, no sólo en cuanto al número de gestaciones alcanzadas o de niños nacidos, sino valorando también la seguridad de las técnicas y el pronóstico vital tanto de los nacidos como de las madres. Fue ésta la reflexión que nos estimuló a plantear este trabajo para tesis doctoral.

Sabemos que las pacientes que manejamos en las unidades de reproducción se encuentran en una situación vivencial especial, que se aleja de forma significativa de la media de la población general en materia reproductiva. Por de pronto, su media de edad suele ser superior y algunas presentan enfermedades concomitantes que condicionan su fertilidad. Además los tratamientos aplicados generan una mayor tasa de gestaciones múltiples que, a su vez, condicionan también los resultados perinatales.

La mayoría de los estudios llevados a cabo presentan sesgos importantes, siendo el más relevante la elección de un inadecuado grupo control. Como hemos acabamos de reflejar, las pacientes de TRA distan bastante de las características de la población general.

Estamos persuadidos que es fundamental conseguir grupos control que sean metodológicamente "comparables". O dicho de otro modo, para poder comparar resultados con un grado de fiabilidad aceptable, los grupos deben ser lo más homogéneos posibles.

La edad materna y la multiplicidad son factores relacionados con un peor resultado perinatal. Muchos estudios no ajustan por edad. Consideramos que la edad es un factor determinante para los resultados perinatales y por eso planteamos un estudio donde los grupos fueran homogéneos en relación a este factor, eliminando desde el inicio el factor de confusión de la edad materna.





## **OBJETIVOS DEL ESTUDIO.**



Como ya hemos expuesto con anterioridad existen múltiples estudios que informan de un peor pronóstico de los niños nacidos mediante TRA. Este peor pronóstico abarca diversos puntos de vista como:

- Mayor incidencia de enfermedades relacionadas con fenómenos de imprinting como los planteados por Laprise (9), Gosden (36), Arnaud (11) y Amor (8).
- Posible asociación entre defectos congénitos y niños nacidos por TRA, disponiéndose de estudios que no encuentran evidencia en este sentido, como los de Bonduelle (27), Anthony (72), Wennerholm (73), Fernandez-Shaw (84) o Ricciarelli (165), y otros que encuentran un incremento en el riesgo de malformaciones comparadas con la concepción espontánea como los de Hanse (74), Lie (75), Rimm (76) y sobretodo El-Chaar (26) o Viot (163, 164).
- Mayores tasas de prematuridad como las publicadas por Sebastiani (19), Helmerhorst (23) o McDonald (162).
- Menor peso al nacimiento como los presentados por McDonald (162), Helmerhorst (23), Sebastiani (19) o Schieve (39).
- Mayores complicaciones obstétricas como la preeclampsia, amenaza de aborto, o diabetes gestacional como los recogidos por Shevell (103) o Sebastiani (19)

Dichos estudios presentan problemas metodológicos, lo que también señalan autores como Cabañas (2), Sanchís Calvo (5) y el GISE (84, 165), como por ejemplo:

- Problemas de diseño: tamaños muestrales pequeños, estudios no controlados, inadecuado protocolo de registro de datos, pobre seguimiento.

- Importantes factores de confusión como la multiplicidad o la edad materna que están directamente asociados con peor resultado perinatal.

Todo ello nos llevó a plantear esta tesis doctoral donde el objetivo principal es evaluar la seguridad de las TRA mediante el análisis de su resultado final, los recién nacidos, controlando el principal factor de confusión, que a nuestro juicio es la edad materna, mediante la elección de una población control ajustada por la variable edad materna con la población caso.

### **Objetivo principal**

- Evaluar los resultados perinatales de los RN procedentes de TRA controlando la edad materna en relación con:
  - Peso de los recién nacidos.
  - Edad gestacional al parto.
  - Tasa de mortinatos.
  - Tasa de malformaciones.

### **Objetivos secundarios**

- Evaluar las complicaciones obstétricas asociadas en la literatura con los embarazos derivados de TRA:
  - Tasa de amenaza de aborto
  - Tasa de amenaza de parto prematuro

- Tasa de diabetes gestacional.
- Tasa de preeclampsia.
- Evaluar el efecto de la multiplicidad sobre dichos resultados mediante procedimientos estadísticos.



## **MATERIAL Y MÉTODOS.**





Para la realización de este trabajo hemos elaborado un estudio observacional retrospectivo mediante una comparativa tipo casos-controles.

### **1. Casos**

En el grupo de los casos hemos recogido todas las gestaciones obtenidas mediante TRA en la Unidad de Medicina de la Reproducción del Hospital Universitario Madrid-Montepíncipe desde el año 2008 hasta el 2012, ambos inclusive.

Se recogieron 645 embarazos de los que nacieron un total de 778 recién nacidos y se realizaron 8 ILES.

### **2. Controles**

El grupo de los controles se obtuvo mediante la búsqueda de una mujer con gestación espontánea que, siendo de la misma edad que la mujer caso, su embarazo fue controlado, su parto asistido y los recién nacidos fueran valorados en nuestro centro, en el mismo mes que la paciente caso.

Se recogieron 577 embarazos de los que nacieron un total de 582 recién nacidos. Por razones obvias, no se registró la proporción de ILES de los embarazos espontáneos.

### **3. Variables a estudio**

Se establecieron las variables a recoger en el estudio, divididas en cualitativas y cuantitativas

### **3.1 Variables cualitativas**

- Técnica aplicada: IAH, ICSI, FIV, TEC.
- Tipo de parto: vaginal, cesárea.
- Diagnóstico de esterilidad: factor femenino, factor masculino, factor tubárico, causas mixtas, esterilidad de origen desconocido (EOD).
- Aborto espontáneo.
- IVE: interrupción voluntaria del embarazo y su causa.
- Malformaciones del recién nacido que fueron clasificadas de acuerdo al WHO ICD 10 code (tabla 9)
- Tipo de gestación: única, múltiple.
- Complicaciones perinatales: amenaza de aborto, amenaza de parto prematuro (APP), diabetes gestacional (DG) y pre-eclampsia.

### **3.2 Variables cuantitativas**

- Edad materna
- Edad gestacional al parto (EG): se consideró prematuro a aquél que naciese por debajo de 37 semanas cumplidas de gestación.
- Peso del recién nacido

## **4. Análisis estadístico**

### **4.1 Procesamiento de los datos**

El procesamiento de los datos se realizó mediante el programa estadístico SPSS 17.0.

En las variables cuantitativas se utilizaron los parámetros de media y desviación típica, mientras que las cualitativas se describieron mediante frecuencia y porcentajes.

Se tomó como significación estadística una  $p < 0.05$ .

### **4.2 Distribución de las variables**

#### *4.2.1 Test de Kolmogorov-Smirnov*

Para comprobar el ajuste a la normalidad de cada una de las variables analizadas en este estudio se usó el test de Kolmogorov-Smirnov para una muestra. Esta prueba compara la función de distribución acumulada observada para una variable, con una distribución teórica normal. La Z de Kolmogorov-Smirnov se calcula a partir de la diferencia mayor (en valor absoluto) entre las funciones de distribución acumulada teórica y observada (166, 167)

### **4.3 Tablas de contingencia**

#### *4.3.1 Prueba Chi-Cuadrado de Pearson*

Mide la asociación entre dos variables cualitativas o categóricas. Se contrasta si ambas variables son o no independientes (166).

## **4.4 Pruebas paramétricas**

### *4.4.1 Prueba T Student*

La prueba T-Student se utiliza para contrastar hipótesis sobre medias en poblaciones con distribución normal. También proporciona resultados aproximados para los contrastes de medias en muestras suficientemente grandes cuando estas poblaciones no se distribuyen normalmente (aunque en este último caso es preferible realizar una prueba no paramétrica).

### *4.4.2 Regresión lineal múltiple*

El análisis de regresión es una técnica estadística de análisis multivariante que estudia las variaciones de una variable cuantitativa continua en función de una o varias variables cuantitativas continuas o dicotómicas. La variable cuya variabilidad se quiere estudiar es la variable dependiente y las variables en función de las cuales varía son las variables independientes (168).

Este tipo de análisis exige que todas las variables incluidas sigan una distribución normal, y que la asociación entre cada una de las variables independientes y la variable dependiente sea de tipo lineal (ya que la ecuación de regresión que proporciona este análisis es de tipo lineal).

## **RESULTADOS.**



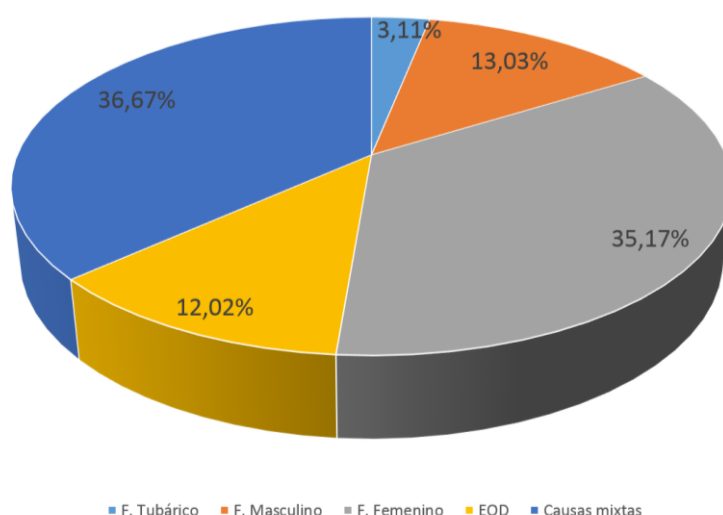
## 1. Análisis descriptivo

### 1.1 CASOS

En el grupo de los casos hemos recogido todas las gestaciones obtenidas mediante TRA en la Unidad de Medicina de la Reproducción del Hospital Universitario Madrid-Montepríncipe desde el año 2008 hasta el 2012, ambos inclusive.

#### 1.1.1 Diagnóstico de la Disfunción reproductiva

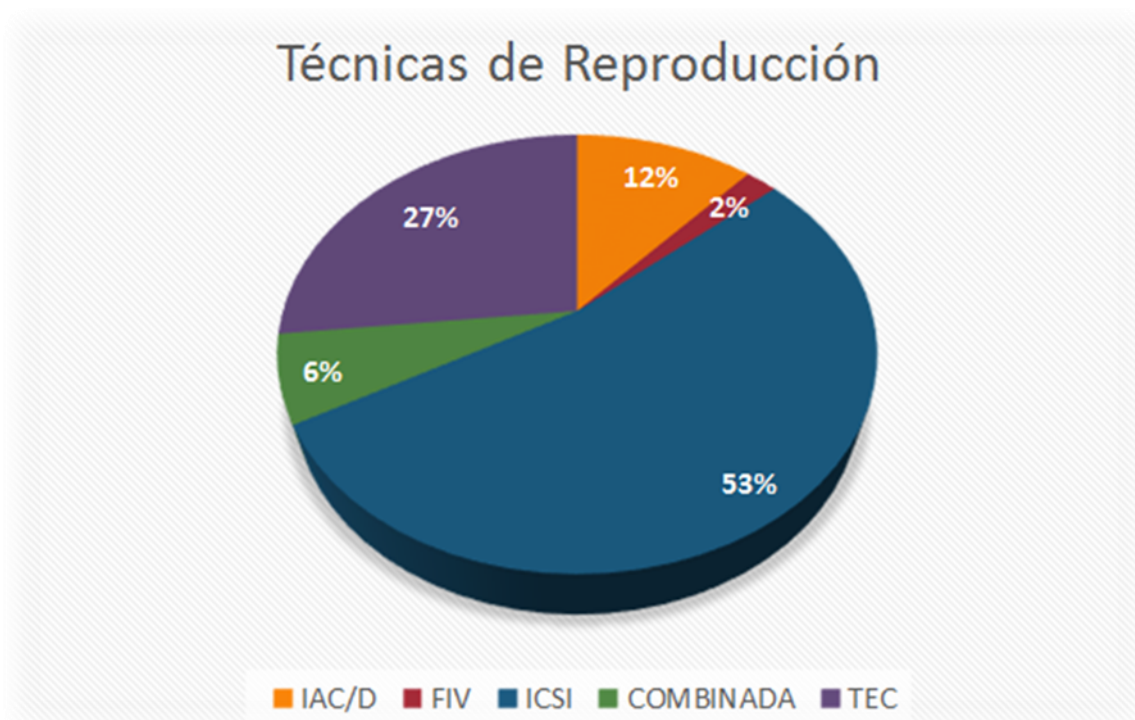
El diagnóstico de subfertilidad de las parejas del grupo de CASOS se estableció en: un 36,6% de causas mixtas, un 35,1% de factor femenino, un 13% de factor masculino, un 12% de esterilidad de causa desconocida (EOD) y un 3,1% de factor tubárico (Gráfico 1).



**Gráfico 1. Diagnósticos de la Disfunción Reproductiva en el Grupo Control**

### 1.1.2 Técnicas de Reproducción asistida.

Las técnicas de reproducción asistida aplicadas en las pacientes del grupo CASOS fueron: un 53,2% ICSI, un 26,7% TEC, un 11,6% IAC/IAD, un 6,4% técnica combinada (FIV-ICSI) y un 2% FIV “clásica” (Gráfico 2).



**Gráfico 2. Técnicas de Reproducción Asistida**

### 1.1.3 Gestaciones

En el grupo CASOS (TRA) se recogieron 645 embarazos, de los cuales un 73,8% fueron gestaciones únicas, un 24,3% gestaciones gemelares y un 1,9% triples.

La edad media materna del global de mujeres del grupo control fue de 36,5 años  $\pm$  3,77.



Agrupando dichas gestaciones según intervalos de edad materna obtuvimos (Tabla 1):

- 16 gestaciones en mujeres menores de 30 años, de las cuales 11 fueron únicas (68,8%), 3 fueron gemelares (18,8%) y 2 triples (12,6%).
- 211 embarazos en pacientes entre 30-34 años: 151 únicas (71,6%), 56 gemelares (26,5%) y 4 triples (1,9%).
- 297 gestaciones en pacientes entre 35-39 años: 222 únicas (74,7%), 70 gemelares (23,6%) y 5 triples 1,7%.
- 121 embarazos en mujeres mayores de 40 años: 94 únicas (77,7%), 26 gemelares (21,5%) y 1 triple (0,8%).

| <i>Partos únicos y múltiples según grupo de edad materna</i> |                     |                   |                   |                    |
|--|---------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| <b>EDAD</b>  | <b>&lt; 30 años</b> | <b>30-34 años</b> | <b>35-39 años</b> | <b>&gt;40 años</b> |
| <b>UNICA</b><br>73,9%  | 11<br>(68,8%)       | 151<br>(71,6%)    | 222<br>(74,7%)    | 94<br>(77,7%)      |
| <b>GEMELAR</b><br>24,3%                                      | 3<br>(18,8%)        | 56<br>(26,5%)     | 70<br>(23,6%)     | 26<br>(21,5%)      |
| <b>TRIPLES</b><br>1,7%                                       | 2<br>(12,6%)        | 4<br>(1,9%)       | 5<br>(1,7%)       | 1<br>(0,8%)        |
| <b>TOTAL</b>   | 16                  | 211               | 297               | 121                |

**Tabla 1. Partos únicos y múltiples según grupo de edad materna**

#### 1.1.4 Prematuridad

La tasa global de prematuridad en el grupo CASOS (TRA) fue del 18,2%. El 81,3% nacieron entre la semana 37 y la 41, y sólo el 0,5% nacieron más allá de la semana 42.

Si desglosamos dichos resultados según edad materna, en menores de 30 años hubo una tasa de prematuridad del 18,8% mientras que el 81,3% nacieron a término. En pacientes

entre 30-34 años la prematuridad fue del 21,8%, el 77,3% nacieron a término y sólo el 0,9% se prolongó más de 42 semanas. Las pacientes de 35 a 39 años presentaron una prematuridad del 17,2%, naciendo el 82,8% a término. En mayores de 40 años la prematuridad fue del 14,16%, el 85% nacieron a término y el 0,84% se prolongó más de 42 semanas (Tabla 2).

| <i>Prematuridad según edad materna</i> |                     |                   |                   |                    |
|--|---------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| <b>EDAD</b>                            | <b>&lt; 30 años</b> | <b>30-34 años</b> | <b>35-39 años</b> | <b>&gt;40 años</b> |
| <b>PRETÉRMINO</b><br>18,2%             | 3<br>(18,8%)        | 46<br>(21,8%)     | 51<br>(17,2%)     | 16<br>(14,16%)     |
| <b>37-41 SEM</b><br>81,3%              | 13<br>(81,3%)       | 163<br>(77,3%)    | 246<br>(82,8%)    | 96<br>(85%)        |
| <b>≥ 42 SEM</b><br>0,5%                | 0<br>(0%)           | 2<br>(0,9%)       | 0<br>(0%)         | 1<br>(0,84%)       |
| <b>TOTAL</b>                           | 16                  | 211               | 297               | 113                |

**Tabla 2. Prematuridad según edad materna**

Si analizamos estos datos en función de la multiplicidad del parto encontramos una tasa de prematuridad en gestación única de 6,6%, en embarazo gemelar de 49,7% y en triples de 72,7%, por lo que el 92,8% de las gestaciones únicas nacieron a término frente sólo al 50,3% de los gemelares y el 27,3% de los triples (Tabla 3).

| <i>Prematuridad según multiplicidad del parto</i> |                |                |                |                |
|---|----------------|----------------|----------------|----------------|
|   | <b>UNICA</b>   | <b>GEMELAR</b> | <b>TRIPLES</b> | <b>TOTAL</b>   |
| <b>PRETÉRMINO</b>                                 | 31<br>(6,6%)   | 77<br>(49,7%)  | 8<br>(72,7%)   | 116<br>(18,2%) |
| <b>37-41 SEM</b>                                  | 437<br>(92,8%) | 78<br>(50,3%)  | 3<br>(27,3%)   | 518<br>(81,3%) |
| <b>≥ 42 SEM</b>                                   | 3<br>(0,6%)    | 0<br>(0%)      | 0<br>(0%)      | 3<br>(0,5%)    |
| <b>TOTAL</b>                                      | 471            | 155            | 11             | 637            |

**Tabla 3. Prematuridad según multiplicidad del parto**

Analizando estos datos según la Técnica de Reproducción Asistida aplicada, obtuvimos que, con independencia de la técnica, la mayoría nacieron a término.

En IAC/D hubo un 16,2% de prematuridad y un 83,8% de nacidos a término. En FIV un 15,4% de prematuridad y un 84,6% de nacidos a término. En ICSI un 20% prematuridad, un 79,4% a término y un 0,6% de más de 42 semanas. En TEC un 15,3% de prematuridad, un 84,1% a término y un 0,6% más de 42 semanas. En técnica combinada (FIV-ICSI) un 19,5% prematuridad y un 80,5% a término (Tabla 4).

| <i>Resultados gestacionales según tipo de técnica</i> |               |               |                |                |               |
|---|---------------|---------------|----------------|----------------|---------------|
|   | <b>IAC/D</b>  | <b>FIV</b>    | <b>ICSI</b>    | <b>TEC</b>     | <b>COMB</b>   |
| <b>PRETÉRMINO</b>                                     | 12<br>(16,2%) | 2<br>(15,4%)  | 68<br>(20%)    | 26<br>(15,3%)  | 8<br>(19,5%)  |
| <b>37-41 SEM</b>                                      | 62<br>(83,8%) | 11<br>(84,6%) | 269<br>(79,4%) | 143<br>(84,1%) | 33<br>(80,5%) |
| <b>≥ 42 SEM</b>                                       | 0<br>(0%)     | 0<br>(0%)     | 2<br>(0,6%)    | 1<br>(0,6%)    | 0<br>(0%)     |
| <b>TOTAL PARTOS</b>                                   | 74            | 13            | 339            | 170            | 41            |

**Tabla 4. Resultados gestacionales según tipo de técnica**

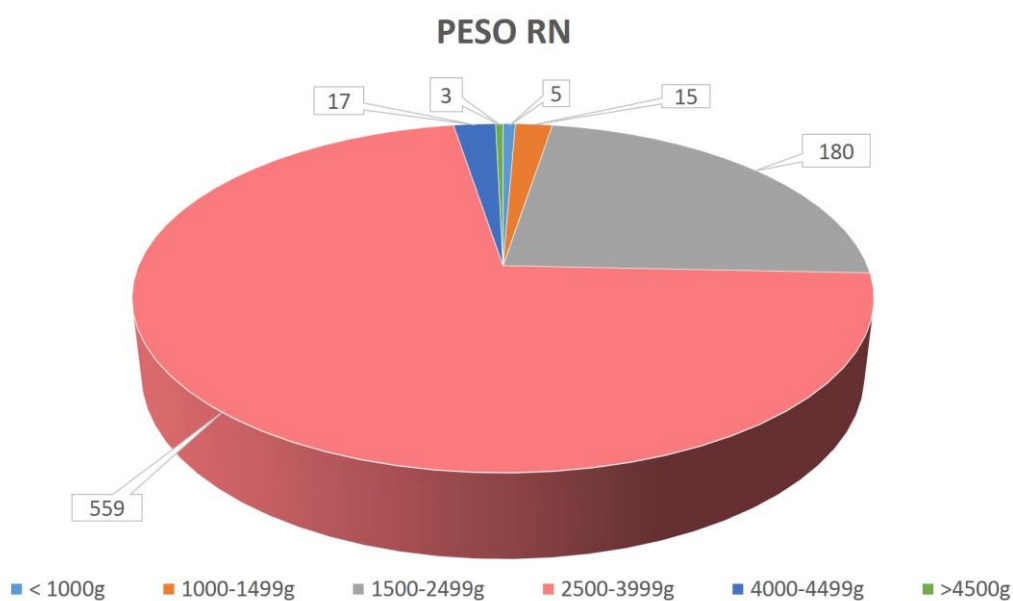
#### 1.1.5 Complicaciones obstétricas

En el grupo de CASOS el 9,6% de las gestaciones presentaron una amenaza de aborto, el 4,3% desarrollaron una diabetes gestacional (DG), el 3,5% presentó una amenaza de parto prematuro (APP) y en el 2,5% la gestación se complicó con una preeclampsia.

### 1.1.6 Peso de los recién nacidos

De los 778 RN (Gráfico 3):

- 559 (71,9%) presentaron un peso entre 2500-3999g
- 180 (23,1%) entre 1500-2499g
- 17 (2,2%) entre 4000-4499g
- 15 (1,9%) entre 1000-1499g
- 5 (0,6%) estaban por debajo de 1000g
- 2 (0,3%) estuvieron por encima de 4500g



**Gráfico 3. Peso de los Recién nacidos**

Si analizamos estos datos en función de la multiplicidad del parto encontramos que en gestaciones únicas sólo el 0,2% estuvieron por debajo de 1000g, el 0,4% entre 1000-1499g, el 5,6% entre 1500-2499g, el 89,9% entre 2500-3999g, el 3,4% entre 4000-4499g y sólo el 0,4% por encima de 4500g. En gestaciones gemelares el 0,7% estaba

por debajo de 1000g, el 4% entre 1000-1499g, el 54% entre 1500-2499g y el 41,2% entre 2500-3999g. En gestaciones triples el 22,2% estaban por debajo de 1000g, el 22,2% entre 1000-1499g y el 55,6% entre 1500-2499g (Tabla 5).

| <i>Peso de los recién nacidos según multiplicidad del parto</i> |                |                |               |                |
|---|----------------|----------------|---------------|----------------|
| <b>PESO RN</b>  | <b>UNICA</b>   | <b>GEMELAR</b> | <b>TRIPLE</b> | <b>TOTAL</b>   |
| <b>&lt; 1000g</b>   | 1<br>(0,2%)    | 2<br>(0,7%)    | 2<br>(22,2%)  | 5<br>(0,6%)    |
| <b>1000-1499g</b>   | 2<br>(0,4%)    | 11<br>(4%)     | 2<br>(22,2%)  | 15<br>(1,9%)   |
| <b>1500-2499g</b>   | 28<br>(5,6%)   | 147<br>(54%)   | 5<br>(55,6%)  | 180<br>(23,1%) |
| <b>2500-3999g</b>   | 447<br>(89,9%) | 112<br>(41,2%) | 0<br>(0%)     | 559<br>(71,9%) |
| <b>4000-4499g</b>   | 17<br>(3,4%)   | 0<br>(0%)      | 0<br>(0%)     | 17<br>(2,2%)   |
| <b>≥ 4500g</b>  | 2<br>(0,4%)    | 0<br>(0%)      | 0<br>(0%)     | 2<br>(0,3%)    |
| <b>TOTAL</b>  | 497            | 272            | 9             | 778            |

**Tabla 5. Peso de los RN según multiplicidad**

### 1.1.7 Mortinatos

La tasa de mortinatos en el grupo de CASOS fue del 0,38%, registrándose un total de 3 fetos muertos. Si analizamos su distribución según multiplicidad del parto vemos que fue mayor en partos múltiples. En gestaciones únicas hubo solamente 1 caso, lo que representa un 0,2%, mientras que en gestaciones gemelares hubo 2, lo que representa un 0,71% (Tabla 6).

| <i>Incidencia de recién nacidos muertos según multiplicidad</i> |               |                  |                |              |
|---|---------------|------------------|----------------|--------------|
|   | <b>Únicos</b> | <b>Gemelares</b> | <b>Triples</b> | <b>Total</b> |
| <b>Mortinatos</b>   | 1 (0,2%)      | 2 (0,71%)        | 0 (0%)         | 3 (0,38%)    |
| <b>Total RN</b>   | 497           | 272              | 9              | 778          |

**Tabla 6. Incidencia de RN muertos según multiplicidad**

### 1.1.8 Malformaciones congénitas

En el grupo de CASOS encontramos 5 recién nacidos con algún tipo de defecto congénito al nacimiento, lo que representa un 0,64%. Dicha distribución, según multiplicidad, se reparte en 1 acaecido en una gestación única (0,2%) y 4 en gemelares (1,47%). Esto representa que la frecuencia de malformaciones fue mayor en partos múltiples (Tabla 7).

| <i>Incidencia de malformaciones congénitas según multiplicidad</i> |              |                |                |              |
|--|--------------|----------------|----------------|--------------|
|  | <b>ÚNICA</b> | <b>GEMELAR</b> | <b>TRIPLES</b> | <b>TOTAL</b> |
| <b>Malformaciones</b>  | 1 (0,2%)     | 4 (1,47%)      | 0 (0%)         | 5 (0,64%)    |
| <b>Total RN</b>  | 497          | 272            | 9              | 778          |

**Tabla 7. Incidencia de RN con malformaciones según multiplicidad**

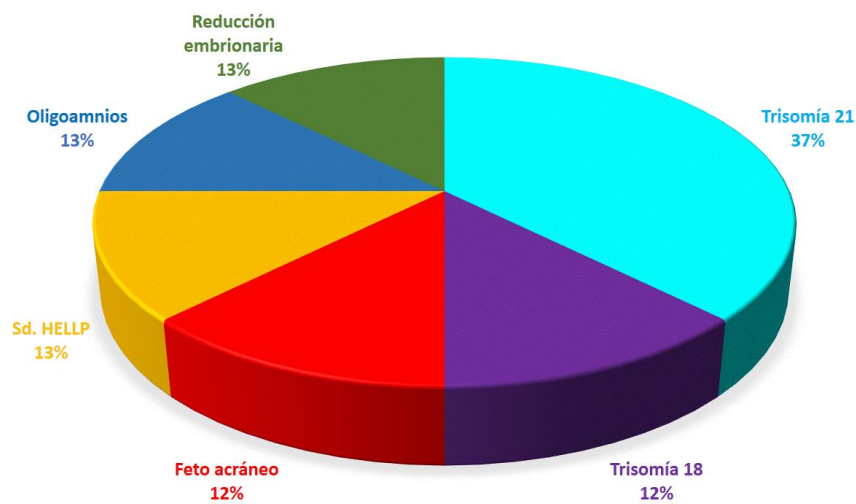
Si analizamos la distribución de los defectos congénitos según tipo de técnica aplicada, encontramos que 4 derivaban de ICSI y 1 de TEC (Tabla 8).

| <i>Incidencia de recién nacidos con malformaciones congénitas según TRA</i> |              |            |             |            |             |
|---|--------------|------------|-------------|------------|-------------|
|   | <b>IAC/D</b> | <b>FIV</b> | <b>ICSI</b> | <b>TEC</b> | <b>COMB</b> |
| <b>Malformaciones</b>   | 0            | 0          | 4           | 1          | 0           |
| <b>Total RN</b>   | 87           | 15         | 421         | 205        | 50          |

**Tabla 8. Incidencia de RN con malformaciones según técnica**

Los defectos congénitos hallados en los recién nacidos fueron: una trisomía 13, un canal atrio-ventricular, un linfangioma, una comunicación interventricular (CIV) y una polisindactilia (Tabla 9)

En el grupo de CASOS se registró una tasa de interrupción legal de la gestación por defecto congénito del 0.77% que corresponden a 5 ILEs. Se produjeron 3 más por distintas patologías. Los ILES por defecto congénito correspondieron a 3 trisomías 21, una trisomía 18, un feto acráneo. Los ILES por otras patologías fueron un síndrome de HELLP grave antes de semana 22, una rotura prematura de membranas en segundo trimestre con oligoamnios severo y una reducción embrionaria tardía por expreso deseo de la paciente (Gráfico 4) (Tabla 9).



**Gráfico 4. ILEs del grupo control (TRA)**

|  |  |
|--|--|
| <b>Malformaciones congénitas del sistema nervioso</b>                            | <b>Q00.0</b> Anencefalia   |
| <b>Malformaciones congénitas del sistema circulatorio</b>                        | <b>Q21.0</b> Defecto del tabique interventricular<br><b>Q21.2</b> Defecto del tabique atrioventricular |
| <b>Malformaciones congénitas y deformaciones del sistema músculo-esquelético</b> | <b>Q70.4</b> Polisindactilia   |
| <b>Otras malformaciones congénitas</b>   | <b>Q82</b> Linfedema hereditario   |
| <b>Anomalías cromosómicas</b>  | <b>Q90</b> Síndrome de Down<br><b>Q91</b> Trisomía 18<br><b>Q91.4</b> Trisomía 13                      |

**Tabla 9. Malformaciones registradas en el GRUPO CASOS (TRA) según ICD-10 WHO code.**



## 1.2 CONTROLES

El grupo de los controles se obtuvo mediante la búsqueda de una mujer con gestación espontánea que, siendo de la misma edad que la mujer caso, su embarazo fue controlado, su parto asistido y los recién nacidos fueran valorados en nuestro centro, en el mismo mes que la paciente caso.

Se recogieron 577 embarazos de los que nacieron un total de 582 recién nacidos. Por razones obvias, no se registró la proporción de ILES de los embarazos espontáneos.

### 1.2.1 Gestaciones

En el grupo CONTROL se registraron un 99,1% de gestaciones únicas. La edad media materna fue de 36,2 años  $\pm$  3,4.

Las gestaciones únicas correspondieron a 19 en mujeres <30 años (3,3%), 192 en mujeres entre 30-34 años (33,6%), 273 en mujeres entre 35-39 años (47,7%) y 88 en mujeres  $\geq$ 40 años (15,4%) (Tabla 10).

Las gestaciones múltiples (gemelares) fueron 2 en mujeres de 30-34 años, 1 en mujeres de 35-39 años y 2 en mujeres  $\geq$ 40 años. No se encontró ningún caso en mujeres menores de 30 años (Tabla 10).

| <i>Partos únicos y múltiples según grupo de edad materna</i> |                     |                   |                   |                    |
|--|---------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| <b>EDAD</b>  | <b>&lt; 30 años</b> | <b>30-34 años</b> | <b>35-39 años</b> | <b>&gt;40 años</b> |
| <b>UNICA</b><br>99,1%  | 19<br>(3,3%)        | 192<br>(33,6%)    | 273<br>(47,7%)    | 88<br>(15,4%)      |
| <b>GEMELAR</b><br>0,9%                                       | 0<br>(0%)           | 2<br>(40%)        | 1<br>(20%)        | 2<br>(40%)         |
| <b>TOTAL</b>   | 19                  | 194               | 274               | 90                 |

**Tabla 10. Partos únicos y múltiples según edad materna**

### 1.2.2 Prematuridad

En el grupo CONTROL la edad gestacional media al parto fue de 39,1 semanas  $\pm$  1,6.

La tasa global de prematuridad fue del 7,1%, naciendo la mayoría a término (92,5%) y sólo en el 0,3% se prolongó más allá de la semana 42. Si desglosamos estos datos según grupos de edad materna encontramos que entre las menores de 30 años hubo una prematuridad de 5,3% y el resto nació a término (94,7%). Entre las mujeres de 30-34 años la prematuridad fue de 8,8% y el resto nacieron a término (91,2%). En las pacientes entre 35-39 años la prematuridad ascendió a 6,9%, la mayoría nacieron a término (92,7%) y sólo el 0,4% se prolongó más de 42 semanas. En el grupo de mujeres  $\geq$  40 años la prematuridad fue de 4,4%, la mayoría fueron a término (94,4%) y solo un 1,1% se prolongó más allá de la semana 42 (Tabla 11).

| <i>Prematuridad según edad materna</i>  |                     |                   |                   |                    |
|---|---------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| <b>EDAD</b>                             | <b>&lt; 30 años</b> | <b>30-34 años</b> | <b>35-39 años</b> | <b>&gt;40 años</b> |
| <b>PRETÉRMINO</b><br>7.1%               | 1<br>(5,3%)         | 17<br>(8,8%)      | 19<br>(6,9%)      | 4<br>(4,4%)        |
| <b>37-41 SEM</b><br>92.5%               | 18<br>(94,7%)       | 177<br>(91,2%)    | 254<br>(92,7%)    | 85<br>(94,4%)      |
| <b><math>\geq</math> 42 SEM</b><br>0.3% | 0<br>(0%)           | 0<br>(0%)         | 1<br>(0,4%)       | 1<br>(1,1%)        |
| <b>TOTAL</b>                            | 19                  | 194               | 274               | 90                 |

**Tabla 11. Prematuridad según grupos de edad materna**

De las 5 gestaciones múltiples 4 tuvieron un parto prematuro (antes de la semana 37 de gestación) lo que representaría el 80% y sólo 1 de ellas dio a luz a término.

### 1.2.3 Complicaciones obstétricas

Las gestaciones del grupo CONTROL presentaron un 7,5% de amenaza de aborto, un 5,2% de diabetes gestacional, un 3,5% de amenaza de parto prematuro y un 1% de preeclampsia.

### 1.2.4 Peso de los recién nacidos

En el grupo CONTROL el peso medio de los recién nacidos fue de  $3.222,2g \pm 473,5$ .

Del total de 582 recién nacidos el 90% presentaron un peso entre 2500-3999g, el 5,2% pesaron entre 1500-2499g, el 3,6% pesaron entre 4000-4499g, el 0,7% pesaron  $\geq 4500g$ , el 0,3% pesaron  $<1000g$  y sólo el 0,2% pesaron entre 1000-1499g.

Si analizamos los datos diferenciando entre gestación única o múltiple encontramos que entre las gestaciones únicas la mayoría, el 91,3% presentó un peso entre 2500-3999g, seguido del 3,8% que estaba entre 1500-2499g, el 3,7% entre 4000-4499g, el 0,7%  $\geq 4500g$ , el 0,3%  $< 1000g$  y finalmente el 0,2% estaba entre 1000-1499g (Tabla 12).

Los 10 niños procedentes de gestaciones múltiples presentaron en su mayoría un peso comprendido entre 1500-2499g (80%) y el resto un peso entre 2500-3999g (20%) (Tabla 12).

| <i>Peso de los recién nacidos según multiplicidad del parto</i> |                |                |              |
|---|----------------|----------------|--------------|
| <b>PESO RN</b>  | <b>UNICA</b>   | <b>GEMELAR</b> | <b>TOTAL</b> |
| <b>&lt; 1000g</b>   | 2<br>(0,3%)    | 0<br>(0%)      | 2            |
| <b>1000-1499g</b>   | 1<br>(0,2%)    | 0<br>(0%)      | 1            |
| <b>1500-2499g</b>   | 22<br>(3,8%)   | 8<br>(80%)     | 30           |
| <b>2500-3999g</b>   | 522<br>(91,3%) | 2<br>(20%)     | 524          |
| <b>4000-4499g</b>   | 21<br>(3,7%)   | 0<br>(0%)      | 21           |
| <b>≥ 4500g</b>  | 4<br>(0,7%)    | 0<br>(0%)      | 4            |
| <b>TOTAL</b>  | <b>572</b>     | <b>10</b>      | <b>582</b>   |

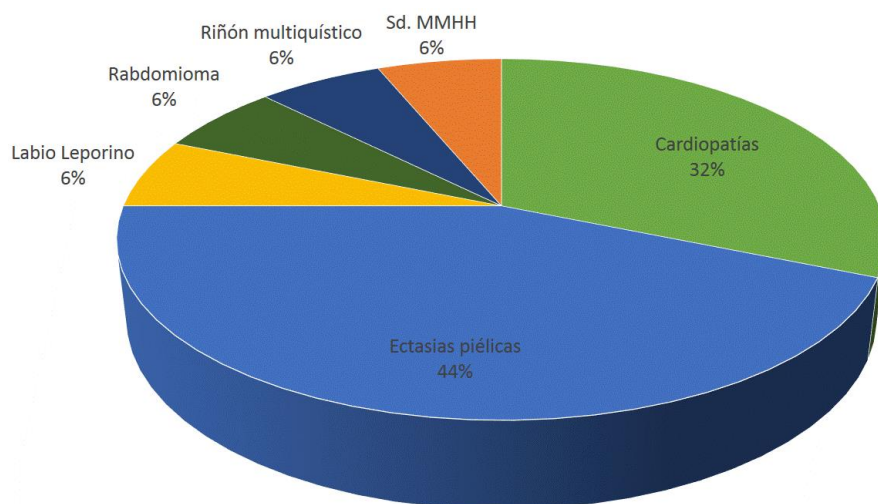
**Tabla 12. Peso de los recién nacidos según multiplicidad**

#### 1.2.5 Mortinatos

En el grupo de los CONTROLES se produjo el nacimiento de 4 fetos muertos, lo que supondría una tasa del 0,69%. El 25% procedía de una gestación múltiple.

#### 1.2.6 Malformaciones congénitas

En este grupo se diagnosticaron 17 defectos congénitos en los recién nacidos que correspondieron a 2 cardiopatías sin especificar, 1 Trasposición de grandes arterias, 1 Síndrome de Down, 2 CIV, 7 ectasias piélicas, 1 labio leporino, 1 rabdomioma cardíaco, 1 riñón multiquístico y 1 Síndrome de megavejiga microcolon hipoperistaltismo (Gráfico 5) (Tabla 9).



**Gráfico 5. Defectos congénitos en los RN del grupo CONTROLES**

|   |  |
|---|--|
| <b>Malformaciones congénitas del sistema circulatorio</b> | <b>Q20</b> Malformaciones congénitas de las cámaras cardiacas y sus conexiones<br><b>Q20.3</b> Conexión discordante ventrículo arterial<br><b>Q21.0</b> Defecto del tabique interventricular<br><b>Q24.8</b> Otras malformaciones congénitas cardiacas especificas |
| <b>Fisura labial y fisura palatina</b>                    | <b>Q37</b> Fisura de paladar duro con fisura labial  |
| <b>Malformaciones congénitas del sistema urinario</b>     | <b>Q61.3</b> Riñón poliquistico<br><b>Q62</b> Hidronefrosis congénita  |
| <b>Otras malformaciones congénitas</b>                    | <b>Q87</b> Síndromes malformativos que afectan a múltiples órganos   |
| <b>Anomalías cromosómicas</b>                             | <b>Q90</b> Síndrome de Down  |

**Tabla 13. Malformaciones registradas en el GRUPO CONTROL (TRA) según ICD-10 WHO code.**

## 2. Análisis comparativo

Tras el análisis comparativo entre ambos grupos no encontramos diferencias significativas en cuanto a la edad de las pacientes.

La edad media de las pacientes en el grupo CASOS fue de 36,5 años  $\pm$  3,77 y en el grupo CONTROL 36,25 años  $\pm$  3,43 ( $p = 0,231$ ) (Tabla 14).

No se encontraron diferencias significativas en cuanto a las complicaciones de la gestación, ni en amenaza de aborto (9,6% vs 7,5%  $p = 0,127$ ), ni en el desarrollo de diabetes gestacional (4,3% vs 5,2%  $p = 0,291$ ), ni en la amenaza de parto prematuro (3,5% vs 3,5%  $p = 0,559$ ), ni en el desarrollo de preeclampsia durante la gestación (2,5% vs 1%;  $p = 0,061$ ) (Tabla 13).

| <i>Complicaciones perinatales</i> |              |                  |          |
|-----------------------------------|--------------|------------------|----------|
|                                   | <b>CASOS</b> | <b>CONTROLES</b> | <b>p</b> |
| <b>Amenaza de aborto</b>          | 9,6%         | 7,5%             | 0,127    |
| <b>DG</b>                         | 4,3%         | 5,2%             | 0,291    |
| <b>APP</b>                        | 3,5%         | 3,5%             | 0,559    |
| <b>Preeclampsia</b>               | 2,5%         | 1%               | 0,061    |

**Tabla 14. Complicaciones perinatales**

Tampoco se encontraron diferencias significativas en el número de mortinatos. En el grupo de CASOS se registraron 3 y en el CONTROL 4 ( $p = 0,616$ ) (Tabla 14).

Sí se encontraron diferencias significativas en relación a la edad gestacional al parto. En el grupo CASOS la edad media al parto fue 38,4 semanas  $\pm$  2,2 y en el grupo CONTROL fue de 39,2 semanas  $\pm$  1,7 ( $p < 0,0001$ ) (Tabla 14).

También hubo diferencias significativas en relación al peso de los recién nacidos. En el grupo CASOS el peso medio del recién nacido fue de 2.883g  $\pm$  642 mientras que en el grupo CONTROL fue de 3.222g  $\pm$  474 ( $p < 0,0001$ ) (Tabla 14).

Otra diferencia significativa que se encontró fue en relación a la tasa de defecto congénito. Se hallaron 5 en el grupo de los casos frente a 17 en el grupo de los controles ( $p = 0,003$ ) (Tabla 14).

| <i>Análisis comparativo</i> |                      |                      |           |
|-----------------------------|----------------------|----------------------|-----------|
|                             | <b>CASOS</b>         | <b>CONTROLES</b>     | <b>p</b>  |
| <b>Edad madre</b>           | 36,5 años (3,77)     | 36,25 años (3,43)    | p = 0,231 |
| <b>EG parto</b>             | 38,45 semanas (2,23) | 39,17 semanas (1,69) | p < 0,001 |
| <b>Peso RN</b>              | 2883g (642)          | 3222g (474)          | p < 0,001 |
| <b>Malformaciones</b>       | 5                    | 17                   | p = 0,003 |
| <b>Mortinatos</b>           | 3                    | 4                    | p = 0,616 |

**Tabla 15. Análisis comparativo**

A continuación se realizó un segundo análisis mediante una regresión lineal multivariable para tratar de discriminar los posibles sesgos concurrentes.

Este análisis objetivó que la edad, en nuestro estudio, no estaba actuando como factor de confusión. Nosotros habíamos realizado la elección de los controles en función de la edad de los casos porque queríamos que no hubiese diferencias significativas en la edad y así lo logramos.

Sin embargo, como era presumible, encontramos que en nuestro estudio la multiplicidad sí estaba actuando como factor de confusión. Si eliminábamos dicho factor de confusión

dejaban de existir diferencias significativas en el peso al nacimiento y la edad gestacional al parto (Tablas 16 y 17).

| <i>Análisis comparativo II. Peso al nacimiento</i> |          |                     |          |
|--|----------|---------------------|----------|
|  | <b>B</b> | <b>Error típico</b> | <b>p</b> |
| <b>Regresión simple</b>                            |          |                     |          |
| <b>TRA</b>   | -339     | 31,6                | < 0,001  |
| <b>Cte.</b>  | 3222g    | 23,8                |          |
| <b>Regresión múltiple</b>                          |          |                     |          |
| <b>TRA</b>   | -42      | 28,8                | 0,141    |
| <b>Multiplicidad</b>                               | -863     | 34,7                | <0,001   |
| <b>Cte.</b>  | 3237g    | 19,8                |          |

**Tabla 16. Análisis comparativo II. Peso al nacimiento**

| <i>Análisis comparativo III. Edad gestacional al parto</i> |          |                     |          |
|--|----------|---------------------|----------|
|  | <b>B</b> | <b>Error típico</b> | <b>p</b> |
| <b>Regresión simple</b>                                    |          |                     |          |
| <b>TRA</b>   | -0,7     | 0,1                 | < 0,001  |
| <b>Cte.</b>  | 39,1 sem | 0,08                |          |
| <b>Regresión múltiple</b>                                  |          |                     |          |
| <b>TRA</b>   | -0,024   | 0,111               | 0,827    |
| <b>Multiplicidad</b>                                       | -2,708   | 0,158               | <0,001   |
| <b>Cte.</b>  | 39,2sem  | 0,075               |          |

**Tabla 17. Análisis comparativo III. EG al parto**



## **DISCUSIÓN.**



El objetivo de este proyecto era recabar información sobre la seguridad de los tratamientos en cuanto a su resultado final, el recién nacido.

## **1. Gestaciones**

En una visión general, nuestros datos concuerdan con lo publicado por el Grupo de Salud Embrionaria (GISE) en 2013, donde se analizan los resultados perinatales de 14.119 embarazos obtenidos por TRA (165).

La tasa de gestación única se sitúa por encima del 70%, si bien nuestra tasa de gestaciones triples parece algo elevada, situándose en un 1,9%. Analizando nuestros datos, obtuvimos 4 triples procedentes de inseminación a pesar de cumplir con las recomendaciones de la Sociedad Española de Fertilidad (SEF), siendo el máximo aceptado para proceder a la descarga ovulatoria la presencia de 3 folículos maduros. Los 8 restantes procedieron de técnicas de FIV-ICSI. En 3 de ellos se transfirieron 3 embriones de calidades C y D (de la clasificación de ASEBIR) a mujeres de entre 39 y 42 años con fracasos de tratamiento previos. Este hecho nos conduce nuevamente a realizar una reflexión autocrítica sobre cómo poder reducir la tasa de gestación múltiple para mejorar los resultados perinatales. Así Gelbaya y colaboradores proponen la transferencia de un embrión único para reducir la tasa de gestación múltiple sin que ello comprometa la tasa de nacido vivo (148, 155). En nuestra unidad la tasa global de transferencia selectiva de embrión único es de un 17%, debido a que la edad media de las mujeres que acuden a nuestra unidad se encuentra por encima de los 35 años. En los datos del presente estudio fue de 36,5 años. Estas mujeres perciben que su tiempo reproductivo se está agotando y para ellas el embarazo gemelar no es un fracaso de la

técnica, sino que lo contemplan como algo deseable, como también apuntan Gleicher y colaboradores (30).

Los 5 embarazos triples restantes se trataron de transferencias de 2 embriones que presentaron una división espontánea de uno de los mismos. Esto está en consonancia con lo publicado en la literatura, siendo conocido que determinados procedimientos de laboratorio como el hatching asistido o la manipulación de la zona pelúcida del embrión pueden favorecer su división espontánea y el consiguiente incremento en la tasa de gestación múltiple (17, 93-95).

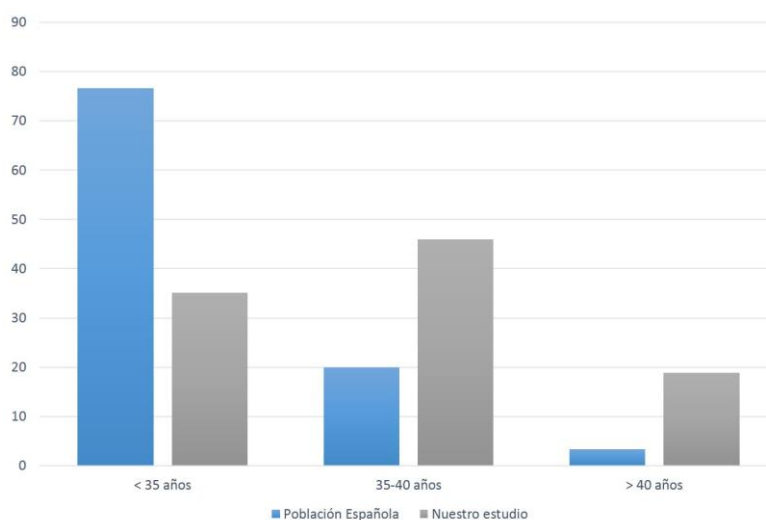
Si comparamos con la base de datos perinatales publicada por la SEGO en 2006 a nivel de población española, las tasas de gestación múltiple se encuentran por debajo de un 3% (86), lo que sitúa a las TRA como la principal responsable del incremento de las gestaciones múltiples, como señalan múltiples autores (2, 23, 30, 82, 165). Como es bien conocido, la multiplicidad es un factor reconocido de peor resultado perinatal por lo que nosotros coincidimos en pensar que podría explicar parte de los peores resultados atribuidos a los niños nacidos mediante TRA.

Si analizamos la distribución por edad a nivel de población española encontramos que el 3,2% de los partos acaecen en mujeres de menos de 20 años, el 73,4% entre 20-35 años, el 20% entre 35-40 años y sólo el 3,4% se producen en mujeres de más de 40 años (164). En nuestros datos sólo el 2,4% de las pacientes estaban por debajo de los 30 años, el 32,7% estaban entre 30-34 años, el 46% entre 35-39 años y el 18,9% eran mujeres mayores de 40 años. Esta, se trata a nuestro juicio, de una diferencia muy notable entre los embarazos obtenidos por TRA y los espontáneos. Mientras en la población española más del 70% de los partos se dan en mujeres menores de 35 años, en nuestro trabajo, las pacientes sometidas a TRA fueron, en un 65%, mayores de 35 años (Gráfico 6).

Esto sitúa a la edad entre los factores más determinantes de peor resultado perinatal en las pacientes sometidas a TRA. Por eso realizamos una selección de las pacientes **CONTROLES** en función de la edad, con el fin de que ambos grupos fueran comparables en relación a la misma.

En nuestros grupos de estudio **CASOS-CONTROLES** no hubo diferencias significativas en relación a la edad de las pacientes. Este factor dista mucho de lo publicado en la literatura donde, en la mayoría de los estudios, se encuentra una mayor edad en el grupo sometido a TRA (5, 18, 19, 26, 27, 29,109).

Coincidimos con la revisión que publicó Cabañas en 2009. Los estudios que evalúan los resultados perinatales de los niños nacidos mediante TRA tienen limitaciones y no están bien diseñados. Lo que hace que existan sesgos que pueden llevarnos a conclusiones erróneas. Nuestro estudio cumple el objetivo principal, que era comparar los resultados entre grupos homogéneos por edad, consiguiendo así eliminar el factor edad como influencia en los resultados perinatales y, tras esto, lo que obtuvimos fue que el factor determinante fundamental fue la multiplicidad. Esto también coincide con lo señalado por múltiples investigadores (2, 23, 30, 82, 165).



**Gráfico 6. Gestaciones según edad materna**

## 2. Prematuridad

Al analizar nuestros resultados en relación a las tasas de prematuridad, nuestros datos son muy parejos a los descritos por el GISE en 2010 y 2013 (84, 165).

Los dos estudios del GISE señalan que más del 70% de las gestaciones procedentes de TRA nacen a término, con independencia del grupo de edad materna (84, 165). En nuestros datos tuvimos un 80% de partos a término, con independencia de la edad materna.

La tasa de prematuridad en gestación única que presentaron nuestras pacientes de TRA fue del 6,6% y la del grupo CONTROL fue del 7,1%. Esto se sitúa incluso por debajo de lo publicado por la SEGO para la población española en 2006 (86), que fue del 9,47% (Gráfico 7).

Al igual que lo descrito por el GISE (84, 165), la mayoría de las mujeres cuyos embarazos provienen de TRA dan a luz a término, con independencia de la técnica aplicada. En los estudios del GISE (84, 165) más del 70% de los partos fueron a término y en nuestro caso un 80% de los mismos.

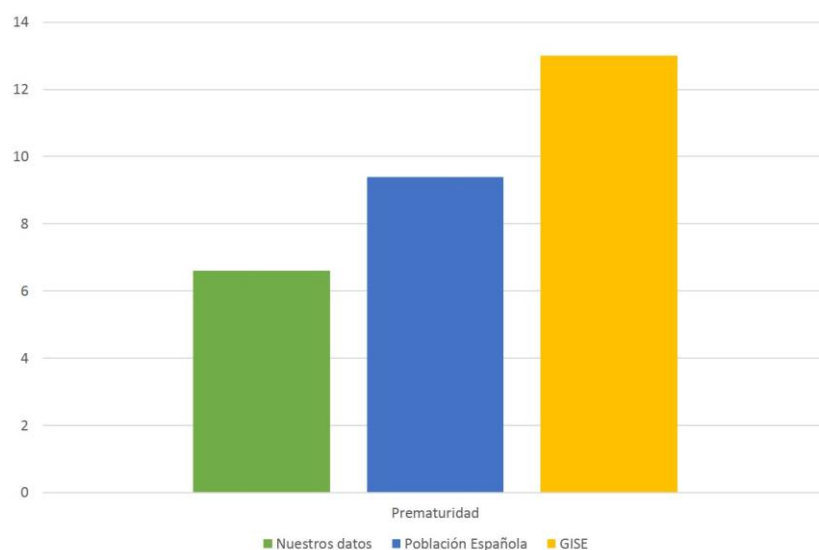
Cuando realizamos un primer análisis comparativo de nuestros casos versus nuestros controles, encontramos diferencias significativas en lo que respecta a prematuridad. Nuestras pacientes CASOS finalizaron su gestación antes que las pacientes CONTROLES, lo que coincide con lo expuesto por autores como Sebastiani (19), Helmerhorst (23) y McDonald (162).

Pero quisimos realizar un segundo análisis multivariable para analizar si la multiplicidad estaba actuando como factor de confusión sobre nuestros resultados. Y así fue. Si eliminábamos el factor “gestación múltiple”, desaparecían las diferencias significativas entre ambos grupos. De esto se infiere que, al menos en nuestro estudio, la

prematuridad estaba condicionada por la multiplicidad y no por las TRA de forma intrínseca. Esta misma conclusión fue también puesta de manifiesto por Sanchís Calvo en su estudio del 2009 (5).

Es bien conocido que la multiplicidad es, en sí misma, un factor de mal resultado perinatal. Lo que se señala en la literatura por Wennerholm (115), Williams y Sutcliffe (17), Sanchís Calvo (5), Cabañas (2) Scher (141) o Sebire (142).

Está en nuestras manos tratar de reducir las tasas de gestación múltiple ofertando una información a las pacientes acerca de los riesgos y de que la transferencia de un embrión único no reduce sus posibilidades acumuladas por ciclo de punción folicular de ser madres (97, 146, 148) y sí les permite reducir los riesgos de peores resultados perinatales (123). Lo que no es sencillo, ya que de nuevo la edad vuelve a ser un factor determinante en las mujeres de edades avanzadas, quienes sienten que sus opciones son limitadas y consideran que cuantos más embriones transfiramos, mayores posibilidades tendrán (30). Es nuestra responsabilidad darles la información adecuada para intentar cambiar su meta del “conseguir el embarazo”, por la meta del “niño sano en casa”.



**Gráfico 7. Tasa de prematuridad en gestaciones únicas**

### **3. Peso de los Recién Nacidos**

Cuando analizamos los pesos de los recién nacidos mediante TRA, de nuevo encontramos unos datos muy similares a los publicados por la SEGO para población española en 2006 (86).

En población española sólo un 9,49% los niños al nacimiento estuvieron por debajo de 2500g (86). Entre las gestaciones únicas de nuestras pacientes sometidas a TRA sólo el 6,2% de los niños pesaron menos de 2500g. En los datos publicados por el GISE en 2010 se obtuvo un 8,7% de RN de menos de 2500g (84).

Por tanto, en nuestros datos como en los del GISE, la mayoría de los niños nacidos por TRA nacieron con pesos adecuados y comparables a los publicados para población española en 2006 si tenemos en cuenta las gestaciones únicas (84, 86, 165).

Analizando nuestros datos en gemelares y comparándolos con los del GISE obtuvimos un 41,2% de pesos por encima de 2500g, mientras que el GISE (84) ofrece un 39,9%. Por tanto nuestros datos son, cuando menos, comparables a los suyos en población de gemelares provenientes de TRA.

En el análisis comparativo inicial entre nuestros CASOS y nuestros CONTROLES obtuvimos diferencias significativas en cuanto al peso de los recién nacidos. Los niños nacidos mediante TRA tuvieron significativamente menor peso que los nacidos mediante concepción natural. Esto coincide con lo publicado por autores como Jackson (24), Sebastiani (19), Pelinck (21), Kapiteijn (18), Helmerhorst (23) y McDonald (162).

Pero, al igual que hicimos con la prematuridad, evaluamos la influencia de la multiplicidad en estos resultados mediante un análisis multivariable. Lo que obtuvimos fue que, de nuevo, dichas diferencias desaparecían y que era la multiplicidad la responsable de ese bajo peso al nacimiento.



Por tanto, una vez más, el condicionante de la diferencia de peso entre RN nacidos de TRA y nacidos por concepción espontánea es la multiplicidad y no las TRA, como también infiere Sanchís Calvo en su estudio (5).

Diversos autores señalan que dentro de los factores más determinantes que afectan al peso de los recién nacidos esta la propia prematuridad y la multiplicidad (117, 118). A ello se sumarían complicaciones obstétricas como la diabetes gestacional o la preeclampsia (120). Estos dos últimos directamente también relacionados con la edad materna.

Aparece de nuevo la edad materna como principal condicionante de peor resultado perinatal, factor que hemos logrado controlar en el análisis de nuestros datos.

#### **4. Mortinatos**

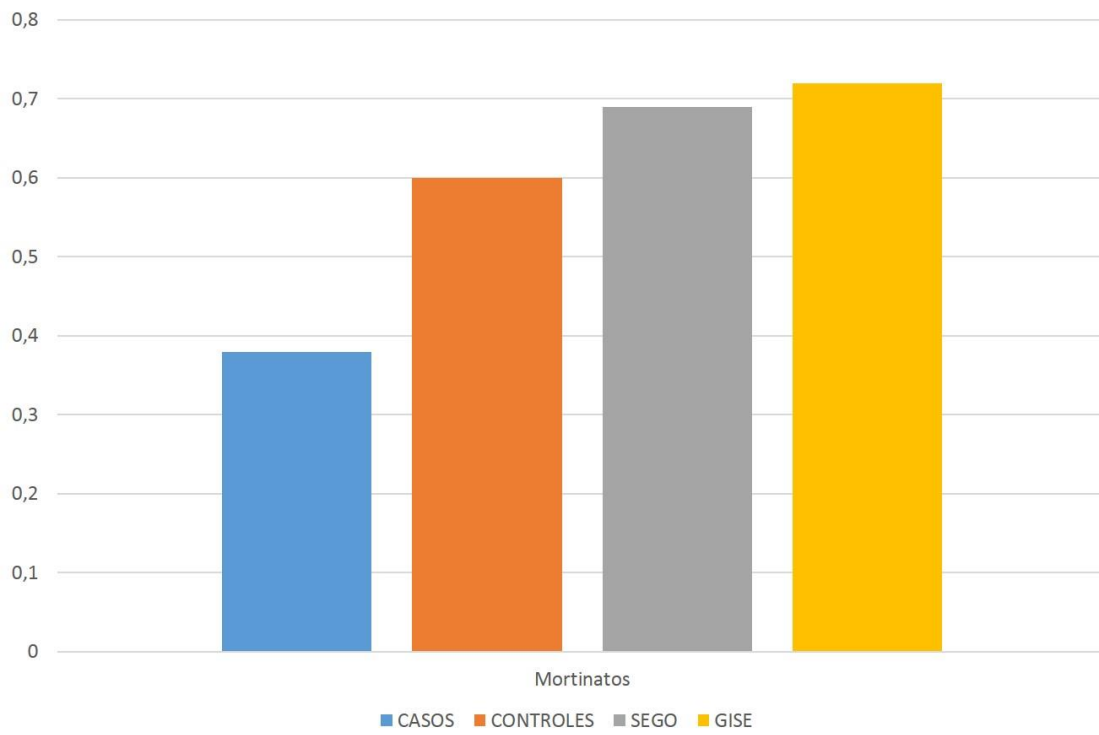
El análisis de los niños nacidos muertos nuestra tasa de mortinatos es menor a lo publicado por la SEGO (86) y por el GISE (84, 165). Nosotros registramos 3 fetos muertos, lo que supone un 0,38%, siendo menos frecuente en gestaciones únicas (0,2%) y con una mayor incidencia en gestaciones múltiples (0,71%).

El GISE publica en 2013 una tasa del 0,72% para gestaciones únicas y del 1,82% para gestaciones múltiples (165). La SEGO presenta unas cifras de mortinatos del 0,6% (86) (Gráfico 8).

Cuando realizamos la comparación con nuestro grupo CONTROL no encontramos diferencias significativas en el número de fetos muertos. En el grupo control encontramos 4 fetos muertos, lo que representa un 0,69%, de los que un 25% procedían de gestaciones múltiples.

De nuevo encontramos a la gestación múltiple como un factor de peor resultado perinatal como señala Koivisto (96). También Gelbaya presenta al embarazo múltiple como el principal factor condicionante de la salud y de los resultados de los niños nacidos por FIV (148).

Por tanto, en nuestros datos, no existen diferencias significativas sobre la tasa de recién nacido muerto, una vez ajustamos por edad materna. Y subrayamos una vez más que la multiplicidad es factor más determinante de mal pronóstico perinatal.



**Gráfico 8. Comparación de Mortinatos**

## 5. Complicaciones obstétricas

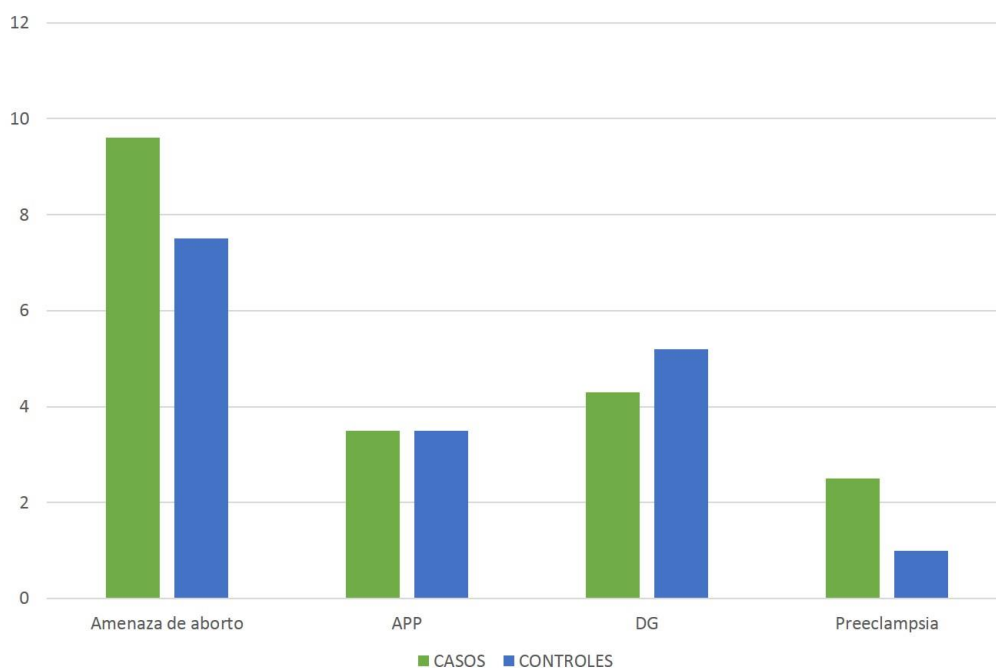
En cuanto a las complicaciones obstétricas como la amenaza de parto prematuro o la amenaza de aborto, el riesgo de desarrollar una diabetes gestacional o una preeclampsia, nosotros no encontramos diferencias significativas entre ambos grupos (Gráfico 9), lo que difiere de lo publicado por Sebastiani y cols. en 2009, quienes registraban un mayor riesgo de complicaciones obstétricas en el grupo de técnicas de reproducción asistida. Sin embargo, este estudio adolece de un marcado sesgo metodológico, ya que la edad materna del grupo de nacidos tras TRA ( $34,5 \pm 5,3$  años) era significativamente superior al del grupo de nacidos tras concepción natural ( $30,4 \pm 5,8$  años). Es bien conocido que la edad es un importante factor de confusión, ya que está directamente relacionada con un mayor riesgo de complicaciones obstétricas como la diabetes, el parto prematuro o la preeclampsia (19). También autores como Shevell y cols. (103) encuentran que los embarazos por FIV tiene un riesgo 2.7 veces superior de desarrollar preeclampsia.

Pero también hay datos que relacionan a la edad materna avanzada como determinante de una baja reserva ovárica lo que condiciona un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular. Este hecho es defendido por autores como Chu y Kalantaridou (104, 105). En este sentido Woldringh en 2006 (20) publica un estudio que pone de manifiesto que sería la baja reserva ovárica la que más se relaciona con el riesgo de desarrollo de preeclampsia durante la gestación. Es obvio que la edad materna corre pareja a un mayor compromiso de la reserva funcional ovárica y a un mayor riesgo de baja respuesta a la estimulación folicular, por lo que de nuevo la edad podría estar jugando un papel fundamental en el peor pronóstico de los embarazos obtenidos mediante TRA.

Además, este tipo de complicaciones puede influir en otras variables de los resultados perinatales, como por ejemplo el peso o la prematuridad (120).

El análisis de los niños nacidos mediante TRA se vuelve muy complejo, ya que existen múltiples factores interrelacionados que pueden contribuir de forma aislada o en conjunto y que pueden condicionar un peor resultado perinatal. Evaluar la contribución individual de cada uno de ellos es metodológicamente muy complejo y, por ende, extrapolar la contribución específica de las técnicas de reproducción en sí mismas se vuelve casi imposible. Son demasiados factores de confusión influyendo en los resultados, que necesitarían de tamaños muestrales ingentes para poder dilucidar si se encuentran relacionados entre sí.

Sirva como ejemplo que las pacientes que recurren a TRA tienen una mayor edad media, y que la edad implica un riesgo superior de complicaciones obstétricas como la diabetes o hipertensión. La hipertensión pueden conducir un crecimiento intrauterino restringido y eso implicar una prematuridad yatrógena. Solo estos datos ya condicionarían un peor resultado perinatal.



**Gráfico 9. Complicaciones obstétricas**

## **6. Malformaciones congénitas.**

En primer lugar es necesario reseñar que nosotros no encontramos ningún síndrome de imprinting ni en el grupo de CASOS ni en los CONTROLES. La incidencia de dichos síndromes en población española se sitúa, según Bermejo, en 0.427 por 10.000 nacidos. Concretamente el Síndrome de Beckwith-Wiedeman se presenta en el 0.144 por 10.000 nacidos (85). Tampoco el GISE encuentra ninguno de dichos síndromes en el análisis de 14.119 recién nacidos por TRA que publican en 2013 (165). Múltiples autores, como pusieron de manifiesto Amor y Halliday en su revisión crítica del 2008 (8), establecen una relación entre las técnicas de reproducción asistida y este tipo de enfermedades. Sin embargo los mismos autores subrayan que de los 9 síndromes identificados en la especie humana derivados de fallos de imprinting, en solo en 3 existe una asociación evidente con los TRA: el Síndrome de Beckwith-Wiedemann, el Síndrome de Angelman y el de más reciente descripción, Síndrome hipometilación materna. En la actualidad no existe una evidencia científica que vincule las TRA con los otros 6 síndromes epigenéticos descritos restantes (Síndrome de Prader-Willi, Síndrome de Russell-Silver, Disomías uniparentales materna y paterna del cromosoma 14, Pseudohipoparatiroidismo tipo 1b y la Diabetes neonatal transitoria). El problema surge en la baja incidencia de dichas enfermedades (<1/12.000 nacimientos) que implicarían la necesidad de estudios de cohortes muy amplios para determinar su asociación causal con las TRA, como también señala Manipalvirant en 2009 (15).

Con respecto a la incidencia de malformaciones, nuestra tasa de defectos congénitos en recién nacidos fue del 0,64%, siendo mayor en las gestaciones múltiples.

Este porcentaje es similar al del 0,83% publicado por el GISE en 2013 (165). Al igual que en el registro del GISE, la mayoría de las malformaciones procedieron de ICSI y

TEC. Este bajo porcentaje de defectos congénitos es concordante con la literatura que señala que ambas técnicas (ICSI y TEC) son eminentemente seguras (27, 29, 109).

Nuestro porcentaje de defectos congénitos se encuentra muy por debajo del publicado por Bermejo para la población española durante el período 1980-2010, que fue de 1,49% (85).

Si tenemos en cuenta el número de interrupciones (ILES), que representó el 0,77% en el grupo de los CASOS, la tasa global de defectos congénitos en nuestro estudio sería del 1,41%, que se mantiene por debajo de lo descrito por Bermejo (85), pero que dista mucho de acercarse al 2,91% publicado por El-Chaar (26) y todavía más de lo descrito por Geraldine Viot, de casi un 20% (163, 164).

En el estudio de El-Chaar y cols. se incluyeron niños nacidos mediante inducción de la ovulación, inseminación y FIV. Su análisis registra un riesgo de malformaciones muy superior al nuestro, pero también señala que las pacientes de TRA tenían más edad que las de concepción natural (26). De nuevo surge la edad como un importante factor de confusión que nosotros hemos conseguido eliminar en nuestro estudio.

En cuanto al análisis de la genetista Geraldine Viot (163, 164), fundamentalmente provenientes de FIV e ICSI, sus datos comparan la prevalencia de cada anomalía con la esperada para población general.

Por otro lado, de forma llamativa, nosotros encontramos más malformaciones en el grupo CONTROL. La explicación a estos hallazgos es compleja. Para empezar no existe una definición apropiada y consensuada de lo que es una malformación. Esto lleva a que cada autor escoja sus propias definiciones de malformación mayor, menor, que requiere cirugía, diagnosticada al nacimiento, diagnosticada en el primer año de vida, que limite las expectativas de vida, que implique una discapacidad, etc... Además, en nuestro

estudio, desconocemos la tasa global de malformación porque desconocemos qué proporción de ILES se realizaron en el grupo CONTROL. Lo que podría estar introduciendo un sesgo en el porcentaje de malformaciones.



## **7. Limitaciones del estudio**

Este estudio está diseñado como un estudio retrospectivo, por tanto solamente hemos recogido los datos ya existentes. Aunque un diseño prospectivo sería mucho más potente, una adecuada aleatorización resultaría del todo imposible. Además somos conscientes de que la muestra es pequeña para extrapolar datos a nivel poblacional.

En nuestro estudio solo hemos podido realizar un análisis de subgrupos de gestaciones únicas TRA vs concepción natural. Como ya presumíamos, comparar gestaciones múltiples TRA vs concepción natural, resultó imposible porque en el grupo CONTROL la tasa de gestación múltiple fue inferior al 1%, porcentaje muy similar a lo publicado por la SEGO en 2006 para la población española (86).

Pero el análisis de los resultados, nos conduce a una importante reflexión: sería decisiva la realización de un registro nacional que permitiera evaluar de forma homogénea la salud de los niños nacidos de técnicas de reproducción asistida, no ya sólo al nacimiento, sino que además hiciera posible un adecuado seguimiento a medio y largo plazo.

Como ya se ha insistido, es muy importante el diseño de grupos control adecuados para poder comparar correctamente los resultados de los con niños nacidos por TRA con los de concepción natural. Aquí ponemos de manifiesto la influencia de importantes factores de confusión directamente relacionados con las técnicas de reproducción asistida, como la edad y la gestación múltiple.

Una vez eliminados dichos factores, en este estudio no se encuentran diferencias significativas entre niños obtenidos mediante técnicas de reproducción asistida y niños nacidos mediante concepción espontánea en relación a edad gestacional al parto, al peso de los recién nacido, la incidencia de mortinatos o las complicaciones obstétricas, como

la amenaza de aborto, la diabetes gestacional, la amenaza de parto prematuro o la preeclampsia. Tampoco hemos encontrado en los niños nacidos por TRA una mayor incidencia de malformaciones que en la población general.

Por tanto, nos gustaría poder afirmar que los resultados perinatales de los niños nacidos mediante técnicas de reproducción asistida son similares a la de los niños nacidos mediante concepción natural, si pudiésemos igualar las características de sus madres o su riesgo de gestación múltiple. Sabemos que estas conclusiones serían muy osadas porque nuestro estudio es limitado. Pero creemos firmemente que los peores resultados perinatales publicados sobre estos niños no están tan relacionados con las técnicas aplicadas en sí, sino más bien con otro tipo de factores de confusión como la edad materna, la multiplicidad o las patologías relacionadas con la propia subfertilidad de dichas parejas.

A pesar de todos los esfuerzos de las sociedades científicas (SEF y SEGO) y de los profesionales que trabajan en la medicina de la reproducción por llamar la atención sobre los riesgos que ejerce la edad materna sobre la salud reproductiva de las mujeres, no conseguimos reducir la edad media de acceso a la primera maternidad. Las mujeres españolas cada vez retrasan más la edad reproductiva debido a los cambios sociales que requieren la necesidad de una mayor formación académica, a la cada vez mayor participación de la mujer en cualquier ámbito social y a su deseo de reconocimiento en el ámbito laboral. Pero debemos perseverar en el intento de hacer llegar a las mujeres la importancia que tiene la edad en los deseos genésicos

Y también está en nuestra mano reducir las tasas de gestación múltiple, tratando de informar mejor a las pacientes acerca de los riesgos inherentes a la multiplicidad y de que la transferencia selectiva de embrión único no reduce sus posibilidades acumuladas de ser madres, pero sí les permitirá reducir los riesgos de peores resultados perinatales.

De nuevo la edad vuelve a ser determinante porque las mujeres con edades avanzadas sienten que sus opciones son más limitadas y están persuadidas de que cuantos más embriones transfiramos, mejores opciones tendrán. Es nuestra tarea informarlas adecuadamente para tratar de cambiar su mentalidad.

Es posible que en un futuro, gracias al desarrollo científico, lleguemos a ser capaces de evaluar mejor la influencia que los gametos y los embriones puedan llegar a tener o no sobre la salud de los niños y podamos actuar a ese nivel para reducir dichos riesgos.

De momento, lo más importante es que los estudios futuros se diseñen de la forma más ortodoxa para poder elaborar conclusiones más firmes. Insistimos en que no podemos extraer reflexiones precipitadas de muchos de los estudios publicados porque contienen demasiados sesgos que impiden tomar al pie de la letra sus conclusiones. Consideramos esencial consensuar una base de datos de niños nacidos por técnicas de reproducción asistida, cuando menos nacional, definiendo muy bien el registro de los niños, la clasificación de las malformaciones y el seguimiento de los mismos, para poder compararlos con el grupo control de gestaciones espontáneas únicas y múltiples distribuidas por edad.



## **CONCLUSIONES.**



1. Muchos de los estudios que analizan los resultados de los niños nacidos tras Técnicas de Reproducción Asistida presentan defectos en su diseño e incurren en sesgos condicionados por factores de confusión como la edad o la multiplicidad.

2. Nuestro objetivo principal fue evaluar los resultados perinatales de los recién nacidos procedentes de Técnicas de Reproducción Asistida, controlando la edad materna. En nuestro estudio no encontramos diferencias significativas entre la edad de las pacientes caso y la edad de las pacientes del grupo control. Todos los embarazos derivados de TRA fueron obtenidos en la Unidad de Medicina de la Reproducción del Hospital Universitario Madrid-Montepríncipe.

3. Tras eliminar el factor de confusión “edad” y a continuación el factor “multiplicidad”, no encontramos diferencias significativas entre la edad gestacional al parto de los niños nacidos mediante TRA (39,2 sem) y los niños nacidos de concepción natural (39,1 sem)

4. Tras eliminar los factores de confusión “edad” y “multiplicidad”, no encontramos diferencias significativas en el peso de los recién nacidos mediante TRA y los procedentes de concepción natural. Entre las gestaciones únicas de nuestras pacientes sometidas a TRA sólo el 6,2% de los niños pesaron menos de 2.500g. Este porcentaje es similar al ofrecido por el GISE en 2010, donde registran un 8,7% de RN de menos de 2.500g. El peso medio de los RN derivados de TRA fue de 2.883g y es comparable al publicado por la SEGO para la población española en el 2006.

5. El análisis de nuestros datos en gemelares objetiva que un 41,2% de los niños procedentes de TRA pesaron por encima de 2.500g, lo que comparado con el 39,9% de peso superior a 2.500g registrado por el GISE en el 2010, sugiere que nuestros resultados son, cuando menos, comparables a los suyos en la población de gemelares españoles nacidos tras TRA.

6. En nuestro estudio no hemos encontrado evidencia de que los niños nacidos mediante Técnicas de Reproducción Asistida presenten mayores tasas de malformaciones congénitas que los concebidos de forma espontánea. Nuestra tasa de defectos congénitos en recién nacidos procedentes de TRA fue del 0,64%, siendo superior en las gestaciones múltiples (1,47%). Nuestros datos están en sintonía con los dos estudios previamente publicados por el Grupo de Interés de Salud Embrionaria de la Sociedad Española de Fertilidad sobre defectos congénitos en recién nacidos españoles derivados de TRA. Nuestro porcentaje de defectos congénitos se encuentra por debajo del publicado por el grupo de Estudio Colaborativo Español de Malformaciones Congénitas (ECEMC) para la población española durante el período 1980-2010, que fue del 1,49%.

7. A pesar del reducido porcentaje de defectos congénitos en nuestro grupo de recién nacidos derivados de TRA, el 100% procedieron de ICSI y TEC. Este bajo porcentaje de defectos congénitos es concordante con la literatura, donde también se señala que ambas técnicas (ICSI y TEC) son eminentemente seguras.

8. En nuestro estudio no encontramos diferencias significativas en el número de fetos muertos entre los dos grupos comparados, una vez ajustamos por edad materna (0,38%



en el grupo de CASOS y 0,69% en el grupo CONTROL). Se registraron 3 fetos muertos en el grupo de CASOS lo que representa un 0,38%, de los que un 66,6% procedían de gestaciones múltiples. De nuevo subrayamos que la gestación múltiple es un factor de peor resultado perinatal como se recalca en numerosos trabajos de la literatura.

9. En nuestro trabajo no encontramos diferencias significativas entre las tasas de amenaza de aborto en las gestaciones únicas procedentes de TRA (9,6%) y las procedentes de gestación espontánea (7,5%).

10. Nuestros datos no encuentran diferencias significativas en las gestaciones únicas entre las tasas de amenaza de parto prematuro procedentes de TRA (2,5%) y las de concepción natural (3,5%).

11. En nuestra casuística no encontramos diferencias significativas entre las tasas de diabetes gestacional (4,3% en el grupo CASO y 5,2% en el grupo CONTROL) o de preeclampsia (2,5% en el grupo CASO y 1% en el grupo CONTROL) entre las pacientes del grupo TRA y del grupo control. Numerosos estudios que registran un mayor riesgo de complicaciones obstétricas en el grupo de técnicas de reproducción asistida adolecen de un sesgo metodológico, ya que en ellos la edad materna del grupo de nacidos tras TRA es significativamente superior a la edad media materna del grupo de concepción natural con las que se compara. La edad es un importante factor de confusión, ya que está directamente relacionada con un mayor riesgo de complicaciones obstétricas como la diabetes gestacional, el parto prematuro o la preeclampsia.

12. De los datos de nuestro estudio podemos concluir que los factores más determinantes de los resultados perinatales son la edad materna y la multiplicidad.

## **BIBLIOGRAFÍA.**



1. Australian In Vitro Fertilization Group. High incidence of preterm births and early losses in pregnancy after in vitro fertilization. *BMJ* 1985; 291:1160-3.
2. Cabanas F, Lopez-Azorin M, Pellicer A. [Assisted reproduction techniques and the health of the newborn]. *An Pediatr (Barc)* 2009; 70:319-22.
3. Andersen AN, Goossens V, Gianaroli L, Felberbaum R, de MJ, Nygren KG. Assisted reproductive technology in Europe, 2003. Results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod* 2007; 22:1513-25.
4. Merlob P, Sapir O, Sulkes J, Fisch B. The prevalence of major congenital malformations during two periods of time, 1986-1994 and 1995-2002 in newborns conceived by assisted reproduction technology. *Eur J Med Genet* 2005; 48:5-11.
5. Sanchis CA, Marcos PB, Juan GL, et al. [Birth characteristics due to in vitro fertilization (IVF) techniques]. *An Pediatr (Barc)* 2009; 70:333-9.
6. Waddington CH. *An Introduction to Modern Genetics*. London: George Allen & Unwin Ltd., 1939.
7. Holliday R. Epigenetics comes of age in the twentyfirst century. *J Genet* 2002; 81:1-4.
8. Amor DJ, Halliday J. A review of known imprinting syndromes and their association with assisted reproduction technologies. *Hum Reprod* 2008; 23:2826-34.
9. Laprise SL. Implications of epigenetics and genomic imprinting in assisted reproductive technologies. *Mol Reprod Dev* 2009; 76:1006-18.
10. Horsthemke B, Ludwig M. Assisted reproduction: the epigenetic perspective. *Hum Reprod Update* 2005; 11:473-82.
11. Arnaud P, Feil R. Epigenetic deregulation of genomic imprinting in human disorders and following assisted reproduction. *Birth Defects Res C Embryo Today* 2005; 75:81-97.
12. Sato A, Otsu E, Negishi H, Utsunomiya T, Arima T. Aberrant DNA methylation of imprinted loci in superovulated oocytes. *Hum Reprod* 2007; 22:26-35.

13. Gomes MV, Huber J, Ferriani RA, Amaral Neto AM, Ramos ES. Abnormal methylation at the KvDMR1 imprinting control region in clinically normal children conceived by assisted reproductive technologies. *Mol Hum Reprod* 2009; 15:471-7.
14. Marques CJ, Costa P, Vaz B, et al. Abnormal methylation of imprinted genes in human sperm is associated with oligozoospermia. *Mol Hum Reprod* 2008; 14:67-74.
15. Manipalviratn S, DeCherney A, Segars J. Imprinting disorders and assisted reproductive technology. *Fertil Steril* 2009; 91:305-15.
16. Ceelen M, van Weissenbruch MM, Vermeiden JP, van Leeuwen FE, Delemarre-van de Waal HA. Growth and development of children born after in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2008; 90:1662-73.
17. Williams C, Sutcliffe A. Infant outcomes of assisted reproduction. *Early Hum Dev* 2009; 85:673-7.
18. Kapiteijn K, de Bruijn CS, de BE, et al. Does subfertility explain the risk of poor perinatal outcome after IVF and ovarian hyperstimulation? *Hum Reprod* 2006; 21:3228-34.
19. Sebastiani G, Pertierra CA, Vidal SE, Figueras AJ, Balasch CJ. [Factors associated with assisted reproduction technologies and neonatal outcomes]. *An Pediatr (Barc)* 2009; 70:323-32.
20. Woldringh GH, Frunt MH, Kremer JA, Spaanderman ME. Decreased ovarian reserve relates to pre-eclampsia in IVF/ICSI pregnancies. *Hum Reprod* 2006; 21:2948-54.
21. Pelinck MJ, Keizer MH, Hoek A, et al. Perinatal outcome in singletons after modified natural cycle IVF and standard IVF with ovarian stimulation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2010; 148:56-61.
22. Dumoulin JC, Land JA, van Montfoort AP, et al. Effect of in vitro culture of human embryos on birthweight of newborns. *Hum Reprod* 2010; 25:605-12.
23. Helmerhorst FM, Perquin DA, Donker D, Keirse MJ. Perinatal outcome of singletons and twins after assisted conception: a systematic review of controlled studies. *BMJ* 2004; 328:261.

24. Jackson RA, Gibson KA, Wu YW, Croughan MS. Perinatal outcomes in singletons following in vitro fertilization: a meta-analysis. *Obstet Gynecol* 2004; 103:551-63.
25. McGovern PG, Llorens AJ, Skurnick JH, Weiss G, Goldsmith LT. Increased risk of preterm birth in singleton pregnancies resulting from in vitro fertilization-embryo transfer or gamete intrafallopian transfer: a meta-analysis. *Fertil Steril* 2004; 82:1514-20.
26. El-Chaar D, Yang Q, Gao J, et al. Risk of birth defects increased in pregnancies conceived by assisted human reproduction. *Fertil Steril* 2009; 92:1557-61.
27. Bonduelle M, Liebaers I, Deketelaere V, et al. Neonatal data on a cohort of 2889 infants born after ICSI (1991-1999) and of 2995 infants born after IVF (1983-1999). *Hum Reprod* 2002; 17:671-94.
28. Katalinic A, Rosch C, Ludwig M. Pregnancy course and outcome after intracytoplasmic sperm injection: a controlled, prospective cohort study. *Fertil Steril* 2004; 81:1604-16.
29. Pelkonen S, Koivunen R, Gissler M, et al. Perinatal outcome of children born after frozen and fresh embryo transfer: the Finnish cohort study 1995-2006. *Hum Reprod* 2010; 25:914-23.
30. Gleicher N, Barad D. Twin pregnancy, contrary to consensus, is a desirable outcome in infertility. *Fertil Steril* 2009; 91:2426-31.
31. McDonald SD, Han Z, Mulla S, Murphy KE, Beyene J, Ohlsson A. Preterm birth and low birth weight among in vitro fertilization singletons: a systematic review and meta-analyses. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2009; 146:138-48.
32. Raimondi S, Pedotti P, Taioli E. Meta-analysis of cancer incidence in children born after assisted reproductive technologies. *Br J Cancer* 2005; 93:1053-6.
33. Bay B, Mortensen EL, Kesmodel US. Is subfertility or fertility treatment associated with long-term growth in the offspring? A cohort study. *Fertil Steril* 2014; 102:1117-23.
34. Carson C, Redshaw M, Sacker A, Kelly Y, Kurinczuk JJ, Quigley MA. Effects of pregnancy planning, fertility, and assisted reproductive treatment on child behavioral problems at 5 and 7 years: evidence from the Millennium Cohort Study. *Fertil Steril* 2013; 99:456-63.

35. Allen C, Reardon W. Assisted reproduction technology and defects of genomic imprinting. *BJOG* 2005; 112:1589-94.
36. Gosden R, Trasler J, Lucifero D, Faddy M. Rare congenital disorders, imprinted genes, and assisted reproductive technology. *Lancet* 2003; 361:1975-7.
37. Allegrucci C, Thurston A, Lucas E, Young L. Epigenetics and the germline. *Reproduction* 2005; 129:137-49.
38. Morgan HD, Santos F, Green K, Dean W, Reik W. Epigenetic reprogramming in mammals. *Hum Mol Genet* 2005; 14 Spec No 1:R47-R58.
39. Schieve LA, Meikle SF, Ferre C, Peterson HB, Jeng G, Wilcox LS. Low and very low birth weight in infants conceived with use of assisted reproductive technology. *N Engl J Med* 2002; 346:731-7.
40. Hansen M, Kurinczuk JJ, Bower C, Webb S. The risk of major birth defects after intracytoplasmic sperm injection and in vitro fertilization. *N Engl J Med* 2002; 346:725-30.
41. Morison IM, Reeve AE. A catalogue of imprinted genes and parent-of-origin effects in humans and animals. *Hum Mol Genet* 1998; 7:1599-609.
42. Tycko B, Morison IM. Physiological functions of imprinted genes. *J Cell Physiol* 2002; 192:245-58.
43. Walter J, Paulsen M. Imprinting and disease. *Semin Cell Dev Biol* 2003; 14:101-10.
44. Weksberg R, Smith AC, Squire J, Sadowski P. Beckwith-Wiedemann syndrome demonstrates a role for epigenetic control of normal development. *Hum Mol Genet* 2003; 12 Spec No 1:R61-R68.
45. DeBaun MR, Niemitz EL, Feinberg AP. Association of in vitro fertilization with Beckwith-Wiedemann syndrome and epigenetic alterations of LIT1 and H19. *Am J Hum Genet* 2003; 72:156-60.
46. Gicquel C, Gaston V, Mandelbaum J, Siffroi JP, Flahault A, Le BY. In vitro fertilization may increase the risk of Beckwith-Wiedemann syndrome related to the abnormal imprinting of the KCN10T gene. *Am J Hum Genet* 2003; 72:1338-41.



47. Halliday J, Oke K, Breheny S, Algar E, Amor J. Beckwith-Wiedemann syndrome and IVF: a case-control study. *Am J Hum Genet* 2004; 75:526-8.
48. Maher ER, Brueton LA, Bowdin SC, et al. Beckwith-Wiedemann syndrome and assisted reproduction technology (ART). *J Med Genet* 2003; 40:62-4.
49. Cox GF, Burger J, Lip V, et al. Intracytoplasmic sperm injection may increase the risk of imprinting defects. *Am J Hum Genet* 2002; 71:162-4.
50. Orstavik KH, Eiklid K, van der Hagen CB, et al. Another case of imprinting defect in a girl with Angelman syndrome who was conceived by intracytoplasmic semen injection. *Am J Hum Genet* 2003; 72:218-9.
51. Blik J, Terhal P, van den Bogaard MJ, et al. Hypomethylation of the H19 gene causes not only Silver-Russell syndrome (SRS) but also isolated asymmetry or an SRS-like phenotype. *Am J Hum Genet* 2006; 78:604-14.
52. Kallen B, Finnstrom O, Nygren KG, Olausson PO. In vitro fertilization (IVF) in Sweden: risk for congenital malformations after different IVF methods. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2005; 73:162-9.
53. Svensson J, Bjornstahl A, Ivarsson SA. Increased risk of Silver-Russell syndrome after in vitro fertilization? *Acta Paediatr* 2005; 94:1163-5.
54. Surani MA. Imprinting and the initiation of gene silencing in the germ line. *Cell* 1998; 93:309-12.
55. Li E. Chromatin modification and epigenetic reprogramming in mammalian development. *Nat Rev Genet* 2002; 3:662-73.
56. Bowdin S, Allen C, Kirby G, et al. A survey of assisted reproductive technology births and imprinting disorders. *Hum Reprod* 2007; 22:3237-40.
57. Chang AS, Moley KH, Wangler M, Feinberg AP, DeBaun MR. Association between Beckwith-Wiedemann syndrome and assisted reproductive technology: a case series of 19 patients. *Fertil Steril* 2005; 83:349-54.
58. Doornbos ME, Maas SM, McDonnell J, Vermeiden JP, Hennekam RC. Infertility, assisted reproduction technologies and imprinting disturbances: a Dutch study. *Hum Reprod* 2007; 22:2476-80.

59. Lidegaard O, Pinborg A, Andersen AN. Imprinting diseases and IVF: Danish National IVF cohort study. *Hum Reprod* 2005; 20:950-4.
60. Sutcliffe AG, Peters CJ, Bowdin S, et al. Assisted reproductive therapies and imprinting disorders--a preliminary British survey. *Hum Reprod* 2006; 21:1009-11.
61. Ludwig M, Katalinic A, Gross S, Sutcliffe A, Varon R, Horsthemke B. Increased prevalence of imprinting defects in patients with Angelman syndrome born to subfertile couples. *J Med Genet* 2005; 42:289-91.
62. Lucifero D, Chaillet JR, Trasler JM. Potential significance of genomic imprinting defects for reproduction and assisted reproductive technology. *Hum Reprod Update* 2004; 10:3-18.
63. Rivera RM, Stein P, Weaver JR, Mager J, Schultz RM, Bartolomei MS. Manipulations of mouse embryos prior to implantation result in aberrant expression of imprinted genes on day 9.5 of development. *Hum Mol Genet* 2008; 17:1-14.
64. Blik J, Maas SM, Ruijter JM, et al. Increased tumour risk for BWS patients correlates with aberrant H19 and not KCNQ1OT1 methylation: occurrence of KCNQ1OT1 hypomethylation in familial cases of BWS. *Hum Mol Genet* 2001; 10:467-76.
65. Joyce JA, Lam WK, Catchpoole DJ, et al. Imprinting of IGF2 and H19: lack of reciprocity in sporadic Beckwith-Wiedemann syndrome. *Hum Mol Genet* 1997; 6:1543-8.
66. Prawitt D, Enklaar T, Gartner-Rupprecht B, et al. Microdeletion of target sites for insulator protein CTCF in a chromosome 11p15 imprinting center in Beckwith-Wiedemann syndrome and Wilms' tumor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102:4085-90.
67. Sparago A, Cerrato F, Vernucci M, Ferrero GB, Silengo MC, Riccio A. Microdeletions in the human H19 DMR result in loss of IGF2 imprinting and Beckwith-Wiedemann syndrome. *Nat Genet* 2004; 36:958-60.
68. Weksberg R, Nishikawa J, Caluseriu O, et al. Tumor development in the Beckwith-Wiedemann syndrome is associated with a variety of constitutional molecular 11p15 alterations including imprinting defects of KCNQ1OT1. *Hum Mol Genet* 2001; 10:2989-3000.

69. Ogawa O, Eccles MR, Szeto J, et al. Relaxation of insulin-like growth factor II gene imprinting implicated in Wilms' tumour. *Nature* 1993; 362:749-51.
70. Rainier S, Johnson LA, Dobry CJ, Ping AJ, Grundy PE, Feinberg AP. Relaxation of imprinted genes in human cancer. *Nature* 1993; 362:747-9.
71. Weksberg R, Shuman C, Smith AC. Beckwith-Wiedemann syndrome. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2005; 137C:12-23.
72. Anthony S, Buitendijk SE, Dorrepaal CA, Lindner K, Braat DD, den Ouden AL. Congenital malformations in 4224 children conceived after IVF. *Hum Reprod* 2002; 17:2089-95.
73. Wennerholm UB, Bergh C, Hamberger L, et al. Incidence of congenital malformations in children born after ICSI. *Hum Reprod* 2000; 15:944-8.
74. Hansen M, Bower C, Milne E, de KN, Kurinczuk JJ. Assisted reproductive technologies and the risk of birth defects--a systematic review. *Hum Reprod* 2005; 20:328-38.
75. Lie RT, Lyngstadaas A, Orstavik KH, Bakketeig LS, Jacobsen G, Tanbo T. Birth defects in children conceived by ICSI compared with children conceived by other IVF-methods; a meta-analysis. *Int J Epidemiol* 2005; 34:696-701.
76. Rimm AA, Katayama AC, Diaz M, Katayama KP. A meta-analysis of controlled studies comparing major malformation rates in IVF and ICSI infants with naturally conceived children. *J Assist Reprod Genet* 2004; 21:437-43.
77. Knoester M, Helmerhorst FM, Vandenbroucke JP, van der Westerlaken LA, Walther FJ, Veen S. Perinatal outcome, health, growth, and medical care utilization of 5- to 8-year-old intracytoplasmic sperm injection singletons. *Fertil Steril* 2008; 89:1133-46.
78. Sutcliffe AG, Taylor B, Saunders K, Thornton S, Lieberman BA, Grudzinskas JG. Outcome in the second year of life after in-vitro fertilisation by intracytoplasmic sperm injection: a UK case-control study. *Lancet* 2001; 357:2080-4.
79. Place I, Englert Y. A prospective longitudinal study of the physical, psychomotor, and intellectual development of singleton children up to 5 years who were conceived by intracytoplasmic sperm injection compared with children conceived spontaneously and by in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2003; 80:1388-97.

80. Ponjaert-Kristoffersen I, Bonduelle M, Barnes J, et al. International collaborative study of intracytoplasmic sperm injection-conceived, in vitro fertilization-conceived, and naturally conceived 5-year-old child outcomes: cognitive and motor assessments. *Pediatrics* 2005; 115:e283-e289.
81. Belva F, Henriët S, Liebaers I, Van SA, Celestin-Westreich S, Bonduelle M. Medical outcome of 8-year-old singleton ICSI children (born  $\geq$ 32 weeks' gestation) and a spontaneously conceived comparison group. *Hum Reprod* 2007; 22:506-15.
82. Pinborg A. IVF/ICSI twin pregnancies: risks and prevention. *Hum Reprod Update* 2005; 11:575-93.
83. Martínez-Frías ML, Bermejo E, Rodríguez-Pinilla E, Dequino G. [Secular evolution and evolution according to autonomous communities of the frequency of fertility treatments, multiple deliveries and cesarean sections in Spain]. *Med Clin (Barc)* 2005; 124:132-9.
84. Fernández-Shaw S, Bruna I, Arroyo E, et al. Pregnancy results from assisted reproductive treatments in Spain. Year 2008. *Revista Iberoamericana de Fertilidad* 2010; 27 (6):489-98.
85. Martínez-Frías ML, Cuevas L, Bermejo-Sánchez E, Grupo Periférico ECEMC. Análisis de los principales aspectos clínicos-epidemiológicos de los recién nacidos con defectos congénitos registrados en el ECEMC. *Boletín del ECEMC, Revista de dismorfología y epidemiología* 2011; VI:33-63.
86. González-González N.L, Medina V., Jimenez A., Gómez Arias J., Ruano A., Perales A., Pérez-Mendaña J.M., Melchor J.C. Base de datos perinatales nacional 2004. Documento SEGO. *Revista Progresos en Obstetricia y Ginecología* 2006; 49 (11): 645-55.
87. Basso O, Weinberg CR, Baird DD, Wilcox AJ, Olsen J. Subfecundity as a correlate of preeclampsia: a study within the Danish National Birth Cohort. *Am J Epidemiol* 2003; 157:195-202.
88. Draper ES, Kurinczuk JJ, Abrams KR, Clarke M. Assessment of separate contributions to perinatal mortality of infertility history and treatment: a case-control analysis. *Lancet* 1999; 353:1746-9.
89. Lambert RD. Safety issues in assisted reproduction technology: the children of assisted reproduction confront the responsible conduct of assisted reproductive technologies. *Hum Reprod* 2002; 17:3011-5.

90. Williams MA, Goldman MB, Mittendorf R, Monson RR. Subfertility and the risk of low birth weight. *Fertil Steril* 1991; 56:668-71.
91. Blickstein I, Verhoeven HC, Keith LG. Zygotic splitting after assisted reproduction. *N Engl J Med* 1999; 340:738-9.
92. Schachter M, Raziel A, Friedler S, Strassburger D, Bern O, Ron-El R. Monozygotic twinning after assisted reproductive techniques: a phenomenon independent of micromanipulation. *Hum Reprod* 2001; 16:1264-9.
93. Milki AA, Jun SH, Hinckley MD, Behr B, Giudice LC, Westphal LM. Incidence of monozygotic twinning with blastocyst transfer compared to cleavage-stage transfer. *Fertil Steril* 2003; 79:503-6.
94. Schieve LA, Meikle SF, Peterson HB, Jeng G, Burnett NM, Wilcox LS. Does assisted hatching pose a risk for monozygotic twinning in pregnancies conceived through in vitro fertilization? *Fertil Steril* 2000; 74:288-94.
95. Knopman JM, Krey LC, Oh C, Lee J, McCaffrey C, Noyes N. What makes them split? Identifying risk factors that lead to monozygotic twins after in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2014; 102:82-9.
96. Koivisto M, Jouppila P, Kauppila A, Moilanen I, Ylikorkala O. Twin pregnancy. Neonatal morbidity and mortality. *Acta Obstet Gynecol Scand Suppl* 1975; 44:21-9.
97. Pandian Z, Bhattacharya S, Ozturk O, Serour G, Templeton A. Number of embryos for transfer following in-vitro fertilisation or intra-cytoplasmic sperm injection. *Cochrane Database Syst Rev* 2009;CD003416.
98. Romundstad LB, Romundstad PR, Sunde A, et al. Effects of technology or maternal factors on perinatal outcome after assisted fertilisation: a population-based cohort study. *Lancet* 2008; 372:737-43.
99. Mitwally MF, Abdel-Razeq SS, Sullivan M, Crickard K. Estradiol production during controlled ovarian hyperstimulation correlates with the birth weight in pregnancies achieved after in vitro fertilization. *Fertility and Sterility* 2004; 82:S50-S51.
100. Zhu JL, Basso O, Obel C, Bille C, Olsen J. Infertility, infertility treatment, and congenital malformations: Danish national birth cohort. *BMJ* 2006; 333:679.

101. Pinborg A, Wennerholm UB, Romundstad LB, et al. Why do singletons conceived after assisted reproduction technology have adverse perinatal outcome? Systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2013; 19:87-104.
102. Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183:S1-S22.
103. Shevell T, Malone FD, Vidaver J, et al. Assisted reproductive technology and pregnancy outcome. *Obstet Gynecol* 2005; 106:1039-45.
104. Chu MC, Rath KM, Huie J, Taylor HS. Elevated basal FSH in normal cycling women is associated with unfavourable lipid levels and increased cardiovascular risk. *Hum Reprod* 2003; 18:1570-3.
105. Kalantaridou SN, Naka KK, Papanikolaou E, et al. Impaired endothelial function in young women with premature ovarian failure: normalization with hormone therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:3907-13.
106. Aytoz A, Van den Abbeel E, Bonduelle M, et al. Obstetric outcome of pregnancies after the transfer of cryopreserved and fresh embryos obtained by conventional in-vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1999; 14:2619-24.
107. Belva F, Henriët S, Van den Abbeel E, et al. Neonatal outcome of 937 children born after transfer of cryopreserved embryos obtained by ICSI and IVF and comparison with outcome data of fresh ICSI and IVF cycles. *Hum Reprod* 2008; 23:2227-38.
108. Kallen B, Finnstrom O, Nygren KG, Olausson PO. In vitro fertilization (IVF) in Sweden: infant outcome after different IVF fertilization methods. *Fertil Steril* 2005; 84:611-7.
109. Pinborg A, Loft A, Aaris Henningsen AK, Rasmussen S, Andersen AN. Infant outcome of 957 singletons born after frozen embryo replacement: the Danish National Cohort Study 1995-2006. *Fertil Steril* 2010; 94:1320-7.
110. Schieve LA, Ferre C, Peterson HB, Macaluso M, Reynolds MA, Wright VC. Perinatal outcome among singleton infants conceived through assisted reproductive technology in the United States. *Obstet Gynecol* 2004; 103:1144-53.

111. Shih W, Rushford DD, Bourne H, et al. Factors affecting low birthweight after assisted reproduction technology: difference between transfer of fresh and cryopreserved embryos suggests an adverse effect of oocyte collection. *Hum Reprod* 2008; 23:1644-53.
112. Wada I, Macnamee MC, Wick K, Bradfield JM, Brinsden PR. Birth characteristics and perinatal outcome of babies conceived from cryopreserved embryos. *Hum Reprod* 1994; 9:543-6.
113. Wang YA, Sullivan EA, Black D, Dean J, Bryant J, Chapman M. Preterm birth and low birth weight after assisted reproductive technology-related pregnancy in Australia between 1996 and 2000. *Fertil Steril* 2005; 83:1650-8.
114. Wennerholm UB, Hamberger L, Nilsson L, Wennergren M, Wikland M, Bergh C. Obstetric and perinatal outcome of children conceived from cryopreserved embryos. *Hum Reprod* 1997; 12:1819-25.
115. Wennerholm UB, Soderstrom-Anttila V, Bergh C, et al. Children born after cryopreservation of embryos or oocytes: a systematic review of outcome data. *Hum Reprod* 2009; 24:2158-72.
116. Westergaard HB, Johansen AM, Erb K, Andersen AN. Danish National In-Vitro Fertilization Registry 1994 and 1995: a controlled study of births, malformations and cytogenetic findings. *Hum Reprod* 1999; 14:1896-902.
117. Cogswell ME, Yip R. The influence of fetal and maternal factors on the distribution of birthweight. *Semin Perinatol* 1995; 19:222-40.
118. Oken E, Kleinman KP, Rich-Edwards J, Gillman MW. A nearly continuous measure of birth weight for gestational age using a United States national reference. *BMC Pediatr* 2003; 3:6.
119. Zhang J, Bowes WA, Jr. Birth-weight-for-gestational-age patterns by race, sex, and parity in the United States population. *Obstet Gynecol* 1995; 86:200-8.
120. Rosenberg TJ, Garbers S, Lipkind H, Chiasson MA. Maternal obesity and diabetes as risk factors for adverse pregnancy outcomes: differences among 4 racial/ethnic groups. *Am J Public Health* 2005; 95:1545-51.
121. De GC, De GM, Steimann S, Zhang H, Holzgreve W. Comparative birth weights of singletons born after assisted reproduction and natural conception in previously infertile women. *Hum Reprod* 2006; 21:705-12.

122. Thomson F, Shanbhag S, Templeton A, Bhattacharya S. Obstetric outcome in women with subfertility. *BJOG* 2005; 112:632-7.
123. De SP, Delbaere I, Gerris J, et al. Birthweight of singletons after assisted reproduction is higher after single- than after double-embryo transfer. *Hum Reprod* 2006; 21:2633-7.
124. Carrasco B, Boada M, Rodriguez I, Coroleu B, Barri PN, Veiga A. Does culture medium influence offspring birth weight? *Fertil Steril* 2013; 100:1283-8.
125. Zeilmaker GH, Alberda AT, van G, I, Rijkmans CM, Drogendijk AC. Two pregnancies following transfer of intact frozen-thawed embryos. *Fertil Steril* 1984; 42:293-6.
126. Kuleshova LL, Lopata A. Vitrification can be more favorable than slow cooling. *Fertil Steril* 2002; 78:449-54.
127. Lucena E, Bernal DP, Lucena C, Rojas A, Moran A, Lucena A. Successful ongoing pregnancies after vitrification of oocytes. *Fertil Steril* 2006; 85:108-11.
128. Katayama KP, Stehlik J, Kuwayama M, Kato O, Stehlik E. High survival rate of vitrified human oocytes results in clinical pregnancy. *Fertil Steril* 2003; 80:223-4.
129. Kuwayama M, Vajta G, Kato O, Leibo SP. Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. *Reprod Biomed Online* 2005; 11:300-8.
130. Chian RC, Son WY, Huang JY, Cui SJ, Buckett WM, Tan SL. High Survival Rates and Pregnancies of Human Oocytes Following Vitrification: Preliminary Report. *Fertility and Sterility* 2005; 84:S36.
131. Cobo A, Kuwayama M, Perez S, Ruiz A, Pellicer A, Remohi J. Comparison of concomitant outcome achieved with fresh and cryopreserved donor oocytes vitrified by the Cryotop method. *Fertil Steril* 2008; 89:1657-64.
132. Chian RC, Gilbert L, Huang JY, et al. Live birth after vitrification of in vitro matured human oocytes. *Fertil Steril* 2009; 91:372-6.
133. Rao GD, Chian RC, Son WS, Gilbert L, Tan SL. Fertility preservation in women undergoing cancer treatment. *Lancet* 2004; 363:1829-30.



134. Buckett WM, Chian RC, Holzer H, Dean N, Usher R, Tan SL. Obstetric outcomes and congenital abnormalities after in vitro maturation, in vitro fertilization, and intracytoplasmic sperm injection. *Obstet Gynecol* 2007; 110:885-91.
135. Chian RC, Huang JY, Gilbert L, et al. Obstetric outcomes following vitrification of in vitro and in vivo matured oocytes. *Fertil Steril* 2009; 91:2391-8.
136. Cobo A, Serra V, Garrido N, Olmo I, Pellicer A, Remohi J. Obstetric and perinatal outcome of babies born from vitrified oocytes. *Fertil Steril* 2014; 102:1006-15.
137. Li Z, Wang YA, Edgar DH, Sullivan EA. Clinical outcomes following cryopreservation of blastocysts by vitrification or slow freezing: a population-based cohort study. *Hum Reprod* 2014; 29 (12): 2794-801.
138. Liu SY, Teng B, Fu J, Li X, Zheng Y, Sun XX. Obstetric and neonatal outcomes after transfer of vitrified early cleavage embryos. *Hum Reprod* 2013; 28 (8): 2093-100.
139. Chian RC, Huang JY, Tan SL, Lucena E, Saa A, Rojas A, Ruvalcaba Castellón LA, García Amador MI, Montoya Sarmiento JE. Obstetric and perinatal outcome in 200 infants conceived from vitrified oocytes. *Reprod Biomed Online* 2008; 16 (5):608-10.
140. Andersen AN, Goossens V, Ferraretti AP, et al. Assisted reproductive technology in Europe, 2004: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod* 2008; 23:756-71.
141. Scher AI, Petterson B, Blair E, et al. The risk of mortality or cerebral palsy in twins: a collaborative population-based study. *Pediatr Res* 2002; 52:671-81.
142. Sebire NJ, Jolly M, Harris J, Nicolaides KH, Regan L. Risks of obstetric complications in multiple pregnancies: an analysis of more than 400 000 pregnancies in the UK. *Prenatal and Neonatal Medicine* 2001; 6:89-94.
143. Martin JA, Hamilton BE, Ventura SJ, Menacker F, Park MM, Sutton PD. Births: final data for 2001. *Natl Vital Stat Rep* 2002; 51:1-102.
144. Stromberg B, Dahlquist G, Ericson A, Finnstrom O, Koster M, Stjernqvist K. Neurological sequelae in children born after in-vitro fertilisation: a population-based study. *Lancet* 2002; 359:461-5.

145. Kissin DM, Kulkarni AD, Kushnir VA, Jamieson DJ. Number of embryos transferred after in vitro fertilization and good perinatal outcome. *Obstet Gynecol* 2014; 123:239-47.
146. Steinberg ML, Boulet S, Kissin D, Warner L, Jamieson DJ. Elective single embryo transfer trends and predictors of a good perinatal outcome--United States, 1999 to 2010. *Fertil Steril* 2013; 99:1937-43.
147. Wolner-Hanssen P, Rydhstroem H. Cost-effectiveness analysis of in-vitro fertilization: estimated costs per successful pregnancy after transfer of one or two embryos. *Hum Reprod* 1998; 13:88-94.
148. Gelbaya TA, Tsoumpou I, Nardo LG. The likelihood of live birth and multiple birth after single versus double embryo transfer at the cleavage stage: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 2010; 94:936-45.
149. Yilmaz N, Engin-Ustun Y, Inal H, Gorkem U, Bardakci Y, Gulerman C. The impact of single embryo transfer policy on pregnancy outcomes after legislative change. *Gynecol Endocrinol* 2013; 29:600-2.
150. Lukassen HG, Braat DD, Wetzels AM, et al. Two cycles with single embryo transfer versus one cycle with double embryo transfer: a randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2005; 20:702-8.
151. Thurin A, Hausken J, Hillensjo T, et al. Elective single-embryo transfer versus double-embryo transfer in in vitro fertilization. *N Engl J Med* 2004; 351:2392-402.
152. Van Montfoort AP, Fiddelers AA, Janssen JM, et al. In unselected patients, elective single embryo transfer prevents all multiples, but results in significantly lower pregnancy rates compared with double embryo transfer: a randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2006; 21:338-43.
153. Gerris J, De ND, Mangelschots K, Van RE, Van de Meerssche M, Valkenburg M. Prevention of twin pregnancy after in-vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection based on strict embryo criteria: a prospective randomized clinical trial. *Hum Reprod* 1999; 14:2581-7.
154. Fiddelers AA, van Montfoort AP, Dirksen CD, et al. Single versus double embryo transfer: cost-effectiveness analysis alongside a randomized clinical trial. *Hum Reprod* 2006; 21:2090-7.

155. Pandian Z, Templeton A, Serour G, Bhattacharya S. Number of embryos for transfer after IVF and ICSI: a Cochrane review. *Hum Reprod* 2005; 20:2681-7.
156. Scotland GS, McNamee P, Peddie VL, Bhattacharya S. Safety versus success in elective single embryo transfer: women's preferences for outcomes of in vitro fertilisation. *BJOG* 2007; 114:977-83.
157. Kramer MS. Determinants of low birth weight: methodological assessment and meta-analysis. *Bull World Health Organ* 1987; 65:663-737.
158. Liu S, Allen A, Fraser W. Fetal and Infant Health Outcomes. Chapter 20 Preterm Birth Rate. 123-132. 2008. Public Health Agency of Canada, Ottawa. Ontario. Canadian Perinatal Health Report.
159. Branum AM, Schoendorf KC. Changing patterns of low birthweight and preterm birth in the United States, 1981-98. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2002; 16:8-15.
160. Alikani M, Cekleniak NA, Walters E, Cohen J. Monozygotic twinning following assisted conception: an analysis of 81 consecutive cases. *Hum Reprod* 2003; 18:1937-43.
161. Nassar AH, Usta IM, Rechdan JB, Harb TS, Adra AM, Abu-Musa AA. Pregnancy outcome in spontaneous twins versus twins who were conceived through in vitro fertilization. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189:513-8.
162. McDonald SD, Han Z, Mulla S, Ohlsson A, Beyene J, Murphy KE. Preterm birth and low birth weight among in vitro fertilization twins: a systematic review and meta-analyses. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2010; 148:105-13.
163. Viot GB ESOF. Results from a french cohort composed of 15162 children conceived by in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection. 66th Annual Meeting of the American Society for Reproductive Medicine (2010). 2010.
164. Viot G. Incidence of epigenetic disorders in a cohort of 15162 children conceived by Assisted Reproductive Technology (ART). Incidence of epigenetic disorders in a cohort of 15162 children conceived by Assisted Reproductive Technology (ART). 2011.
165. Ricciarelli E, Bruna I, Verdu V, et al. Impact of assisted reproduction treatments on Spanish newborns: report of 14,119 pregnancies. *J Assist Reprod Genet* 2013; 30:897-905.

166. Armitage P, Armitage EN, Berry G. Estadística para la investigación biomédica. Harcourt Brace, 1997.
167. Álvarez Cáceres R. Estadística no paramétrica. El procedimiento Npar. In: Estadística multivariable y no paramétrica con SPSS. Aplicación a las ciencias de la salud. Díaz de Santos, 1995:305-80.
168. Carrasco JL. Análisis de Regresión lineal. In: Estadística multivariante en las ciencias de la vida: fundamentos, métodos y aplicaciones. Madrid: Ciencia 3 SL, 1993.

**ANEXO.**



## OBJETIVOS

Llevar a cabo una puesta al día sobre los temas que presentan una mayor controversia científica sobre los tratamientos e investigación de la reproducción humana asistida.

Aprovechar el simposio para organizar una jornada científica de homenaje a uno de los especialistas más relevantes de la reproducción española, el Doctor José Antonio Ruiz Balda, como Profesor universitario y Jefe del Departamento de Reproducción Asistida del Hospital Universitario 12 de Octubre de Madrid.

## AUSPICIADO POR:

ASEBIR  
Asociación para el Estudio  
de la Biología de la Reproducción



Con la colaboración de:

MerckSerono  
Living science, transforming lives



## SEDE CURSO

Hotel Petit Palace Savoy Alfonso XII  
C/Alfonso XII, 18  
28014 Madrid

## ACREDITACIÓN

Solicitados créditos a la Com. de Form. Cont. de las  
Prof. Sanit. de la Com. Aut. de Madrid

## AFORO

Curso limitado a un máximo de 85 asistentes.

## CURSO ORGANIZADO POR:



## ENCUENTRO INTERGENERACIONAL:

Homenaje al **DR. JOSÉ ANTONIO RUIZ BALDA**

**13 - 14 Junio, 2014**

**HOTEL PETIT  
PALACE SAVOY ALFONSO XII  
C/ Alfonso XII, 18 - 28014 Madrid**

## Director del Curso:

**DR. ISIDORO BRUNA CATALÁN**  
Jefe de la Unidad de Medicina de la Reproducción  
Hospital Universitario Madrid-Montepíncipe





## MODERADORES

- **Dr. JORGE ALONSO ZAFRA**  
Inst. para el estudio de la Esterilidad - Getafe
- **Dr. JOSE JESÚS LÓPEZ GÁLVEZ**  
Clínica Vitarthermosa - Alicante
- **Dr. LAURA BARRERO REAL**  
Hospital Univ. Madrid-Montepríncipe - Madrid
- **Dr. ISIDORO BRUNA CATALÁN**  
Hospital Univ. Madrid-Montepríncipe - Madrid
- **Dr. LUIS MARTÍNEZ NAVARRO**  
Hospital Virgen de las Nieves - Granada

## PONENTES

- **Dr. M<sup>a</sup> ÁNGELES MANZANARES**  
FIV-Madrid - Madrid
- **Dr. LAURA BARRERO REAL**  
Hosp. Clínico Universitario - Valladolid
- **Dr. ANA PEREDA RÍOS**  
FIV-Recolletos - Guadaluajara
- **Dr. ELENA CEBALLOS GARCÍA**  
Hospital Universitario Gregorio Marañón - Madrid
- **Dr. BÁRBARA CASTRO MARTÍN**  
Hospital Univ. La Paz - Madrid
- **Dr. AUREA GARCÍA SEGOVIA**  
Sanitas Hospitales - Madrid
- **Dr. MÓNICA NOVELLE GARCÍA**  
Univ. Madrid-Montepríncipe - Montepríncipe
- **Dr. ANA DÍAZ CORUJO**  
Clínica GineFiv - Madrid
- **Dr. FELIPE GALLEGO TERRIS**  
Fertility Center - Palma de Mallorca
- **Dr. MANUEL VÁZQUEZ ALMODOVAR**  
Instituto Universitario Dexeus - Barcelona
- **Dr. VICENTA GIMÉNEZ**  
Hospital Quirón - San Sebastián

## VIERNES, 13 DE JUNIO 2014 (mañana)

09:00 - 09:45 Recepción de Asistentes  
09:45 - 10:00 Presentación del Simposio, **Dr. Isidoro Bruna Catalán**

### 1<sup>o</sup> PANEL - Moderador: **Dr. Jorge Alonso Zafra**

10:00 - 10:20 Esterilidad, infertilidad, subfertilidad... ¿Deberíamos hablar de "Distinción reproductiva"? **Dra. M<sup>a</sup> Angeles Manzanares**

10:20 - 10:40 Screening universal de las alteraciones tiroideas en las parejas con distinción reproductiva. **Dra. Ana Pereda Ríos**

10:40 - 11:00 Análisis crítico del papel de la AMH gen II como predictor de la reserva funcional ovárica. **Dra. Bárbara Castro Martín**

11:00 - 11:20 Estado actual de la influencia de las NK en el aborto de repetición y en el fallo de implantación. **Dra. Aurea Garcia Segovia**

11:20 - 11:45 MESA REDONDA

11:45 - 12:15 Pausa café

### 2<sup>o</sup> PANEL - Moderador: **Dr. Luis Martínez Navarro**

12:20 - 12:40 Influencia epigenética de los TRA en los recién nacidos. **Dra. Mónica Novelle García**

12:40 - 13:00 Relevancia clínica de la morfocinética en la elección de los embriones a transferir. **Dra. Ana Díaz Corujo**

13:00 - 13:20 Arrays de hibridación genómica comparativa (AcoG): ¿un nuevo paradigma en el PGS? **Dr. Felipe Gallego Terris**

13:20 - 13:40 Estado actual de la criopreservación ovocitaria para reproducción diferida en pacientes oncológicas y no oncológicas. **Dr. Manuel Alvarez Almodóvar**

13:40 - 14:10 MESA REDONDA

## VIERNES, 13 DE JUNIO 2014 (tarde)

### 3<sup>o</sup> PANEL - Moderador: **Dr. José Jesús López Gálvez**

16:30 - 16:50 Cuidado centrado en la paciente con distinción reproductiva. **Dra. Vicenta Giménez**

16:50 - 17:10 Influencia de los ciclos de TRA en la progresión de la endometriosis. **Dra. Laura Barrero Real**

17:10 - 17:30 Papel de los andrógenos y de los antiandrogénicos en la baja respuesta y la mala calidad ovocitaria en FIV-ICS? **Dra. Elena Ceballos García**

17:30 - 17:50 Estado actual del impacto de los niveles séricos de Progesterona en el éxito de los ciclos de FIV-ICS. **Dra. Marta Calvo Urrutia**

17:50 - 18:10 Criopreservación embrionaria como estrategia universal en los ciclos de FIV-ICS? **Dra. Karinna Lattes**

18:10 - 18:30 MESA REDONDA

## SÁBADO, 14 DE JUNIO 2014 (mañana)

### Homenaje al **Dr. José Antonio Ruiz Balda**

### 4<sup>o</sup> PANEL - Moderador: **Dra. Carmen Cuadrado Mangas** y **Dr. Isidoro Bruna Catalán**

09:30 - 10:00 Presentación del homenaje. **Dra. Carmen Cuadrado Mangas**

10:00 - 11:30 Biografía científica del **Dr. José Antonio Ruiz Balda**. **Dra. María Carrera Roig y Laura de la Fuente Blaine**

11:30 - 12:00 Pausa café

12:00 - 13:00 Aportaciones de los asistentes sobre la biografía científica.

13:00 - 13:45 Conferencia magistral: "Pasado, presente y futuro de los tratamientos de reproducción asistida". **Dr. José Antonio Ruiz Balda**

13:45 - 14:00 Preguntas de los asistentes.

# PROGRAMA



#### Comité Científico:

O. Armijo  
B. Castro  
C. González

S. Lobo  
J.M. Montejo  
M.J. Sánchez

#### Profesorado:

O. Armijo. Hospital Universitario La Paz, Madrid.  
N. Basile. IVI Madrid.  
I. Bruna. Hospital Universitario Madrid-Montepríncipe.  
A. Casas. Hospital Clínico Universitario, Valladolid.  
B. Castro. Hospital Universitario La Paz, Madrid.  
M. Chávez. Annios In Vitro Project, Madrid.  
J.L. Gómez. Clínica FIV Madrid, Madrid.  
J.M. González Casbas. Instituto Europeo de Fertilidad, Madrid.  
V. González Villafáñez. Clínica Ginefiv, Madrid.  
A. Gosálvez. Hospital Universitario Quirón, Madrid.  
E. Labarta. IVI Valencia.  
S. Lobo. Hospital Universitario La Paz, Madrid.  
B. Martín. Fundación Hospital Alcorcón, Madrid.  
J.M. Montejo. Hospital Universitario La Paz, Madrid.  
M. Novelle. Hospital Universitario Madrid-Montepríncipe.  
S. Ortega. Hospital Universitario Clínico San Carlos, Madrid.  
J.M. Puente. Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid.  
L. Rodríguez-Tabernero. Hospital Clínico Universitario Valladolid.  
C. Sanz. Hospital Universitario La Paz, Madrid.  
M.J. Sánchez. Hospital Universitario La Paz, Madrid.  
P. Silva. Hospital Universitario La Paz, Madrid.



#### Inscripción:

**E-mail:** [info@aliatours.es](mailto:info@aliatours.es) **Tlfno:** 914092564

**Cuota:** 100 euros. Residentes 50 euros

**Info:** [www.aliatours.es](http://www.aliatours.es)



**Lugar:** Aula Ortiz Vázquez (Entrada Hospital General).

**Patrocinan:**



Science For A Better Life



**MerckSerono**  
Living science, transforming lives.



**MSD SALUD DE LA MUJER**



# II Jornada de Actualización en Medicina de la Reproducción

## 26 Febrero de 2015

Organiza:

Servicio de Reproducción Humana

Directores: B. Castro

J. De Santiago



Hospital Universitario La Paz

Hospital de Cantoblanco

Hospital Carlos III

Comunidad de Madrid



## Jueves 26 de febrero PROGRAMA MAÑANA

|                |   |
|----------------|---|
| 9:00-9:20h     | Inauguración y Objetivos: B. Castro   |
| 9:20-9:40h     | <b>Bloque 1: Esterilidad, ¿problema emergente?</b><br>Modera: J.L. Gómez  |
| 9:40 - 10:00h  | Estilo de vida y reproducción. V.G. Villafañez  |
| 10:00 - 10:20h | El papel de los antioxidantes. ¿Influyen los niveles de vitamina D sobre el éxito de las TRA? S. Lobo                   |
| 10:20 - 10:40h | TRA en la paciente con enfermedades autoinmunes o tratamiento inmunosupresor B. Martín                                  |
| 10:40 - 11:10h | ¿Y en el varón? Influencia de los tratamientos crónicos sobre la calidad espermática. JM. Montejo                       |
| 11:40 - 12:00h | Mesa redonda  |
| 11:10 - 11:40h | Pausa Café  |
| 11:40h         | <b>Bloque 2: ¿Podemos mejorar los resultados?</b><br>Modera: JM. G. Casbas  |
| 11:40 - 12:00h | ¿Puede la histeroscopia previa mejorar los resultados del ciclo FIV-TE? C. Sanz   |
| 12:00 - 12:20h | Manejo de los hidrosálpinx en pacientes candidatas a FIV-ICSI, ¿qué nos ha aportado el dispositivo Essure®?<br>P. Silva |
| 12:20 - 12:40h | ¿Mejora los resultados del ciclo de FIV-TE el pre-tratamiento con DHEA en la baja respondedora?<br>M. Chávez            |
| 12:40 - 13:00h | Manejo de la paciente con endometriosis ovárica, ¿cómo mejorar sus resultados reproductivos?<br>S. Ortega               |
| 13:00 - 13:30h | Mesa redonda  |

## Jueves 26 de febrero PROGRAMA TARDE

|              |  |
|--------------|--|
| 15:20-15:40h | <b>Bloque 3. Buscando evitar las complicaciones...</b><br>Modera: L. Rodríguez-Tabernero   |
| 15:40-16:00h | Influencia de la estimulación ovárica moderada sobre la incidencia de anomalías cromosómicas embrionarias en los ciclos de FIV-ICSI E. Labarta |
| 16:00-16:20h | Estrategia para implantar la transferencia de embrión único en los centros públicos A. Casas   |
| 16:20-16:50h | Análisis de los resultados perinatales de los niños nacidos mediante TRA M. Novelle  |
| 16:50-17:20h | Mesa redonda   |
| 17:20-17:45h | Pausa Café   |
| 17:45-18:10h | <b>Reproducción "in vivo": vídeo Workshop</b><br>Presentación: B. Castro   |
| 18:10-18:35h | Drilling Ovárico: ¿sigue teniendo sentido en el tratamiento del SOP? O. Armijo   |
| 18:35-19:15h | Prevalencia de la Adenomiosis en pacientes con abortos de repetición y fallos repetidos de TRA<br>JM. Puente                                   |
| 19:15h       | "Time Lapse": ¿cómo correlacionar la información obtenida con Embryoscope y la clasificación ASEBIR?<br>N. Basile                              |
| 19:15h       | Mesa debate<br>Modera: A. Gosálvez – I. Bruna  |
| 19:15h       | Clausura de la Jornada   |