



**UCAM**

UNIVERSIDAD CATÓLICA  
SAN ANTONIO

## ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Programa de doctorado Ciencias de la Salud

Evaluación de salud y desarrollo de niños hasta los 3  
años de edad concebidos por técnicas de  
reproducción asistida

Autor:

María José Sánchez Soler

Directores:

Dra. Encarnación Guillén Navarro

Dra. Virginia Pérez Fernández

Murcia, marzo 2018





**UCAM**

UNIVERSIDAD CATÓLICA  
SAN ANTONIO

## ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Programa de doctorado Ciencias de la Salud

Evaluación de salud y desarrollo de niños hasta los 3  
años de edad concebidos por técnicas de  
reproducción asistida

Autor:

María José Sánchez Soler

Directores:

Dra. Encarnación Guillén Navarro

Dra. Virginia Pérez Fernández

Murcia, marzo 2018





# UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE MURCIA

**AUTORIZACIÓN DE LO/S DIRECTOR/ES DE LA TESIS**  
**PARA SU PRESENTACIÓN**

La Dra. Encarnación Guillén Navarro y la Dra. Virginia Pérez Fernández como Directoras de la Tesis Doctoral titulada “Evaluación de salud y desarrollo de niños hasta los 3 años de edad concebidos por técnicas de reproducción asistida” realizada por Dña. María José Sánchez Soler en el Departamento de Ciencias de la Salud, **autorizan su presentación a trámite** dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

Lo que firmamos, para dar cumplimiento al Real Decreto 99/2011, 1393/2007, 56/2005 y 778/98, en Murcia a 1 de marzo de 2018



## RESUMEN

### Introducción

Actualmente, más de 5 millones de niños han sido concebidos por técnicas de reproducción asistida (TRA) a nivel mundial, lo que supone en nuestro medio entre el 1.3-6.1% de los recién nacidos (RN). Numerosos estudios describen una mayor tasa de patología perinatal, malformaciones congénitas (MC) y defectos de impronta genómica (DIG) en esta población, y la mayoría de autores coinciden en que no hay diferencias en cuanto a crecimiento y desarrollo psicomotor (DPS). Sin embargo, estos datos siguen siendo contradictorios a día de hoy.

### Objetivos

Determinar el estado de salud (patología perinatal, MC, DIG, morbimortalidad, crecimiento y DPS) de los niños nacidos de una cohorte de gestaciones clínicas (GC) conseguidas por TRA, compararlo con el de un grupo control y describir posibles factores de la TRA asociados a los distintos problemas de salud detectados y a los abortos.

### Material y Métodos

Evaluación de niños concebidos por TRA (fecundación in vitro (FIV)/Inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI)) hasta los 3 años de edad, nacidos de una cohorte de mujeres tratadas en la Unidad de Reproducción Asistida del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca (URA-HCUVA) desde mayo del 2012 a mayo del 2014; evaluación simultánea de controles apareados de acuerdo a los siguientes criterios: siguiente RN al caso concebido de forma natural (CN), del mismo grupo de edad materna (EM), edad gestacional (EG) y mismo tipo de gestación (única/múltiple). Recogida de datos específicos de la TRA, epidemiológicos, perinatales, abortos, descripción de MC y del desarrollo de los participantes. Análisis estadístico de los datos.

### Resultados

Durante el periodo de estudio hubo 243 GC, de las cuales 214 fueron evolutivas. Hubo 26 abortos (10.7%): 2 fueron interrupciones legales del embarazo

(ILE) por defecto del tubo neural (DTN) grave en el feto; y hubo 3 muertes intrauterinas. De los 267 RN-TRA fueron evaluados 231 al año y tres años de edad (participación 87%). Simultáneamente se evaluaron 208 de los 230 controles apareados (participación 90%). Características generales similares en ambos grupos: EM media 33 años; tasa de gestaciones múltiples (GM) 23.5-24%; prematuridad el 24.6-23.5% (solo hubo un caso de gran prematuridad <30 semanas). Se detectaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) en cuanto a: sexo femenino, toma de ácido fólico periconcepcional (AFPC), patología gestacional (PG), diabetes gestacional (DG), parto instrumentado y mediante cesárea, lesiones pigmentarias (LP), manchas café con leche múltiples (MCLM), malformaciones capilares y enfermedad crónica (EC), que fueron más frecuentes en el grupo-TRA. No hubo diferencias en MC mayores (7.7-7.8%), crecimiento ni trastornos del neurodesarrollo (9-9.5%: retraso global del desarrollo (RGD), trastorno del espectro autista (TEA) o retraso del lenguaje). En el grupo TRA hubo 4 diagnósticos genéticos: un caso de S. Beckwith-Wiedemann (SBW) por hipometilación IC2; un caso de S. Klinefelter (47,XXY) y 2 de enfermedad genética heredada (Enfermedad de Steinert de origen materno y Displasia ectodérmica hipohidrótica de origen paterno). Se detectó un patrón cráneo facial recurrente en el grupo-TRA que se asoció al sexo masculino, trastornos del neurodesarrollo y madres < 35 años. El análisis estadístico multivariante de los posibles factores de la TRA asociados a los problemas de salud, solo mostró asociación entre: transferencia de embrión congelado (TEC) y parto instrumentado, retraso del lenguaje y RN grande para la edad gestacional (GEG), ya descrita previamente; y entre el uso de diagnóstico genético preimplantatorio (DGP) y LP. El análisis de posibles factores asociados a abortos mostró asociación con la EM avanzada.

### **Conclusiones**

Nuestros resultados muestran que la mayoría de niños-TRA no tiene problemas relevantes de salud (90%). Aunque describimos altas tasas de PP, MC y trastornos del neurodesarrollo, no se detectaron diferencias entre grupos tras ajustar los resultados por EM, GM y otros posibles factores de confusión, lo que apoya que estos factores deben jugar un papel más importante que las propias TRA. Sí se detectó más riesgo de PG, EC, LP, MCLM y malformaciones capilares en el grupo-TRA. La asociación con las anomalías cutáneas y vasculares no ha sido descrita previamente. Tampoco la asociación entre las LP y el DGP. Por ello,



son necesarios más estudios que apoyen o desmientan estas relaciones. Se describe un patrón craneofacial recurrente en el grupo-TRA tampoco descrito con anterioridad, asociado a alteraciones del neurodesarrollo, lo que sugiere un posible efecto generalmente leve de las TRA sobre el desarrollo embrionario. Hubo un SBW en el grupo-TRA (1/231), lo que apoya la asociación DIG-TRA. EL análisis de posibles factores de la TRA asociados a los problemas médicos, no mostró asociación con los más relevantes (ICSI, tipo de estimulación ovárica (EO), día de transferencia (DT), calidad embrionaria...), pero sí se detectó asociación entre la TEC y GEG, parto instrumentado y retraso del lenguaje, lo que podría indicar que este sea uno de los factores con mayor impacto sobre la salud de gestantes y niños. Ello obliga a realizar estudios de salud a largo plazo en niños concebidos tras TEC, técnica cada vez más usada debido a las mejoras de la vitrificación y altas tasas de GC. La tasa de abortos fue similar a la descrita en población general (10.7%) y la EM fue el factor pronóstico detectado.

Palabras clave: TRA, MC, DIG, patología perinatal, desarrollo psicomotor, crecimiento.



## **ABSTRACT**

### **Introduction**

Currently, more than five million children have been conceived by assisted reproductive techniques (ART) around the world, which means the 1.3-6.1% of European newborns. Numerous studies described higher rates of perinatal disease, congenital malformations and genomic imprinting disorders in this population, and most authors agree that there are no differences in growth and psychomotor development in comparison to naturally conceived children. However, these data are still contradictory.

### **Objectives**

To determine the state of health (perinatal disease, congenital malformations, imprinting disorders, morbidity and mortality, growth and psychomotor development) of children born from a cohort of ART-clinical gestations in comparison to a control group, and potential ART-factors associated with the various health problems reported and abortions.

### **Material and Methods**

Assessment of children conceived by ART (in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection) up to 3 years old, born from a cohort of women treated at Reproduction Unit of Clinical University Hospital Virgen de la Arrixaca from may 2012 to may 2014; simultaneous assessment of matched controls according to the following criteria: following newborn naturally conceived after the ART-case, belonging to the same group of maternal age, gestational age and type of gestation (single or multiple). Collection of specific ART, epidemiology and perinatal data, abortions, detailed description of malformations and development of the participants. Statistic data analysis was performed.

### **Results**

During the study period, there were 243 clinical gestations, 214 of which were evolutive. There were 26 abortions (10.7%): 2 legally voluntary interruptions of pregnancy due to severe neural tube defects in the fetuses, and 3 intrauterine

deaths. 231 of all 267 ART-newborn were assessed at the age of one and three years old (87% of participation). Simultaneously 208 out of 230 matched controls were assessed (90% of participation). General similar characteristics in both groups: average maternal age: 33 years; multiple pregnancy rate 23.5-24%; prematurity 24.6-23.5% (only a case of extreme preterm newborn <30 weeks of pregnancy). Statistically significant differences were detected ( $p < 0.05$ ) in: female sex, intake of periconceptional folic acid, gestational pathology, gestational diabetes, instrumental delivery and Caesarean section, pigmented lesions, multiple café-au-lait spots, capillary malformations and chronic disease, that were more frequent in ART group. There were neither differences in major congenital malformations (7.7-7.8%), nor growth, nor neurodevelopmental disorders (9-9.5%: global developmental delay, autism spectrum or language delay). In the ART-group 4 cases were diagnosed with genetic disorders: a case of Beckwith-Wiedemann Syndrome caused by IC2 hypomethylation; a case of Klinefelter Syndrome (47,XXY) and two of an inherited genetic disease (Steinert disease of maternal origin and X-linked hypohydrotic ectodermal dysplasia of paternal origin). A recurrent craniofacial pattern was detected in ART-group, associated with male sex, neurodevelopmental disorders and mothers under 35 years of age. Multivariate analysis of potential ART factors associated with health problems showed association only with: transfer of frozen embryos with instrumental delivery, language delay and newborn being large for gestational age, what has been previously described; and between preimplantational genetic diagnosis and pigmented lesions. Analysis of factors associated with abortions only showed association with advanced maternal age.

### **Conclusions**

Our results show that most of ART children have no significant health problems (90%). Although high rates of perinatal pathology, congenital malformations and neurodevelopmental disorders have been described, there were no differences between groups after adjusting the results according to maternal age, multiple pregnancy and other possible confounding factors, what supports that the role of these factors may be more relevant than the ART itself. Higher risk of gestational pathology, chronic disease, pigmented lesions, multiple café-au-lait spots and capillary malformations was detected in the ART group. The association with skin and vascular abnormalities has not been previously

described. Neither the association between pigmented lesions and preimplantational genetic diagnosis. Thus, more studies are needed to confirm or refute these associations. A recurrent and not previously described craniofacial pattern has been detected in the ART group, associated with neurodevelopmental disorder, suggesting a potential mild effect of ART on embryo development. The case of BWS in ART group (1/231) supports the association described between imprinting disorders and ART. The analysis of potential ART factors associated with health problems does not show association with the most relevant ART factors (intracytoplasmic injection sperm, type of ovarian stimulation, day of embryo transfer, embryo quality...), but certainly between frozen embryo transfer and large for gestational age, instrumental delivery and language delay, what suggests that this could be the main factor involved in health of mother and ART children. More studies about the long-term health problems of this population are needed, as this technique is increasingly used, due to improvement in vitrification and the high rates of clinical pregnancy. The abortion rate was similar to that previously described in general population (10.7%) and advanced maternal age was the only risk factor.

Keywords: ART, congenital malformations, imprinting disorders, perinatal pathology, growth, psychomotor development



## **AGRADECIMIENTOS**

Gracias a mi tutora Ana Isabel López Navas y directoras Virginia Pérez Fernández y Encarna Guillén Navarro por su apoyo durante este largo proceso, sus sugerencias, motivación y aliento. Especial mención a Encarna por su papel e inspiración a la hora de elegir el tema de estudio.

Gracias a mis excelentes compañeras de trabajo Vanesa López, Mary Ballesta, Lydia Rodríguez, Ana Teresa Serrano, Asunción Toledo y Remedios Gil, que siempre me han animado a continuar en momentos difíciles y me han ayudado con los múltiples trabajos realizados antes de presentar los resultados finales de este proyecto.

Gracias a todos los miembros de la Unidad de Reproducción Asistida del H. Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, en especial a Jorge Gálvez y Jesús Álvarez, que me han ayudado desde el principio, facilitaron la selección de participantes y han estado ahí siempre que los he necesitado para resolver dudas sobre aspectos específicos de las técnicas de reproducción asistida.

Gracias a los miembros de las clínicas con las que la Unidad de Reproducción tiene concierto, por su activa colaboración e interés desde que se empezó a desarrollar este trabajo: María Nicolás Arnao, José Sánchez, Mariló Pérez Izquierdo, Laura Sarabia y Emilio Gómez Sánchez.

Gracias a los miembros del equipo Face2gene, en especial a Nicole Fleischer, por hacer posible el análisis de reconocimiento facial.

Gracias a todos los participantes, madres, padres y niños, por su disponibilidad y colaboración.

Gracias a mi familia y sobre todo a mi marido Álvaro Caparros Herrera por su apoyo incondicional en este y en todos los proyectos de mi vida, por su paciencia y su constante buen humor.





## ÍNDICE

<b>ABREVIATURAS.....</b>	<b>23</b>
<b>INDICE DE TABLAS.....</b>	<b>27</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS Y GRÁFICAS.....</b>	<b>29</b>
<b>CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>31</b>
1.1.EVOLUCIÓN HISTÓRICA DEL DESARROLLO DE LAS TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA.....	33
1.2.TIPOS DE TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA. INDICACIONES Y POSIBLES COMPLICACIONES ASOCIADAS.....	38
<b>1.2.1. Fecundación in vitro.....</b>	<b>38</b>
<b>1.2.2. Inyección intracitoplasmática de espermatozoides.....</b>	<b>40</b>
<b>1.2.3. Transferencia de embrión congelado.....</b>	<b>41</b>
<b>1.2.4. Diagnóstico genético preimplantatorio.....</b>	<b>42</b>
<b>1.2.5. Donación de gametos y embriones.....</b>	<b>44</b>
<b>1.2.6. Otras técnicas de reproducción asistida.....</b>	<b>44</b>
1.3. POSIBLE IMPACTO DEL USO DE LAS TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA SOBRE LA SALUD DE GESTANTES Y NIÑOS.....	47
<b>1.3.1. Patología gestacional y neonatal.....</b>	<b>47</b>
1.3.1.1. <i>Patología gestacional.....</i>	47
1.3.1.2. <i>Patología neonatal.....</i>	48
<b>1.3.2. Crecimiento de los niños concebidos por técnicas de reproducción asistida.....</b>	<b>49</b>
<b>1.3.3. Desarrollo neurológico y autismo.....</b>	<b>50</b>
1.3.3.1 <i>DPS y capacidad cognitiva en niños concebidos por TRA.....</i>	50
1.3.3.2. <i>Autismo y técnicas de reproducción asistida.....</i>	51
<b>1.3.4. Malformaciones congénitas mayores y menores.....</b>	<b>52</b>

<b>1.3.5. Defectos de impronta genómica y cromosopatías</b> .....	55
1.3.5.1. <i>Defectos de impronta genómica y técnicas de reproducción asistida</i> .....	55
1.3.5.2. <i>Cromosopatías y técnicas de reproducción asistida</i> .....	56
<b>1.3.6. Cáncer</b> .....	55
1.4. LEGISLACIÓN ACTUAL SOBRE EL USO DE LAS TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA EN ESPAÑA.....	58
<b>CAPÍTULO 2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b> .....	65
2.1 HIPÓTESIS Y JUSTIFICACIÓN DE ESTUDIO.....	67
2.2 OBJETIVOS.....	68
<b>2.2.1. Objetivos principales</b> .....	68
<b>2.2.2. Objetivos secundarios</b> .....	68
<b>CAPÍTULO 3. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	69
3.1 PACIENTES Y MATERIAL.....	71
<b>3.1.1. Población y ámbito</b> .....	71
<b>3.1.2. Fuentes de datos</b> .....	72
<b>3.1.3. Material</b> .....	72
3.2. MÉTODO.....	73
<b>3.2.1. Selección de sujetos</b> .....	73
3.2.1.1. <i>Cohorte de gestaciones clínicas conseguidas por técnicas de reproducción asistida</i> .....	73
3.2.1.2. <i>Cohorte de recién nacidos de la cohorte de gestaciones clínicas seleccionada</i> .....	74
3.2.1.3. <i>Selección del grupo control</i> .....	74
<b>3.2.2. Evaluación clínica y seguimiento de casos y controles</b> .....	77
<b>3.2.3. Variables empleadas en el estudio</b> .....	78
3.2.3.1. <i>Antecedentes familiares enfermedad crónica, malformaciones congénitas, enfermedad genética, paridad, abortos y consanguinidad</i> .....	78

---

3.2.3.2. Datos relacionados con la esterilidad y técnicas de reproducción asistida de la cohorte de gestaciones clínicas.....	78
3.2.3.3. Datos recogidos en caso de aborto.....	80
3.2.3.4. Datos relacionados con la evolución de la gestación.....	80
3.2.3.5. Datos del parto y periodo neonatal.....	81
3.2.3.6. Datos del seguimiento hasta los 2-3 años.....	82
3.2.3.7. Datos de la exploración física morfológica.....	82
3.2.3.8. Datos de la exploración neurológica.....	82
3.2.3.9. Estudios metabólicos y genéticos realizados.....	83
3.3. ANÁLISIS DE LOS DATOS.....	83
<b>CAPÍTULO 4: RESULTADOS.....</b>	<b>85</b>
4.1. DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA.....	87
<b>4.1.1. Descripción de la cohorte de 243 gestaciones clínicas.....</b>	<b>87</b>
<b>4.1.2. Descripción de las gestaciones clínicas que finalizaron en aborto o muerte fetal intrauterina .....</b>	<b>90</b>
<b>4.1.3. Descripción del grupo casos.....</b>	<b>92</b>
4.1.3.1 Periodo neonatal.....	92
4.1.3.2. Morbilidad postnatal.....	92
4.1.3.3. MC mayores y menores.....	93
4.1.3.4. Desarrollo psicomotor.....	95
4.1.3.5. Desarrollo ponderoestatural.....	95
4.1.3.6. Realización de analítica y/o reserva de ADN en biobanc-Mur.....	95
<b>4.1.4. Descripción del grupo control.....</b>	<b>96</b>
4.1.4.1. Periodo neonatal.....	96
4.1.4.2. Morbilidad postnatal.....	96
4.1.4.3. Malformaciones congénitas mayores y menores.....	97
4.1.4.4. Desarrollo psicomotor.....	99
4.1.4.5. Desarrollo ponderoestatural.....	99
4.1.4.6. Realización de analítica y/o reserva de ADN en biobanc-Mur.....	99

4.2 ESTUDIO COMPARATIVO DE SALUD ENTRE EL GRUPO DE NIÑOS CONCEBIDOS POR TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA Y NIÑOS CONCEBIDOS DE FORMA NATURAL A LOS 26-40 MESES DE EDAD .....	100
<b>4.2.1. Patología gestacional.....</b>	<b>101</b>
<b>4.2.2. Patología perinatal.....</b>	<b>102</b>
<b>4.2.3. MC mayores y menores.....</b>	<b>103</b>
<b>4.2.4. Morbilidad postnatal.....</b>	<b>108</b>
<b>4.2.5. Desarrollo pondoestatural.....</b>	<b>109</b>
<b>4.2.6. Desarrollo psicomotor.....</b>	<b>110</b>
4.3. ESTUDIO DE POSIBLES FACTORES ESPECÍFICOS DE LA TÉCNICA DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA RELACIONADOS CON LAS GESTACIONES CLÍNICAS QUE FINALIZARON EN ABORTO Y LOS PROBLEMAS DE SALUD DE LOS CASOS.....	112
<b>4.3.1 Análisis de posibles factores de riesgo de aborto tras gestación clínica conseguida por TRA.....</b>	<b>112</b>
<b>4.3.2 Análisis de posibles factores de la técnica de reproducción asistida y las parejas asociados a los problemas de salud detectados.....</b>	<b>113</b>
4.3.2.1. <i>Patología gestacional.....</i>	113
4.3.2.1.1. Diabetes gestacional.....	114
4.3.2.1.2. Preclampsia.....	115
4.3.2.1.3. Parto instrumentado o por cesárea .....	115
4.3.2.2. <i>Patología neonatal.....</i>	117
4.3.2.2.1. Gemelaridad.....	117
4.3.2.2.2. Prematuridad.....	117
4.3.2.2.3. Somatometría al nacimiento.....	118
4.3.2.2.4. Ingreso al nacimiento.....	119
4.3.2.3. <i>Malformaciones congénitas.....</i>	119
4.3.2.3.1. Malformaciones congénitas mayores.....	119
4.3.2.3.2. Malformaciones congénitas menores.....	120
4.3.2.4. <i>Somatometría a los 12-20 meses y a los 26-40 meses de edad.....</i>	121
4.3.2.5. <i>Desarrollo neurológico.....</i>	121
4.3.2.5.1. Alteración del desarrollo psicomotor.....	121
4.3.2.5.2. Retraso global del desarrollo.....	121
4.3.2.5.3. Retraso del lenguaje.....	122
4.3.2.5.4. Trastorno del espectro autista y rasgos TEA.....	123

<b>CAPÍTULO 5: DISCUSIÓN</b> .....	125
5.1. DISCUSIÓN DEL MÉTODO.....	128
<b>5.1.1. Fortalezas</b> .....	128
<b>5.1.1. Limitaciones</b> .....	128
5.2. DISCUSIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA COHORTE DE GESTACIONES CLÍNICAS CONSEGUIDAS POR TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA.....	130
5.3. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS Y COMPARACIÓN CON LA BIBLIOGRAFÍA.....	132
<b>5.3.1. Discusión del análisis comparativo del estado de salud y desarrollo de casos y controles</b> .....	132
<b>5.3.2. Discusión del estudio de factores específicos de la TRA asociados a los problemas de salud de los casos y a aborto tras gestación conseguida por técnicas de reproducción asistida</b> .....	134
<i>5.3.2.1. Factores asociados a aborto en gestaciones clínicas TRA</i> .....	134
<i>5.3.2.2 Factores asociados a los distintos problemas de salud de los casos</i> .....	135
5.4. APLICACIONES PRÁCTICAS .....	136
5.5. FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN.....	139
<b>CAPÍTULO 6: CONCLUSIONES</b> .....	141
<b>CAPÍTULO 7: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	147
<b>CAPÍTULO 8: ANEXOS</b> .....	169
8.1. ANEXO 1. CONSENTIMIENTO INFORMADO .....	171
8.2. ANEXO 2. RECOGIDA DE DATOS SOBRE FERTILIDAD Y TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA.....	176
8.3. ANEXO 3. RECOGIDA DE DATOS SOBRE GESTACIÓN, PARTO Y PERIODO NEONATAL .....	178
8.4. ANEXO 4. RECOGIDA DE DATOS DE SEGUIMIENTO.....	179
8.5. ANEXO 5. CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA DEPÓSITO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS DE MENORES EN EL BIOBANCO (BIOBANC-MUR).....	181
8.6 ANEXO 6. COMUNICACIONES EN CONGRESOS, PREMIOS Y MENCIONES.....	186
<b>8.6.1. Comunicaciones en congresos</b> .....	186
<b>8.6.2. Premios y menciones</b> .....	189



**ABREVIATURAS**

AA	Amniocentesis
ACM	Anomalías congénitas múltiples
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AFPC	Ácido fólico periconcepcional
Array-CGH	Array de hibridación genómica comparativa
AV	Anomalía vascular
BVC	Biopsia de vellosidad corial
CN	Concepción natural
DG	Diabetes gestacional
DGP	Diagnóstico genético preimplantatorio
DIG	Defectos de impronta genómica
DPS	Desarrollo psicomotor
DT	Día de transferencia
DTN	Defecto del tubo neural
EG	Edad gestacional
EO	Estimulación ovárica
FIV	Fecundación in vitro
FR	Factor de riesgo
FSH	Hormona estimulante del folículo
GC	Gestación clínica
GE	Gestación evolutiva
GEG	Grande para la edad gestacional
GM	Gestación múltiple
GU	Gestación única
hCG	Gonadotropina coriónica
HCUVA	Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca

---

HLA	Antígenos leucocitarios humanos
hMG	Gonadotropina menopáusica
HUSL	Hospital Universitario Santa Lucía
HTA	Hipertensión arterial
IA	Inseminación artificial
IB	Instituto Bernabeu
IC	Intervalo de confianza
ICSI	Inyección intracitoplasmática de espermatozoides
ILE	Interrupción legal del embarazo
IMC	Índice de masa corporal
LH	Hormona luteinizante
LP	Lesiones pigmentarias
MC	Malformación congénita
MCLM	Manchas café con leche múltiples
MIV	Maduración de ovocitos in vitro
OD	Ovodonación
OR	Odds ratio
PC	Perímetro cefálico
PEG	Pequeño para la edad gestacional
PG	Patología gestacional
PZD	Diseción parcial de la zona pelúcida
qF-PCR	Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa y fluorescente
RGD	Retraso global del desarrollo
RN	Recién nacido
RNGPT	Recién nacido gran prematuro
RNPT	Recién nacido prematuro
RNT	Recién nacido a término
RPM	Rotura prematura de membranas



---

RR	Riesgo relativo
SDI	Síndromes por defecto de impronta
SNC	Sistema nervioso central
SG	Semanas de gestación
SHO	Síndrome de hiperestimulación ovárica
SMS	Servicio Murciano de Salud
SOP	Síndrome de ovario poliquístico
SUZI	Inseminación subzonal
TA	Tensión arterial
TE	Transferencia embrionaria
TEA	Trastorno del espectro autista
TEC	Transferencia de embrión congelado
TRA	Técnicas de reproducción asistida
URA	Unidad de Reproducción Asistida



---

**ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla 1. Distribución de participantes según el lugar de nacimiento.....	75
Tabla 2. Malformaciones congénitas menores más frecuentes en el grupo casos.....	94
Tabla 3. MC mayores por sistemas en el grupo casos.....	94
Tabla 4. MC menores más frecuentes en grupo control.....	98
Tabla 5. MC mayores por sistemas en grupo control.....	98
Tabla 6. Análisis caso-control: características generales.....	100
Tabla 7. Análisis caso-control: patología gestacional.....	101
Tabla 8. Regresión logística del análisis caso-control: patología gestacional.....	101
Tabla 9. Regresión logística del análisis caso-control: diabetes gestacional.....	102
Tabla 10. Análisis caso-control: patología perinatal.....	102
Tabla 11. Análisis caso-control: malformaciones mayores y menores.....	103
Tabla 12. Regresión logística del análisis caso-control: malformaciones mayores.....	104
Tabla 13. Regresión logística del análisis caso-control: lesiones pigmentarias...	104
Tabla 14. Regresión logística del análisis caso-control: malformaciones capilares.....	105
Tabla 15. Análisis caso-control: morbilidad postnatal.....	109
Tabla 16. Análisis caso-control: desarrollo ponderoestatural.....	110
Tabla 17. Análisis caso-control: patología neurológica.....	110
Tabla 18. Resumen de diferencias entre casos y controles.....	111
Tabla 19. Resumen de patologías asociadas a ser caso: regresión logística.....	112
Tabla 20. Regresión logística: factores de riesgo de aborto en gestaciones clínicas conseguidas por técnicas de reproducción asistida.....	112
Tabla 21. Regresión logística de posibles factores de la técnica de reproducción asistida implicados: patología gestacional.....	114

---

Tabla 22. Regresión logística de posibles factores de la técnica de reproducción asistida implicados: diabetes gestacional.....	115
Tabla 23. Regresión logística multimodal: tipo de parto.....	116
Tabla 24. Factores asociados a gestaciones múltiples.....	117
Tabla 25. Factores asociados a prematuridad.....	118
Tabla 26. Regresión logística de posibles factores de la técnica de reproducción asistida implicados: pequeño para la edad gestacional.....	118
Tabla 27. Regresión logística de posibles factores de la técnica de reproducción asistida implicados: grandes para edad gestacional.....	119
Tabla 28. Regresión logística de posibles factores de la técnica de reproducción asistida implicados: malformaciones congénitas mayores.....	120
Tabla 29. Regresión logística de posibles factores de la técnica de reproducción asistida implicados: malformaciones congénitas menores.....	120
Tabla 30. Regresión logística de posibles factores de la técnica de reproducción asistida implicados: retraso global del desarrollo.....	122
Tabla 31. Regresión logística de posibles factores de la técnica de reproducción asistida implicados: retraso del lenguaje.....	122
Tabla 32. Resumen de factores de riesgo de la técnica de reproducción asistida asociados a los problemas de salud.....	123

## ÍNDICE DE FIGURAS Y GRÁFICAS

Figura 1. Ovario hiperestimulado.....	38
Figura 2. Ovocito inseminado mediante fecundación in vitro convencional.....	39
Figura 3. ICSI: microinyección del espermatozoide en el ovocito.....	39
Figura 4. Vitricación embrionaria.....	42
Figura 5. Mapa de la distribución de las distintas áreas de salud en la Región de Murcia.....	71
Figura 6. Selección de pacientes.....	76
Gráfica 1. Causas de infertilidad en la cohorte de gestaciones clínicas.....	87
Gráfica 2. Tipo de técnica de reproducción asistida empleada.....	88
Gráfica 3. Número medio de ovocitos recuperados, fecundados y de embriones evolutivos.....	89
Gráfica 4. Día de transferencia embrionaria.....	89
Gráfica 5. Distribución por grupos de edad materna en el grupo abortos.....	90
Gráfica 6. Causas de esterilidad en el grupo abortos.....	91
Figura 7. Patrón craneofacial en controles, niños con síndrome alcohólico fetal y niños concebidos tras técnicas de reproducción asistida.....	105
Figura 7. Documento informativo para parejas-TRA.....	138



# **CAPÍTULO 1: INTRODUCCION**





## CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

### 1.1 EVOLUCIÓN HISTÓRICA DEL DESARROLLO DE LAS TRA

La historia de la FIV se inicia en la década de 1930 con los cultivos cortos de embriones de roedores (1). En esos años, Pincus y colaboradores consiguieron liberar ovocitos inmaduros del folículo de coneja y cultivarlos, descubriendo que precisaban alrededor de 12 horas para su maduración.

En 1950, Edwards cultiva células trofoblásticas describiendo las posibilidades del DGP y estudia la maduración y FIV de ovocitos humanos, observando que necesitaban 37 horas para la maduración total y por tanto para su fertilización (Edwards, 1965).

Poco después Patrick Steptoe pudo acceder por vía laparoscópica a los folículos y aspirar los ovocitos maduros. En estos momentos existía un gran rechazo del cultivo de embriones humanos por los problemas éticos que ello asociaba. Sin embargo, los avances en estudios animales y la ausencia de anomalías en su descendencia, permitió que se continuara su investigación en humanos.

Así empezó a ser posible la obtención de múltiples ovocitos tras inducir la ovulación con gonadotropina menopáusica (hMG) y coriónica (hCG) y su posterior fertilización. Se empezaron a transferir los embriones resultantes y se comprobó que muchas de las pacientes mostraban hCG positiva, es decir, embarazos bioquímicos, pero que fracasaban por mala receptividad endometrial.

El primer éxito clínico se produjo en 1976, pero finalizó en un embarazo ectópico (Steptoe and Edwards 1976). Fue en el año 1978 cuando nació el primer niño concebido por FIV en Londres, tras la transferencia de un embrión de 8 células (Steptoe and Edwards 1978). Los siguientes éxitos fuera de Inglaterra se describen en Australia en 1980 por A. Trownson; EEUU en 1981 por H. Jones y en Alemania 1982 por A. Trotnow (2). En nuestro país se produjo este hecho en el 1984, en el Instituto Dexeus de Barcelona.

Desde entonces se han producido múltiples avances en el campo de la reproducción humana para lograr de la forma menos agresiva, cómoda y rápida

mejores tasas de éxito (3). Los hechos más destacados de este periodo han sido: el desarrollo de distintos protocolos de EO utilizados en la fase proliferativa, ovulatoria o lútea según la patología de la pareja a tratar; la realización de ovodonaciones (OD), consiguiéndose el primer niño concebido tras OD en mujer con baja reserva ovárica en 1984 (4); la primera transferencia de gametos a las trompas de Falopio (GIFT) en 1984 (5); las mejoras progresivas de las condiciones del cultivo embrionario; la introducción de la ecografía vaginal (6), que permite controlar la inducción de la foliculogénesis, aspirar los ovocitos sin necesidad de anestesia general y dirigir la transferencia; la criopreservación de ovocitos y embriones restantes que aumentan el potencial posterior de éxitos; la introducción en 1990 de la ICSI para mejorar los resultados en casos de esterilidad masculina grave y en el mismo año la del DGP.

Todo ello ha conducido a que a día de hoy más de 5 millones de niños hayan sido concebidos por TRA a nivel mundial. Pero de la mano del desarrollo progresivo de las TRA ha ido siempre la preocupación por los posibles efectos sobre la salud de las embarazadas y los niños concebidos por estas técnicas.

Ya en 1985, el Grupo de Colaboración FIV australiano realizó un estudio que incluyó 244 gestaciones-TRA entre los años 1980 y 1983, y describió altas tasas de parto pretérmino (19-23%), bajo peso al nacimiento (30%), embarazo ectópico (5%) y pérdidas fetales (abortos bioquímicos 18% y abortos espontáneos 27%) (7). Este estudio tenía grandes limitaciones. El tamaño de la muestra era pequeño y no incluía un grupo control, por lo que no permitía concluir si estos resultados debían atribuirse al uso de las TRA o a posibles factores de confusión que no fueron analizados en detalle (EM, tipo y tiempo de esterilidad, etc.).

Pronto fue necesario regular el uso de las TRA y diseñar registros en los distintos países con el objetivo de evaluar la calidad y la seguridad de estos procedimientos. En Europa contamos con el “European IVF-Monitoring Consortium” (EIM) que desde 1997 es responsable del registro europeo de TRA (<https://www.eshre.eu/eim>). En Estados Unidos el “Center for Disease Control and Prevention” (CDC) emite informes anuales sobre los datos de su registro y existe además un registro mundial denominado desde 2001 “International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology” (ICMART), que representa aproximadamente 2/3 de la actividad relacionada con las TRA de todo el mundo (<http://www.icmartivf.org>).

En el EIM participan más de 1000 clínicas de 34 países. Este registro permite ver cómo la aplicación de estas técnicas aumenta cada año, las tendencias y conocer algunos aspectos relacionados con su uso en Europa. Incluye todas las TRA utilizadas en este momento: FIV, ICSI, TEC, OD, DGP, IA y maduración in vitro de ovocitos (MIV). Los datos obtenidos durante el año 2012 fueron publicados en agosto del 2016 (8). Durante ese periodo se llevaron a cabo 640.144 ciclos de tratamiento (un 4.9% más que los registrados el año previo) y se produjeron 143.844 nacimientos. La técnica más utilizada fue la ICSI, en el 69% de los ciclos, cifra estable desde el año 2008. En cuanto al DGP, solo 19 de los 34 países registraron datos al respecto, siendo España la principal participante, al aportar datos de 2.744 ciclos. Se reportaron 8.433 ciclos que permitieron 4.465 transferencias en fresco y 671 TEC. Se consiguieron 1.680 partos, 32% por transferencia, cifra superior a la descrita en 2008 (15%). Durante este año se evidenció una disminución del número de embriones transferidos por ciclo, siendo de un único embrión en el 30% de los casos frente al 27% el año previo y de 3 o 4 embriones en el 13% y 1% respectivamente en comparación con el 14.5% y 1.3% anterior. Estas diferencias son mucho más significativas si estos datos se comparan con los del año 1997. Solo en un 10% de los casos se realizaba transferencia de embrión único en ese momento. En la misma proporción se transferían 4 o más embriones, y en más del 35% se transferían 3. El descenso del número de embriones transferidos fue asociado a un descenso de las tasas de GM: 17.9% tras ciclos FIV/ICSI en fresco y de alrededor del 12% tras TEC.

En mayo de 2016 se publicó por el ICMART el quinto informe desde su creación en 1989, de los datos sobre el uso de las TRA a nivel mundial entre los años 2008 y 2010 (9). Incluye datos de registros regionales y nacionales, así como de clínicas en países donde no tienen un registro obligatorio. En total participan cerca de 2.500 clínicas de reproducción situadas entre 58-61 países alrededor del mundo, lo que se estima que representa dos tercios de la actividad mundial. Como datos fundamentales los autores destacan la tendencia cada vez mayor a la transferencia de un único embrión (de un 25% en 2008 a un 30% en 2010) así como el aumento de la TEC (aumento del 27.6%). Durante ese periodo se iniciaron más de 4.461.309 ciclos resultando en 1.144.858 RN. La cantidad de ciclos/millón de habitantes fue similar a lo largo de los años pero se detectaron más diferencias entre países (rango entre 8-4.775 ciclos/millón de habitantes). En España el

Registro de la Sociedad Española de Fertilidad (SEF) estima que se realizan 1.250 TRA/millón de habitantes. El número de aspiraciones aumentó un 6.4% siendo Japón el que tenía las cifras más altas (18%), seguido de Francia (17%) y Estados Unidos (10.7%). La tasa de realización de ICSI se mantuvo estable (66% de los ciclos de no donante), pero en cifras elevadas en relación al porcentaje de infertilidad masculina que se cree implicado en los problemas de fertilidad (35-50%). A pesar de las tasas estables de utilización de ICSI, sigue habiendo grandes diferencias entre países, alcanzando cifras del 100% en países como Oriente Medio, lo que indica su utilización en casos de esterilidad sin factor masculino asociado como por ej. EM avanzada, esterilidad de causa desconocida (EOD), escasa recuperación de ovocitos, etc. Esta práctica es muy controvertida y muchos autores plantean reservar el uso de ICSI a casos de esterilidad masculina, ya que no hay evidencia clara de que se obtengan mejores tasas de éxito en otros supuestos y porque aún se discute si existe o no algún efecto de este procedimiento sobre la salud de los niños (10) (11).

En relación a la TEC, el informe del ICMART describe un aumento del 27.6% durante los 3 años de estudio, siendo los japoneses de nuevo los que estaban a la cabeza, seguidos de los estadounidenses y australianos. De acuerdo con las recomendaciones de transferencia de un único embrión/ciclo sobre todo en mujeres de buen pronóstico (12), las tasas de su uso en fresco aumentaron de un 25% a un 30% y del 44% al 51.2 % tras TEC. También el número de embriones transferidos en fresco y TEC disminuyó durante este periodo de 2.1 a 1.9 y de 1.72 a 1.6 respectivamente, y los países que aun transferían de media, 3 embriones, eran cada vez menos. Además se muestra en el informe la correlación entre el menor número de embriones transferidos y la tasa de GM y prematuridad. Las tasas medias de GM fueron del 21% tras transferencia en fresco frente el 12% tras TEC, pero cada vez son más los países que tienen tasas de GM inferiores al 10%. Los países donde la tendencia es la transferencia de embrión único tienen las tasas de GM más bajas, por ejemplo Australia y Nueva Zelanda, donde hay una tasa de GM del 8.2% y 0.1% de gestación triple, en contraste con otros países como Oriente Medio que tienden a transferir 2 o más embriones y sus tasas de GM ascienden hasta un 30%.

También se describe un aumento del número de mujeres mayores de 40 años sometidas a TRA durante este periodo (de un 20% al 23%), dato relevante a

tener en cuenta a la hora de analizar y comparar los resultados de nuestro estudio que no incluye mujeres dentro de esta franja de edad.

Todos estos cambios a lo largo del tiempo se asociaron, según el informe del ICMART, con tasas de embarazo/ciclo y parto/ciclo en fresco (FIV/ICSI) del 25-26% y 19-20% en 2010 y tras TEC del 29.1% y 20.7%; menores tasas de abortos bioquímicos tras transferencia en fresco y TEC (de 21.8% al 20.2% y de 28.9 % al 25.2% respectivamente) y menor mortalidad perinatal tras transferencia en fresco y TEC (de 22.9 pasó a 21/1000 nacimientos y de 15.1 a 14.6 tras TEC).

La OD aumentó durante este periodo, pero siguen existiendo diferencias entre países y en algunas regiones su uso sigue prohibido (Japón, Oriente Medio, Alemania, etc.). También aumento el DGP (un 30%), fundamentalmente por las mejoras técnicas y el uso del Array de hibridación genómica comparativa (Array-CGH) para cribado de cromosopatías en mujeres añosas y con múltiples fallos de implantación.

Un aspecto al que no hace referencia el informe del ICMART es la tendencia generalizada a transferir embriones en estadios más tardíos (día 5 o 6 tras la fertilización), lo que parece conseguir una situación más similar a la fisiológica, mejor adaptación del endometrio para la implantación y consecuentemente mejores tasas de implantación y GC. No obstante, el beneficio de la transferencia embrionaria (TE) en estadio de blastocisto continúa siendo uno de los grandes puntos de debate en Medicina Reproductiva, ya que esa transferencia más tardía condiciona mayor tiempo de exposición de los embriones al medio de cultivo artificial, lo que se ha postulado como posible factor predisponente de alteraciones epigenéticas asociadas a las TRA y con la aparición de posibles efectos sobre la salud de los niños-TRA (13).

La evolución de las TRA a lo largo de estos años muestra como estas técnicas son cada vez más accesibles a nivel mundial, más seguras y tienen mejores tasas de éxito. Ello añadido a los cambios socioeconómicos producidos durante las últimas décadas como la incorporación de la mujer al ámbito laboral, el retraso en el deseo reproductivo y el hecho de que entre el 10-12% de hombres y mujeres tienen problemas de esterilidad (14) ha condicionado que las indicaciones de estos procedimientos aumenten cada día, así como el número de niños concebidos por estos procedimientos. Ello exige por otro lado que el estudio de la salud de esta población a corto y largo plazo sea igualmente progresivo y

exhaustivo, para lo que es necesaria la colaboración permanente entre clínicos y facultativos especializados en reproducción humana.

## 1.2. TIPOS DE TRA. INDICACIONES Y COMPLICACIONES

Desde el inicio de las TRA han sido múltiples los procedimientos realizados, pero van a ser descritos brevemente los que a día de hoy se utilizan: FIV, ICSI, TEC, DGP, y otras: donación de gametos y embriones, EO e IA (15)(16); así como sus indicaciones y complicaciones de acuerdo con las guías de práctica clínica de la SEF y Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO) (<http://www.sefertilidad.net/index.php?seccion=biblioteca&subSeccion=guiasPracticaClinicas>).

### 1.2.1 FIV

Procedimiento destinado a combatir la infertilidad y conseguir un embarazo mediante la fecundación del óvulo en el laboratorio. Puede realizarse con óvulos de donante o propios.

Habitualmente el ciclo de tratamiento dura unas 2-3 semanas e incluye:

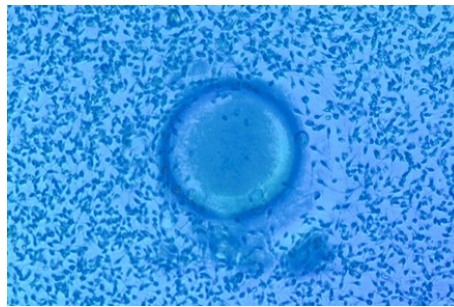
- Hiperestimulación ovárica (diferentes protocolos de EO según presunción de alta o baja respuesta). Parece existir un rango de respuesta óptima a la EO que maximiza las probabilidades de embarazo minimizando el riesgo de complicaciones: obtención de entre 6-15 ovocitos (17).

Figura 1. Ovario hiperestimulado



- Punción de folículos seleccionados por vía vaginal con el objetivo de extraer los ovocitos de su interior.
- Fecundación en el laboratorio con espermatozoides de eyaculado, biopsia testicular o aspiración microquirúrgica de epidídimo. Puede realizarse con espermatozoides de donante o propios.
- Transferencia de uno o varios embriones a la cavidad uterina en diferentes estadios evolutivos según se considere oportuno.

Figura 2. Ovocito inseminado mediante FIV convencional



Las indicaciones de la FIV son las siguientes:

- Alteraciones tubáricas. En casos de obstrucción completa es de elección. Esta fue la indicación inicial y la más frecuente.
- Endometriosis.
- Baja respuesta debido al bajo éxito de otras terapias, sobre todo en mujeres de EM avanzada donde el tiempo es crítico.
- EOD y ausencia de respuesta a otras técnicas menos invasivas (EO, IA, etc.).

En la mujer joven se debe ofrecer de forma general un máximo de 6 ciclos de hiperestimulación ovárica y/o IA previa indicación de FIV si es posible (18). La situación es distinta para mujeres ańosas. En estas el tiempo es crítico, por lo que al ser los tratamientos convencionales menos exitosos, en muchas ocasiones se ofrece como primera opción la FIV.

### 1.2.2 ICSI

El uso de la ICSI se introdujo en los años 90 para tratar la infertilidad masculina (3). Tras la introducción de la FIV pronto se observó que numerosas parejas con esterilidad masculina grave eran incapaces de concebir a pesar de esta técnica. Se incluían aquellos varones con recuento espermático muy bajo (<5 millones), mala motilidad y alto índice de anomalías espermáticas. Se inició así la era de la micromanipulación de ovocitos y espermatozoides, que partió con la disección parcial de la zona pelúcida (PZD), siguió con la inseminación subzonal (SUZI) y finalizó con la ICSI. Las dos primeras técnicas tenían como objetivo evitar la barrera a la fertilización que representa la zona pelúcida. La PZD consistía en la disrupción mecánica de esta zona de forma que el espermatozoide tenía acceso directo al espacio perivitelino (19). En la SUZI se depositaban varios espermatozoides móviles (5-20) en el espacio perivitelino mediante una micropipeta. Estas técnicas hace años que no se utilizan. La ICSI es más agresiva, ya que inyecta directamente un solo espermatozoide dentro del ooplasma, de forma que cruza no solo la zona pelúcida, sino también el oolema.

Figura 3. ICSI: microinyección del espermatozoide en el ovocito



Esta técnica se puede realizar utilizando espermatozoides de eyaculado u obtenidos mediante aspiración percutánea del epidídimo o por biopsia testicular.

Las indicaciones de la ICSI son las siguientes:

- Factor masculino grave.
- Varones que se han realizado una vasectomía.
- Enfermedad infecciosa o infertilidad de causa inmunitaria.



- Eyaculación retrógrada o casos en los que exista dificultad para conseguir una eyaculación en condiciones normales (problemas neurológicos, etc.).
- Factor masculino leve-moderado (subfertilidad masculina): bajo número de espermatozoides, problemas de movilidad o mala morfología de los mismos. Aunque no parecen existir diferencias significativas entre FIV e ICSI en estos casos (20)(21), si se añade la presencia de teratozoospermia las tasas parecen mejores con ICSI (22).
- DGP.
- Si las terapias utilizadas no han sido efectivas en casos de endometriosis, EOD, disfunción ovárica, fallo ovárico, etc.
- Baja respondedora. Aunque no hay evidencia de mejores tasas de éxito que con FIV si no asocia factor masculino (23), en caso de no haberse conseguido gestación tras ciclo FIV previo, se suele ofrecer ICSI.

### 1.2.3 TEC

La vitrificación de embriones consiste en someter a los embriones a muy bajas temperaturas en un tiempo mínimo, utilizando nitrógeno líquido que alcanza los  $-196^{\circ}\text{C}$  (24). A estas temperaturas se detiene cualquier actividad biológica manteniendo intacta su fisiología. Sin embargo, durante la congelación se pueden formar cristales de hielo que pueden dañar las células, por lo que para evitarlo se suelen usar crioprotectores.

Este procedimiento se ha convertido en una necesidad imperiosa de los laboratorios de FIV debido fundamentalmente a que aumenta las posibilidades de éxito al permitir transferencias en caso de fracaso previo y por la ley de reproducción asistida que no permite transferir más de 3 embriones (<http://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2006-9292>). Actualmente en la mayoría de ciclos de FIV/ICSI quedan embriones restantes que pasan a este procedimiento (75% aproximadamente). La transferencia se puede realizar en ciclo natural o empleando un protocolo de EO en caso de factor femenino implicado que lo requiera. En sus inicios el rendimiento de la congelación era pobre, pero en la actualidad con las técnicas de vitrificación se han alcanzado tasas de supervivencia embrionaria a la desvitrificación, superiores al 95% (25) y

los ciclos de criotransferencia, especialmente si se realiza con blastocistos, consiguen gestaciones evolutivas (GE) en un 25-35% dependiendo de las series (6).

Figura 4. Vitrificación embrionaria



#### 1.2.4 DGP

El DGP se inició en 1990 como alternativa al diagnóstico prenatal para aquellas parejas con elevado riesgo de transmitir alguna enfermedad genética a la descendencia (2). Aporta notables ventajas, al evitar la interrupción legal del embarazo (ILE) y las situaciones traumáticas que ello conlleva.

El proceso del DGP consta de las siguientes fases (26):

- Fase previa: valoración en consulta de la pareja. Descripción de la patología en cuestión y confirmación molecular para asegurar que existe indicación de DGP y que se puede realizar. Esta fase requiere de un asesoramiento genético por un profesional con experiencia en genética y conocimientos de embriología, así como de las técnicas de DGP.
- Obtención embrionaria: la prueba de elección es la ICSI ya que evita un fallo de fecundación total tras la inseminación y la contaminación del ácido desoxirribonucleico (ADN) al realizar el estudio genético mediante PCR. Esta fase incluye todas las etapas de la ICSI: EO, recuperación de ovocitos y fertilización.
- Biopsia embrionaria: extracción de una o dos células del embrión sin que ello comprometa su desarrollo normal.
- Análisis genético diagnóstico: la célula obtenida es procesada y sometida a estudio genético.
- TE en cavidad uterina.

Aunque inicialmente se llamaba DGP, en la actualidad se utiliza en muchos casos el término cribado genético preimplantacional (27). Ello se debe a que en un gran número de casos, debido a los avances técnicos y a la aparición de las técnicas de secuenciación masiva, no solo se realiza DGP a aquellas parejas con antecedentes de anomalías genéticas, sino también para descartar cromosomopatías en aquellas con factores de riesgo de padecerlas (EM avanzada, baja reserva ovárica, etc.).

#### 1.2.4.1 Indicaciones en pacientes de alto riesgo:

- Portadores de reorganizaciones cromosómicas estructurales: translocaciones recíprocas, robertsonianas, inversiones pericéntricas y paracéntricas.
- Portadores de desequilibrios cromosómicos con efecto clínico.
- Portadores de enfermedades monogénicas con herencia AR, AD y ligada X.

#### 1.2.4.2 Indicaciones del DGP cromosómico para mejorar los resultados de la FIV:

- EM avanzada.
- Fallos repetidos de implantación.
- Pérdidas fetales recurrentes.
- Pacientes con embarazos previos trisómicos.
- Varones con anomalías cromosómicas en los espermatozoides.

Otras posibles indicaciones son la selección de sexo (prohibido en España) y el análisis de antígenos leucocitarios humanos (HLA).

Aunque los beneficios son claros, asocia también algunos aspectos negativos:

- Técnica invasiva, riesgo de afectación del desarrollo del embrión
- Altamente dependiente de la competencia técnica del personal de los distintos centros
- Diferente calidad del cultivo de embriones y porcentaje de mosaicismos preimplantación según los centros.

Clásicamente se realizaba biopsia de un blastómera del embrión de 6-8 células el día 3 de cultivo, durante el estadio de división celular. Pero en los últimos años se tiende a realizar biopsia del blastocisto (28), lo que asocia menos probabilidad de mosaicismos y aumenta la cantidad de ADN viable para analizar.

### 1.2.5 Donación de gametos y embriones

Las técnicas descritas con anterioridad se pueden realizar con gametos propios o de donante. También se puede realizar donación de embriones vitrificados.

En estos casos cabe destacar que los donantes deben pasar una valoración clínica exhaustiva para comprobar que gozan de un buen estado de salud físico y psicológico y se realizarán una serie de pruebas complementarias con el objetivo de descartar patología infecciosa, hematológica y genética si se considera necesario. Además se recomienda realizar despistaje de algunas enfermedades genéticas en las que la tasa de portadores sanos es muy alta como por ej. Fibrosis Quística, Enfermedad de Gaucher, Tay- Sachs y S. X-frágil, así como cariotipo para descartar alteraciones cromosómicas equilibradas (15).

La utilización de esperma de donante ha disminuido mucho con las mejoras de la ICSI. No obstante, se sigue utilizando, siendo uno de los supuestos más frecuentes en nuestro país, para conseguir gestación en mujeres solteras que deciden ser madres, ya que la ley española de reproducción lo ampara.

### 1.2.6 Otras TRA

Otras TRA que no han sido aplicadas en nuestra cohorte para conseguir gestación son la donación de gametos y embriones, coito programado con o sin terapia hormonal, IA y MIV.

#### 1.2.6.1 *Coito programado con EO*

Se trata de la realización de relaciones sexuales dirigidas durante los días de la probable ovulación. Se suele realizar EO con clomifeno (CC) o con gonadotropinas, pero también en ciclo natural. Debe ser el primer escalón por su sencillez y disponibilidad, si las condiciones de la pareja lo permiten (jóvenes,

esterilidad de corta duración y resultados normales de pruebas básicas iniciales). Precisa escasos controles y es económica, pero logra unas tasas de parto de entre el 14% y 23%, frente al 13% estimado en parejas con subfertilidad, en las que no se programan las relaciones sexuales (29).

#### 1.2.6.2 IA

La IA se define como el depósito de espermatozoides de forma artificial en cualquier parte del aparato reproductor femenino o en el saco de Douglas con el fin de conseguir una gestación. A día de hoy se realiza la intrauterina. Inicialmente se practicaba con semen completo, pero la demostración de que el plasma seminal inhibe la capacitación y que este fenómeno se produce durante el ascenso de los espermatozoides por el cérvix, obligó a emplear técnicas de recuperación y capacitación espermática, hoy imprescindibles e indiscutibles (30). Gracias a su sencillez, escaso coste y posibilidad de preparación en las consultas médicas, se ha convertido en la TRA más empleada. Puede realizarse con semen de donante o de la pareja.

La técnica incluye:

- Inducción de la ovulación para obtener un mayor número de ovocitos.
- Control de la foliculogénesis para sincronizar la IA y la ovulación.
- Capacitación del semen para lograr el mayor número de espermatozoides y con la mayor motilidad.
- IA a las 24-48 horas.
- Control de la fase lútea.

### 1.2.7 Complicaciones de las TRA

#### 1.2.7.1 *Complicaciones relacionadas con la recuperación de ovocitos* (31)

La posibilidad de que aparezcan es muy baja, pero de aparecer pueden ser muy graves, incluso fatales (desgarro de hipogástrica, de asas, etc.).

- Dolor: la más común. Más frecuente en mujeres hiperestimuladas y con adherencias.

- Hemorragia vaginal en los sitios de punción. Sólo precisa control al finalizar la aspiración. Las intraperitoneales resultan de la dislaceración vascular o de la cápsula ovárica.
- Infección: riesgo bajo, pero puede ser grave (32). Siempre es ascendente, la flora vaginal es arrastrada por la aguja de punción.
- Torsión de quiste. Muy infrecuente. Se produce por rotación del ovario sobre su eje inducida por la aguja de punción. Se da sobre todo en ovarios móviles y si la aguja entra tangencial a la cápsula.
- Complicaciones tras la realización de la TRA
- Embarazo múltiple: la GM asocia un riesgo alto de patología gestacional en la madre y patología perinatal en el RN (33). Por ello, su evitación es uno de los objetivos fundamentales de los que se dedican a la Reproducción a día de hoy. Aunque las tasas siguen siendo mayores a las de la población general, han disminuido mucho los últimos años debido a las mejoras de la vitrificación y tendencia cada vez mayor de transferir un único embrión.
- Síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO): el objetivo de la inducción de la ovulación es siempre lograr hiperestimular el ovario, con el fin de obtener el mayor número de ovocitos posibles. El problema se plantea cuando acontece la forma de hiperestimulación grave conocida como SHO. Este cuadro se presenta en el 3.1-8% (34). Es más frecuente en mujeres jóvenes y delgadas, en casos de síndrome de ovario poliquístico (SOP) o con imagen ecográfica del "signo del collar" y en mujeres con valores de estradiol elevado (más de 2500 pg/ml), por lo que a la hora de elegir el protocolo de EO hay que tener en cuenta estos factores de riesgo.

### 1.3 POSIBLE IMPACTO DEL USO DE LAS TRA SOBRE LA SALUD DE GESTANTES Y NIÑOS

#### 1.3.1 Patología gestacional y neonatal

En los últimos 30 años las tasas de éxito y las indicaciones de TRA han aumentado progresivamente a nivel mundial y de forma similar lo ha hecho la preocupación por el posible impacto de estas técnicas sobre salud de los RN y las gestantes. Desde principios de los 80 han sido descritas mayores tasas de patología perinatal en gestaciones-TRA: pérdidas fetales, embarazos ectópicos, partos prematuros, bajo peso al nacimiento, y altas tasas de GM (7)(35). Inicialmente estos problemas se atribuyeron a las altas tasas de GM (36), pero posteriormente múltiples trabajos describen más patología perinatal en esta población, independientemente del tipo de gestación (única o múltiple). Sin embargo, estos resultados siguen siendo controvertidos a día de hoy, ya que otros autores no detectan diferencias o incluso describen menor patología en las GM-TRA (37)(38).

##### 1.3.1.1 Patología gestacional

Los resultados de estudios y metanálisis más recientes coinciden en que existe mayor riesgo de patología gestacional incluso en gestaciones únicas (GU)-TRA. Un metanálisis de 2012 (39) describe en esta población riesgo aumentado (Intervalo de confianza (IC) 95%) de hipertensión arterial (HTA) 1.49 (1.39-1.59), cesárea 1.56 (1.51-1.60), mortalidad perinatal 1.87 (1.48-2.37) y parto inducido 1.18 (1.10-1.28). Los autores no describen posibles factores asociados, pero sí especifican que las diferencias persisten incluso cuando se evita el posible efecto de la EO (transferencia de congelados en ciclo natural) y el del gemelo evanescente (transferencia de embrión único). Destacan la necesidad de estudiar los posibles factores de la TRA o infertilidad de las parejas implicados en estos peores resultados de salud, para minimizarlos en la medida de lo posible.

Un estudio reciente retrospectivo en población australiana (40), describe mayor tasa de HTA y preclampsia en gestaciones TRA tanto únicas como múltiples (6.4% vs 5.7% y 8.6% vs 4.2% respectivamente), pero las diferencias no fueron estadísticamente significativas al ajustar los datos de acuerdo a EM, consumo de tabaco, IMC, diabetes pregestacional y DG.

En el 2016 se publica otro metanálisis sobre la patología perinatal en gestaciones-TRA que analiza 50 estudios de cohortes. Incluye 161.370 niños-TRA y 2280241 niños-CN de GU (41). Los autores describen también riesgo aumentado de patología gestacional en población TRA (IC 95%): HTA 1.3 (1.04-1.62); DG 1.31 (1.13-1.53); placenta previa 3.71 (2.67-5.16); desprendimiento de placenta 1.83 (1.49-2.24); hemorragia anteparto 2.11 (1.86-2.38); de hemorragia postparto 1.29, (1.06-1.57); polihidramnios 1.74 (1.24-2.45); oligoamnios 2.14, (1.53-3.01); cesárea 1.58 (1.48-1.70). Poco se sabe sobre los posibles factores específicos de la TRA implicados, por lo que los últimos años se están llevando a cabo trabajos sobre patología gestacional y perinatal asociados a las distintas TRA y distintos procedimientos para poder determinar si es la EO el factor determinante (TEC en ciclo natural vs transferencia en fresco), el tiempo de cultivo (transferencia de embrión en día 3 o estadio de blastocisto), la vitrificación, el uso de gametos de donante, etc. pero todavía los resultados no son concluyentes.

#### *1.3.1.2. Patología perinatal*

Las tasas de patología perinatal en la población TRA no han permanecido estables a lo largo del tiempo, de forma general se ha experimentado una disminución progresiva de su frecuencia. Un estudio reciente (42) muestra estos cambios evolutivos en población TRA del norte de Europa a lo largo de 20 años (1988- 2007). Los países participantes fueron Dinamarca, Finlandia, Noruega y Suecia. Incluyen en el estudio más de 92.000 niños-TRA y un grupo control de casi 500.000 niños-CN durante el mismo periodo. Los autores concluyen, aunque no pueden ajustar los resultados por IMC materno, exposición a tóxicos, causa ni tiempo de infertilidad, que a lo largo de los años se ha producido un remarcable descenso en el riesgo de nacer prematuro en embarazos únicos y múltiples comparando el periodo de 1988-1992 con el de 2003-2007 (Odds ratio (OR) ajustada por EM, paridad, sexo y país) 2.47 vs 1.5 y 1 vs 0.98 y de gran prematuro 3.8 vs 2.06 y 1.28 vs 1.12 respectivamente, así como de tener bajo peso al nacimiento 2.94 vs 1.49; 0.97 vs 0.86; o muy bajo peso al nacimiento (<1500g) 4.77 vs 2.11 y 1.12 vs 0.82. Describen además en el grupo de gemelares un menor riesgo de muerte neonatal en el grupo TRA, en probable relación con la menor tasa de GM monocoriales. Se evidencia además un claro descenso de la tasa de GM, fundamentalmente gracias a las técnicas de vitrificación y la tendencia



progresiva a transferir un único embrión, alcanzando en países como Suecia cifras en torno al 6%.

Pero a pesar de estas mejoras progresivas producidas en parte por los avances técnicos y en parte por la incorporación de parejas candidatas a TRA de mejor pronóstico, los últimos metanálisis apoyan que sigue habiendo un riesgo aumentado de prematuridad y bajo peso al nacimiento en GU-TRA. El metanálisis de 2012 previamente comentado (40) que incluye 20 estudios de cohortes controlados y 10 sin grupo control, estima un riesgo de parto prematuro de 1.54 (IC 95%, 1.47-1.62) y 1.39 de pequeño para la edad gestacional (PEG) (IC 95%, 1.27-1.53).

El último metanálisis que incluye estudios en población TRA de todo el mundo, también describe mayor riesgo de patología perinatal (43). Incluye 52 estudios de cohortes publicados desde 1993 hasta 2015 y 181.741 RN de GU FIV/ICSI y 4.636.508 tras CN. Se detectaron tasas mayores (IC 95%) de parto prematuro 10.9% (10-11.8) y gran prematuro 2.4% (1.9-3); bajo peso (8.7 (7.4-10.2) y muy bajo peso al nacimiento 2% (1.5-2.6), PEG 7.1 % (5.5-9.2); y mortalidad perinatal 1.1 % (0.9-1.3).

En el mismo año se publica otro metanálisis (44) que compara la patología perinatal de GM FIV/ICSI con GM-CN. Incluye 64 estudios y 60.210 RN-TRA y 146.737 de CN. La proporción estimada (IC 95%) de parto prematuro en ambos grupos fue de 51.5% (47.6-54.3), 12.1% (10.4-14.1) de parto muy pretérmino, bajo peso al nacimiento 49.8% (47.6-52.0), 8.4% muy bajo peso (7.1-9.9), PEG 16.2% (12.9-20.1) y mortalidad perinatal 3% (2.5-3.7). Son cifras muy altas de patología perinatal, pero el estudio comparativo entre grupos no mostró diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.0792$ ). Lo que sí destacaron los autores fue la existencia de grandes diferencias entre áreas geográficas, lo que puede deberse a las regulaciones tan dispares del uso de las TRA a nivel mundial. Deltombe-Bodart y colaboradores, en un trabajo publicado en marzo 2017 sobre población francesa, tampoco detectan diferencias entre GM-TRA (594) y GM-CN (986) tras ajustar los resultados por factores maternos y tipo de GM (monocorial o bicorial).

### 1.3.2 Crecimiento a largo plazo de niños-TRA

Diversos autores han estudiado la patología perinatal y el crecimiento fetal

de niños-TRA (45)(46), como se ha descrito en el apartado anterior, pero son pocos los que se han centrado en el crecimiento de estos niños a largo plazo. De ellos, la gran mayoría no detecta diferencias en datos antropométricos de niños-TRA y niños-CN (47)(48)(49)(50)(51)(52) hasta los 12 años de edad. Tampoco detectan diferencias en cuanto al desarrollo puberal ni mineralización ósea.

Sin embargo, Ceelen y colaboradores en 2009 (53), detectaron un crecimiento acelerado de los 3 a los 12 meses en un grupo de niños-TRA en comparación con el grupo control. Además estudiaron el posible efecto que ello podía tener sobre la tensión arterial (TA) y composición corporal a largo plazo y comprobaron que el crecimiento durante la primera infancia (de 1-3 años) se asoció con cifras más elevadas de TA, tanto sistólica como diastólica en el grupo TRA ( $109 \pm 11$  versus  $105 \pm 10$  mmHg en controles;  $P < 0.001$ ; y  $61 \pm 7$  versus  $59 \pm 7$  mmHg;  $P < 0.001$ , respectivamente).

Otros autores también han descrito un mayor riesgo cardiovascular en esta población (54), fundamentalmente debido a las altas tasas de patología perinatal que asocian (bajo peso, prematuridad y PEG), aunque son necesarios más estudios para establecer cuál será el riesgo cardiovascular en la edad adulta de esta población.

### **1.3.3 Desarrollo neurológico y autismo**

#### *1.3.3.1 DPS y capacidad cognitiva en niños-TRA*

El posible impacto a largo plazo sobre el DPS y capacidad cognitiva de los niños-TRA ha sido ampliamente estudiado durante los últimos años. El uso cada vez más extendido de los distintos tipos de tratamientos de fertilidad a nivel mundial y su conocida asociación con mayores tasas de patología perinatal (bajo peso y prematuridad fundamentalmente), llevaron a plantear si estos niños podrían tener secundariamente mayores problemas a nivel neurológico. Además en los últimos años también se ha planteado la hipótesis de un posible efecto sobre el desarrollo neurológico directamente relacionado con el uso de las TRA por mecanismos epigenéticos que podían verse afectados en las primeras etapas del desarrollo embrionario (55).

A pesar de ambas hipótesis, los estudios realizados hasta la fecha no muestran diferencias significativas a nivel de desarrollo neurológico (motricidad fina y gruesa, comunicación y lenguaje, resolución de problemas, capacidad cognitiva), entre población TRA (FIV/ICSI u otros tratamientos de fertilidad) y población general (56)(57)(58). Tampoco se ha evidenciado mayor riesgo asociado a niños concebidos tras TRA-DGP (59), aunque los estudios son escasos.

Schendelaar y colaboradores sí describen en 2014, asociación entre el tiempo hasta conseguir gestación en parejas subfértiles que han tenido GU-CN y peores puntuaciones en la valoración del neurodesarrollo (IC 95% 1.2, 1.038-1.404  $p=0.014$ ) hasta los 4 años de edad de acuerdo a Hempel (1993). El estudio incluyó 63 niños concebidos tras EO, 53 tras FIV, 79 de parejas subfértiles y 98 de parejas fértiles. Esa correlación se atribuyó al grupo de niñas donde se apreció una correlación positiva (IC 95%, 1.54, 1161-2.047  $p=0.003$ ).

Muy recientemente se ha publicado una revisión sistemática de los artículos publicados hasta noviembre de 2016 (60), sobre el desarrollo psicomotor y cognitivo de niños concebidos gracias a cualquier tipo de tratamiento de fertilidad de 4 años en adelante, en comparación con niños-CN. Los autores seleccionaron 35 artículos de los 861 encontrados. A pesar de las dificultades del análisis, no se detectaron diferencias significativas entre grupos. En cuanto a los resultados de estudios de alta calidad que estudiaban solo población ICSI los resultados fueron contradictorios, uno de ellos (61) detectó CI más bajo (5-7 puntos menos) en población-TRA, mientras otros no detectaron diferencias (62)(63). Entre FIV e ICSI los resultados también fueron contradictorios, de 3 artículos de alta calidad uno no detectó diferencias, otro sí a favor de ICSI y otro, mínimas diferencias (2-3 puntos menos en el CI). Los autores no pudieron realizar un metanálisis por la heterogeneidad de los diseños de estudio y de los criterios y herramientas utilizadas para valorar la capacidad cognitiva.

### 1.3.3.2 Autismo y TRA

Dentro de los trastornos del neurodesarrollo, el TEA y sus posibles etiologías es de los más estudiado en los últimos años debido a la alta prevalencia descrita en algunos países como Estados Unidos: 1-2% (64) y su impacto social. Aunque su causa sigue siendo en la mayoría de los casos desconocida, estudios epidemiológicos sugieren que, a parte de las causas genéticas ya identificadas, las

condiciones de salud de las madres previas al embarazo, la exposición a tóxicos, diabetes y otros desórdenes autoinmunes, las distintas causas de infertilidad de las parejas, etc. juegan un papel importante (65). Parece existir en pacientes con TEA una alteración en el desarrollo cerebral en fases muy precoces. Por ello, dada la importancia que adquiere el periodo preconcepcional y prenatal se ha estudiado mucho la exposición hormonal intraútero de los fetos, las distintas causas de infertilidad y el uso de TRA como posibles factores de riesgo. Los resultados al respecto son aun controvertidos. Algunos autores detectan asociación entre TEA y uso de ICSI, otros con uso de tratamientos menos invasivos como la EO y no con TRA más invasivas, mientras otros no detectan asociación con ningún tipo de tratamiento (66) ni con FIV de forma específica (67). Ello ha llevado a plantear que la posible causa de estos dispares resultados sea que no sean los procedimientos en sí el FR implicado sino las causas de esterilidad y/o condiciones de salud maternas. En este sentido son pocos los estudios que han estudiado esta asociación y también son los resultados contradictorios, mientras unos no detectan asociación (68) otros sí describen en el grupo de GM, mayor historia de infertilidad, mayor tiempo hasta conseguir gestación y/o haber recibido tratamiento hormonal o IA en el grupo de pacientes TEA (69).

Un reciente metanálisis (70) que incluye 11 estudios publicados hasta abril de 2016 (3 de cohortes y 8 caso-control) y un total de 8.161.225 pacientes, revela un riesgo relativo (RR) de 1.35 (IC 95% 1.09-1.68,  $p=0.007$ ) en niños concebidos por TRA. Sin embargo los autores explican que son necesarios más estudios con muestras más amplias y que tengan en cuenta posibles factores de confusión como la EM, prematuridad, GM, etc., ya que la mayoría de los estudios incluidos no los tuvieron en cuenta.

#### **1.3.4 MC mayores y menores en niños-TRA**

Los datos sobre las anomalías congénitas en niños-TRA son contradictorios a día de hoy y la evidencia sobre su asociación directa con las TRA escasa. Ello se debe fundamentalmente a las diferencias entre la forma de clasificación de estas anomalías por los distintos autores, los diseños de estudio, los tipos de TRA analizados y el tiempo de seguimiento. Aunque la mayoría de los estudios

describen mayores tasas de MC en población TRA (71)(72)(73)(74)(75), otros muestran que estas diferencias desaparecen al ajustar los resultados por factores como la EM y otros asociados al uso de TRA (76)(77).

Un metanálisis del 2004 (71) incluye población FIV/ICSI y analiza su asociación con MC mayores. Los autores seleccionan 19 artículos en los que las tasas de MC mayores varían de 0-9.5% en niños FIV; 1.1%-9.7% ICSI y 0-6.9% en el grupo control. Se estima un riesgo de 1.29 (IC 95%, CI 1.01-1.67) en población TRA. Los resultados no mostraron diferencias entre FIV e ICSI en general, ni analizando los resultados por separado en GM o únicas. A pesar de realizar esta estimación, los autores insisten en la imposibilidad de atribuir este incremento de riesgo a los procedimientos en sí, ya que hay múltiples posibles factores de confusión que no se han tenido en cuenta en muchos estudios, como puede ser la propia infertilidad de las parejas, factor asociado a mayor riesgo de MC en la literatura (78)(79).

El último metanálisis del año 2015 (80) describe un riesgo bastante similar en población TRA: 1.33 (IC 95%, 1.24-1.43), siendo el RR estimado para GU de 1.38 y de 1.18 para GM (IC 95% 1.30-1.47, 1.05-1.27).

Además de estudiar la posible asociación entre MC en general y TRA, numerosos autores se han centrado en estudiar determinados tipos de anomalías congénitas. Así Zwink y colaboradores en 2012 (81) describen en población alemana nacida entre 1997 y 2011 un riesgo muy elevado de anomalías anorrectales en población TRA (FIV/ICSI), tanto para GU como GM: 7.7 (IC 95%, 4.6-12.7) y 4.9 (IC 95%, 2.4-10.1) respectivamente. Los autores no detectaron diferencias estadísticamente significativas entre gestaciones tras FIV o ICSI.

En 2013 también se describen en población TRA de Tehran (82) mayores tasas de anomalías oculares. Los autores describen los hallazgos de la evaluación de 320 niños entre los 3 y 9 meses, destacando una pobre fijación visual en el 20.3%, estrabismo y miopía en el 2.9% e hipermetropía el 87%.

En relación con el riesgo de determinadas cardiopatías congénitas se publica en 2013 un estudio caso control de niños concebidos entre 1987 y 2009 (83), en combinación con el estudio de cohortes de cardiopatías congénitas EPICARD que incluye 1.583 niños-TRA con cardiopatía y 4.104 controles (niños con otras malformaciones) no expuestos a TRA. Los 3 tipos de TRA estudiados

(FIV/ICSI y EO) se asociaron con el desarrollo de tetralogía de Fallot (6.6% vs 3.5%), OR 2.4 IC 95% 1.5-3.7 ajustado con características paternas y año de nacimiento. Hubo más asociación con ICSI, siendo la OR de 3 (IC 95% 1-8.9). No se detectó asociación con los otros tres tipos de cardiopatías estudiadas: coartación aórtica, hipoplasia de cavidades izquierdas y trasposición de grandes arterias.

En cuanto las posibles diferencias de este riesgo según se haya realizado FIV o ICSI, los datos son a día de hoy controvertidos. Algunos autores describen tasas más altas de MC en ICSI (84)(85)(86), otros describen mayor riesgo asociado a FIV (87), mientras otros no detecta diferencias (88). Tampoco hay evidencia clara de mayor riesgo de MC tras TEC (86)(89), aunque son necesarios más estudios.

En el 2017 se ha publicado una revisión sistemática y metanálisis sobre el riesgo de anomalías congénitas tras GU conseguidas tras ICSI (11). Incluye 21 artículos de los 104 encontrados desde 1992, año que empieza a utilizarse la ICSI en clínica. Los autores describen un riesgo de MC para esta población de 7.1% vs 4% en población general (OR 1.99 IC 95%, 1.87-2.11). Sin embargo se especifica que no se puede atribuir este incremento de riesgo al uso de ICSI en sí, dado que este procedimiento también requiere la fase de EO, DT, TE frescos o congelados etc., datos que no han sido analizados en la mayoría de estudios.

En cuanto a las anomalías menores, aunque son menos los estudios realizados, se ha descrito el uso de TRA como factor de riesgo (FR) de hemangioma infantil (90) y en hijos de parejas subfértiles y sometidas a TRA se han descrito altas tasas de anomalías menores clínicamente irrelevantes de acuerdo con la clasificación de Merks y colaboradores (91). Entre el 50 y el 54% presentó este tipo de anomalías (79), siendo las más frecuentes el hemangioma infantil (2-5%), hernia inguinal y umbilical (1-3%), hipospadias (1-2%) y criptorquidia (1-2%).

### 1.3.5 TRA y defectos de impronta genómica y cromosomopatías

#### 1.3.5.1 Defectos de impronta genómica y TRA

De forma muy esquemática, la impronta genómica hace referencia a los mecanismos de regulación de la expresión génica sin cambios de la secuencia de ADN e incluye: modificaciones en las colas de histonas (acetilación, metilación, fosforilación, etc.), en la metilación del ADN y en el grado de compactación del ADN sobre los nucleosomas.

El mecanismo más ampliamente estudiado es la metilación del ADN. Esta reacción está catalizada por enzimas ADN metiltransferasas, que unen un grupo metilo de la *s*-adenosilmetionina al carbono 5 del anillo de la citosina de los dinucleótidos de la secuencia CpG (92).

Estas marcas epigenéticas, condicionan en determinadas regiones cromosómicas la expresión monoalélica de determinados genes según su origen parental. Desde 1991 se han descrito en el ser humano más de 100 genes sometidos a este tipo de regulación génica (<http://www.geneimprint.com/site/genes-by-species>), cuyas funciones están implicadas en procesos fundamentales del desarrollo fetal: crecimiento, metabolismo, desarrollo placentario y neurológico (93). Estos mecanismos se llevan a cabo durante la gametogénesis y la fase preimplantatoria, y es por ello por lo que el uso de TRA se ha planteado como posible modificador de estos procesos, al verse manipulada esa etapa durante el tratamiento.

La pérdida o ganancia de metilación tendrá, en ocasiones, efectos graves sobre el desarrollo fetal y del individuo y podrá condicionar un grupo de trastornos genéticos denominados síndromes por defecto de impronta (SDI). Entre ellos se incluyen el S. Prader-Willi, Angelman, Silver-Russell, Beckwith-Wiedemann y Temple.

Estos síndromes son enfermedades raras, que parecen estar más presentes en población TRA que en población general, aunque los resultados son aun contradictorios. Los múltiples tipos de TRA y protocolos de tratamiento, las diferencias entre las condiciones basales y hábitos de las parejas infértiles y la escasa prevalencia de estos síndromes, son los factores fundamentales que hacen muy complejo poder determinar si existe o no esta asociación. Mientras

numerosos estudios han descrito desde el 2002 una posible asociación entre algunos SDI (SBW, SA y SRS) y las TRA (94)(95)(96)(97), otros no detectan diferencias (98) o las definen como muy bajas (99).

Sin embargo, algunos autores apoyan que aunque la mayoría de la descendencia-TRA es sana, los problemas de salud descritos en ella (bajo peso al nacimiento, MC, SDI, etc.) puedan asociarse a defectos epigenéticos producidos en las primeras etapas del desarrollo embrionario (100)(101). En los últimos años, estudios específicos de epigenómica en distintas muestras de población TRA y CN (humana y animal), detectan patrones diferentes de metilación (102)(103)(104). Sin embargo, aun se desconoce qué factor específico de la TRA puede estar implicado en estos cambios y el momento exacto en el que se producen. Por ello son necesarios más estudios al respecto y en muestras más amplias, para poder alcanzar un mejor entendimiento de estos procesos y así minimizar las alteraciones secundarias en la medida de lo posible. Algunos factores postulados como causales son la exposición al cultivo celular (105), la EO (106)(107) y la ICSI (108), técnica más invasiva, que se salta numerosos procesos celulares.

#### 1.3.5.2. Cromosomopatías y TRA

En cuanto a la hipótesis de si existe un mayor riesgo de alteraciones cromosómicas en fetos o niños TRA (sobre todo tras ICSI), en probable relación con las alteraciones seminales presentes en algunos pacientes, inicialmente se publicaron distintos trabajos que lo sugerían (109)(110)(111), pero a día de hoy no hay evidencia científica que lo apoye y la mayoría de autores no detectan diferencias (112)(113)(114). Por ello no se ofrece diagnóstico prenatal invasivo tras estos procedimientos, algo que sí se planteaba al inicio del uso de esta técnica en los años noventa. Sí se describe una clara asociación entre el aumento progresivo de estas alteraciones (115)(116) y la EM en población-TRA, al igual que ocurre en población general (117).



### 1.3.6 Cáncer

Otro de los posibles efectos a largo plazo sobre la salud de niños concebidos gracias a TRA es el incremento del riesgo de desarrollo tumoral. Son múltiples los artículos que intentan determinar si existe o no este riesgo, pero los resultados son contradictorios a día de hoy. Durante finales de los años noventa e inicio del dos mil se realizaron amplios estudios poblacionales en este sentido, que no mostraron diferencias significativas entre niños-TRA y CN (118)(119)(120). El metanálisis publicado en 2005 (119) analiza los resultados de 11 estudios de cohorte-TRA (no incluye EO ni otros tipos de TRA). Incluye datos de población holandesa, sueca, australiana, inglesa, estadounidense e israelita y los autores no evidencian un aumento del riesgo tumoral significativo. Sin embargo especifican que son pocos los datos analizados y el tiempo de seguimiento muy variable (1-13 años), por lo que son necesarios más estudios para poder ofrecer resultados más fiables.

En un metanálisis exhaustivo publicado en 2013 (121) los autores analizan los resultados de estudios de cohorte y caso control de todo tipo de TRA (EO, IA y FIV/ICSI). Se analiza si existe riesgo de desarrollo tumoral en general, de tumores hematológicos, sistema nervioso central (SNC) y de otros tumores sólidos, así como de determinados tipos de cáncer. Detectan un RR de 1.33 (IC 95%, 1.08-1.63) de desarrollo de tumores en general en descendencia de parejas sometidas a tratamientos de fertilidad, así como mayor riesgo de tumores hematológicos 1.59 (IC 95%, 1.32-1.91) asociado a EO (no diferencias cuando restringen el análisis a TRA), SNC 1.88 (IC 95%, 1.02-3.46) y otros tumores sólidos RR 2.19 (IC 95%, 1.26-3.8). Dentro del análisis por tumores específicos, detectan RR de leucemias de 1.62 (IC 95% 1.12-2.35), neuroblastoma 4 (IC 95% 1.24-13.18) y retinoblastoma 1.62 (IC 95% 1.12-2.35).

En 2014 (122) se publica un estudio de cohortes de población de Suecia, Dinamarca, Finlandia y Noruega que incluye 91796 niños concebidos gracias a TRA y 358419 concebidos de forma natural de 1982 a 2007. Los autores no detectan riesgo de cáncer en general (1.2-2.4/1000), pero sí en dos tipos específicos: tumores epiteliales malignos RR 2.03 (IC 95%, 1.06-3.89) con un riesgo absoluto 0.15/10000 y tumores del SNC RR 1.44 (IC 95% 1.01-2.05), con riesgo absoluto de 0.46/1000 y el incremento de riesgo absoluto de 0.08 y 0.14/1000

niños respectivamente. Los datos fueron ajustados por edad materna, paridad, edad gestacional, países y anomalías congénitas.

En 2016 Myhre y colaboradores (123) publican los datos de población nacida en Noruega desde 1984 a 2011 y desarrollo de cáncer (datos recogidos del Registro de cáncer noruego). Incluye 1628658 niños, 25782 nacidos gracias a TRA. De un total de 4554 cánceres, 51 ocurrieron en niños-TRA, lo que muestra que no hubo riesgo de desarrollo tumoral en general. Sin embargo sí se detectó un riesgo mayor de leucemia y linfoma Hodking de 1.67 y 3.63 respectivamente (IC 95%, 1-02-2.73 y 1.12-11.72). Los datos fueron ajustados por edad materna, peso al nacimiento y prematuridad, factores que se han asociado con el desarrollo de cáncer infantil.

Ante estos datos, en la actualidad es fundamental realizar estudios con muestras más amplias y sobre todo un seguimiento más prolongado. Al tener el primer niño-TRA menos de 40 años, aun nos queda mucho que estudiar y analizar en relación al riesgo tumoral de esta población.

#### 1.4 LEGISLACIÓN ACTUAL SOBRE EL USO DE TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA EN ESPAÑA

A día de hoy la ley que regula el uso de las distintas TRA en nuestro país es la Ley 14/2006 de 26 de mayo (modificada en julio 2015) sobre técnicas de reproducción humana asistida (<http://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2006-9292>).

Desde la aparición de estas técnicas en la década de los 70, surgió la necesidad de su regulación en los distintos países de nuestro entorno. En España esta necesidad se materializó tempranamente mediante la aprobación de la Ley 35/1988, de 22 de noviembre (<http://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-1988-27108>). Dicha Ley supuso un indudable avance científico y clínico en la medida en que las TRA, además de coadyuvar a paliar los efectos de la esterilidad, se manifiestan como especialmente útiles para otros fines, tales como diagnósticos o de investigación. Posteriormente en 2003, debido a los avances técnicos, aumento del potencial de investigación y por la necesidad de dar respuesta al problema del destino de los preembriones, se realizó una revisión de dicha ley y entró en vigor la Ley 45/2003, de 21 de noviembre

(<http://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2003-21341> ). Esta ley autorizó la utilización con fines de investigación de los preembriones que se encontraban crioconservados con anterioridad a su entrada en vigor, aunque bajo condiciones muy restrictivas. Por otro lado, establecía la limitación de producir un máximo de tres ovocitos en cada ciclo reproductivo, lo que dificultaba la práctica ordinaria de las TRA, al impedir lograr el mayor éxito con el menor riesgo posible para la salud de la mujer. Además dispensaba distinto tratamiento a los preembriones crioconservados o congelados según la fecha de su generación. Los anteriores a noviembre de 2003 podían ser dedicados, además de a otros fines, a la investigación, mientras que los generados con posterioridad, solo podrían destinarse a fines reproductivos de la pareja generadora o a la donación a otras mujeres.

Por todo ello, pronto la Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida, el órgano colegiado de carácter permanente y consultivo, dedicado a asesorar sobre la utilización de las TRA, a contribuir a la actualización de los conocimientos científicos y técnicos en esta materia, así como a la elaboración de criterios funcionales y estructurales de los centros donde aquéllas se realizan, se mostró crítica e insistió en la necesidad de realizar una nueva revisión y modificaciones de dicha ley. Esta reflexión se ve reflejada en la actual ley y consigue regular los problemas planteados anteriormente.

En primer lugar, queda claramente definido el concepto de preembrión: embrión in vitro constituido por el grupo de células resultantes de la división progresiva del ovocito desde que es fecundado hasta 14 días más tarde. Se especifica que la práctica de cualquiera de las TRA sólo se podrá llevar a cabo en centros o servicios sanitarios debidamente autorizados para ello por la autoridad sanitaria correspondiente y dicha autorización especificará las técnicas cuya aplicación se autoriza en cada caso.

En cuanto al uso de los distintos tipos de TRA, a diferencia del método seguido por La Ley 35/1988, de 22 de noviembre, de enumerar mediante una lista cerrada las técnicas conocidas en aquel momento, y fijar en relación con ellas los límites legales de actuación; la nueva ley sigue un criterio mucho más abierto al enumerar las técnicas que, según el estado de la ciencia y la práctica clínica, pueden realizarse en el momento actual. Esto evita el vacío legal que quedaba anteriormente ante las técnicas de nueva aparición. Además habilita a la

autoridad sanitaria correspondiente para autorizar la práctica provisional y tutelada de técnicas experimentales, previo informe de la Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida. Una vez constatada su evidencia científica y clínica, el Gobierno, mediante real decreto, puede actualizar la lista de técnicas autorizadas.

Se eliminan las diferencias en la consideración de los preembriones crioconservados antes o después de la entrada en vigor de la Ley 45/2003, de 21 de noviembre, en cuanto a sus destinos posibles, quedando ahora supeditados a la voluntad de los progenitores y, en el caso de la investigación, a condiciones estrictas de autorización, seguimiento y control por parte de las autoridades sanitarias correspondientes.

Además se elimina el límite prestablecido para la generación de tres ovocitos en cada ciclo reproductivo, quedando sujeto este número a las indicaciones clínicas que existan en cada caso. El número de preembriones a transferir sí se limita a tres en cada mujer en cada ciclo reproductivo de FIV y técnicas afines.

Por otra parte, la Ley regula el uso reciente de las TRA, para evitar la aparición de enfermedades genéticas graves que carecen de tratamiento curativo, mediante el DGP y la selección de preembriones no afectados. En este respecto la Ley es respetuosa con la realidad autonómica actual del Estado español, y la autorización de proyectos concretos corresponde de manera indudable a las comunidades autónomas, a las que se dota del necesario apoyo técnico, mediante el reforzamiento del papel asesor de una única comisión, de la que forman parte representantes de las comunidades autónomas. En relación a la prevención de transmisión de enfermedades genéticas, a día de hoy no queda contemplado en la ley el uso de la tecnología CRISPR-Cas 9 de edición genética (124), ni la manipulación de embriones humanos con fines clínicos ni de investigación. Esto último sí se ha permitido recientemente en países como Reino Unido, donde la HFEA, Autoridad en Fertilización humana y embriología, ha autorizado al equipo de la Dra. Kathy Niakan su utilización. Además allí se estaban llevando a cabo múltiples estudios sobre transferencia de pronúcleo de ovocitos de mujer portadora de enfermedad mitocondrial, a ovocito de donante, para evitar la transmisión de este tipo de patologías (125) y recientemente la HFEA también ha aprobado su uso en clínica (<https://www.hfea.gov.uk/>).

En cuanto los requisitos necesarios para poder aplicar las TRA, las mujeres deben ser mayores de 18 años y podrán recibir tratamiento independientemente de su condición civil y orientación sexual, siempre que no condicione un riesgo importante para ella o la descendencia y previa aceptación libre y consciente de su aplicación. La mujer debe haber sido anterior y debidamente informada de sus posibilidades de éxito, así como de sus riesgos y de las condiciones del tratamiento y en cualquier momento podrá pedir que se suspenda su aplicación. En caso de que la mujer estuviera casada, se precisará, además, el consentimiento de su marido antes de la utilización de las técnicas. Este consentimiento deberá reunir igualmente los requisitos de expresión libre, consciente y formal.

Otro aspecto importante al que esta ley hace referencia es la necesidad de un nuevo registro. Además del registro de donantes de gametos y preembriones con fines de reproducción humana, ya previsto en la Ley 35/1988, de 22 de noviembre, se crea el Registro de actividad de los centros de Reproducción Asistida. Este registro permite obtener los datos sobre tipología de técnicas y procedimientos, tasas de éxito, etc. Esta información deberá hacerse pública al menos una vez al año con el objetivo de que el ciudadano esté informado sobre la calidad de los distintos centros. Además, todos los datos relativos a la utilización de las técnicas deberán recogerse en historias clínicas individuales, que deben ser tratadas con las debidas garantías de confidencialidad respecto de la identidad de los donantes, de los datos y condiciones de los usuarios y de las circunstancias que concurran en el origen de los hijos así nacidos. En el 2017 el Ministerio de sanidad, servicios sociales e igualdad, ha suscrito un contrato con la SEF, en cumplimiento de la norma vigente, para que la organización y funcionamiento del Registro Nacional de Actividad en RHA (con datos del año 2015) sea llevada a cabo por la citada sociedad científica (<http://www.cnrha.msssi.gob.es/registros/actividades.htm> ). La participación de los centros es obligatoria, y en el informe de la actividad del año 2015, consta que participaron 286 centros.

Aunque nuestro estudio solo incluye parejas en las que se ha aplicado la TRA con gametos de la propia pareja, otro aspecto importante que queda regulado en la actual ley es la donación de gametos y preembriones. Es fundamental conocer que siempre debe tratarse de un contrato gratuito, formal y confidencial concertado entre el donante y el centro autorizado, y nunca tendrá

un carácter lucrativo o comercial. La donación sólo será revocable cuando el donante precisase para sí los gametos donados, y si en la fecha de la revocación aquellos están disponibles. El contrato se formalizará por escrito entre los donantes (mayores de 18 años sin ninguna enfermedad infecciosa o hereditaria que pueda ser transmitida a la descendencia), y el centro autorizado. Como el resto de usuarios de este tipo de técnicas, antes de la donación habrán de ser informados de los fines y consecuencias del acto, la donación será anónima y deberá garantizarse la confidencialidad de los datos de identidad de los donantes por los bancos de gametos, así como, en su caso, por los registros de donantes y de actividad de los centros que se constituyan. El número máximo autorizado de hijos nacidos en España concebidos con gametos del mismo donante no debe ser superior a seis y para asegurar lo anterior, los donantes deberán declarar en cada donación si han realizado otras previas, el momento, las condiciones y el centro en caso de haberse realizado. Será responsabilidad de cada centro o servicio que utilice gametos de donantes comprobar de manera fehaciente la identidad de los donantes, así como, en su caso, las consecuencias de las donaciones anteriores realizadas en cuanto a la generación de hijos nacidos previamente. En caso de confirmar que el número de estos superaba el límite establecido, se procedería a la destrucción de las muestras de ese donante.

Los hijos nacidos tendrán derecho por sí o por sus representantes legales a obtener información general de los donantes que no incluya su identidad, al igual que las receptoras de los gametos y los preembriones. Sólo excepcionalmente, en circunstancias extraordinarias que comporten un peligro cierto para la vida o la salud del hijo o cuando proceda con arreglo a las Leyes procesales penales, podrá revelarse la identidad de los donantes, siempre que dicha revelación sea indispensable para evitar el peligro o para conseguir el fin legal propuesto. Dicha revelación tendrá carácter restringido y no implicará en ningún caso publicidad de la identidad de los donantes. Por último, la Ley concluye con el correspondiente régimen de infracciones y sanciones, en el que se definen las conductas prohibidas y se les asignan las correspondientes sanciones.

Esta es la regulación vigente en nuestro país, que difiere en muchos aspectos de la de otros países. Ello condiciona que aun a día de hoy sea muy frecuente el turismo reproductivo. Un fenómeno que se define como el desplazamiento de las personas a un país diferente al de su residencia para recibir

---

un tratamiento de reproducción asistida. En general los viajes se realizan a un país extranjero donde la legislación es más permisiva y las condiciones sanitarias son buenas. Por ello, con mucha frecuencia, parejas de otros países acuden a nuestro país a recibir este tipo de tratamientos y parejas españolas acuden a otros países para realización de algunos procedimientos no permitidos en España como por ejemplo la subrogación.





## **CAPÍTULO 2: HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**



## CAPÍTULO 2. HIPÓTESIS y OBJETIVOS

### 2.1 HIPÓTESIS Y JUSTIFICACIÓN DE ESTUDIO

Las TRA llevan más de 30 años utilizándose. En 1978 nació el primer niño en el mundo concebido por FIV y fue en 1984 cuando esto ocurrió en España. Desde entonces han nacido más de 5 millones de individuos concebidos por TRA, lo que supone en países de Europa entre el 0.2-6.1% del total de RN vivos (8).

Desde su inicio, gracias a la experiencia acumulada y los avances científicos, se han ido consiguiendo mayores tasas de éxito y cada día son más las indicaciones de estos procedimientos. Pero las preocupaciones sobre el resultado de estos embarazos han ido siempre de la mano de estas mejoras técnicas (7)(37)(40)(126).

Aunque los resultados a corto y largo plazo han sido estudiados y generalmente son tranquilizadores, numerosos estudios como hemos ido viendo, describen un mayor riesgo de alteraciones genéticas (MC, cromosopatías, defectos de impronta) asociado al uso de TRA, así como de complicaciones perinatales (prematuridad, GM, bajo peso al nacimiento, etc.). No obstante, los resultados son contradictorios en muchos casos, los diseños de los estudios poco homogéneos, y la posibilidad de que exista una influencia de múltiples factores de confusión sobre estos resultados (GM, prematuridad, EM avanzada, esterilidad, etc.) es muy alta. Además es escaso el conocimiento sobre los posibles factores específicos asociados a estos problemas médicos (terapia de EO, tipo de infertilidad, tipo de TRA, cultivo celular, etc.).

Pocos estudios se han llevado a cabo sobre los posibles efectos a largo plazo de las TRA, cómo es el posible impacto sobre el crecimiento y desarrollo psicomotor de estos niños.

Por todo ello se considera de gran interés ampliar el conocimiento al respecto gracias al diseño de un estudio prospectivo colaborativo entre profesionales de la Reproducción Humana, la Pediatría y la Genética. Con ello se pretende mejorar el asesoramiento genético y la información dada a las familias

que se van a someter a este tipo de técnicas y modificar o evitar posibles factores específicos de la TRA implicados en los problemas de salud detectados.

## 2.2 OBJETIVOS

### 2.2.1 Objetivos principales

- Describir las características de la cohorte de GC-TRA y su evolución, así como las características de los niños-TRA.
- Dilucidar si existe un mayor riesgo de PG, perinatal, anomalías genéticas y MC (mayores y menores) asociado al uso de TRA en nuestro medio, independientemente de otros factores que pueden estar directamente relacionados con su aparición (EM avanzada, causa de la infertilidad, exposición a tóxicos durante la gestación, antecedentes familiares de enfermedades genéticas, etc.)
- Conocer si existe mayor riesgo de trastornos del neurodesarrollo: RGD, retraso del lenguaje o TEA y/o del crecimiento (sobrecrecimiento, talla baja, micro o macrocefalia) a los 3 años de edad en niños-TRA.

### 2.2.2 Objetivos secundarios

- Detectar posibles factores asociados a la finalización de las GC-TRA en aborto
- Detectar posibles factores específicos de la TRA implicados en los problemas de salud detectados en la cohorte de casos.

Todo con el objetivo de modificar o evitar en la medida de lo posible todo aquello que pueda ser causa de una evolución desfavorable de la gestación (abortos) o de la salud del RN y mejorar el asesoramiento dado a las parejas que van a ser sometidas a estos tratamientos.

# **CAPÍTULO 3: MATERIAL Y MÉTODOS**



## CAPÍTULO 3. MATERIAL Y MÉTODOS

### 3.1 PACIENTES Y MATERIAL

#### 3.1.1 Población y ámbito

Se ofreció participar en el estudio a parejas empadronadas en la Región de Murcia, en seguimiento en la URA-HCUVA por esterilidad primaria o secundaria, procedentes de todas las áreas de salud. Es un hospital terciario de gestión pública, que mantiene concierto con las siguientes clínicas privadas: Instituto Bernabeu (IB), Instituto Valenciano de Infertilidad (IVI), Instituto Murciano de Fertilidad, (IMFER), Clínica TAHE fertilidad, Instituto de Reproducción asistida Quirón Salud DEXEUS Murcia.

A partir de los RN de las parejas participantes, se seleccionó el grupo control (criterios de selección en apartado 4.2.1) y se ofreció participar a los padres de los RN seleccionados. La edad de las mujeres participantes fue en todos los casos, menor a 40 años, al ser uno de los criterios necesarios para recibir tratamiento de reproducción en el Servicio Murciano de Salud (SMS). Los hijos de las parejas seleccionadas que desearon participar fueron evaluados hasta los 3 años de edad.

Figura 5. Mapa de la distribución de las distintas áreas de salud en la Región de Murcia



El proyecto fue aceptado por el Comité de ética del HCUVA, y para llevar a cabo el estudio se ha realizado un consentimiento informado (ANEXO 1), en el que se informa a la familia sobre el propósito del estudio y su diseño. Este documento se llevó a cabo de acuerdo a lo establecido en la Declaración de Helsinki promulgada por la Asociación Médica Mundial en el año 1964. Para participar en el estudio fue imprescindible la firma del consentimiento por parte las parejas.

### **3.1.2 Fuentes de datos**

Los datos específicos sobre el tratamiento recibido por las parejas estériles, complicaciones, evolución, etc. (ANEXO 2), se obtuvieron de la base de datos de la URA-HCUVA y gracias a la colaboración de facultativos de las distintas clínicas de Reproducción con las que el SMS tiene concierto.

Para realizar la selección de controles apareados ha sido necesaria la recogida de datos de los libros de registro de partos de los hospitales que han participado en el estudio: HCUVA y H. San Carlos, Murcia; H. Del Noroeste, Caravaca y H. Universitario Santa Lucía (HUSL), Cartagena. Los datos sobre la evolución de la gestación, parto y periodo neonatal inmediato (ANEXO 3) se han obtenido de la historia clínica y de la información facilitada posteriormente por las familias durante las evaluaciones presenciales.

Los teléfonos de contacto de todos los participantes se consiguieron a través de la historia clínica informatizada en SELENE (sistema utilizado en los hospitales públicos de la Región de Murcia) o a través del Ágora accediendo al OMI-AP (sistema informático en Atención Primaria de la Región de Murcia).

### **3.1.3 Material**

Para llevar a cabo las evaluaciones se utilizaron los siguientes materiales:

#### Gráficas de crecimiento

- Curvas de crecimiento publicadas por Carrascosa y colaboradores en 2010 para la somatometría al nacimiento de embarazos únicos, al año y 3 años de edad (127).



- Curvas de crecimiento García-Dihinx y colaboradores, 2001 para embarazo gemelar (<http://www.webpediatria.com>).

#### Escalas para valoración del desarrollo psicomotor y rasgos del espectro autista

- Tabla de desarrollo (0-5 años) Haizea-Llevant (128)(129).
- Escala V.C Vaugham modificado (130).
- Cuestionario de Autismo en la infancia-Modificado (M-CHAT) (131).

### 3.2 MÉTODO

Se ha diseñado un estudio observacional prospectivo de cohorte controlado que consta de las siguientes fases:

#### **3.2.1. Selección de sujetos**

##### *3.2.1.1 Selección de cohorte de GC conseguidas gracias a TRA*

En primer lugar se realizó la selección de una cohorte de GC (evidencia de latido cardíaco en semana 7-8) de mujeres tratadas de mayo de 2012 a mayo de 2014 mediante FIV, ICSI o DGP, en la URA del HCUVA.

Los criterios para recibir tratamiento financiado por el SMS son los siguientes:

- Edad de la mujer < 40 años.
- No tener la pareja un hijo en común, a excepción de hijo previo con enfermedad susceptible de DGP.
- Empadronamiento en la región (al menos uno de la pareja, > 5 años).
- Tarjeta sanitaria de la región mínimo 2 años (al menos un miembro).
- Convivencia mínima de 2 años en el mismo domicilio.
- Se excluyen parejas con ligadura tubárica/vasectomía y aquellas con hijos sanos.

En esta fase se realizó la recogida de los siguientes datos (ANEXO 2):

- Datos epidemiológicos: origen, edad de la pareja al inicio del tratamiento y antecedentes familiares y personales, Índice de masa corporal (IMC) de la madre, tiempo de esterilidad y causas de la misma.

- Datos específicos del tratamiento: tipo de TRA, tipo de tratamiento de EO y frenado recibido, presencia o no de complicaciones, número de ovocitos recuperados y fecundados, calidad embrionaria, DT, criopreservación, etc.
- Datos de las gestaciones no evolutivas: tipo de gestación (única o gemelar), semana en la que se produjo el aborto o fallecimiento del feto, causa de la interrupción de la gestación, realización o no de estudios complementarios para determinar una posible etiología genética, etc.

#### 3.2.1.2. Selección de cohorte de RN de la cohorte de GC seleccionada

En una segunda fase se contactó telefónicamente con las parejas en las que la gestación fue evolutiva y se les ofreció participar en el estudio. Se les informó acerca de los objetivos y de la intención de realizar dos evaluaciones de salud hasta los 3 años de edad de sus hijos.

Todos aquellos que desearon participar fueron citados y evaluados por un facultativo especialista en Pediatría con formación específica en Genética Clínica y Dismorfología.

#### 3.2.1.3. Selección de controles apareados

De forma simultánea fue evaluado un grupo control que se seleccionó atendiendo a los siguientes criterios:

Siguiente RN al caso CN, que deseaba participar, perteneciente al mismo grupo de:

- EM ( $\leq 30$ ; 31-34; 35-39 años).
- EG:  $\leq 30$ , 31-36,  $\geq 37$  SG.
- Tipo de gestación (única o múltiple)\*.

\*En casos de GM en la que falleció uno o los dos gemelos en el parto, se consideró GM y se incluyó como control apareado a la siguiente pareja de gemelos que cumplía los criterios de selección. En casos de evanescencia o pérdida en primeras 8-10 semanas, se consideró como GU a la hora de seleccionar al control apareado. En caso de gestación triple en el grupo de niños-TRA y no existir ningún caso de gestación triple tras CN se seleccionó el siguiente embarazo gemelar que cumplía el resto de criterios descritos.

Esta selección se realizó utilizando el libro de registro de partos, que incluía los datos referentes a los criterios de selección. Además, se confirmó posteriormente que era una gestación-CN, gracias a la historia clínica informatizada y al preguntarle a las parejas al respecto, durante la llamada telefónica en la que se les ofrecía participar en el estudio.

Inicialmente se planteó incluir en los criterios de selección del grupo control, el centro hospitalario donde se produjo el parto, pero debido al alto número de hospitales implicados (H. Los Arcos del Mar Menor, Noroeste, Virgen del Castillo, San Carlos, Clínica La Vega, H. Rafael Méndez, HUSL y HCUVA), los obstáculos que ello podría ocasionar a la hora de participar, y sobre todo los problemas para colaborar con algunos de estos hospitales, se decidió agrupar los centros de acuerdo con la zona geográfica. Así, los casos nacidos en HCUVA, Rafael Méndez, C. La Vega y H. Virgen del Castillo se aparearon con el siguiente nacido en HCUVA; los nacidos en HUSL y Los Arcos del Mar Menor, con el siguiente nacido en HUSL y los nacidos en H. San Carlos y H. Noroeste con nacidos en los mismos hospitales.

Tabla 1. Distribución de participantes según el lugar de nacimiento

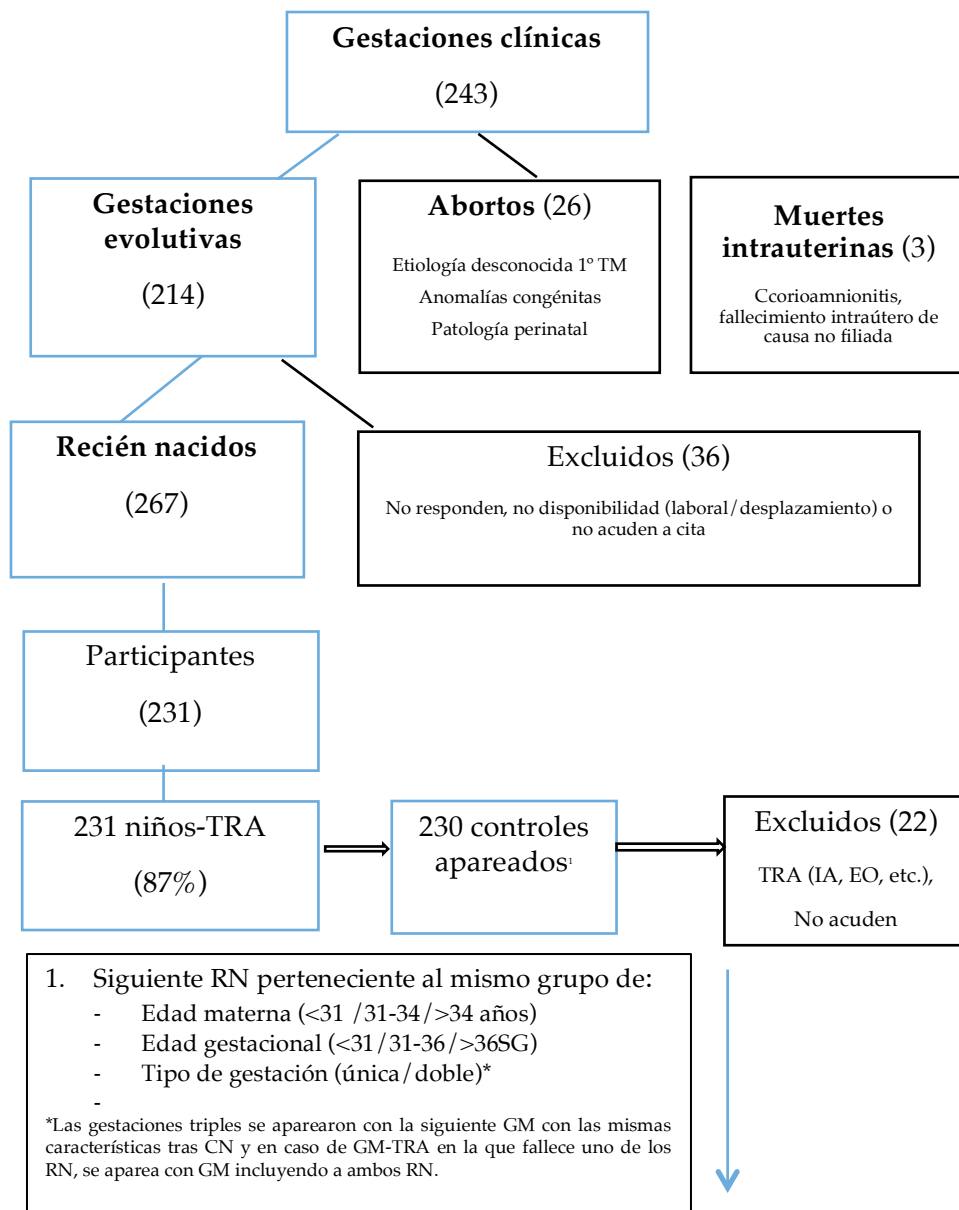
<b>Hospitales (Área de salud)</b>	<b>CASOS</b>	<b>CONTROLES</b>
<b>HCUVA (I)</b>	64%	80%
H. Rafael Méndez (III)	5%	
H. Virgen del Castillo (V)	3.1%	
H. La Vega (I)	1.7%	
<b>HUSL (II)</b>	11%	14.6%
H. Los Arcos del Mar Menor (VIII)	7.8%	
<b>H. San Carlos (I)</b>	4.3%	4.4%
<b>H. Noroeste (VI)</b>	3.1%	1%

Los criterios de retirada del grupo control fueron los siguientes:

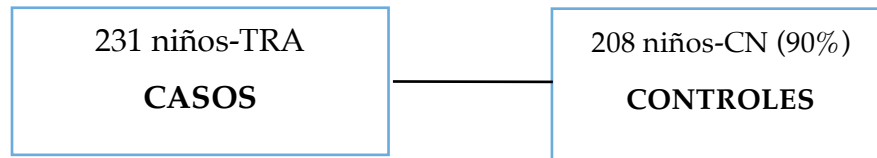
Fueron retiradas del estudio aquellas familias que aunque manifestaron desear participar tras el primer contacto telefónico:

- No acudieron a la cita programada en 2 ocasiones.
- Niños citados como controles que realmente fueron concebidos por algún tipo de TRA (EA, IA, FIV, etc.).
- Manifestaron posteriormente su deseo de abandonar el seguimiento.

Figura 6. Selección de participantes



Participantes en el estudio de casos y controles. N= 439



### 3.2.2 Evaluación clínica y seguimiento de casos y controles

En esta fase se llevaron a cabo las evaluaciones clínicas: una a los 12-20 meses y la segunda a los 26-40 meses. El periodo en el que se realizaron las evaluaciones fue desde septiembre de 2014 a junio 2017. Se realizaron en las consultas de la Sección de Genética Médica del Servicio de Pediatría del HCUVA, El Palmar (Murcia), y en las Consultas del Servicio de Pediatría del HUSL, Cartagena (Murcia).

Durante las evaluaciones, se recogieron datos relacionados con la gestación, el parto y el periodo neonatal (ANEXO 3) y se realizó una evaluación física completa incluyendo exploraciones morfológica y neurológica exhaustivas en cada revisión, con el objetivo de realizar una descripción de posibles anomalías del desarrollo y/o trastornos genéticos (ANEXO 4). No obstante, algunos participantes fueron evaluados de forma más frecuente por distintos motivos: sospecha de patología genética, realización de pruebas complementarias, indicación de valoración por otros especialistas, etc.

Además, en la segunda evaluación se ofreció realizar una analítica general incluyendo: hemograma, VSG, glucemia, urea/creatinina, Ca/P, Na, K, Cl, transaminasas, triglicéridos, colesterol, hormonas tiroideas, transaminasas, amilasas, ácido úrico, creatina quinasa; así como el depósito de una muestra de ADN en el Biobanco en Red de la Región de Murcia (Biobanc-Mur), para posibles estudios moleculares específicos futuros, tras firmar un consentimiento informado específico para ello (ANEXO 5).

En los casos en los que se realizó la analítica se envió copia de resultados a domicilio, así como un informe clínico. Se contactó telefónicamente con las familias solo en caso de detectar alguna alteración, para dar las recomendaciones pertinentes.

Se realizaron también fotografías clínicas en los casos en los que los padres lo consintieron, para registrar las características del desarrollo morfológico cráneo-facial y esquelético.

### 3.2.3. Variables empleadas en el estudio

Durante el estudio se recogieron los datos referentes a la fertilidad de todas las parejas participantes y en los casos, los datos relacionados con la TRA utilizada (ANEXO 2); los datos relacionados con la gestación, parto y periodo neonatal de todos los niños incluidos en el estudio (Anexo 3), así como los datos de la exploración física a los 12-20 y 26-40 meses.

#### 3.2.3.1. Antecedentes familiares enfermedad crónica (EC), MC, enfermedad genética, paridad, abortos y consanguinidad.

Datos recogidos a través de un cuestionario realizado a los padres durante la primera evaluación en consulta de los RN.

- Variables cualitativas binarias (si/no): antecedente de enfermedad crónica, enfermedad genética y de MC en familiar de primer grado, consanguinidad y paridad.
- Variable cuantitativa: número de abortos. Descripción de la causa y semana de gestación en la que se produjo el aborto.

#### 3.2.3.2. Datos relacionados con la esterilidad y TRA de la cohorte de GC

Recogida de datos de la base de datos de la URA-HCUVA.

- Edad de la pareja en el momento de la concepción (años).
- IMC materno: (1) <25; (2) 25-30; (3) 31- 35; (4) > 35.
- Hormona estimulante del folículo (FSH) y estradiol, basales.
- Morfología estricta seminal (<5, 5-14 y >14): criterio de Kruger.
- Causa de infertilidad: (1) masculina, (2) femenina/tubárica, (3) mixta, (4) EOD.
- Años de esterilidad y tipo (primaria o secundaria).

- Tipo de TRA utilizada para conseguir la gestación:
  - FIV o ICSI con transferencia en fresco (1 o 2)
  - TEC tras FIV o ICSI (3 o 4)
  - DGP: SI/NO Indicación
- Tipo de gonadotrofina empleada en ciclo de EO:
  - FSH recombinante
  - FSH ultrapurificada
  - FSH-Hormona luteinizante (LH) recombinante
  - hMG
  - Combinación de varias
- Tipo de protocolo de estimulación utilizado:
  - Largo con agonista
  - Corto con agonistas
  - Protocolo con antagonistas
- N° de ovocitos:
  - Recuperados
  - Maduros
  - Microinyectados
  - Fecundados
- N° de embriones
  - Evolutivos
  - Transferidos
  - Vitriificados
- DT embrionaria: D2, D3, D4 o D5-D6.
- Toma de AFPC (inicio 1-2 meses preconcepcional): SI/NO
- Diagnóstico prenatal: SI/NO
  - SI: (1) por cribado de primer trimestre de riesgo de cromosopatías y DTN; (2) por anomalías ecográficas; (3) por antecedente de enfermedad genética.

Tipo de técnica: biopsia de vellosidad corial (BVC), amniocentesis (AA).

Estudios solicitados y resultados.

### 3.2.3.3. *Datos recogidos en caso de aborto*

Datos epidemiológicos y clínicos recogidos de las historias clínicas. Resultados de laboratorio en los casos de realización de estudio genético obtenidos de la base de datos de las secciones de Genética Molecular y Citogenética del Centro de Bioquímica y Genética Clínica del HCUVA. Datos específicos sobre la TRA de la base de datos de la URA-HCUVA.

- EM.
- IMC materno.
- Causa de infertilidad.
- TE en fresco o congelado.
- DT embrionaria.
- Aborto espontáneo o ILE.
- Causa: desconocida, malformativa, infecciosa, prematuridad, patología materna, otras.
- Diagnóstico prenatal invasivo: SI/NO.
- Estudio cromosómico: fluorescencia cuantitativa de la reacción en cadena de la polimerasa (qF-PCR) y cariotipo. normal/alterado.

### 3.2.3.4. *Datos relacionados con la evolución de la gestación*

Datos recogidos de la historia clínica de la gestante y a través de un cuestionario realizado durante la 1ª evaluación en consulta de los RN.

- Tipo de gestación: única, gemelar (monocorial/bicorial) o triple.
- Reducción embrionaria: SI/NO.
- Muerte fetal intraútero: SI: </> 20 SG/ NO.
- PG: SI/NO.



Tipo: fiebre, HTA, diabetes, preeclampsia, HELLP, rotura prematura de membranas e infecciones.

- Hábitos tóxicos en los padres: SI/NO.

Tipo y retirada o no durante la gestación por parte de la madre.

- Fármacos durante el embarazo: SI/NO.
- Exposición a factores físicos: SI/NO.
- Anomalías ecográficas: SI/NO.

#### 3.2.3.5. Datos del parto y periodo neonatal

Datos recogidos de la historia clínica del paciente y a través de un cuestionario realizado durante la primera evaluación en consulta de los RN.

- Sexo (M/F).
- EG según FUR y ajustada por ecografía en el primer trimestre a criterio del ginecólogo.
- Tipo de parto: 1 eutócico; 2 instrumentado; 3 cesárea.
- Peso al nacimiento (PN) en gramos y percentil.
- Longitud en centímetros y percentil.
- Perímetro cefálico (PC) en centímetros y percentil.
- Test Apgar.
- PEG (peso al nacimiento en  $p < 10$ ): SI/NO.
- GEG (peso al nacimiento en  $p > 90$ ): SI/NO.
- MC mayores SI/NO.
- MC menores SI/NO.
- Patología médica neonatal: SI/NO. Tipo.
- Patología quirúrgica neonatal (SI/NO). Tipo.
- Cribado metabólico: (1) normal; (2) patológico: diagnóstico.
- Otoemisiones acústicas: (1) normales; (2) patológicas.
- Ingreso en Neonatología: SI/NO.
- Ingreso en UCIN: SI/NO.
- Muerte neonatal: SI/NO.

### 3.2.3.6. Datos del seguimiento hasta los 2-3 años

- Somatometría: peso (kg), talla y PC (cm) y percentiles a los 12-20 meses y a los 26-40 meses.
- Talla baja (talla en  $p < 3$ ): SI/NO.
- Hipercrecimiento (talla en  $p > 97$ ): SI/NO.
- Patología médica y seguimiento por especialista: SI/NO.
- Ingreso postnatal: SI/NO.
- Mortalidad: SI/NO.

### 3.2.3.7. Datos de la exploración física morfológica

Variables estudiadas:

- Anomalías menores de acuerdo a la clasificación de Merks, 2006 (91): SI/NO. Tipo.
  - Anomalías vasculares (AV) de acuerdo a la clasificación de la Sociedad Internacional de estudio de AV (132): SI/NO.
  - Malformación capilar: SI/NO.
  - Hemangioma infantil: SI/NO.
  - LP: SI/NO.
  - Manchas café con leche (MCL) o MCLM (2 o más): SI/NO
  - MC mayores de acuerdo a CIE-10: SI/NO.
- (<http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2016/>)

### 3.2.3.8. Datos de la exploración neurológica

Utilización de las 3 escalas comentadas en el apartado 4.1.4. Material. Revisión de la valoración realizada por neurólogos infantiles y psicopedagogos en caso de haberse llevado a cabo. Variables estudiadas:

- RGD (> de 2 áreas afectadas): SI/NO.
- Retraso del lenguaje aislado: SI/NO.
- TEA: SI/NO.

### 3.2.3.9. Estudios metabólicos y genéticos realizados

- Estudios metabólicos en sangre, orina y/o LCR.
- Array-CGH.
- Estudio molecular de síndrome X-frágil.
- Metilación de regiones cromosómicas implicadas en los distintos SDI.
- Otros estudios moleculares específicos.
- Diagnóstico genético confirmado: SI/NO. Especificar

### 3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

De acuerdo con los objetivos del estudio el análisis estadístico de los datos se llevó a cabo en 3 fases.

En primer lugar, se realizó un análisis descriptivo de las variables relacionadas con la evolución de la cohorte de GC-TRA. Se describieron las características de las parejas, los datos específicos de la TRA utilizada, los tipos de gestaciones (únicas o múltiples) y la evolución (aborto o GE). También se describieron los dos grupos de participantes: casos y controles. Las variables cuantitativas con distribución normal se describieron con la media y la desviación estándar (Media +/- DE) y las que no tenían una distribución normal, con la frecuencia mediana y rango intercuartílico. Las variables cualitativas se describieron con la frecuencia absoluta en porcentajes de cada uno de los valores de la variable.

En una segunda fase se compararon los datos de salud de las dos poblaciones: niños-TRA (casos) y niños-CN (controles). Se analizaron las posibles diferencias entre grupos en las siguientes variables: PG, tipo de parto, peso medio al nacimiento, PEG, GEG, ingreso al nacimiento en Neonatología, Ingreso en UCIN, patología quirúrgica neonatal, MC menores, MC mayores, ingreso postnatal, enfermedad crónica y seguimiento por especialistas, RGD, retraso del lenguaje, TEA, hipercrecimiento, talla baja y micro o macrocefalia a los 12-20 y 26-40 meses de edad.

En la última fase se analizó la cohorte de casos y los datos específicos de la TRA con el objetivo de detectar posibles factores implicados en los problemas de

salud detectados, así como el análisis de la cohorte de GC para determinar factores de riesgo de aborto.

Para el estudio de asociación entre variables cualitativas se utilizó la prueba de la  $\chi^2$  y el test exacto de Fisher para tablas 2x2. Para la comparación de variables cuantitativas entre dos grupos se utilizó la prueba T-Student o U de Mann Whitney según la distribución de la variable fuera normal o no respectivamente. Para la comparación de variables cuantitativas entre más de dos grupos se utilizó el test de ANOVA o Kruskal-Wallis según la distribución de la variable fuera normal o no respectivamente.

Además, se realizó un análisis multivariante utilizando una regresión logística multivariante si la variable dependiente era dicotómica, regresión multinomial si la variable dependiente era politómica y regresión lineal multivariante si la variable dependiente era cuantitativa con distribución normal. En los casos necesarios se han utilizado técnicas de normalización. Se han tenido en cuenta como covariables aquellas variables que se asociaron significativamente en el análisis univariante previo.

En todos los contrastes de hipótesis se usa un nivel de significación estadística de  $p < 0.05$ . Para la realización del análisis estadístico de los datos se utilizó el programa estadístico StataCorp. 2017. *Stata Statistical Software: Release 15*. College Station, TX: StataCorp LLC.

Por último, dado el hallazgo incidental de un patrón craneofacial recurrente en la cohorte de niños-TRA durante las evaluaciones, se utilizó el programa de reconocimiento facial diseñado por el equipo de Face2gene (<http://suite.face2gene.com>) y en colaboración con ellos se realizó el análisis de 3 grupos de pacientes: 50 controles caucásicos de la misma edad, 34 niños con síndrome alcohólico fetal y 20 niños-TRA.

El objetivo era determinar si el programa, que convierte la foto del paciente en descriptores faciales matemáticos, constituyendo una malla facial (133), era capaz de diferenciar los 3 fenotipos.

# **CAPÍTULO 4: RESULTADOS**



## CAPÍTULO 4. RESULTADOS

### 4.1 DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA

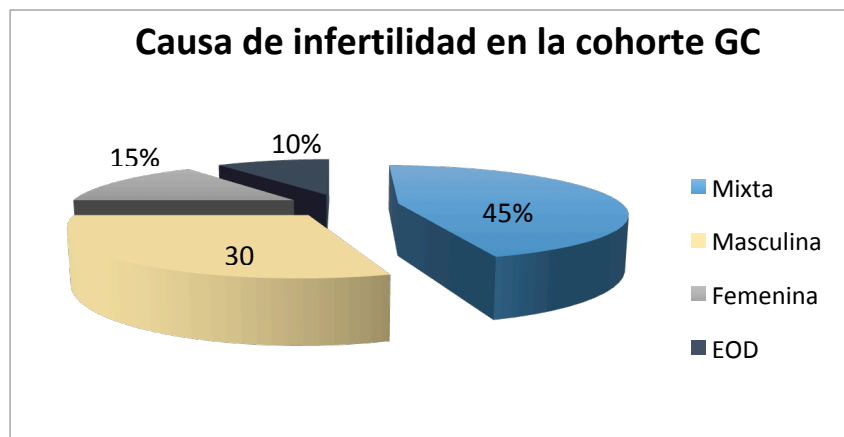
Durante el periodo de estudio hubo 243 GC en mujeres en las que se realizó TRA en la URA, de las cuales 214 fueron GE, 26 finalizaron en abortos y hubo 3 muertes fetales intrauterinas (> 20 SG). De las 214 GE nacieron 267 niños, de los que participaron en el estudio 231 (87%). Se seleccionó un grupo control de 230 niños según los criterios descritos, de los cuales completaron las evaluaciones clínicas 208 (90%). Con todo, la población a estudio fue de 439 niños (n= 439 niños).

#### 4.1.1 Descripción de la cohorte de 243 GC

Datos epidemiológicos y características basales de las parejas:

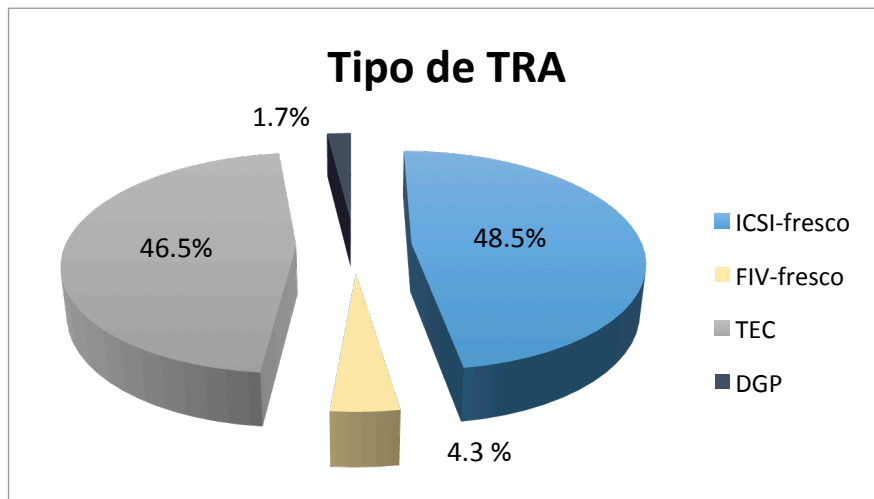
- ✓ La EM media fue de 33.4 años (rango 23-39 años)
- ✓ El tiempo medio de esterilidad fue de 4.3 años (rango 0-15 años).
- ✓ Las causas de esterilidad fueron: 45% mixta; 30% por factor masculino; 15% por factor femenino y el 10% de EOD.

Gráfica 1. Causas de infertilidad en la cohorte de GC



- ✓ El consumo de tóxicos (tabaco y/o alcohol) estuvo presente en el 16% de las madres de los casos y en el 20% de los padres.
- ✓ Hubo antecedente de consumo de alcohol (cerveza fundamentalmente) en el 3% de las madres durante la gestación, y de tabaco en el 13%.
- ✓ El 12.34% de las gestantes presentaba una FSH basal superior a 10 mUI/ml, el 45% niveles basales de estradiol superiores a 50 pg/ml y hasta el 70% de varones presentó un porcentaje de espermatozoides normales inferior al 4% según criterio de Kruger.
- ✓ La mediana de IMC materno fue de 23.9 (rango: 17-37)
- ✓ El 47.5 % de las GC se consiguieron por TE en fresco tras ICSI y el 4.3% tras FIV; el 46.5 % tras TEC y el 1.7% tras DGP (2 DGP cromosómico, 2 monogénico por madre con poliposis adenomatosa y padre con poliquistosis renal autosómica dominante).

Gráfica 2. Tipo de TRA empleada

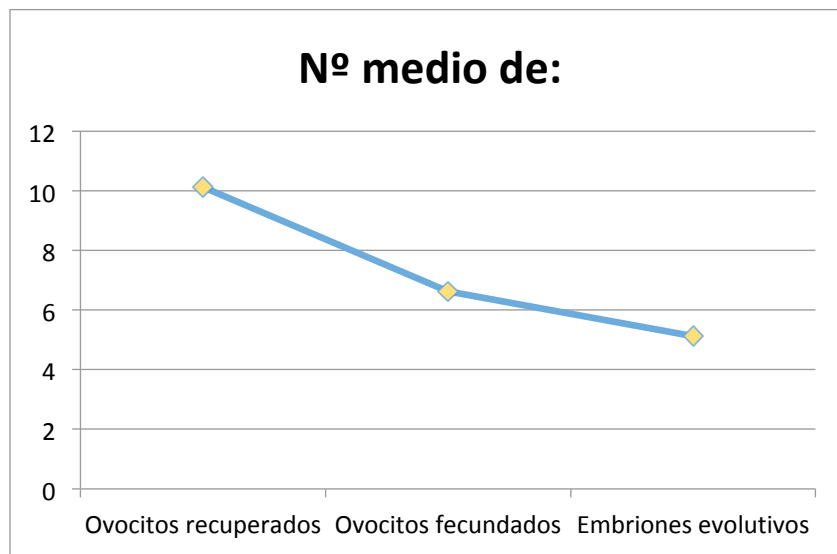


- ✓ Se tuvo que cancelar el ciclo en el 19 % de los casos, siendo el motivo más frecuente el hidrosalpinx (34%), seguido del SHO en grado variable (24%).



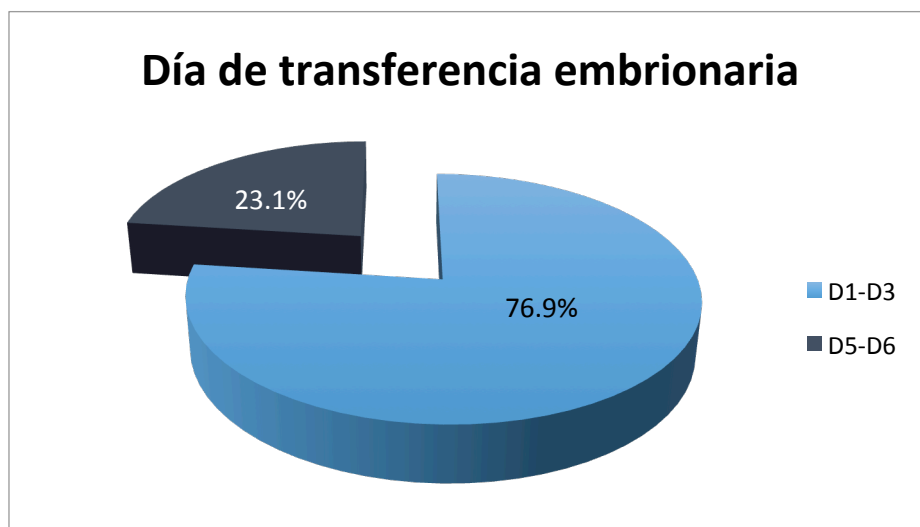
- ✓ El número medio de ovocitos recuperados fue de 10.13 (rango 2-34), el de ovocitos fecundados 6.62 (66% de los recuperados) y el de embriones evolutivos 5.12.

Gráfica 3. Número medio de ovocitos recuperados, fecundados y de embriones evolutivos



- ✓ La TE se realizó en D1-D3 en el 76.9% de GC y en D5-D6 en el 23.1%.

Gráfica 4. DT embrionaria



✓ En el 85.2 % de las GC se transfirieron 2-3 embriones y solo en el 14.8 % se transfirió un único embrión. Esto último se realizó en la mayoría de los casos (60%) por no disponibilidad de más embriones.

Por este motivo, solo se pudo correlacionar el tipo de calidad embrionaria según la clasificación ASEBIR con el RN, en un 35% de casos. De ellos el 68.3% fueron embriones de calidad A; 14.6% de calidad B y el 17.1% de calidad C.

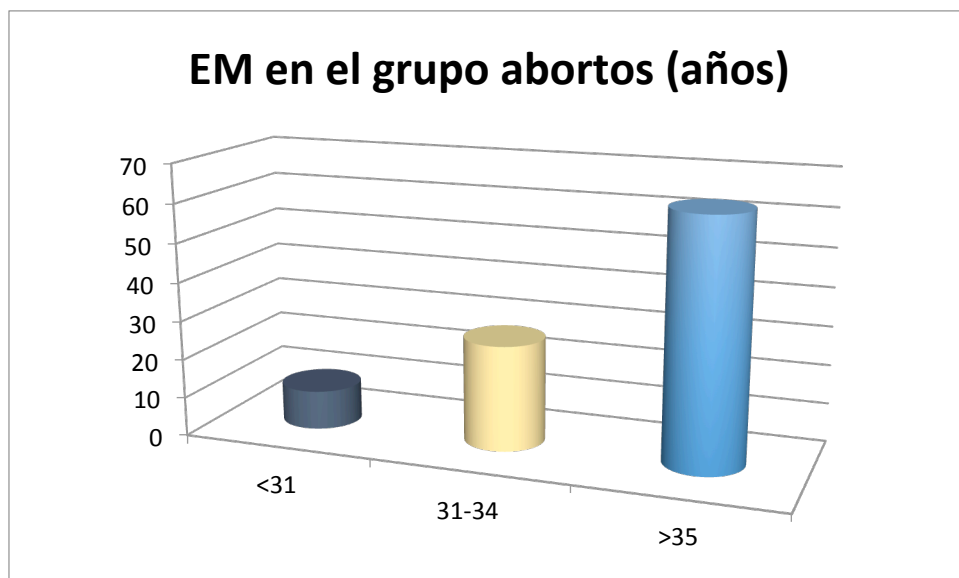
✓ Del total de GE que participaron en las evaluaciones clínicas (182), el 23.5% fueron GM (dos de ellas triples) y el 66.5% GU.

#### 4.1.2 Descripción de las GC que finalizaron en aborto o muerte fetal intrauterina

✓ Del total de 243 GC, 26 finalizaron en aborto (11%) y hubo 3 muertes fetales intrauterinas.

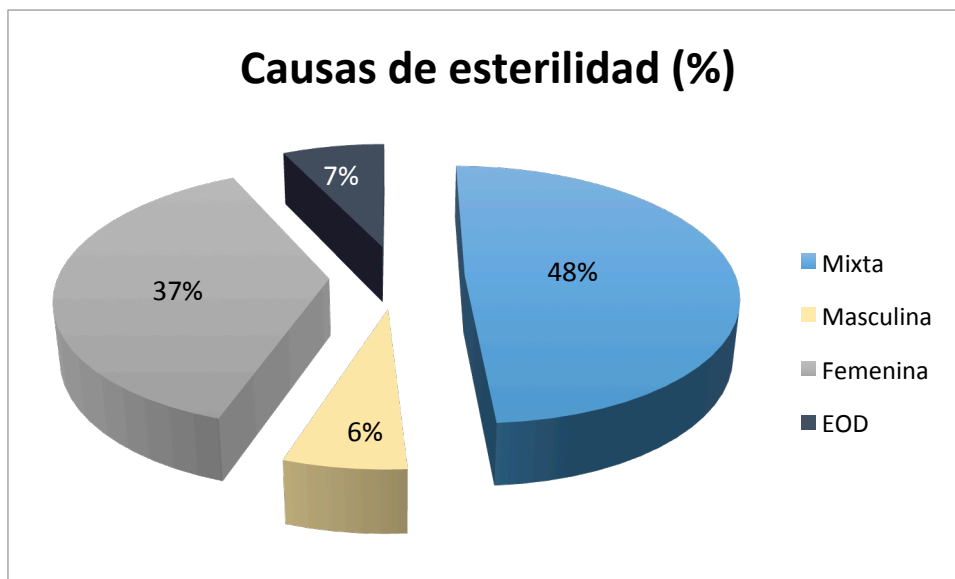
✓ La distribución por grupos de EM en el grupo de abortos fue: 10% < 31 años; 27% de 31-34 años; y un 62% > 35 años, siendo la mediana de EM 37 años.

Gráfica 5. Distribución por grupos de EM en el grupo abortos



- ✓ La mediana de IMC materno fue 25.7 en el grupo de abortos.
- ✓ Del total de estas gestaciones el 75% fueron GU, 10% GM y hubo una gestación triple.
- ✓ De los 26 abortos y 3 muertes intrauterinas, 17 fueron conseguidas tras TE en fresco (58%) y 12 (41%) tras TEC. El DT fue en D2-D3 en el 86% de los casos y en D5-D6 en el 14%.
- ✓ Causas de esterilidad: 48% de origen mixto, solo hubo un 6% de casos de esterilidad masculina, un 37% de femenina y un 7% EOD.

Gráfica 6. Causas de esterilidad en el grupo abortos



- ✓ El 86% no presentó ninguna complicación durante el ciclo. Solo hubo un caso con antecedente de SHO.
- ✓ La mediana de EG en la que se produjo el aborto fue de 9 semanas y la causa fue desconocida en el 82%.
- ✓ Hubo dos casos de ILE por DTN: un caso de anencefalia y otro de mielomeningocele.
- ✓ Solo se realizó estudio cromosómico en 4/26 GC que finalizaron en aborto (15%).

### 4.1.3 Descripción del grupo casos

#### 4.1.3.1 Periodo neonatal

✓ De los 231 RN que participaron en el estudio, el 43.7% (101) fueron gemelares (6 triples) y 56.3% (130) únicos. Hubo 10 niños fruto de GM monocoriales (4.3%).

✓ En el 60% de los casos, las madres presentaron PG siendo lo más frecuente la DG, rotura prematura de membranas (RPM) e HTA. Hubo 6 casos de preclampsia.

✓ El porcentaje de partos instrumentados fue 22%, mediante cesárea el 58 % y solo el 20% fueron partos vaginales eutócicos.

✓ Hubo un fallecimiento en el momento del parto (semana 37) de uno de los RN gemelares, de etiología no filiada.

✓ La EG media fue 37.8 semanas (rango 24-41).

✓ El 24% fueron recién nacidos prematuros (RNPT) de 30-36 SG. De ellos el 77% fueron RNPT tardíos (35-36 SG). Solo hubo un recién nacido gran prematuro (RNGPT), de 24 semanas, que vive a día de hoy y su evolución clínica ha sido muy favorable.

✓ El 8.6% fueron PEG y el 16.45% GEG. El PN medio de los casos fue de 2.921 gramos.

✓ El 16% de RN presentó patología médica neonatal (hipoglucemia, problemas de deglución, ictericia, bajo peso, fiebre, etc.), precisando ingreso en Neonatología el 13.85% y en UCIN el 2.16%.

✓ En el 2.16% se detectó patología quirúrgica en periodo neonatal: hipospadias (1), fístula preauricular (1), criptorquidia (1), hernia epigástrica (1) y frenillo lingual (1).

#### 4.1.3.2 Morbilidad postnatal

✓ El 10% precisó ingreso pasado el periodo neonatal, siendo los motivos más frecuentes:

- Bronquiolitis, bronconeumonía o crisis asmática (46%).

- Síndrome febril de etiología no filiada, GEA o ITU (24%).
- Cirugías (19%): hipospadias, criptorquidia, hernia epigástrica y obstrucción de conducto lacrimal.
- Otros (11%): invaginación intestinal, crisis febril, estudio de retraso psicomotor.

✓ El 17% presentó alguna enfermedad crónica (EC), siendo lo más frecuente los sibilantes recurrentes, la intolerancia a proteína de leche de vaca y la alergia al huevo. Hubo 4 diagnósticos genéticos en este grupo: S. Klinefelter (1), S. Beckwith-Wiedemann (1), Enfermedad de Steinert de origen materno (1) y portadora de displasia ectodérmica hipohidrotica por variante patogénica de origen paterno en el gen EDA (1).

✓ Hasta el 34% de los casos (80/231) precisó valoración por un Área Específica, siendo las más frecuentes: Neuropediatría (16), Atención Temprana (16), Gastroenterología (15), Oftalmología (13), Genética Clínica (12), Cardiología (10), Cirugía Infantil (10) y Rehabilitación (6). Otros menos frecuentes: Nefrología (5), Endocrinología (4), Alergias (3), Dermatología (2), Neumología (2), Hemato-Oncología (1) y ORL (1).

✓ No hubo ningún fallecimiento ni ningún caso de cáncer.

#### 4.1.3.3. MC mayores y menores

El 53% presentó MC menores, siendo las más frecuentes:

- LP 77/231 (33%), de las cuales el 83% (64/77) fueron MCL y el 17% lesiones hiperpigmentadas difusas y/o manchas hipocromas.
- MCLM (2 o más MCL): 10.4%.
- AV (22.4%): malformación capilar (20.6%), hemangioma infantil (4.7 %) y un caso de malformación venosa en mano derecha.
- Hernia umbilical (6%).
- Anomalías genitourinarias (fimosis, hidrocele, pielectasia) 4.3%.
- Mamila supernumeraria (3.4%).
- Estrabismo (3%).
- Obstrucción del lacrimal (1.7%).

Tabla 2. MC menores más frecuentes en el grupo casos

MC menores	Número de casos (%)
LP	77 (33%)
MCLM	24 (10.4%)
AV	51 (22%)
Hemangioma infantil	11 (4.7%)
Hernia umbilical	14 (6%)
Anomalías genitourinarias	10 (4.3%)
Mamila supernumeraria	8 (3.4%)

El 7.7% presentó alguna MC mayor:

- El 52% fueron cardiopatías (10/19): estenosis valvular pulmonar intervenida (1), válvula aórtica bicúspide (1), insuficiencia mitral (1), comunicación interauricular (CIA) (5) y comunicación interventricular (CIV) (2).

- El 21% del SNC (4/19): hidrocefalia y ventrículos laterales dismórficos (1), agenesia de cuerpo calloso (2), atrofia cortical y de vermis (1).

- El 21% Genitourinarias (4/19): hidronefrosis, criptorquidia intervenida, hipospadias intervenida, riñón en herradura.

- Hernia epigástrica intervenida (1/19).

- Ptosis congénita (1/19).

Tabla 3. MC mayores por sistemas en el grupo casos

MC mayores	Nº de casos (%)
Cardiopatías	10 (4.3%)
SNC	24 (1.7%)
Genitourinarias	4 (1.7%)
Otras: hernia epigástrica, ptosis congénita	2 (0.8%)

Un caso presentó anomalías congénitas múltiples (ACM) y retraso psicomotor de etiología no filiada.

#### 4.1.3.4. Desarrollo psicomotor

✓ Tras la valoración neurológica a los 3 años de edad de acuerdo a las escalas citadas en el apartado material y método, y tras valoración por parte de Neuropediatría y/o Atención temprana, se detectó alguna alteración del desarrollo psicomotor de etiología no filiada en un 9% de los casos.

✓ RGD en el 3%.

✓ Retraso de lenguaje aparentemente aislado en el 7.79%.

✓ TEA/rasgos TEA en el 3.4% (2 cumplían criterios según la escala M-CHAT, 6 presentaban rasgos TEA sin cumplir criterios a los 3 años).

En todos los casos de RGD o TEA/rasgos TEA se realizó estudio molecular de X-frágil, Array-CGH y/o estudio metabólico en sangre y orina, obteniendo un único resultado patológico: trisomía 47, XXY compatible con S. Klinefelter.

#### 4.1.3.5. Desarrollo pondoestatural

En el grupo de casos hubo a los 12-20 meses de edad un 3.46% de niños con talla baja ( $p < 3$ ) y a los 3 años de edad solo un 1.73%.

En cuanto a hipercrecimiento (talla en  $p > 97$ ), en la primera valoración lo presentó el 3% y a los 2 años el 4.76%.

En la primera evaluación se evidenció macrocefalia en el 3.46% de casos y no hubo ningún caso de microcefalia. A los 3 años de edad ambas cifras aumentaron, se detectó macrocefalia en el 6.49% de los casos y microcefalia en el 1.3%.

#### 4.1.3.6. Realización de analítica y/o reserva de ADN en biobanc-Mur

En un total de 82 niños-TRA (35%) se realizó analítica general con bioquímica, hemograma y reserva de ADN en el biobanc-Mur, tras firmar el consentimiento informado específico. No se detectaron alteraciones significativas, salvo un caso de hipercolesterolemia familiar, un caso de trombopenia sin sintomatología asociada y linfocitosis en probable relación con cuadro viral en 8 niños.

#### 4.1.4. Descripción del grupo control

##### 4.1.4.1 Periodo neonatal

✓ De los 230 controles incluidos en el estudio, completaron las 2 evaluaciones clínicas 208 (90%). De ellos el 42.3% (88) fueron gemelares y 57.7% (120) únicos. Hubo 20 niños fruto de GM monocoriales (9.6%).

✓ En el 39% de los casos la madre presentó PG, siendo lo más frecuente: la RPM, la APP, DG y la HTA. Hubo 3 casos de preeclampsia.

✓ Hubo antecedente de consumo de tóxicos (tabaco y/o alcohol) en el 19% de los casos. De alcohol en algún momento de la gestación en el 3.8% (cerveza fundamentalmente) y tabaco en el 17%.

✓ El porcentaje de partos instrumentados fue del 15%, mediante cesárea el 30 % y el 54% fueron vaginales eutócicos.

✓ La edad media gestacional fue de 37.7 SG.

✓ El 23% fueron RNPT de 30-36 SG. De ellos el 57% fueron RNPT tardíos (35-36 SG). Solo hubo un RNGPT, de 28 semanas, que falleció en los primeros meses de vida por complicaciones relacionadas con su prematuridad extrema.

✓ El 6.8% fueron PEG y el 13.7% GEG. El PN medio fue 2.908 gramos.

✓ El 20% de RN presentó patología médica neonatal (distrés respiratorio, hipoglucemia, problemas de deglución, ictericia, bajo peso, etc.), precisando ingreso en Neonatología todos ellos y en UCIN el 4.3%.

✓ En el 4.8% se detectó patología quirúrgica en periodo neonatal: hipospadias (3), NEC (2), polidactilia (1), MAC (1) y un caso de tetralogía de Fallot.

##### 4.1.4.2 Morbilidad postnatal

✓ El 9.6 % precisó ingreso pasado el periodo neonatal, siendo los motivos más frecuentes:

- El 40% por síndrome febril, GEA, ITU o meningitis vírica.



- 30% por Indicación de cirugía: hipospadias, hernia umbilical, hernia inguinal, craneosinostosis y cardiopatía.
- Bronquiolitis, bronconeumonía o crisis asmática (10%).
- Otros (11%): sospecha de crisis con diagnóstico de episodio paroxístico no epiléptico, estudio de fallo de medro, etc.

✓ El 8.7% presentó alguna EC, siendo lo más frecuente los sibilantes recurrentes y la intolerancia a proteína de leche de vaca. No hubo ningún diagnóstico de enfermedad genética.

✓ Hasta el 39% de los casos precisó valoración por un área específica, siendo las más frecuentes: Cardiología (12), Cirugía Infantil (12), Neuropediatría (10), Atención Temprana (9), Traumatología (8), Gastroenterología (7), Nefrología Infantil (7), ORL (5), Neumología (5) y Genética Clínica (6). Otros menos frecuentes: Alergias (4), Rehabilitación (4), Dermatología (4), Neurocirugía (4), Endocrinología (1), Hematología (1).

✓ No hubo ningún fallecimiento ni ningún caso de cáncer.

#### 4.1.4.3. MC mayores y menores

El 52.6% presentó MC menores, siendo las más frecuentes:

- LP (20%), de ellas el 67% fueron MCL. MCLM el 1%.
- AV (15%): malformación capilar (12.6%), hemangioma infantil (3.4%) y no hubo ningún caso con otro tipo de AV.
- Hernia umbilical (5.8%).
- Mamila supernumeraria (4.3%).
- Anomalías genitourinarias (3.8%): fimosis (4), hidrocele (2), doble sistema excretor (2).
- Estrabismo (2.8%).

Tabla 4. MC menores más frecuentes en grupo control

MC menores	Número de casos (%)
LP	42 (20%)
MCLM	2 (1%)
AV	31 (15%)
Hemangioma infantil	7 (3.4%)
Hernia umbilical	12 (5.8%)
Mamila supernumeraria	9 (4.3%)
Anomalías genitourinarias	8 (3.8%)

El 7.7% presentó alguna MC mayor aparentemente aislada:

- El 60% fueron cardiopatías (9/15): estenosis valvular pulmonar (2), CIA (1) y CIV (5), Tetralogía de Fallot (1).

- El 33% anomalías genitourinarias (5/15): hipospadias (3), agenesia renal (2).

- Malformaciones del SNC (1/15): craneosinostosis coronal intervenida.

- MAQ intervenida (1).

Tabla 5. MC mayores por sistemas en grupo control

MC mayores	Número de casos (%)
Cardiopatías	9 (4.3%)
Genitourinarias	5 (2.4%)
SNC	1 (0.5%)
Otras: MAQ	1 (0.5%)

#### 4.1.4.4. *Desarrollo psicomotor*

- ✓ Tras la valoración neurológica a los 3 años de edad se detectó alguna alteración del desarrollo psicomotor en un 9.6% de los casos.
- ✓ RGD en el 2.9%.
- ✓ Retraso de lenguaje aparentemente aislado en el 7.73%.
- ✓ TEA/rasgos TEA en el 1.9% (2 cumplían criterios según la escala M-CHAT, 2 presentaban rasgos TEA sin llegar a cumplir criterios a los 3 años).

Los estudios genéticos etiológicos fueron normales en todos los casos (estudio molecular de S. X-frágil, Array-CGH y/o estudio metabólico).

#### 4.1.4.5. *Desarrollo ponderoestatural*

- ✓ En el grupo de casos a los 12-20 meses de edad el 4.3 % presentaba talla baja ( $p < 3$ ) y a los 3 años de edad un 4.83%.
- ✓ Hipercrecimiento (talla en  $p > 97$ ) se detectó en el 1.45% en la primera evaluación y a los 3 años en el 2.42%.
- ✓ En la primera evaluación se evidenció macrocefalia en el 2.9% y en un 1.93% microcefalia. A los 3 años de edad ambas cifras aumentaron, se detectó macrocefalia en el 4.35% de los casos y microcefalia en el 3.86%.

#### 4.1.4.6. *Realización de analítica y/o reserva de ADN en biobanc-Mur*

En un total de 65 controles (31%) se realizó analítica general con bioquímica, hemograma y reserva de ADN en el biobanc-Mur tras firmar el consentimiento informado específico.

No se detectaron alteraciones significativas, salvo 2 casos de hipercolesterolemia probablemente familiar y linfocitosis en probable relación con cuadro viral en 6 niños.

#### 4.2. ESTUDIO COMPARATIVO DE SALUD ENTRE EL GRUPO DE NIÑOS-TRA Y NIÑOS-CN A LOS 26-40 MESES DE EDAD

El análisis comparativo detectó diferencias estadísticamente significativas entre grupos. Hubo más gestantes-TRA que tomaron AFPC y que tardaron más de un año para concebir; más niñas en el grupo-TRA y un porcentaje mayor de GM monocoriales en el grupo control. En cuanto EM media, tasa de GM, prematuridad, EG media, AF y consumo de tóxicos durante la gestación, no hubo diferencias.

Tabla 6. Análisis caso-control: características generales

	CASOS	CONTROLES	P
<b>Sexo (niñas)</b>	55.8%	40%	<i>P=0.001</i>
EM media	33.41	33.42	<i>p=0.40</i>
GM	23.5%	24%	<i>P=0.35</i>
<b>GM monocoriales</b>	11%	31%	<i>P= 0.17</i>
Prematuridad	24.6%	23.5%	<i>P=0.78</i>
EG media (SG)	37.7	37.8	<i>P=0.69</i>
Tabaco	13.8%	17.8%	<i>P=0.258</i>
Hábitos tóxicos	16%	19%	<i>P=0.30</i>
<b>TTP &gt;1 año</b>	94%	7.9%	<i>P&lt;0.001</i>
<b>Toma de AFPC</b>	65%	42%	<i>P&lt;0.001</i>
AF MC mayor*	7.35	11%	<i>P=0.245</i>
AF E. Genética*	2.6%	2.4%	<i>P=0.897</i>

\*Familiar de primer grado

### 4.2.1 Patología gestacional

Se detectaron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) en PG, en concreto DG, así como en el tipo de parto, siendo mucho más frecuente el parto mediante cesárea en el grupo TRA.

Se realizó una regresión logística con las variables en las que se detectaron diferencias y con las que podía haber factores de confusión que influyeran en los resultados.

Tabla 7. Análisis caso-control: PG

	CASOS	CONTROLES	P
<b>PG</b>	60%	38.9%	<i>P&lt;0.001</i>
<b>DG</b>	12.5%	6.25%	<i>P=0.025</i>
Preclampsia	2.60%	1.44%	<i>P=0.440</i>
Anomalías ecográficas	11.2%	7.7%	<i>P=0.205</i>
<b>Cesárea</b>	58%	30%	<i>P&lt;0.001</i>

Tabla 8. Regresión logística del análisis caso-control: PG

PG	OR	p>z	IC 95%
<b>Caso/control</b>	2.76	<i>&lt;0.001</i>	1.77-4.28
Sexo	0.85	0.453	0.55-1.29
EM	0.96	0.235	0.90-1.02
GM	0.79	0.344	0.49-1.27
<b>Prematuridad</b>	5.83	<i>&lt;0.001</i>	3.17-10.71
<b>Consumo de tabaco</b>	2.21	<i>0.008</i>	1.23-3.98
Toma AFPC	1.25	0.297	0.81-1.94

Tabla 9. Regresión logística del análisis caso-control: DG

DG	OR	p>z	IC 95%
<b>Caso/control</b>	1.98	<b>0.059</b>	0.97-4.05
Sexo	0.84	0.628	0.43-1.64
EM	1.02	0.650	0.92-1.12
<b>GM</b>	0.36	<b>0.021</b>	0.15-0.85
<b>Prematuridad</b>	2.35	<b>0.061</b>	0.96-5.63
Consumo de tabaco	1.67	0.209	0.74-3.76
Toma AFPC	0.81	0.547	0.40-1.60

#### 4.2.2 Patología perinatal

No se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre PEG, GEG, ingreso en Neonatología o UCIN ni patología neonatal quirúrgica.

Tabla 10. Análisis caso-control: patología perinatal

	CASOS	CONTROLES	P
PEG (p<10)	8.6%	6.8%	p=0.468
GEG (p>90)	16.4%	13.7%	P=0.429
<b>Ingreso en Neonatología</b>	<b>13.8%</b>	<b>20%</b>	<b>P=0.076</b>
Ingreso UCIN	2.16%	4.33%	P=0.198
Mortalidad	1 (37 SG)	<b>1 (28 SG)</b>	

La regresión logística no mostró diferencias entre grupos (p=0.573), pero detectó como factor protector de GEG la GM (OR 0.39, IC 95% 0.20-0.78; p= 0.008)

y como factor de riesgo la prematuridad (OR 2.08, IC 95% 1.00-4.28;  $p=0.47$ ). Además, se detectó asociación entre PEG y preclampsia (OR 7.13, IC 95% 1.40-36.37;  $p= 0.018$ ), independientemente del consumo de tabaco, de EM, de ser caso/control, RNPT o gemelar.

#### 4.2.3 MC mayores y menores

No se detectaron diferencias entre grupos en MC mayores ni menores en general. En cuanto a las anomalías menores, sí hubo mayor frecuencia en el grupo TRA de malformación capilar a los 3 años de edad, así como LP. Estas diferencias se mantuvieron tras realizar la regresión logística que incluye posibles factores de confusión como la GM, prematuridad, sexo, consumo de tabaco durante la gestación, antecedente de preclampsia y toma o no de AFPC.

Tabla 11. Análisis caso-control: MC mayores y menores

	CASOS	CONTROLES	$\chi^2$
MC mayores	7.8%.	7.2%	$p=0.829$
MC menores	53%	52%	$P=0.902$
<b>AV</b>	<b>22%</b>	<b>15%</b>	<b><math>P=0.057</math></b>
<b>Malformaciones capilares</b>	20%	12.6%	<b><math>P=0.031</math></b>
hemangioma	4.76%	3.4%	$P=0.474$
<b>LP</b>	<b>33.3%</b>	<b>20%</b>	<b><math>P= 0.003</math></b>

La regresión logística no detectó asociación entre MC mayores y ser caso o control, pero sí entre estas y sexo masculino y GM, independientemente de la EM, prematuridad, consumo de tabaco, toma de AFPC y antecedente de preclampsia.

Tabla 12. Regresión logística del análisis caso-control: MC mayores

MC mayores	RRR	p>z	IC 95%
Caso/control	1.32	0.459	0.62-2.81
<b>Sexo</b>	2.86	<b>0.011</b>	1.27-6.46
EM	1.00	0.0997	0.90-1.10
<b>GM</b>	2.31	<b>0.050</b>	1.00-5.35
Prematuridad	1.14	0.763	0.48-2.70
Consumo de tabaco	0.47	0.239	0.13-1.63
Toma AFPC	1.49	0.296	0.70-3.16

Tabla 13. Regresión logística del análisis caso-control: LP

LP	OR	p>z	IC 95%
<b>Caso/control</b>	1.92	<b>0.004</b>	1.23-3.08
Sexo	1.29	0.246	0.83-2.01
EM	1.01	0.559	0.95-1.08
GM	0.61	0.061	0.37-1.02
Prematuridad	0.87	0.675	0.48-1.60
Consumo de tabaco	0.73	0.329	0.38-1.37
Toma AFPC	0.92	0.748	0.59-1.45



Tabla 14. Regresión logística del análisis caso-control: malformaciones capilares

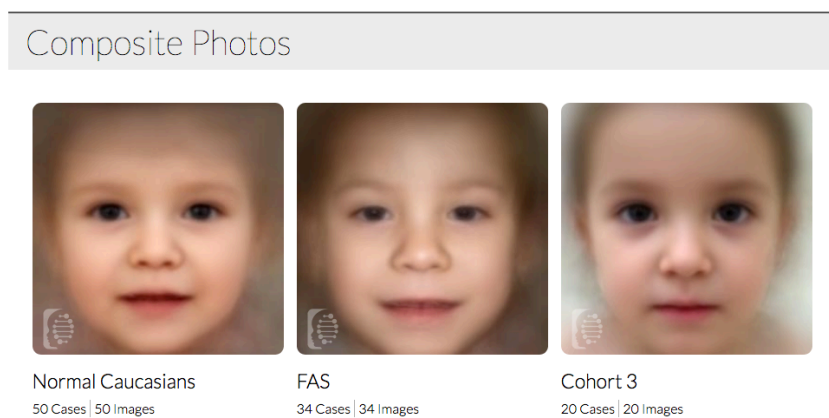
Malformaciones capilares	OR	p>z	IC 95%
<b>Caso/control</b>	1.72	<i>0.050</i>	1.00-2.97
Sexo	0.68	<i>0.154</i>	0.40-1.15
EM	0.98	<i>0.728</i>	0.91-1.06
GM	1.34	<i>0.629</i>	0.47-1.55
Prematuridad	0.84	<i>0.631</i>	0.41-1.70
Consumo de tabaco	1.34	<i>0.396</i>	0.68-2.64
Toma AFPC	1.13	<i>0.651</i>	0.66-1.92

La regresión logística para MC menores no mostró otras diferencias entre casos y controles, pero sí asociación entre AV y hemangioma, y sexo femenino.

Por otro lado, se detectó un patrón cráneo-facial recurrente en el 68 % de la población TRA no descrito con anterioridad, caracterizado por frente prominente, hipoplasia mediofacial, epicantus, mejillas llenas y labio superior fino.

El programa de reconocimiento facial (<http://suite.face2gene.com>) que incluyó pacientes controles, SAF y niños-TRA, permitió distinguir los 3 patrones diferentes:

Figura 7. Patrón cráneo-facial en controles, niños-SAF y niños-TRA



## Estudio comparativo: patrón cráneo-facial de controles, SAF y niños-TRA

COMPARISON	CASES	FRONTAL IMAGES	ACCURACY ⓘ	ACCURACY STD
Multiclass	102	102	83.47%	7.01%

BINARY COMPARISONS	CASES	FRONTAL IMAGES	MEAN AUC ⓘ	AUC STD
Normal Caucasians vs. FAS	49 vs. 33	49 vs. 33	0.95	0.02
Normal Caucasians vs. Cohort 3	49 vs. 20	49 vs. 20	0.98	0.02
FAS vs. Cohort 3	33 vs. 20	33 vs. 20	1.00	0.00
Cohort 3 vs. All Other Cohorts	20 vs. 82	20 vs. 82	0.98	0.02
FAS vs. All Other Cohorts	33 vs. 69	33 vs. 69	0.97	0.01
Normal Caucasians vs. All Other Cohorts	49 vs. 53	49 vs. 53	0.92	0.02

## Multiclass Comparison

### Confusion Matrix ⓘ

		Predicted		
		NORMAL CAUCASIANS	FAS	COHORT 3
Actual	NORMAL CAUCASIANS	0.94	0.06	0.00
	FAS	0.21	0.78	0.01
	COHORT 3	0.21	0.01	0.78

MEAN ACCURACY 83.47%

STANDARD DEVIATION 7.01%

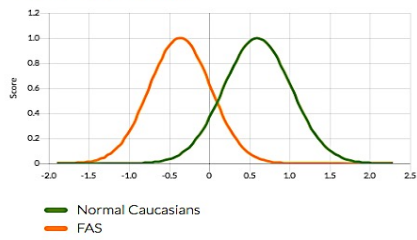
RANDOM CHANCE FOR COMPARISON 48.04%

En todas las comparaciones binarias se obtuvo una curva ROC con valores de área bajo la curva muy altos y  $p < 0.001$ :

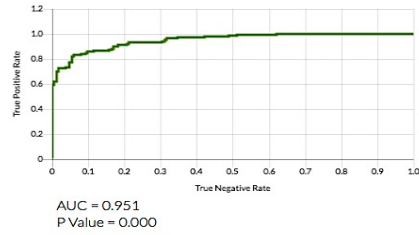
### Binary Comparisons

#### Normal Caucasians vs. FAS

Score Distribution

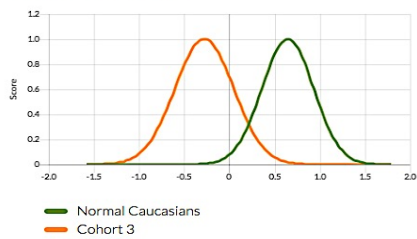


ROC

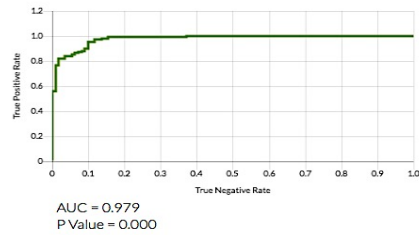


#### Normal Caucasians vs. Cohort 3

Score Distribution

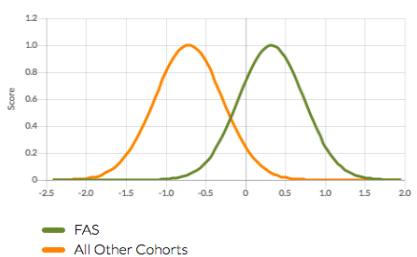


ROC

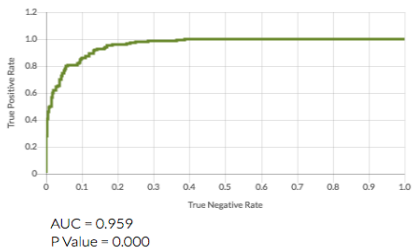


#### FAS vs. All Other Cohorts

Score Distribution

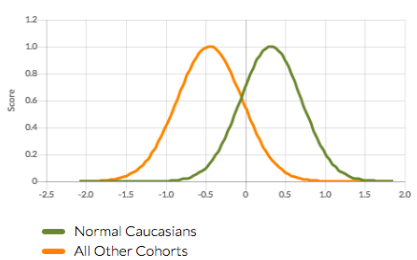


ROC

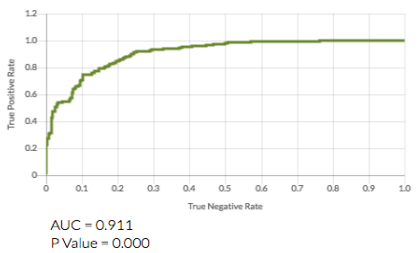


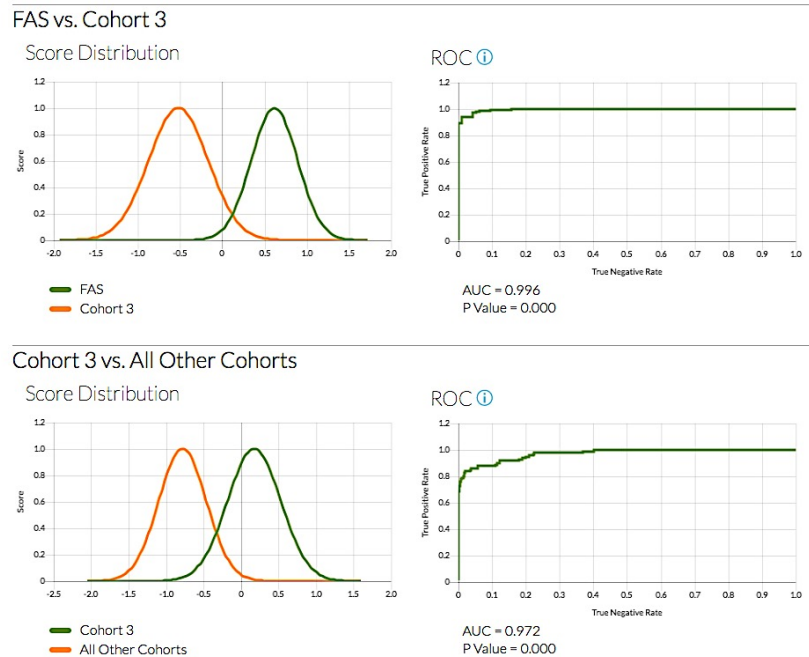
#### Normal Caucasians vs. All Other Cohorts

Score Distribution



ROC





Se realizó análisis univariante de posibles factores asociados a este patrón craneofacial, detectándose asociación estadísticamente significativa con trastornos del neurodesarrollo ( $p=0.016$ ), madres < 35 años ( $p=0.033$ ) y sexo masculino ( $p=0.025$ ).

#### 4.2.4 Morbilidad postnatal

En ingresos y seguimiento por especialistas tampoco se detectaron diferencias. Sí se detectaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la frecuencia de EC: 17.3% en el grupo-TRA y 8.7% en el grupo control, siendo las más frecuentes los sibilantes recurrentes y la intolerancia a la proteína de leche de vaca.

Hubo solo un fallecimiento en el grupo control. Un RNGPT de 28 SG que falleció en el primer mes de vida por complicaciones relacionadas con su prematuridad extrema.

Tabla 15. Análisis caso-control: morbilidad postnatal

	CASOS	CONTROLES	X <sup>2</sup>
EC	17.3%	8.7%	<i>P=0.008</i>
Seguimiento especialista	34%	39%	<i>P=0.285</i>
Ingreso postnatal	10%	9.6%	<i>P=0.904</i>
Mortalidad	0%	0.48%	

En el grupo TRA se realizaron 4 diagnósticos genéticos:

- ✓ Niña con **SBW** por hipometilación IC2 de alelo materno.
- ✓ Niño con **S. Klinefelter** (trisomía XXY).
- ✓ Niña portadora de **displasia ectodérmica hipohidrótica ligada al X** por variante patogénica de origen paterno en el gen EDA. No informó antes de iniciar tratamiento que era afecto de esta enfermedad.
- ✓ Niña con **enfermedad Steinert** de origen materno. En este último caso, el diagnóstico materno se realizó durante la gestación y el de la niña al nacimiento.

#### 4.2.5 Desarrollo pondoestatural

No se detectaron diferencias en relación al desarrollo pondoestatural entre grupos hasta los 3 años de edad. No hubo diferencias entre los percentiles medios de talla, peso y PC a los 12-20 meses ni a los 26-40 meses. Analizando la frecuencia de talla baja, hipercrecimiento y micro o macrocefalia en ambos grupos, tampoco se detectaron diferencias.

Tabla 16. Análisis caso-control: desarrollo ponderoestatural

	CASOS	CONTROLES	$\chi^2$
Talla baja (1)	3.46%	4.35%	$p=0.632$
Hipercrecimiento (1)	3%	1.45%	$P=0.269$
Micro/macrocefalia (1)	0/3.46%	1.93/2.9%	$P=0.101$
<b>Talla baja (2)</b>	<b>1.73%</b>	<b>4.84%</b>	<b><math>p=0.066</math></b>
Hipercrecimiento(2)	4.76%	2.45%	$P=0.191$
Micro/macrocefalia (2)	1.3/6.49%	3.86/4.35%	$P=0.327$

#### 4.2.6 Desarrollo psicomotor

No se detectaron diferencias entre grupos en relación con la presencia de desarrollo psicomotor alterado en general, RGD, retraso de lenguaje aislado ni TEA (criterios M-CHAT) o rasgos TEA (sin cumplir criterios).

Tabla 17. Análisis caso-control: patología neurológica

	CASOS	CONTROLES	$\chi^2$
DPS alterado	9%	9.6%	$p=0.850$
RGD	3%	2.9%	$P=0.935$
Retraso aislado del lenguaje	7.8%	7.7%	$P=0.980$
TEA (M-CHAT +)	2.1%	1.89%	$P=0.443$
TEA + rasgos	3.46%	1.93%	$P=0.327$

Sí se detectaron diferencias en cuanto al número de niños en los que se realizó Array-CGH (7.3% vs 1.9%,  $p=0.026$ ), fundamentalmente por la asociación entre trastorno del neurodesarrollo y/o MC y anomalías craneofaciales, que fue más frecuentes en el grupo TRA. Solo se detectó una alteración patogénica en un niño-TRA con TEA, compatible con S. Klinefelter (trisomía XXY).

En los casos en los que se realizaron otros estudios si la clínica era parcialmente solapante con algún trastorno genético específico (estudio de metilación de región 14q32, 11p15, secuenciación de genes PTPN11 y EFNB1), los resultados fueron normales.

Tabla 18. Resumen de diferencias detectadas entre casos y controles

	CASOS	CONTROLES	$\chi^2$
<b>Sexo (niñas)</b>	55.8%	40%	<i>P=0.001</i>
<b>Toma de AFPC</b>	65%	42%	<i>P&lt;0.001</i>
<b>TTP &gt;1 año</b>	94%	7.9%	<i>P&lt;0.001</i>
<b>PG</b>	60%	38.9%	<i>P&lt;0.001</i>
<b>DG</b>	12.5%	6.25%	<i>P=0.025</i>
<b>Cesárea</b>	58%	30%	<i>P&lt;0.001</i>
<b>LP</b>	33.3%	20%	<i>P= 0.003</i>
<b>MCLM</b>	10%	1%	<i>P&lt;0.001</i>
<b>EC</b>	17%	8.7%	<i>P=0.008</i>

Tabla 19. Resumen de patologías asociadas a ser caso: regresión logística\*

	OR	p>z	IC 95%
<b>Patología gestacional</b>	2.76	<0.001	1.77-4.28
<b>LP</b>	1.92	0.004	1.23-3.08
<b>Malformaciones capilares</b>	1.72	0.050	1.00-2.97

\*Independientemente de EM, tipo de gestación, sexo y prematuridad

#### 4.3. ESTUDIO DE POSIBLES FACTORES ESPECÍFICOS DE LA TRA RELACIONADOS CON LAS GC QUE FINALIZARON EN ABORTO Y LOS PROBLEMAS DE SALUD DE LOS CASOS

##### 4.3.1 Análisis de posibles factores de riesgo de aborto tras GC-TRA

El análisis univariante detectó asociación con los siguientes factores: EM e IMC materno mayor, estradiol basal elevado, TE en D2 y tipo de esterilidad (más frecuente la infertilidad femenina y menor la masculina en el grupo de abortos), pero la regresión logística solo mostró asociación con la EM.

Tabla 20. Regresión logística: factores de riesgo de aborto en GC-TRA

Abortos	OR	p>z	IC 95%
<b>EM (mediana)</b>	1.2	0.015	1.03-1.42
IMC materno (media)	1.1	0.055	0.99-1.22
Estradiol basal (media)	1.1	0.512	0.81-1.5
Día de TE	0.17	0.098	0.02-1.37

No se detectó asociación con los niveles de FSH basal, el tipo de TRA (FIV/ICSI o TEC), el protocolo de tratamiento de EO ni la presencia de ninguna complicación en concreto durante el ciclo.



### 4.3.2 Análisis de posibles factores de la TRA y las parejas asociados a los problemas de salud detectados

Aunque no se detectaron diferencias en los problemas más significativos de salud analizados, se realizó análisis de posibles factores de la TRA asociados a los problemas de salud de los casos y gestantes-TRA, con el objetivo de evitarlos en la medida de lo posible y mejorar la información y asesoramiento dados a las parejas que precisan de estos tratamientos.

Las variables de la TRA y de las características de las parejas estudiadas como posibles factores asociados a los problemas de salud fueron:

- ✓ **Presencia de <4% de espermatozoides normales** (criterio Kruger).
- ✓ **Causas de infertilidad:** mixta, masculina, femenina o EOD.
- ✓ **Niveles de FSH y estradiol, basales.**
- ✓ **Toma de AFPC**
- ✓ **Tipo de TRA:** FIV, ICSI, TEC o DGP.
- ✓ **DT embrionaria:** D2-D3 o D5-D6.
- ✓ **Número de embriones transferidos:** 1, 2 o 3.
- ✓ **Protocolo de EO y frenado.**
- ✓ **Antecedente de SHO** (estradiol > 3000 pg/ml y hallazgos ecográficos compatibles).
- ✓ **Número medio de ovocitos recuperados.**
- ✓ **Número medio de ovocitos fecundados y embriones evolutivos.**
- ✓ **Calidad embrionaria según la clasificación ASEBIR.**

Los resultados más destacados fueron los siguientes:

#### 4.3.2.1 Patología gestacional

En el 60% de los niños-TRA hubo como antecedente PG. El análisis univariante mostró asociación con TEC (Exacto de Fisher,  $p=0.031$ ), antecedente de SHO (Exacto Fisher,  $p=0.018$ ), protocolo de EO con FSH rec + hMG y + LH ( $X^2$   $p=0.040$ ) y n° medio de embriones evolutivos. La regresión logística no mostró asociación estadísticamente significativa con ninguno de los factores específicos de la TRA estudiados. Sí mostró asociación con **prematuridad**.

Tabla 21. Regresión logística de posibles factores TRA implicados: PG

PG	OR	p>z	IC 95%
Sexo	0.54	0.071	0.28-1.05
EM	0.90	0.057	0.81-1.00
GM	0.85	0.664	0.41-1.76
<b>Prematuridad</b>	5.4	<b>0.001</b>	2.07-14.48
TEC	1.5	0.278	0.74-3.05
SHO	0.37	0.219	0.06-2.20
Nº medio de embriones evolutivos	0.97	0.65	0.86-1.09

#### 4.3.2.3.2. Diabetes gestacional

El 12.5 % de casos tuvo como antecedente DG. El análisis univariante detectó asociación con TEC (Exacto de Fisher  $p= 0.028$ ); antecedente de SHO (Exacto Fisher  $p=0.042$ ); EOD ( $p=0.035$ ); protocolo de EO con FSH rec + hMG (más frecuente) y FSH ur (ningún caso) ( $p=0.009$ ); con el número medio de embriones evolutivos (6.42 vs 5.15,  $p=0.0357$ ) y con los niveles de FSH basal (6.4 vs 7.8,  $p= 0.0029$ ).

La regresión logística solo mostró como factores de riesgo la **EOD y niveles más bajos de FSH basal** (6.4 de media en el grupo con DG vs 7.8 sin DG).

Tabla 22. Regresión logística de posibles factores TRA implicados: DG

DG	OR	p>z	IC 95%
Sexo	0.63	0.353	0.24-1.64
EM	1.08	0.282	0.93-1.25
GM	0.54	0.323	0.16-1.81
Prematuridad	1.02	0.969	0.26-3.92
TEC	1.22	0.708	0.42-3.49
Antecedente SHO	2.85	0.138	0.71-12.5
Nº medio de embriones evolutivos	1.03	0.647	0.89-1.19
<b>FSH basal</b>	1.54	<b>0.003</b>	1.16-2.00
<b>EOD</b>	11.4	<b>0.004</b>	2.22-58.84

#### 4.3.2.3.3. Preclampsia

La presencia de preclampsia se detectó en el 2.6% y solo se asoció con la transferencia de 3 embriones: el 33% (1/3) de casos en los que se realizó transferencia de 3 embriones presentó preclampsia ( $p= 0.000$ ). No se detectó asociación con el resto de variables analizadas.

#### 4.3.2.1.3. Parto instrumentado o por cesárea

El tipo de parto se asoció con TEC, antecedente de SHO ( $p= 0.022$ ) y ovocitos recuperados y embriones evolutivos en el análisis univariante, persistiendo estas diferencias tras la realización de la regresión logística solo para TEC, que fue FR de parto instrumentado (OR 6.8 IC 95%, 2.5-18.14,  $p<0.001$ ).

Tabla 23. Regresión logística multimodal: tipo de parto

<b>PARTO</b>	<b>RRR</b>	<b>p&gt;z</b>	<b>IC 95%</b>
<b>INSTRUMENTADO</b>			
Sexo	0.53	0.183	0.20-1.34
EM	1.08	0.258	0.94-1.25
GM	2.37	0.170	0.68-8.20
<b>Prematuridad</b>	0.17	0.022	0.04-0.77
DG	1.18	0.82	0.25-5.52
SHO			No válido
Ovocitos recuperados	1.02	0.800	0.84-1.23
Embriones evolutivos	1.03	0.829	0.74-1.43
<b>TEC</b>	4.92	0.003	1.73-14.00
<b>CESÁREA</b>			
Sexo	0.57	0.141	0.27-1.20
EM	1.09	0.090	0.98-1.22
<b>GM</b>	5.7	0.001	2.08-15.78
Prematuridad	0.27	0.021	0.09-0.82
DG	1.37	0.637	0.36-5.12
SHO			No válido
Ovocitos recuperados	0.99	0.949	0.85-1.16
Embriones evolutivos	1.15	0.325	0.86-1.54
TEC	1.80	0.179	0.726

4.3.2.2. *Patología neonatal*

## 4.3.2.2.1 Gemelaridad

De los 231 RN que participaron en el estudio, el 43.7% (101) fueron gemelares (6 trillizos) y 56.3% (130) únicos, debido a una tasa de GM en la cohorte de GE del 26%. El análisis univariante detectó asociación entre GM y mayor número de ovocitos fecundados y embriones transferidos, así como menor frecuencia de GM en casos de fertilidad femenina y en casos en los que la pareja presentaba > 4% de formas normales de espermatozoides.

Tabla 24. Factores asociados a GM

	GM	GU	P
Nº medio de ovocitos fecundados	7.51	6.68	$P=0.0129$
ET 1	2%	98%	
2	46%	54%	$P=0.004$
3	66%	33%	
Esterilidad femenina	4%	20%	$P<0.001$
> 4% de formas normales	27%	73%	$P=0.001$

## 4.3.2.2.2. Prematuridad

La prematuridad fue más frecuente en el grupo de EOD; en el grupo con antecedente de SHO; cuando el número medio de ovocitos fecundados y embriones evolutivos fue mayor y cuando se transfirieron más embriones.

Tabla 25. Factores asociados a prematuridad

	RNPT	RN a término (RNT)	P
Nº medio de ovocitos fecundados	8.4	6.5	<i>P=0.005</i>
Nº medio de embriones evolutivos	5.94	5	<i>P=0.0184</i>
Antecedente SHO	17.5%	4%	<i>P=0.002</i>
ET 1	14%	86%	-
3	100%	0%	
<b>EOD</b>	8.8%	2.9%	<i>P= 0.019</i>

## 4.3.2.2.3. Somatometría al nacimiento

La presencia de PEG ( $p<10$ ) solo se asoció con mayor IMC materno (25.9 vs 23.7). La macro o microcefalia y la longitud no se asociaron a ningún factor.

Tabla 26. Regresión logística de posibles factores TRA implicados: PEG

PEG	OR	p>z	IC 95%
Sexo	0.83	0.732	0.30-1.47
EM	0.99	0.928	0.84-1.16
GM	0.87	0.831	0.25-2.95
Prematuridad	0.61	0.529	0.13-2.84
DG	0.86	0.856	0.17-4.30
TEC	1.82	0.246	0.66-5.03
<b>IMC</b>	1.14	<i>0.019</i>	1.02-1.28

La presencia de GEG ( $p>90$ ) sí asoció tras la realización de regresión logística con TEC.

Tabla 27. Regresión logística de posibles factores TRA implicados: GEG

GEG	OR	p>z	IC 95%
Sexo	0.72	0.429	0.31-1.62
EM	1.00	0.954	0.88-1.13
GM	0.63	0.342	0.24-1.62
Prematuridad	1.41	0.526	0.48-4.11
DG	0.78	0.681	0.24-2.51
TEC	2.89	0.017	1.20-6.96
SHO	4.76	0.055	0.97-25.00

#### 4.3.2.2.4. Ingreso al nacimiento

El análisis univariante mostró asociación exclusivamente entre ingreso en UCIN y antecedente de SHO (exacto de Fisher 0.046), que no se mantuvo tras realizar la regresión logística.

#### 4.3.2.3. MC mayores y menores

##### 4.3.2.3.1 MC mayores

El 7.7 % de los casos presentó MC mayores de acuerdo a la clasificación CIE 10. El análisis univariante mostró asociación con la causa de esterilidad: de los casos con esterilidad femenina solo uno tuvo MC mayor 3.3% y de EOD el 40% (P= 0.001). La regresión logística mostró como FR la EOD, pero la esterilidad femenina no resultó factor protector.

Tabla 28. Regresión logística de posibles factores TRA implicados: MC mayores

MC mayores	OR	p>z	IC 95%
Sexo	2.69	0.087	0.86-8.37
EM	1.03	0.674	0.87-1.22
GM	0.86	0.837	0.21-3.49
Prematuridad	3.29	0.092	0.82-13.20
DG	0.40	0.348	0.05-2.69
<b>EOD</b>	11.9	<b>0.006</b>	2.06-69.64

## 4.3.2.3.2. MC menores

El 53% de los casos presentó MC menores según la clasificación de Merks y colaboradores (91). La regresión logística no mostró asociación con DG, TEC ni con SHO tras ajustar por los posibles factores de confusión. Tampoco hubo asociación con antecedente de preclampsia y consumo de tabaco durante la gestación. Solo se detectó como factor protector la GM.

Tabla 29. Regresión logística de posibles factores TRA implicados: MC menores

MC menores	OR	p>z	IC 95%
Sexo	1.16	0.619	0.64-2.08
EM	0.94	0.182	0.86-1.02
<b>GM</b>	0.45	<b>0.023</b>	0.22-0.89
Prematuridad	1.36	0.440	0.61-3.01
DG	2.18	0.108	0.84-5.68
Antecedente SHO	1.26	0.766	0.17-3.55
TEC	1.13	0.688	0.61-2.08

MC menores más frecuentes: AV, LP y patrón cráneo facial recurrente

✓ AV: no se detectó asociación con ningún factor analizado de la TRA, ni con antecedente de preclampsia, DG o consumo de tabaco por



la gestante. Tampoco se detectaron asociaciones analizando las malformaciones capilares y los hemangiomas de forma independiente.

✓ LP: solo se detectó asociación con **DGP**, el 80% de los niños (4/5) concebidos tras DGP presentaron LP ( $p= 0.037$ ). No se asociaron con antecedente de preclampsia, DG ni tabaco. Por la escasa muestra no pudo realizarse regresión logística.

✓ Patrón recurrente cráneo facial: aunque el análisis univariante mostró asociación con antecedente de SHO, nº medio de ovocitos fecundados, embriones evolutivos y casos con  $< 4\%$  de formas normales de EPZ, la regresión logística no mostró asociación con ningún factor estudiado.

#### **4.3.2.4. Somatometría a los 12-20 meses y a los 26-40 meses de edad**

La talla baja ni el sobrecrecimiento detectados en la primera y en la segunda evaluación no se asociaron a ningún factor estudiado.

Los casos con macrocefalia evidenciada en la primera y segunda evaluación se asociaron más a FIV que a ICSI (21% vs 2.3%,  $p = 0.000$ ; 50% vs 5.32%  $p = 0.003$ ). No se detectó asociación con el resto de variables estudiadas.

#### **4.3.2.5. Desarrollo neurológico**

##### **4.3.2.5.1. Alteración del desarrollo psicomotor**

Se detectó algún trastorno del desarrollo psicomotor de etiología no filiada en el 9% de casos. La regresión logística no detectó asociación con ningún factor específico de la TRA estudiado, pero sí con GM (OR 3.19, IC 95% 1.00-10.13  $p=0.049$ ).

##### **4.3.2.5.2. RGD**

El 3% presentó RGD. El análisis univariante mostró asociación con EOD en relación con factor mixto, antecedente de hipoglucemia neonatal y transferencia de 3 embriones (33% vs 2.42 y 4.72 en casos de transferencia de 2 y 1 respectivamente,  $p= 0.007$ ). La regresión logística solo mostró asociación con antecedente de hipoglucemia neonatal y EOD:

Tabla 30. Regresión logística de posibles factores TRA implicados: RGD

RGD	OR	p>z	IC 95%
Sexo	4.42	0.172	0.52-37.43
EM	0.86	0.271	0.66-1.11
GM	1.60	0.701	0.14-18.01
Prematuridad	2.26	0.491	0.22-23.07
DG	0.24	0.380	0.01-5.60
<b>EOD</b>	25.22	<b>0.013</b>	1.98-320.16
<b>Hipoglucemia neonatal</b>	68.97	<b>0.013</b>	1.98-320.16

## 4.3.2.5.3. Retraso del lenguaje

En el 7.79% de casos se evidenció a los 3 años retraso del lenguaje. Aunque el análisis univariante mostró asociación con antecedente de SHO, antecedente de hipoglucemia neonatal y TEC, la regresión logística solo mostró asociación con TEC.

Tabla 31. Regresión logística de posibles factores TRA implicados: retraso del lenguaje

Retraso del lenguaje	OR	p>z	IC 95%
Sexo	1.50	0.440	0.53-4.25
EM	0.95	0.575	0.81-1.12
GM	1.41	0.580	0.41-4.76
Prematuridad	0.69	0.634	0.16-3.05
Hipoglucemia neonatal	2.86	0.426	0.21-38.12
DG	1.22	0.794	0.26-5.58
<b>TEC</b>	3.84	<b>0.035</b>	1.10-13.37

## 4.3.2.5.4 TEA y rasgos TEA

El diagnóstico de TEA o rasgos TEA se hizo en el 3.46% de los niños-TRA. El análisis univariante no detectó ningún factor asociado de la TRA ni con GM, prematuridad, etc.

Tabla 32. Resumen de FR de la TRA asociados a los problemas de salud

FR de la TRA	Problemas de salud	OR	IC 95%
TEC	Parto instrumentado	4.92	1.73-14.00
	GEG	2.89	1.20-6.96
	Retraso de lenguaje	3.84	1.10-13.37
EOD	DG	11.4	2.22-58.84
	MC mayores	11.19	2.06-69.74
	RGD	28.49	2.17-373.16
FSH basal	DG	1.53	1.16-2.00
DGP	LP*	0.036	1.09-13.15

\*No posible realizar regresión logística por el escaso número de casos

El tipo de TRA (FIV/ICSI), día de transferencia (D2/D3 vs D5/D6), calidad embrionaria y el tipo de terapia de EO no se asociaron a ningún problema de salud.



# **CAPÍTULO 5: DISCUSIÓN**



## CAPÍTULO 5: DISCUSIÓN

Las TRA son cada día más utilizadas, los procedimientos más seguros y las tasas de éxito mejores, pero existe bastante evidencia científica que apoya la existencia de un posible impacto sobre la salud de gestantes y niños-TRA. Sin embargo, la presencia de múltiples posibles factores de confusión (EM, gemelaridad, subfertilidad, etc.), hacen aun hoy día difícil afirmar, que ese impacto se deba a la TRA en sí misma.

La EM suele ser mayor en población TRA, así como las tasas de GM, a pesar de los grandes esfuerzos que se están realizando para su disminución a nivel mundial (134). Ambos factores se han asociado ampliamente en la bibliografía con mayores tasas de patología perinatal (135) (136) y MC (137). Además es clara la asociación entre GM y prematuridad, y esta última también puede condicionar distintos problemas de salud a largo plazo (138) y trastornos del neurodesarrollo (139).

Aunque hay múltiples estudios sobre problemas de salud que diferencian entre GU-TRA o múltiples y en los que se estratifica el riesgo según la EM, hasta nuestro conocimiento no se ha publicado un estudio en el que se realice un seguimiento prospectivo controlado de niños-TRA, siendo las dos poblaciones similares en relación a estos 3 aspectos: gemelaridad, prematuridad y EM. Por ello se consideró el diseño de nuestro estudio el más apropiado para anular estos posibles factores de confusión. El único factor relevante que no se ha podido evitar con el diseño, y así poder atribuir los resultados fundamentalmente al uso de la TRA, es la subfertilidad, presente solo en el 7.8% de las parejas con niños-CN. Sin embargo, dado que la TRA va asociada a dificultades para concebir (excepto en los casos de DGP generalmente), y esta es la única opción que tienen muchas parejas para conseguir una gestación, creemos que a la hora del asesoramiento es más apropiado que se tenga en cuenta el riesgo asociado a la subfertilidad y la TRA de forma conjunta.

## 5.1 DISCUSIÓN DEL MÉTODO

### 5.1.1 Fortalezas

1. Diseño del estudio: población homogénea en ambos grupos, atendiendo a los fundamentales factores de confusión: prematuridad, gemelaridad y EM. Tamaño de la muestra adecuado para valorar el estado general de salud de la población a estudio.

2. Participación muy alta en el grupo casos y grupo control (87% y 90% respectivamente). Ello hace poco probable que un posible sesgo de participación afecte a los resultados de forma significativa.

3. Inclusión de todas las GC. Ello nos permite evitar sesgos presentes en otros estudios en los que seleccionan gestaciones en 3º trimestre, ya que algunos abortos pueden haberse producido por ACM, cromosomopatías, prematuridad, etc. y en esos casos, los datos no quedan reflejados.

4. Un único explorador con formación en Dismorfología y Genética Clínica, dato muy importante a la hora de realizar una valoración morfológica exhaustiva y evitar las diferencias inter-observador.

5. Colaboración con Ginecólogos de URA y con un Ginecólogo o Biólogo de Reproducción de cada una de las clínicas donde se realizan las últimas fases del tratamiento (punción ovárica y transferencia). Ello permite una recogida de datos fiable y poder establecer relaciones entre factores muy específicos de la TRA, posibles complicaciones, factores favorecedores, etc. Es algo de lo que no disponen la mayoría de estudios realizados sobre efectos sobre la salud a largo plazo, en los que los autores se limitan generalmente a describir la técnica utilizada sin entrar en más detalles del procedimiento.

### 5.1.2 Limitaciones

1. El factor subfertilidad no queda eliminado en el estudio como previamente se ha dicho. Al no haber un grupo de parejas subfértiles, los posibles efectos de la esterilidad sobre la salud de los RN no se pueden determinar. Este factor se ha asociado a un riesgo de MC y más patología neonatal (140)(141). Por la complejidad del diseño del estudio no era posible



añadir éste factor como criterio de selección del grupo control. No obstante, de nuestra cohorte de niños-TRA, el 10% de las parejas tuvo una gestación natural a lo largo del estudio, por lo que se realizará una valoración en torno a los 2-3 años de estos niños, para poder tener datos de salud de población subfétil y compararlos con los de nuestra población TRA.

2. Observador no ciego. El evaluador conocía si el paciente a valorar era caso o control. No obstante, los datos a recoger se ajustaban a los establecidos en los distintos cuestionarios, lo que dificulta la presencia de sesgos.

3. El tamaño de la muestra es adecuado para comparar muchos de los problemas de salud valorados, pero para algunas patologías que tienen baja prevalencia como el autismo (1-2%) o distintos tipos de MC mayores (SNC, genitourinarias, etc.), serían necesarios estudios con muestras más amplias.

4. Al realizar el análisis de los posibles FR de la TRA asociados a los problemas de salud, dada la tendencia cada vez mayor al uso de ICSI en lugar de FIV, que se ve reflejada en nuestros resultados (88 % vs 9.4 %), es difícil detectar diferencias significativas entre ambas técnicas, así como con DGP (solo hubo 4 GC conseguidas tras DGP). Serían necesarios estudios con muestras más amplias, con representación similar de los distintos tipos de TRA. De las GC conseguidas tras TEC, no se ha recogido si se realizó la transferencia en ciclo natural o tras EO, lo que impide diferenciar si los efectos del TEC se deben atribuir a la vitrificación en sí misma o al ambiente hormonal anterior a la transferencia o factores maternos.

5. Escaso tiempo de seguimiento para poder valorar posibles efectos a largo plazo, como cáncer y riesgo cardiovascular. Se informó a los participantes sobre la posibilidad de establecer contactos telefónicos a largo plazo (8-10 años), siendo la actitud al respecto muy positiva en la mayoría de los casos.

## 5.2 DISCUSIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA COHORTE DE GC-TRA

Las características generales de la cohorte de 243 GC-TRA entre los años 2012-2014 coinciden en ocasiones con las tendencias en el uso de estas técnicas en los últimos años, mientras que en otras difieren con las prácticas más habituales.

1. La EM media en nuestra población fue de 33.4 años, más baja que la media de la población-TRA tratada en otros centros. Ello ha de tenerse en cuenta a la hora de analizar las cifras descritas para las distintas variables de salud estudiadas, complicaciones, etc. Sin embargo, en cuanto al asesoramiento respecto las diferencias entre grupos, al haberse apareado el grupo control por EM, en principio este factor de confusión quedaría anulado.

2. Tendencia a la utilización de la ICSI, incluso en casos sin factor masculino asociado. Del total de GC, 216 (88%) se consiguieron tras ICSI (48.5% tras TE en fresco; 39.5 % tras TEC). Esta cifra es superior a la descrita en los últimos informes de los registros europeos y mundiales del uso de TRA (7)(8). Solo el 9.4% se consiguieron tras FIV (4.3% TE en fresco; 5.7% tras TEC). Si vemos las causas de esterilidad de la población a estudio, el factor masculino estuvo implicado en el 75% de los casos (causa mixta 45% y factor masculino exclusivo en el 30%), por lo que la ICSI se eligió en un porcentaje mayor al indicado estrictamente por el factor masculino asociado. Esta tendencia se ha generalizado en los últimos años y se ha cuestionado si se obtendrían mejores tasas de éxito en casos sin factor masculino asociado (142)(143). Sin embargo, los trabajos más recientes no muestran diferencias entre FIV e ICSI en cuanto tasas de éxito si no hay factor masculino asociado (23)(144). Por ello, al ser una técnica más invasiva y ser aun controvertido si se asocia a mayores tasas de MC u otros problemas de salud (11), algunos autores recomiendan seguir seleccionando FIV en aquellos casos sin factor masculino moderado asociado (145), así como realizar estudios prospectivos de muestras amplias para obtener resultados más fiables.

3. Uso frecuente de la TEC. En nuestra serie casi la mitad de las GC se consiguieron tras TEC. A nivel mundial debido a las mejoras en la vitrificación de embriones con tasas de supervivencia muy altas (25), y al permitir disminuir el riesgo de SHO con iguales o superiores tasas de GC

(146), así como asociar menor tasa de patología perinatal (147)(148), la TEC es cada vez más indicada (134), sobre todo en casos en los que se recuperan más de 15 ovocitos (149).

4. Tasa de GC tras TE en estadio de blastocisto baja (23 %). A día de hoy, ante las mejoras de las condiciones de cultivo y de las mejores tasas de GC y nacido vivo descritas tras transferencia en estadio blastocisto frente estadio en división, independientemente de que la transferencia sea en fresco o tras vitrificación (150), esta práctica es la norma.

5. La tasa del 23.5% de GM, aunque queda lejos del objetivo actual (<10%), es similar a la descrita en la mayoría de países a nivel mundial (9). Sí es destacable que solo el 14.8% de las GC se consiguieron tras transferencia de un único embrión en nuestra serie. Ello probablemente se correlaciona con la alta tasa de GM. En el último informe del registro europeo se habla de la elección de transferencia de embrión único en el 30% de los casos. La transferencia de un único embrión es cada vez más recomendada, al disminuir la patología perinatal sin disminuir las tasa de GC acumulada (151)(152).

6. La cifra de abortos de nuestra serie fue del 10.6 %, que coincide con la esperable en población general del mismo grupo de EM. No se detectó un aumento de riesgo por tanto, aunque esta cifra es algo mayor a la descrita recientemente en GC-TRA (5-10%) (153).

7. Hubo dos casos de ILE por DTN en el feto, cuando la incidencia estimada en nuestro país en base a datos recogidos entre 1983 y 2005 en un hospital terciario de Madrid, es de 0.72 por cada 1000 nacimientos (154). Aunque no se ha recogido el dato sobre la toma o no de AFPC en las mujeres cuya GC finalizó en aborto, las bajas tasas recogidas en la población que participó en el estudio (65%), sugiere que este sea el factor asociado. La asociación entre la toma de AFPC y los DTN ha sido ampliamente demostrada desde los años 60 (155)(156). Dada la planificación de estas gestaciones, esta cifra se considera inaceptable. La promoción y educación sobre este aspecto debe ser clara desde que se inician los estudios y se planifican los tratamientos. Se debe alertar de los riesgos asociados a no tomar AFPC (antes y durante la gestación), para que el cumplimiento sea máximo.

### 5.3. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS Y COMPARACIÓN CON LA BIBLIOGRAFÍA

#### 5.3.1 Análisis comparativo del estado de salud y desarrollo entre casos y controles

A pesar del alto porcentaje de patología perinatal (23.5% de GM; 24.6% de prematuridad; 8.6 % de bajo peso, entre otras), MC mayores (7.8%) y TEA/rasgos TEA (3.4%) en la población TRA, el análisis comparativo con la población control, no mostró diferencias entre grupos. Tampoco detectó diferencias de crecimiento al año y tres años de edad. Ello sugiere que los criterios utilizados para la selección del grupo control: EM, tipo de gestación (GM/GU) y EG, deben ser considerados como los principales factores asociados a la morbilidad descrita en la literatura en esta población y no tanto la TRA en sí misma. Las parejas deben ser informadas adecuadamente, y se debe tener en cuenta su edad al explicar las tasas de éxito, así como los posibles efectos de la misma sobre su salud durante la gestación y la de su descendencia en un futuro. Además, estos resultados apoyan también la tendencia creciente de transferir un único embrión, con lo que se minimizaría la tasa de GM y secundariamente la de prematuridad, y ello también debe informarse a las parejas.

Como limitaciones destacables, no se tuvo en cuenta a la hora analizar los problemas de neurodesarrollo, el antecedente de hipotiroidismo materno al no tener recogido si estuvo presente durante la gestación y si hubo buen control durante la misma. Este dato se ha asociado en la literatura con discapacidad intelectual en la descendencia (157), por lo que no podemos saber si ha tenido influencia sobre nuestros resultados. Tampoco se registró la somatometría completa de los padres de todos los participantes, al no acudir ambos miembros de la pareja a todas las revisiones. Ello nos impide descartar que exista alguna influencia de este factor sobre el análisis comparativo del crecimiento.

En relación a la PG sí detectamos diferencias entre grupos, independientemente de la EM, de acuerdo a lo descrito mayoritariamente en la literatura. En este sentido no podemos conocer el posible impacto de la subfertilidad sobre estos resultados, ya que este factor no se ha podido controlar con el diseño de nuestro estudio. En población subfétil o con antecedentes de infertilidad, ha sido descrita más DG (158), patología perinatal y parto mediante

cesárea (159). En 2012, Raatikainen y colaboradores (160), no detectan diferencias entre gestaciones-CN de mujeres subfértiles y las conseguidas por TRA, en cuanto a problemas perinatales (parto prematuro, bajo peso al nacimiento, ingreso en unidad de cuidados intensivos o puntuación más baja en el test Apgar), lo que también apoya que exista un impacto relevante de la subfertilidad sobre estos resultados, y no tanto de los tratamientos de fertilidad. El hecho de que en nuestro estudio la EOD se haya detectado como factor de riesgo de PG en comparación con los casos de esterilidad de causa mixta, podría apoyar también, que las dificultades para concebir incluso de etiología desconocida, condicionen mayores tasas de problemas durante la gestación.

Se detectó también más LP, MCLM y malformaciones capilares en el grupo-TRA, hallazgos no descritos previamente. Sí ha sido descrita la TRA como factor de riesgo de hemangioma infantil (90), pero nuestro estudio, aunque sí mostró mayor tasa de esta anomalía en el grupo TRA (4.76% vs 3.4%), no hubo diferencias estadísticamente significativas al ajustar los resultados por sexo, prematuridad, GM y otros posibles factores de confusión. El hallazgo de la asociación entre las TRA y lesiones cutáneas menores, aunque no tienen relevancia clínica a priori, sí se considera de gran interés, ya que la presencia de LP y en concreto las MCLM (10% en nuestra serie), se ha descrito en la literatura asociada a otras anomalías del desarrollo, epilepsia (161) y algunos tipos de cáncer como la leucemia aguda linfoblástica (162). Sin embargo, la asociación con cáncer es controvertida en la actualidad. Un estudio reciente de población brasileña, no detecta más porcentaje de MCLM en pacientes con diagnóstico de tumor sólido (163). Por todo ello, son necesarios más estudios para corroborar estas asociaciones, así como realizar un seguimiento a largo plazo de esta cohorte y otras, para determinar los posibles riesgos futuros.

También se describe de un patrón cráneo-facial recurrente no descrito con anterioridad, asociado a trastorno del neurodesarrollo. Si consideramos ambas alteraciones, los extremos de una alteración del desarrollo embrionario en sus primeras fases, como Seggers y colaboradores plantean (164), estos hallazgos sugieren que pueda existir un trastorno embrionario generalmente leve durante asociado al uso de TRA, que condicione anomalías menores a nivel facial, y solo en un porcentaje bajo de casos, problemas más relevantes. Además, su asociación con sexo varón y mujeres más jóvenes es interesante, y ello podría sugerir una

posible influencia hormonal. Si suponemos que las mujeres más jóvenes en general serán las más respondedoras y sus niveles de estradiol mayores, y a ello le asociamos la mayor frecuencia del patrón cráneo-facial en el varón, quizá los niveles de estrógenos jueguen algún papel a este nivel (165).

El conocimiento de este fenotipo por parte de los clínicos y en especial por los especializados en el estudio de pacientes con ACM o trastornos del neurodesarrollo lo consideramos fundamental, ya que los rasgos cráneo-faciales son a veces la pista fundamental para alcanzar un diagnóstico, y los hallazgos detectados en niños-TRA habría que tenerlos en cuenta. Estos podrían en ocasiones camuflar o dificultar el diagnóstico, o condicionar la realización de más pruebas complementarias como ocurrió en nuestra cohorte (Array-CGH y estudios de metilación de regiones improntadas), al asociarse esas anomalías faciales leves con otras anomalías del desarrollo.

### **5.3.2 Factores específicos de la TRA asociados a la finalización en aborto de las GC-TRA y de los problemas de salud de los casos**

#### *5.3.2.1 Factores asociados a aborto en GC-TRA*

El análisis de posibles factores de mal pronóstico a tener en cuenta a la hora de informar a las parejas, una vez conseguida una GC-TRA, no ha mostrado asociación con ningún aspecto específico de la TRA. Sí se ha detectado la EM como el principal factor asociado a aborto. Este hecho se ha descrito ampliamente en la literatura, no solo en población TRA, sino también en población general. Aunque el análisis univariante mostró que el IMC materno y niveles más elevados de estradiol basal podrían estar también implicados, esta asociación no se mantuvo tras realizar la regresión logística. En cuanto al IMC materno, aunque se ha asociado a peores tasas de éxito en TRA y mayor riesgo de aborto (166)(167), artículos recientes no detectan impacto (168). Bishop y colaboradores tampoco detectan asociación entre la reserva ovárica y el riesgo de abortos en mujeres jóvenes que consiguen gestación tras FIV (169). Se considera relevante tener en cuenta esta información a la hora de asesorar a las parejas tras el diagnóstico de GC. Aunque son necesarios más estudios con muestras más amplias, nuestro estudio apoya que ningún factor específico de la TRA se asocia a mayores tasas de aborto, siendo la EM el factor más determinante.

### 5.3.2.2 Factores asociados a los distintos problemas de salud de los casos

Del análisis de posibles factores de la TRA asociados a los problemas de salud detectados en población-TRA, los datos más destacados fueron los siguientes:

- Asociación de la TEC con parto instrumentado, GEG y retraso del lenguaje
- Asociación entre DGP y las LP

No se detectó asociación entre ninguna variable estudiada y las distintas pautas de EO, la ICSI, DT ni calidad embrionaria, factores que se han postulado en algunos trabajos como responsables de algunos problemas de salud en población-TRA.

1. La TEC sí se ha asociado ampliamente en la literatura a GEG o mayor peso al nacimiento (170)(171)(172)(173). No obstante, recientemente se está cuestionando si ello se asocia a la vitrificación o al ambiente hormonal presente en torno a la transferencia o a factores maternos, al no detectar tal asociación en ciclos de TEC tras OD (174)(175). Sin embargo, Pinborg y colaboradores en 2014 detectan un riesgo aumentado de macrosomía y GEG en población TEC en comparación con TE en fresco y CN, incluso entre parejas que han tenido dos hijos, uno tras TEC y otro tras TE en fresco, lo que apoya que la vitrificación sí explique en parte esta asociación (176). En nuestro estudio, todas las gestaciones se consiguieron con gametos propios, y existe la limitación de que no se recogió si la TEC se realizó en ciclo natural o tras EO, lo que nos impide asegurar que nuestros resultados se deban a la vitrificación y no a factores hormonales o maternos. Por todo ello, son necesarios más estudios en población TEC, dado el planteamiento de la política de “vitrificar siempre”. Aunque parece que los resultados perinatales tras TEC son mejores en general, el último metanálisis al respecto también muestra mayor riesgo de GEG, así como de HTA materna, por lo que esta práctica debe aún ser cuestionada (177).

Nuestros resultados también muestran mayor riesgo de parto instrumentado asociado a TEC, así como asociación con retraso del lenguaje. Como limitación en relación a esto último hay que destacar que no se preguntó específicamente a las parejas participantes si alguno de los miembros presentó retraso de lenguaje durante la infancia. Dado el componente familiar conocido a casos de retraso de lenguaje aislado, ese dato podría modificar estos resultados.

No obstante, los estudios en población-TEC a largo plazo son escasos, por lo que es importante que se lleven a cabo, atendiendo especialmente al desarrollo psicomotor.

2. La asociación entre DGP y LP no ha sido previamente descrita. No obstante, son muy pocos los casos de DGP que incluye nuestro estudio, por lo que este hallazgo debe interpretarse con precaución. Tampoco se ha descrito asociación entre DGP y MC o trastornos del desarrollo, pero el número de estudios es bajo, por lo que es necesario ampliar el conocimiento al respecto. Previamente se ha explicado que la importancia del hallazgo de más LP y MCLM en población-TRA radica en posibles problemas a largo plazo asociados (epilepsia, cáncer, etc.), por lo que es fundamental el seguimiento y estudio de esta población.

Dentro de otros posibles factores asociados a los distintos problemas de salud estudiados, incluidos en la regresión logística, la EOD se ha asociado en comparación con los casos de esterilidad mixta (la más frecuentemente implicada), con más PG, MC mayores y RGD. La subfertilidad y la EOD, aunque no son lo mismo, podrían pertenecer a un mismo espectro clínico. Los hallazgos de nuestro estudio podrían apoyar la relación ya descrita entre subfertilidad y PG, así como su asociación con más MC y posible influencia en la obtención de peores resultados en la evaluación del desarrollo psicomotor (78)(165).

#### 5.4. APLICACIONES PRÁCTICAS

##### 5.4.1 Asesoramiento de parejas candidatas a TRA

Este es el primer estudio realizado en la Región de Murcia sobre el estado de salud de niños TRA tratados en la URA-HCUVA. Ello nos permite ofrecer un asesoramiento específico sobre la evolución del estado de salud de estos niños. Aunque la información reportada a nivel mundial nos ofrece una visión general sobre múltiples aspectos relacionados con las TRA y su posible impacto en la salud, el conocer cómo evolucionan los niños de nuestra región es fundamental, ya que aun existen múltiples diferencias en la forma de realizar la TRA entre los distintos países.



En base a nuestros resultados se ha realizado un documento informativo dirigido a las parejas que van a someterse a estos tratamientos, mejorando así el asesoramiento. Esta pendiente de aprobación definitiva por los dos servicios involucrados: Sección de Genética Médica y URA-HCUVA.

#### Documento informativo sobre la salud de niños-TRA en la Región de Murcia

✓ En la actualidad, fundamentalmente por el retraso en el deseo reproductivo (estilo de vida, cambios socioeconómicos, etc.), entre el 10-15% de las parejas tiene dificultades para concebir.

✓ Ello ha condicionado un aumento de las indicaciones y uso de las técnicas de reproducción asistida (TRA) y ha supuesto que entre el 2-3% de los niños sean concebidos gracias a TRA en nuestra región. La Unidad de Reproducción de nuestro centro realiza TRA en colaboración con 5 clínicas de reproducción desde el año 2003.

✓ La tasa general de gestación por embrión transferido se estima en 35-40% aproximadamente, y la tasa de abortos entre el 12-14% (similar a la población general). En caso de realización de diagnóstico preimplantatorio por ser la pareja portadora de alguna enfermedad genética, las tasas de éxito son algo menores, de en torno al 25-28%.

✓ Durante el procedimiento, que incluye la EO, fecundación in vitro con o sin inyección espermática, cultivo del embrión y TE, pueden aparecer complicaciones, siendo las más frecuentes: dolor abdominal, sangrado que suele ser leve, hiperestimulación ovárica o la baja respuesta (obtención de un escaso número de ovocitos).

✓ En cuanto el posible impacto sobre la salud de la gestante y los RN, los datos más relevantes del estudio realizado en nuestra región son los siguientes:

- Es frecuente la patología gestacional en la embarazada (50-60%): diabetes gestacional, rotura prematura de membranas, amenaza de aborto, infecciones, etc.
- Es más frecuente que el parto sea instrumentado o mediante cesárea en gestaciones-TRA que en gestaciones similares conseguidas de forma natural.

- La tasa de gestación múltiple y prematuridad es del 20-25% aproximadamente (RN entre las 32-36 SG, antes en menos del 0.05%).
- En torno al 10-12% de estos recién nacido presenta bajo peso al nacimiento (percentil menor de 10) y en el mismo porcentaje aproximadamente, suelen precisar ingreso al nacer.
- ✓ En cuanto al crecimiento y desarrollo, este suele ser normal, similar al de la población general.
- ✓ La tasa de malformaciones congénitas mayores es del 6-7%, pero estas cifras coinciden con las detectadas en el grupo niños de características similares concebidos de forma natural.
- ✓ No hay evidencia de que exista mayor riesgo de retraso psicomotor ni problemas de aprendizaje.

Figura 7. Documento informativo para parejas-TRA



- ✓ En la actualidad, fundamentalmente por el retraso en el deseo reproductivo (estilo de vida, cambios socioeconómicos, etc.), entre el 10-15% de las parejas tiene dificultades para concebir.
- ✓ Ello ha condicionado un aumento de las indicaciones y uso de las técnicas de reproducción asistida (TRA) y ha supuesto que entre el 2-3% de los niños sean concebidos gracias a TRA en nuestra región. La Unidad de Reproducción de nuestro centro realiza TRA en colaboración con distintas clínicas de reproducción desde el año 2003.
- ✓ La tasa general de gestación por embrión transferido se estima en 35-40% aproximadamente, y la tasa de abortos entre el 12-14% (similar a la población general). En caso de realización de diagnóstico genético preimplantatorio por ser los padres portadores de alguna enfermedad genética, las tasas de éxito son algo menores y están en torno al 25-28%.
- ✓ Durante el procedimiento, que incluye la estimulación ovárica, fecundación in vitro con o sin inyección espermática, cultivo del embrión y transferencia embrionaria, pueden aparecer complicaciones, generalmente leves, siendo las más frecuentes:

dolor abdominal, sangrado, hiperestimulación ovárica o la baja respuesta (obtención de un escaso número de ovocitos).

- ✓ En cuanto al posible impacto sobre la salud de la gestante y los recién nacidos, independientemente de factores como la edad y tipo de esterilidad, los datos más relevantes del estudio realizado en nuestra región son los siguientes:
  - Es frecuente la patología gestacional en la embarazada (50-60%): diabetes gestacional, rotura prematura de membranas, amenaza de aborto, infecciones, etc.
  - Es más frecuente que el parto sea instrumentado o mediante cesárea en gestaciones-TRA que en gestaciones similares conseguidas de forma natural.
  - La tasa de gestación múltiple y prematuridad es del 20-25% aproximadamente (recién nacido entre las 32-36 semanas de gestación, antes en menos del 0.05%).
  - En torno al 10-12% de estos recién nacido presenta bajo peso al nacimiento (percentil menor de 10) y en el mismo porcentaje aproximadamente, suelen precisar ingreso al nacer.
- ✓ En cuanto al crecimiento y desarrollo, éste suele ser normal, similar al de la población general.
- ✓ La tasa de malformaciones congénitas mayores es del 6-7%, pero estas cifras coinciden con las detectadas en el grupo niños de características similares concebidos de forma natural.
- ✓ No hay evidencia de que exista mayor riesgo de retraso psicomotor ni problemas de aprendizaje.

*\*Resultados de la Tesis Doctoral titulada: "Evaluación de salud y desarrollo hasta los 3 años de edad de niños concebidos por TRA". M.J. Sánchez-Soler. Directores: E. Guillén Navarro y V. Pérez Fernández*

#### 5.4.2 Promoción de la salud y prevención de defectos congénitos

Nuestros resultados nos han permitido detectar bajas tasas de toma de AFPC. Ello ha hecho que se elabore un documento en el que se recuerda a las

parejas la importancia de la toma de suplementos desde el momento que se planifica una futura gestación (1-2 meses antes) y no cuando se consigue la GC tras el tratamiento de reproducción.

#### **5.4.3. Concienciar a los especialistas en Reproducción Humana de la importancia de la valoración interdisciplinar de las parejas en caso de sospecha de enfermedad genética.**

El diagnóstico de 2 casos de enfermedad genética heredada en el grupo TRA, resalta la necesidad de colaborar con otros especialistas en caso de detectar signos de alarma de alguna enfermedad genética (malformación congénita de etiología no filiada, trastorno neuropsiquiátrico, dismorfia facial, trastorno del crecimiento, etc.), para poder conseguir un diagnóstico antes del tratamiento y evitar su transmisión a la descendencia. En la actualidad se valoran de forma preferente/urgente en la Sección de Genética Médica a todas aquellas parejas o gestantes con sospecha de enfermedad genética y/o portadores de alteraciones genéticas.

#### **5.5. FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN**

Los factores de la TRA asociados a algunos problemas de salud como la TEC y el DGP plantean como posibles estudios posteriores:

- Estado de salud de niños en niños concebidos tras TEC
- Estudio de salud en niños concebidos tras DGP con atención a alteraciones en piel y SNC
- Estudios epigenéticos y probable relación con alteración de crecimiento prenatal y postnatal, patrón craneofacial, autismo y cáncer.



# **CAPÍTULO 6; CONCLUSIONES**



## CAPÍTULO 6: CONCLUSIONES

1. Nuestros resultados muestran que la mayoría de niños concebidos por TRA son sanos y no tienen problemas de salud relevantes (90%).

2. No se han detectado diferencias entre grupos en cuanto la tasa de patología perinatal (PEG y GEG, ingreso al nacimiento, patología neonatal, patología quirúrgica ni mortalidad perinatal) a diferencia de lo descrito en la literatura, lo que sugiere que la gemelaridad, prematuridad y EM deben jugar un papel fundamental en esos problemas médicos, y por tanto deberían tenerse en cuenta a la hora de asesorar a las parejas. Esto apoya además la recomendación general de transferir un único embrión para minimizar las tasas de GM y secundariamente de prematuridad.

3. Se ha detectado mayor frecuencia de PG en general en el grupo de mujeres-TRA y un riesgo mayor de parto instrumentado y mediante cesárea, siendo las tasas de esta última muy superiores a las deseadas (58%). La TEC se detectó como FR de parto instrumentado, y la EOD de DG. Esto último sugiere un posible impacto de la condición basal de la pareja. No hubo asociación con otros factores específicos de la TRA. También describimos asociación entre GEG y TEC, independientemente de otros factores, acorde a lo ampliamente descrito en la literatura. Además, se detectó asociación entre TEC y retraso del lenguaje aparentemente aislado, por lo que se considera fundamental realizar estudios a largo plazo sobre desarrollo y crecimiento de niños-TEC, antes de implantar la política de “vitrificar siempre” que se postula en los últimos años.

4. Los resultados muestran un alto porcentaje de MC mayores en ambos grupos (7-8%), pero no hubo diferencias estadísticamente significativas entre ellos. La tasa de anomalías menores es similar a la descrita en población TRA y subfértil, y tampoco se detectaron diferencias entre grupos. Ningún factor específico de la TRA se asoció con estas anomalías, pero sí hubo asociación con GM, lo que apoya de nuevo, el importante papel que debe jugar este factor en la alteración del desarrollo embrionario. Se considera conveniente estratificar el riesgo de anomalías mayores y menores según el tipo gestación (GM/GU), e

informar de ello a las parejas antes de la toma de decisión de transferir uno o varios embriones.

5. Se describe por primera vez el aumento de riesgo de LP, MCLM y malformaciones capilares en población TRA, independientemente del tipo de gestación y sexo. Las LP se asociaron con DGP, a pesar del escaso número de niños-DGP. Además, se detectó de forma inesperada un patrón cráneo-facial recurrente en esta población no descrito previamente, asociado a trastornos del neurodesarrollo, sexo masculino y mujeres de menor edad.

6. En cuanto al crecimiento, de acuerdo a lo descrito en la literatura, no detectamos diferencias.

7. Tampoco se detectaron diferencias estadísticamente significativas en trastornos del neurodesarrollo. La tasa de RGD a los 3 años fue similar en ambos grupos, así como la de retraso de lenguaje aislado y TEA y rasgos TEA.

8. Hubo un caso con S. Beckwith-Wiedemann de 231 niños-TRA, lo que apoya la asociación entre DI y TRA.

9. Del total de niños TRA hubo 4 casos con diagnóstico genético específico, siendo dos, trastornos heredados. Ello destaca la importancia de una valoración exhaustiva de las parejas antes de iniciar el tratamiento y la colaboración entre distintos especialistas para evitarlo en la medida de lo posible.

10. No hubo ningún caso de cáncer en nuestra población, ni diferencias entre los parámetros analíticos analizados.

11. El análisis de los posibles factores específicos de la TRA asociados a los distintos problemas de salud de la cohorte de niños-TRA no ha mostrado asociación con algunos de los postulados como responsables del impacto sobre la salud de niños y gestantes (ICSI, DT y cultivo más largo, calidad embrionaria, tipo de tratamiento de EO, etc.). Sí se detectó asociación entre TEC y algunos problemas comentados anteriormente, por lo que deben hacerse más estudios de esta población para detectar posibles problemas a largo plazo.

12. Dentro de las condiciones basales de las parejas, las causas de infertilidad y la EM parecen jugar un papel importante en determinados problemas de salud, por lo que deberían establecerse riesgos según tipos y grupo de EM, para poder dar un asesoramiento más adecuado a las parejas que se someterán a TRA.



13. La detección de dos casos de ILE por DTN (2/243), y la baja tasa de toma de AFPC por las madres del grupo casos (65%), sugiere que este es el factor asociado. Debido a ello, los profesionales que atiendan a estas parejas no deben olvidar nunca recomendar la toma ácido fólico desde el momento que empieza la planificación del embarazo.

14. Se evidenció que el fundamental factor de mal pronóstico y evolución de las GC a aborto es la EM avanzada.

15. El documento informativo sobre el estado de salud de los niños-TRA de parejas tratadas en la URA de nuestro centro será una herramienta esencial del asesoramiento de estas.



# **CAPÍTULO 7: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**



## CAPÍTULO 7: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fauser B, G Edwards R. The early days of IVF. Vol. 11, Human reproduction update. 2005. 437-438.
2. Kamel RM. Assisted Reproductive Technology after the Birth of Louise Brown. *J Reprod Infertil*. 2013 Apr 10;14(3):96-109.
3. Wang J, Sauer M V. In vitro fertilization (IVF): a review of 3 decades of clinical innovation and technological advancement. *Ther Clin Risk Manag*. 2006 Dec;2(4):355-64.
4. Lutjen P, Trounson A, Leeton J, Findlay J, Wood C, Renou P. The establishment and maintenance of pregnancy using in vitro fertilization and embryo donation in a patient with primary ovarian failure. *Nature*. 1984 Jan 30;307(5947): 174-175
5. Asch RH., Ellsworth LR, Balmaceda JP, Wong PC. Pregnancy after translaparoscopic gamete intrafallopian transfer. *Lancet*. 1984 Nov 3; 2(8410): 1034-1035
6. Dellenbach P, Nisand I, Moreau L, Feger B, Plumere C, Gerlinger P. Transvaginal sonographically controlled follicle puncture for oocyte retrieval. *Fertil Steril*. 1985;44(5):656-62.
7. High incidence of preterm births and early losses in pregnancy after in vitro fertilisation. Australian in vitro fertilisation collaborative group. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1985 Oct 26;291(6503):1160-3.
8. Calhaz-Jorge C, de Geyter C, Kupka MS, de Mouzon J, Erb K, Mocanu E, et al. Assisted reproductive technology in Europe, 2012: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod*. 2016 Aug 1;31(8):1638-52.
9. Dyer S, Chambers GM, de Mouzon J, Nygren KG, Zegers-Hochschild F, Mansour R, et al. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technologies world report: Assisted Reproductive

- Technology 2008, 2009 and 2010. *Hum Reprod.* 2016 Jul 1;31(7):1588–609.
10. Barad DH, Kushnir VA, Albertini D, Gleicher N. CDC analysis of ICSI/autism: association is not causation. *Hum Reprod.* 2015 Jul 1;30(7):1745–6.
  11. Lacamara C, Ortega C, Villa S, Pommer R, Schwarze JE. Are children born from singleton pregnancies conceived by ICSI at increased risk for congenital malformations when compared to children conceived naturally? A systematic review and meta-analysis. *JBRA Assist Reprod.* 2017 Dec 8;21(3):251–9.
  12. Pandian Z, Marjoribanks J, Ozturk O, Serour G, Bhattacharya S. Number of embryos for transfer following in vitro fertilisation or intra-cytoplasmic sperm injection: summary of a Cochrane review. *Fertil Steril.* 2014 Aug;102(2):345–7.
  13. Maheshwari A, Hamilton M, Bhattacharya S. Should we be promoting embryo transfer at blastocyst stage? *Reprod Biomed Online.* 2016; 32(2):142–6.
  14. Datta J, Palmer MJ, Tanton C, Gibson LJ, Jones KG, Macdowall W, et al. Prevalence of infertility and help seeking among 15 000 women and men. *Hum Reprod.* 2016 Sep 1;31(9):2108–18.
  15. Bonilla-Musoles F, Dolz M, Moreno J, Raga F. *Reproducción Asistida Abordaje en la práctica clínica.* Buenos Aires; Madrid: Editorial Médica Panamericana. 2009.
  16. Matorras R, Hernández J (eds): *Estudio y tratamiento de la pareja estéril: Recomendaciones de la Sociedad Española de Fertilidad, con la colaboración de la Asociación Española para el Estudio de la Biología de la Reproducción, de la Asociación Española de Andrología y de la Sociedad Española de Contracepción.* Adalia, Madrid 2007.
  17. Sunkara SK, Rittenberg V, Raine-fenning N, Bhattacharya S, Zamora J, Coomarasamy A. Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment cycles. *Human Reprod.* 2011;26(7):1768–74.

18. Ruiz A, Remohí J, Minguez Y, Guanes PP, Simón C, Pellicer A. The role of in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection in couples with unexplained infertility after failed intrauterine. *Fertil Steril*. 1997;68(1):171–3.
19. Cohen J, Talansky BE, Maker H, Alikani M, Adler A, Reing A, et al. Microsurgical fertilization and teratozoospermia. *Human reprod*. 1991;6(1):118–23.
20. Elizur SE, Levron J, Seidman DS, Kees S, Levran D, Dor J. Conventional in vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection for sibling oocytes in couples with mild oligoteratoasthenozoospermia and couples with normal sperm. *Fertil Steril*. 2004 Mar 15;82(1):241–3.
21. Pisarska MD, Casson PR, Cisneros PL, Lamb DJ, Lipshultz LI, Buster JE, et al. Fertilization after standard in vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection in subfertile males using sibling oocytes. *Fertil Steril*. 1999 Apr; 71(4):627–32.
22. Ombelet W, Fourie F, Vandeput H. Teratozoospermia and in-vitro fertilization: a randomized prospective study. *Hum Reprod*. 1994;9(8):1479–84.
23. Tannus S, Son W-Y, Gilman A, Younes G, Shavit T, Dahan M-H. The role of intracytoplasmic sperm injection in non-male factor infertility in advanced maternal age. *Hum Reprod*. 2017 Jan 1;32(1):119–24.
24. Edgar DH, Gook DA. A critical appraisal of cryopreservation (slow cooling versus vitrification) of human oocytes and embryos. *Hum Reprod Update*. 2012 Sep 1;18(5):536–54.
25. Rezazadeh Valojerdi M, Eftekhari-Yazdi P, Karimian L, Hassani F, Movaghar B. Vitrification versus slow freezing gives excellent survival, post warming embryo morphology and pregnancy outcomes for human cleaved embryos. *J Assist Reprod Genet*. 2009 Jun 10;26(6):347–54.
26. Harton G, Braude P, Lashwood A, Schmutzler A, Traeger-Synodinos J, Wilton L, et al. ESHRE PGD consortium best practice guidelines for organization of a PGD centre for PGD/preimplantation genetic screening†.

- Hum Reprod. 2011 Jan 1;26(1):14–24.
27. Brezina P, Ke R, Kutteh W. Preimplantation Genetic Screening: A Practical Guide. Clin Med Insights. Reprod Health. 2013; 7: 37-42.
  28. de Boer KA, Catt JW, Jansen RPS, Leigh D, McArthur S. Moving to blastocyst biopsy for preimplantation genetic diagnosis and single embryo transfer at sydney IVF. Fertil Steril. 2004 Aug;82(2):295–8.
  29. Manders M, Mclindon L, Schulze B, Mm B, Jam K, Farquhar C. Timed intercourse for couples trying to conceive. Cochrane Database Syst Rev. 2015;(3):CD011345
  30. Moore SG, Hasler JF. A 100-Year Review : Reproductive technologies in dairy science. J Dairy Sci. 2017;100(12):10314–31.
  31. Ludwig AK, Glawatz M, Griesinger G, Diedrich K, Ludwig M. Perioperative and post-operative complications of transvaginal ultrasound-guided oocyte retrieval: prospective study of >1000 oocyte retrievals. Hum Reprod. 2006 Dec 1;21(12):3235–40.
  32. Bennett SJ, Waterstone JJ, Cheng WEIC, Parsons J. Complications of Transvaginal Ultrasound-Directed Follicle Aspiration : A Review of 2670 Consecutive Procedures. J Assist Reprod Genet. 1993;10(1):72–7.
  33. Heino A, Gissler M, Hindori-Mohangoo AD, Blondel B, Klungsoyr K, Verdenik I, et al. Variations in Multiple Birth Rates and Impact on Perinatal Outcomes in Europe. PLoS One. 2016 Mar 1;11(3):e0149252.
  34. Smith V, Osianlis T, Vollenhoven B. Prevention of Ovarian Hyperstimulation Syndrome: A Review. Obstet Gynecol Int. 2015 May 14;2015:514159.
  35. Doyle P. The outcome of multiple pregnancy. Hum Reprod. 1996;11:110–20.
  36. Fitzsimmons BP, Bebbington MW, Fluker MR. Perinatal and neonatal outcomes in multiple gestations: Assisted reproduction versus spontaneous conception. Am J Obstet Gynecol. 1998 Mar 13;179(5):1162–7.



37. Zaib-un-Nisa S, Ghazal-Aswad S, Badrinath P. Outcome of twin pregnancies after assisted reproductive techniques-a comparative study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2003 Mar 13;109:51–4.
38. Barros JC, Alvarado LM, Gorbea V, Acosta V, Sánchez V, Gaviño F. Resultados perinatales de embarazos por fertilización in vitro con transferencia de embriones (FIVTE): un estudio de casos y controles. *Ginecol Obstet Mex.* 2006;74:626–39.
39. Pandey S, Shetty A, Hamilton M, Bhattacharya S, Maheshwari A. Obstetric and perinatal outcomes in singleton pregnancies resulting from IVF/ICSI: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2012 Sep 1;18(5):485–503.
40. Wang YA, Chughtai AA, Farquhar CM, Pollock W, Lui K, Sullivan EA. Increased incidence of gestational hypertension and preeclampsia after assisted reproductive technology treatment. *Fertil Steril.* 2016 Mar 13;105(4):920–926.e2.
41. Qin J, Liu X, Sheng X, Wang H, Gao S. Assisted reproductive technology and the risk of pregnancy-related complications and adverse pregnancy outcomes in singleton pregnancies : a meta-analysis of cohort studies. *Fertil Steril.* 2016;105(1):73–85.e6.
42. Henningsen AA, Gissler M, Skjaerven R, Bergh C, Tiitinen A, Romundstad LB, et al. Trends in perinatal health after assisted reproduction: a Nordic study from the CoNARTaS group. *Hum Reprod.* 2015 Mar 1;30(3):710–6.
43. Qin JB, Sheng XQ, Wu D, Gao SY, You YP, Yang TB et al. Worldwide prevalence of adverse pregnancy outcomes among singleton pregnancies after in vitro fertilization / intracytoplasmic sperm injection : a systematic review and meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet.* 2017;295(2):285–301.
44. Qin JB, Cheng XQ, Wang H, Chen GC, Yang J, Yu H, et al. Worldwide prevalence of adverse pregnancy outcomes associated with in vitro fertilization / intracytoplasmic sperm injection among multiple births : a systematic review and meta-analysis based on cohort studies. *Arch Gynecol Obstet.* 2017;295(3):577–97.

45. Woo I, Hindoyan R, Landay M, Ho J, Ingles SA, McGinnis LK, et al. Perinatal outcomes after natural conception versus in vitro fertilization (IVF) in gestational surrogates: a model to evaluate IVF treatment versus maternal effects. *Fertil Steril*. 2017;108(6): 993-998.
46. Qin J, Wang H, Sheng X, Liang D, Tan H, Xia J. Pregnancy-related complications and adverse pregnancy outcomes in multiple pregnancies resulting from assisted reproductive technology: a meta-analysis of cohort studies. *Fertil Steril*. 2015 Mar 13;103(6):1492-1508.e7.
47. Bonduelle M, Wennerholm U-B, Loft A, C Tarlatzis B, Peters C, Henriët S, et al. A multi-centre cohort study of the physical health of 5-year-old children conceived after intracytoplasmic sperm injection, in vitro fertilization and natural conception. *Hum Reprod*. 2005. 20(2): 413-419.
48. Belva F, Henriët S, Liebaers I, Van Steirteghem A, 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 Feb 1;22(2):506-15.
49. Ceelen M, van Weissenbruch MM, Roos JC, Vermeiden JPW, van Leeuwen FE, Delemarre-van de Waal HA. Body Composition in Children and Adolescents Born after in Vitro Fertilization or Spontaneous Conception. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Sep 1;92(9):3417-23.
50. Knoester M, Helmerhorst FM, Vandenbroucke JP, van der Westerlaken LAJ, 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 Mar 13;89(5):1133-46.
51. Basatemur E, Shevlin M, Sutcliffe A. Growth of children conceived by IVF and ICSI up to 12 years of age. *Reprod Biomed Online*. 2010;20(1):144-9.
52. Bay B. Fertility treatment: long-term growth and mental development of the children. *Dan Med J*. 2014;61:B4947.
53. Ceelen M, van Weissenbruch MM, Prein J, Smit JJ, Vermeiden JPW, Spreeuwenberg M, et al. Growth during infancy and early childhood in relation to blood pressure and body fat measures at age 8-18 years of IVF

children and spontaneously conceived controls born to subfertile parents. *Hum Reprod.* 2009 Nov 1;24(11):2788–95.

54. Scherrer U, Rexhaj E, Allemann Y, Sartori C, Rimoldi SF. Cardiovascular dysfunction in children conceived by assisted reproductive technologies. *Eur Heart J.* 2015 Jul 1;36(25):1583–9.
55. el Hajj N, Haaf T. Epigenetic disturbances in in vitro cultured gametes and embryos: implications for human assisted reproduction. *Fertil Steril.* 2008 Mar 13;99(3):632–41.
56. Middelburg KJ, Heineman MJ, Bos AF, Hadders-Algra M. Neuromotor, cognitive, language and behavioural outcome in children born following IVF or ICSI—a systematic review. *Hum Reprod Update.* 2008 May 1;14(3):219–31.
57. Yeung EH, Sundaram R, Bell EM, Druschel C, Kus C, Ghassabian A, et al. Examining Infertility Treatment and Early Childhood Development in the Upstate KIDS Study. *JAMA Pediatr.* 2016 Mar;170(3):251–8.
58. Mains L, Zimmerman MB, Blaine J, Stegmann B, Sparks A, Ansley T, et al. Achievement test performance in children conceived by IVF. *Human Reprod.* 2010. 25(10): 2605-2611.
59. Schendelaar P, Middelburg KJ, Bos AF, Heineman MJ, Kok JH, La Bastide-Van Gemert S, et al. The effect of preimplantation genetic screening on neurological, cognitive and behavioural development in 4-year-old children: Follow-up of a RCT. *Hum Reprod.* 2013;28(6):1508–18.
60. Rumbold AR, Moore VM, Whitrow MJ, Oswald TK, Moran LJ, Fernandez RC, et al. The impact of specific fertility treatments on cognitive development in childhood and adolescence: a systematic review. *Hum Reprod.* 2017 Jul 1;32(7):1489–507.
61. Knoester M, Helmerhorst FM, Vandenbroucke JP, van der Westerlaken LAJ, Walther FJ, Veen S. Cognitive development of singletons born after intracytoplasmic sperm injection compared with in vitro fertilization and natural conception. *Fertil Steril.* 2008 Mar 14;90(2):289–96.

62. Bay B, Mortensen EL. Fertility treatment and child intelligence , attention , and executive functions in 5-year-old singletons : a cohort study. *BJOG*. 2014;121:1642–52.
63. Leunens L, Celestin-Westreich S, Bonduelle M, Liebaers I, Ponjaert-Kristoffersen I. Cognitive and motor development of 8-year-old children born after ICSI compared to spontaneously conceived children. *Hum Reprod*. 2006 Nov 1;21(11):2922–9.
64. Wingate M, Kirby RS, Pettygrove S, Cunniff C, Schulz E, Ghosh T et al. Prevalence of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years - Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network , 11 Sites , United States , 2010. *MMWR Surveill Summ*. 2014;63(2):1–21.
65. Schieve LA, Drews C, Shericka B, Craig H, Daniels J, Diguseppi C, et al. Maternal and Paternal Infertility Disorders and Treatments and Autism Spectrum Disorder : Findings from the Study to Explore Early Development. *J Autism Dev Disord*. 2017;47(12):3994–4005.
66. Hvidtjørn D, Grove J, Schendel D, Schieve LA, Sværke C, Ernst E, et al. Risk of autism spectrum disorders in children born after assisted conception: a population-based follow-up study. *J Epidemiol Community Health*. 2011 Jun 1;65(6):497–502.
67. Lehti V, Brown AS, Gissler M, Rihko M, Suominen A, Sourander A. Autism spectrum disorders in IVF children: a national case–control study in Finland. *Hum Reprod*. 2013 Mar 1;28(3):812–8.
68. Lyall K, Baker A, Hertz-Picciotto I, Walker KC. Infertility and Its Treatments in Association with Autism Spectrum Disorders: A Review and Results from the CHARGE Study. *Int J Environ Res Public Health*. 2013. 10(8): 3715–34.
69. Grether JK, Qian Y, Croughan MS, Wu YW, Schembri M, Camarano L, et al. Is Infertility Associated with Childhood Autism ? *J Autism Dev Disord*. 2013;43(3):663–72.
70. liu L, Gao J, He X, Cai Y, Wang L, Fan X. Association between assisted reproductive technology and the risk of autism spectrum disorders in the

offspring: a meta-analysis. *Sci Rep.* 2017 Apr 7;7:46207.

71. Rimm A a, 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 Dec;21(12):437–43.
72. Hansen M, Bower C, Milne E, de Klerk N, J.Kurinczuk J. Assisted reproductive technologies and the risk of birth defects- a systematic review. *Hum Reprod.* 2005 Feb 1;20(2):328–38.
73. Fedder J, Loft A, Parner ET, Rasmussen S, Pinborg A. Neonatal outcome and congenital malformations in children born after ICSI with testicular or epididymal sperm: a controlled national cohort study. *Hum Reprod.* 2013 Jan 1;28(1):230–40.
74. Kermani RM, Nedaeifard L, Nateghi MR, Fazeli AS, Ahmadi E, Osia MA, et al. Congenital anomalies in infants conceived by assisted reproductive techniques. *Arch Iran Med.* 2012;15(4):228–31.
75. Heisey AS, Bell EM, Herdt-losavio ML, Druschel C. Surveillance of Congenital Malformations in Infants Conceived Through Assisted Reproductive Technology or Other Fertility Treatments. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2015;103(2):119–26.
76. Parazzini F, Cipriani S, Bulfoni G, Bulfoni C, Frigerio A, Somigliana E, et al. The risk of birth defects after assisted reproduction. *J Assist Reprod Genet.* 2015 Mar 13;32(3):379–85.
77. Mozafari Kermani R, Farhangniya M, Shahzadeh Fazeli SA, Bagheri P, Ashrafi M, Taqi Dizaj AV. Congenital Malformations in Singleton Infants Conceived by Assisted Reproductive Technologies and Singleton Infants by Natural Conception in Tehran, Iran. *Int J Fertil Steril.* 2018;11(4):304–8.
78. Seggers J, de Walle HEK, Bergman JEH, Groen H, Hadders-Algra M, Bos ME, et al. Congenital anomalies in offspring of subfertile couples: a registry-based study in the northern Netherlands. *Fertil Steril.* 2015 Apr;103(4):1001–1010.e3.

79. Seggers J, Haadsma ML, Bos AF, Heineman MJ, Keating P, Middelburg KJ, et al. Dysmorphic features in 2-year-old IVF/ICSI offspring. *Early Hum Dev.* 2012;88(10):823–9.
80. Qin J, Sheng X, Wang H, Liang D, Tan H, Xia J. Assisted reproductive technology and risk of congenital malformations: a meta-analysis based on cohort studies. *Arch Gynecol Obstet.* 2015;292(4):777–98.
81. Zwink N, Jenetzky E, Schmiedeke E, Schmidt D, Märzheuser S, Grasshoff-Derr S, et al. Assisted reproductive techniques and the risk of anorectal malformations: a German case-control study. *Orphanet J Rare Dis.* 2012; 7:65.
82. Jafarzadehpour E, Kermani RM, Mohhamadi AR, Nateghi MR, Fazeli AS, Kashi KM. Ocular Manifestations in Infants Resulted from Assisted Reproductive Technology (ART). *J Fam Reprod Heal.* 2013 Dec;7(4):181–6.
83. Tararbit K, Lelong N, Thieulin A-C, Houyel L, Bonnet D, Goffinet F, et al. The risk for four specific congenital heart defects associated with assisted reproductive techniques: a population-based evaluation. *Hum Reprod.* 2013 Feb 22;28(2):367–74.
84. Davies MJ, Moore VM, Willson KJ, Van Essen P, Priest K, Scott H et al. Reproductive Technologies and the Risk of Birth Defects. *N Engl J Med.* 2012;366(10):1803–13.
85. Farhangniya M, Dortaj Rabori E, Mozafari Kermani R, Haghdoost AA, Bahrapour A, Bagheri P, et al. Comparison of Congenital Abnormalities of Infants Conceived by Assisted Reproductive Techniques versus Infants with Natural Conception in Tehran. *Int J Fertil Steril.* 2013;7(3):217–24.
86. Ooki S. Birth defects after assisted reproductive technology according to the method of treatment in Japan: nationwide data between 2004 and 2012. *Environ Health Prev Med.* 2015 Nov; 20(6): 460-465
87. Kermani RM, Nedaeifard L, Nateghi MR, Fazeli AS, Osia MA, Jafarzadehpour E, et al. Congenital Anomalies in Infants Conceived by Assisted Reproductive Techniques. *Arch Iran Med.* 2012;15(4):228–31

88. Retzliff MG, Hornstein MD. Is intracytoplasmic sperm injection safe? *Fertil Steril*. 2003;80(4): 851-859.
89. Pelkonen S, Hartikainen A-L, Ritvanen A, Koivunen R, Martikainen H, Gissler M, et al. Major congenital anomalies in children born after frozen embryo transfer: a cohort study 1995–2006. *Hum Reprod*. 2014 Jul 1;29(7):1552–7.
90. Dickison P, Christou E, Wargon O. A Prospective Study of Infantile Hemangiomas with a Focus on Incidence and Risk Factors. *Pediatr Dermatol*. 2011;28(6):663–9.
91. Merks JHM, Heval MO, Rijn JMVDB, Cobben JM, Leeuwen FE Van, Hennekam RCM. Normal Values for Morphological Abnormalities in School Children. *Am J Med Genet Part A*. 2006;140(19):2091–109.
92. Bartolomei MS, Ferguson-Smith AC. Mammalian Genomic Imprinting. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2011 Jul;3(7):a002592.
93. Miyoshi N, Barton SC, Kaneda M, Hajkova P, Surani MA. The continuing quest to comprehend genomic imprinting. *Cytogenet Genome Res*. 2006;113(1–4):6–11.
94. Cox GF, Bürger J, Lip V, Mau UA, Sperling K, Wu B-L, et al. Intracytoplasmic Sperm Injection May Increase the Risk of Imprinting Defects. *Am J Hum Genet*. 2002 Jul 8;71(1):162–4.
95. 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 Jan 18;72(1):156–60.
96. Horsthemke B, Ludwig M. Assisted reproduction: the epigenetic perspective. *Hum Reprod Update*. 2005 Oct 1;11(5):473–82.
97. Hiura H, Okae H, Chiba H, Miyauchi N, Sato F, Sato A, et al. Imprinting methylation errors in ART. *Reprod Med Biol*. 2014 Jun 19;13(4):193–202.
98. Lidegaard Ø, Pinborg A, Andersen AN. Imprinting diseases and IVF: Danish National IVF cohort study. *Hum Reprod*. 2005 Apr 1;20(4):950–4.

99. Bowdin S, Allen C, Kirby G, Brueton L, Afnan M, Barratt C, et al. A survey of assisted reproductive technology births and imprinting disorders. *Hum Reprod.* 2007 Dec 1;22(12):3237–40.
100. Chen Z, Hagen DE, Elsik CG, Ji T, Morris CJ, Moon LE, et al. Characterization of global loss of imprinting in fetal overgrowth syndrome induced by assisted reproduction. *Proc Natl Acad Sci.* 2015;112(15):4618–23.
101. Chen Z, E. Hagen D, Ji T, G. Elsik C, M. Rivera R. Global misregulation of genes largely uncoupled to DNA methylome epimutations characterizes a congenital overgrowth syndrome. *Sci Rep.* 2017. 7(1):12667.
102. Whitelaw N, Bhattacharya S, Hoad G, Horgan GW, Hamilton M, Haggarty P. Epigenetic status in the offspring of spontaneous and assisted conception. *Hum Reprod.* 2014 Jul 1;29(7):1452–8.
103. Katagiri Y, Aoki C, Tamaki-Ishihara Y, Fukuda Y, Kitamura M, Matsue Y, et al. Effects of Assisted Reproduction Technology on Placental Imprinted Gene Expression. *Obstet Gynecol Int.* 2010;2010:437528.
104. Smith LC, Therrien J, Filion F, Bressan F, Meirelles F V. Epigenetic consequences of artificial reproductive technologies to the bovine imprinted genes SNRPN, H19/IGF2, and IGF2R. *Front Genet.* 2015;6:58.
105. 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 Jan 1;17(1):1–14.
106. Market-Velker BA, Zhang L, Magri LS, Bonvissuto AC, Mann MRW. Dual effects of superovulation: loss of maternal and paternal imprinted methylation in a dose-dependent manner. *Hum Mol Genet.* 2010;19(1):36–51.
107. Liang X-W, Cui X-S, Sun S-C, Jin Y-X, Heo YT, Namgoong S, et al. Superovulation induces defective methylation in line-1 retrotransposon elements in blastocyst. *Reprod Biol Endocrinol.* 2013;11:69.



108. El Hajj N, Haertle L, Dittrich M, Denk S, Lehnen H, Hahn T, et al. DNA methylation signatures in cord blood of ICSI children. *Hum Reprod.* 2017;32(8):1761–9.
109. Bonduelle M, Camus M, Vos A De, Staessen C, Tournaye H, Assche E Van, et al. Seven years of intracytoplasmic sperm injection and follow-up of 1987 subsequent children. *Hum Reprod.* 1999;14:243–64.
110. Aboulghar H, Aboulghar M, Mansour R, Serour G, Amin Y, Al-Inany H. A prospective controlled study of karyotyping for 430 consecutive babies conceived through intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* 2001;76(2):249–53.
111. Bonduelle M, Assche E Van, Joris H, Keymolen K, Steirteghem V, Liebaers I, et al. Prenatal testing in ICSI pregnancies: incidence of chromosomal anomalies in 1586 karyotypes and relation to sperm parameters. *Hum Reprod.* 2002;17(10):2600–14.
112. Gong M, Shi H, Zhang YG, Ming L. Prenatal screening at 11-13+6 weeks in assisted reproductive technology singleton pregnancies and those conceived naturally. *J Obstet Gynaecol Res.* 2015;41(10):1514–9.
113. Ghahiri A, Firozmand A, Ghasemi M, Nasiri F, Sharifi M, Abdollahi M. A comparative cohort study for detecting the incidence of trisomy 21 in ART and non-ART neonates. *Iran J Reprod Med.* 2014 Jun 19;12(6):435–8.
114. Hoorsan H, Mirmiran P, Chaichian S, Moradi Y, Hoorsan R, Jesmi F. Congenital Malformations in Infants of Mothers Undergoing Assisted Reproductive Technologies: A Systematic Review and Meta-analysis Study. *J Prev Med Public Heal.* 2017 Nov 5;50(6):347–60.
115. Matsubara K, Murakami N, Fukami M, Kagami M, Nagai T, Ogata T. Risk assessment of medically assisted reproduction and advanced maternal ages in the development of Prader-Willi syndrome due to UPD(15)mat. *Clin Genet.* 2016;89(5):614–9.
116. Bingol B, Abike F, Gedikbasi A, Tapisiz OL, Gunenc Z. Comparison of chromosomal abnormality rates in ICSI for non-male factor and spontaneous conception. *J Assist Reprod Genet.* 2012 Jan;29(1):25–30.

117. Park IY, Kwon JY, Kim YH, Kim M, Shin JC. Maternal Age-Specific Rates of Fetal Chromosomal Abnormalities at 16–20 Weeks' Gestation in Korean Pregnant Women  $\geq 35$  Years of Age. *Fetal Diagn Ther.* 2010;27(4):214–21.
118. Klip H, Burger CW, de Kraker J, van Leeuwen FE. Risk of cancer in the offspring of women who underwent ovarian stimulation for IVF. *Hum Reprod.* 2001 Nov 1;16(11):2451–8.
119. Raimondi S, Pedotti P, Taioli E. Meta-analysis of cancer incidence in children born after assisted reproductive technologies. *Br J Cancer.* 2005;93(9):1053–6.
120. Brinton LA, Krüger Kjær S, Thomsen BL, Sharif HF, Graubard BI, Olsen JH, et al. Childhood tumor risk after treatment with ovulation-stimulating drugs. *Fertil Steril.* 2004;81(4):1083–91.
121. Hargreave M, Jensen A, Toender A, Andersen KK, Kjaer SK. Fertility treatment and childhood cancer risk: a systematic meta-analysis. *Fertil Steril.* 2013;100(1):150–61.
122. Sundh KJ, Henningsen A-KA, Källén K, Bergh C, Romundstad LB, Gissler M, et al. Cancer in children and young adults born after assisted reproductive technology: a Nordic cohort study from the Committee of Nordic ART and Safety (CoNARTaS). *Hum Reprod.* 2014;29(9):2050–7.
123. Reigstad MM, Larsen IK, Myklebust TÅ, Røsbjerg TE, Oldereid NB, Brinton LA, et al. Risk of Cancer in Children Conceived by Assisted Reproductive Technology. *Pediatrics.* 2016 Mar 4;137(3):e20152061–e20152061.
124. Zhang J-H, Adikaram P, Pandey M, Genis A, Simonds WF. Optimization of genome editing through CRISPR-Cas9 engineering. *Bioengineered.* 2016 Jun 24;7(3):166–74.
125. Greenfield A, Braude P, Flinter F, Lovell-Badge R, Ogilvie C, Perry ACF. Assisted reproductive technologies to prevent human mitochondrial disease transmission. *Nat Biotechnol.* 2017 Nov 9;35:1059–68.
126. Dupont C, Sifer C. A Review of Outcome Data concerning Children Born

following Assisted Reproductive Technologies. ISRN Obstet Gynecol. 2012 Jun 17;2012:405382.

127. Carrascosa A, Fernández JM, Ferrández A, López-Siguero JP, López D, Sánchez E y GC. Estudios Españoles de Crecimiento 2010. Rev Esp Endocrinol Pediatr 2011; 2 (Suppl).
128. Fernández Álvarez E. El desarrollo psicomotor de 1.702 niños de 0 a 24 meses de edad. Tesis Doctoral. Universidad de Barcelona; 1988. Tabla de desarrollo psicomotor.
129. Estudio Haizea Llevant. Servicio central de publicaciones. Gobierno Vasco eds. Vitoria; 1991.
130. Vaughan V. Developmental Pediatrics: growth and development. Nelson Textbook of Pediatrics. 13rd Edition. Philadelphia, Saunders Editorial, 1987.
131. Robins DL, Fein D, Barton ML, Green JA. The Modified Checklist for Autism in Toddlers : An Initial Study Investigating the Early Detection of Autism and Pervasive Developmental Disorders. J Autism Dev Disord. 2001;31(2):131-44.
132. Ahlawat S, M. Fayad L, J. Durand D, Puttgen K, Tekes A. International Society for the Study of Vascular Anomalies (ISSVA) Classification of Soft Tissue Vascular Anomalies: Survey-based Assessment of Musculoskeletal Radiologists' Use in Clinical Practice. Curr Probl in Diagn Radiol. 2017 Oct 16.
133. Gurovich Y, Hanani Y, Bar O, Fleischer N, Gelbman D, Basel-Salmon L, et al. DeepGestalt - Identifying Rare Genetic Syndromes Using Deep Learning. 2017 Dec.
134. Kushnir VA, Barad DH, Albertini DF, Darmon SK, Gleicher N. Systematic review of worldwide trends in assisted reproductive technology 2004-2013. Reprod Biol Endocrinol. 2017 Jan 10;15:6.
135. Ogawa K, Urayama KY, Tanigaki S, Sago H, Sato S, Saito S, et al. Association between very advanced maternal age and adverse pregnancy

outcomes: a cross sectional Japanese study. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2017 Oct 10;17:349.

136. Platt M, Glinianaia S, Rankin J, Wright C, Renwick M. The North of England Multiple Pregnancy Register: Five-Year Results of Data Collection. *Twin Res Hum Genet*. 2007 Jan 1;9:913–8.
137. Glinianaia S V, Rankin J, Wright C. Congenital anomalies in twins: a register-based study. *Hum Reprod*. 2008 Jun 1;23(6):1306–11.
138. Patel RM. Short and Long-Term Outcomes for Extremely Preterm Infants. *Am J Perinatol*. 2016 Feb 22;33(3):318–28.
139. Sumanasena SP, Vipulaguna D V, Mendis MM, Gunawardena NS, Vipulaguna D V, Mendis MM, et al. Beyond survival: 5-year neurodevelopmental follow-up of a cohort of preterm infants in Colombo , Sri Lanka. *Paediatr Int Child Health*. 2017;18:1–9.
140. Rimm AA, Katayama AC, Katayama KP. A meta-analysis of the impact of IVF and ICSI on major malformations after adjusting for the effect of subfertility. *J Assist Reprod Genet*. 2011 Aug 31;28(8):699–705.
141. Zhu JL, Basso O, Obel C, Bille C, Olsen J. Infertility, infertility treatment, and congenital malformations: Danish national birth cohort. *BMJ Br Med J*. 2006 Sep 30;333(7570):679.
142. Ola B, Afnan M, Sharif K, Papaioannou S, Hammadih N, L.R.Barratt C. Should ICSI be the treatment of choice for all cases of in-vitro conception? Considerations of fertilization and embryo development, cost effectiveness and safety. *Hum Reprod*. 2001 Dec 1;16(12):2485–90.
143. van Rumste MM, Evers JL, Farquhar CM. Intra-cytoplasmic sperm injection versus conventional techniques for oocyte insemination during in vitro fertilisation in couples with non-male subfertility. *Cochrane Database Syst Rev*, 2003;(2):CD01301.
144. Boulet SL, Mehta A, Kissin DM, Warner L, Kawwass JF, Jamieson DJ. Trends in Use of and Reproductive Outcomes Associated With Intracytoplasmic Sperm Injection. *JAMA*. 2015 Jan 20;313(3):255–63.

145. Eftekhari M, Mohammadian F, Yousefnejad F, Molaei B, Aflatoonian A. Comparison of conventional IVF versus ICSI in non-male factor, normoresponder patients. *Iran J Reprod Med*. 2012 Mar 18;10(2):131–6.
146. Absalan F, Ghannadi A, Kazerooni M. Reproductive Outcome Following Thawed Embryo Transfer in Management of Ovarian Hyperstimulation Syndrome. *J Reprod Infertil*. 2013 May 4;14(3):133–7.
147. Maheshwari A, Pandey S, Shetty A, Hamilton M, Bhattacharya S. Obstetric and perinatal outcomes in singleton pregnancies resulting from the transfer of frozen thawed versus fresh embryos generated through in vitro fertilization treatment: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2012 Mar 14;98(2):368–377.e9.
148. Shi Y, Wei D, Liang X, Sun Y, Liu J, Cao Y, et al. Live birth after fresh embryo transfer vs elective embryo cryopreservation/frozen embryo transfer in women with polycystic ovary syndrome undergoing IVF (FreFro-PCOS): study protocol for a multicenter, prospective, randomized controlled clinical trial. *Trials*. 2014 May 2;15:154.
149. Dieamant FC, Petersen CG, Mauri AL, Comar V, Mattila M, Vagnini LD, et al. Fresh embryos versus freeze-all embryos - transfer strategies: Nuances of a meta-analysis. *JBRA Assist Reprod*. 2017 Apr 25;21(3):260–72.
150. Glujovsky D, Farquhar C, Am QR, Cr AS, Blake D, Glujovsky D, et al. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology. *Cochrane Data base Syst Rev* 2016;(6):CD002118
151. Pandian Z, Templeton A, Serour G, Bhattacharya S. Number of embryos for transfer after IVF and ICSI: a Cochrane review. *Hum Reprod* 2005;20(10):2681–7.
152. Sullivan EA, Wang YA, Hayward I, Chambers GM, Illingworth P, McBain J, et al. Single embryo transfer reduces the risk of perinatal mortality, a population study. *Hum Reprod*. 2012 Dec 1;27(12):3609–15.
153. Chen M, Heilbronn L. The health outcomes of human offspring conceived by assisted reproductive technologies (ART). *J Dev Orig Health Dis*. 2017 Apr 18;8(4):388–402.

154. Lara DL De, Gómez LA, Villar GV, Ortiz TA. Defectos del tubo neural : epidemiología y factores perinatales asociados en fetos y recién nacidos\* *Acta Pediatr Esp.* 2008;66(9):445–51.
155. Wolff T, Witkop CT, Miller T, Syed SBSB, U.S. Preventive Services Task Force. Folic acid supplementation for the prevention of neural tube defects: an update of the evidence for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med.* 2009;150(9):632–9.
156. Kancherla V, Sharif O, Hasan I, Hamid R, Paul L, Selhub J, et al. Prenatal folic acid use associated with decreased risk of myelomeningocele : A case-control study offers further support for folic acid fortification in Bangladesh. *PLoS One.* 2017;12(11):e0188726.
157. Thompson W, Russell G, Baragwanath G, Matthews J, Vaidya B, Thompson-Coon J. Maternal thyroid hormone insufficiency during pregnancy and risk of neurodevelopmental disorders in offspring: A systematic review and meta-analysis. *ClinEndocrinol (Oxf).* 2018;88(4):575-584.
158. Tobias DK, Chavarro JE, Williams MA, Buck Louis GM, Hu FB, Rich-Edwards J, et al. History of Infertility and Risk of Gestational Diabetes Mellitus: A Prospective Analysis of 40,773 Pregnancies. *Am J Epidemiol.* 2013 Oct 15;178(8):1219–25.
159. Jaques AM, Amor DJ, Baker HWG, Healy DL, Ukoumunne OC, Breheny S, et al. Adverse obstetric and perinatal outcomes in subfertile women conceiving without assisted reproductive technologies. *Fertil Steril.* 2010;94(7):2674–9.
160. Raatikainen K, Kuivasaari-Pirinen P, Hippeläinen M, Heinonen S. Comparison of the pregnancy outcomes of subfertile women after infertility treatment and in naturally conceived pregnancies. *Hum Reprod.* 2012 Apr 1;27(4):1162–9.
161. Kakkar S, Mendiratta V, Sharma N, Aneja S, Harjai B. Cutaneous Manifestations of Seizure Disorder in Children—A Study of 100 Seizure Patients. *Pediatric Dermatol.* 2007. 24(5):579-581.

162. Estrada-Padilla SA, Corona-Rivera JR, Sánchez-Zubietea F, Bobadilla-Morales L, Corona Rivera A. Minor phenotypic variants in patients with acute lymphoblastic leukaemia from west Mexico. *An Pediatr (Barc)* 2015. 82(2):75-82.
163. dos Santos ACE, Heck B, Camargo B De, Vargas FR. Prevalence of Café-au-Lait Spots in children with solid tumors. *Genet Mol Biol.* 2016 May 24;39(2):232–8.
164. Seggers J, Haadsma ML, Bos AF, Heineman MJ, Middelburg KJ, van den Heuvel ER, et al. Dysmorphic features and developmental outcome of 2-year-old children. *Dev Med Child Neurol.* 2014;56(11):1078–84.
165. Mainigi MA, Olalere D, Burd I, Sapienza C, Bartolomei M, Coutifaris C. Peri-Implantation Hormonal Milieu: Elucidating Mechanisms of Abnormal Placentation and Fetal Growth. *Biol Reprod.* 2014 Feb 18;90(2):26.
166. Rittenberg V, Sobaleva S, Ahmad A, Oteng-Ntim E, Bolton V, Khalaf Y, et al. Influence of BMI on risk of miscarriage after single blastocyst transfer. *Hum Reprod.* 2011 Oct 1;26(10):2642–50.
167. Rittenberg V, Seshadri S, Sunkara SK, Sobaleva S, Oteng-Ntim E, El-Toukhy T. Effect of body mass index on IVF treatment outcome: an updated systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online.* 2011;23(4):421–39.
168. Insogna IG, Lee MS, Reimers RM. Neutral effect of body mass index on implantation rate after frozen-thawed blastocyst transfer. *Fertil Steril.* 2017;108(5):770–776.e1.
169. Bishop LA, Richter KS, Patounakis G, Andriani L, Moon K, Devine K. Diminished ovarian reserve as measured by means of baseline follicle-stimulating hormone and antral follicle count is not associated with pregnancy loss in younger in vitro fertilization patients. *Fertil Steril.* 2017;108(6):980–987.
170. Maheshwari A, Raja EA, Bhattacharya S. Obstetric and perinatal outcomes after either fresh or thawed frozen embryo transfer: an analysis of 112,432 singleton pregnancies recorded in the Human Fertilisation and

Embryology Authority anonymized dataset. *Fertil Steril*. 2016;106:1703–8.

171. Ishihara O, Araki R, Kuwahara A, Itakura A, Saito H, Adamson GD. Impact of frozen-thawed single-blastocyst transfer on maternal and neonatal outcome: an transfer cycles from 2008 to 2010 in Japan. *Fertil Steril*. 2014;101(1):128–33.
172. Spijkers S, Willem J, Roel L, Cornelis S. Fresh and Frozen-Thawed Embryo Transfer Compared to Natural Conception: Differences in Perinatal Outcome. *Gynecol Obstet Invest*. 2017;82(6):538–546.
173. Zhang B, Wei D, Legro RS, Shi Y, Li J, Zhang L, et al. Obstetric complications after frozen versus fresh embryo transfer in women with polycystic ovary syndrome: results from a randomized trial. *Fertil Steril*. 2018; 109(2):324-329.
174. Galliano D, Garrido N, Serra-Serra V, Pellicer A. Difference in birth weight of consecutive sibling singletons is not found in oocyte donation when comparing fresh versus frozen embryo replacements. *Fertil Steril*. 2015;104(6):1411-8.
175. Vidal M, Vellvé K, González-Comadran M, Robles A, Prat M, Torné M, et al. Perinatal outcomes in children born after fresh or frozen embryo transfer: a Catalan cohort study based on 14,262 newborns. *Fertil Steril*. 2017;107(4):940-947.
176. Pinborg A, Henningsen AA, Loft A, Malchau SS, Forman J, Andersen AN. Large baby syndrome in singletons born after frozen embryo transfer ( FET ): is it due to maternal factors or the cryotechnique? *Hum Reprod*. 2014;29(3):618–27.
177. Maheshwari A, Pandey S, Raja EA, Shetty A, Hamilton M, Bhattacharya S. Is frozen embryo transfer better for mothers and babies? Can cumulative meta-analysis provide a definitive answer? *Hum Reprod Update*. 2018;24(1):35–58.



# **CAPÍTULO 8: ANEXOS**



## CAPÍTULO 8 ANEXOS

### 8.1. ANEXO 1. CONSENTIMIENTO INFORMADO

**TÍTULO DEL PROYECTO:** EVALUACIÓN DE SALUD Y DESARROLLO DE NIÑOS HASTA LOS TRES AÑOS DE EDAD CONCEBIDOS POR TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA

**INVESTIGADORES:** María José Sánchez Soler, Encarnación Guillén Navarro y Virginia Pérez Fernández. Sección de Genética Médica. Servicio de Pediatría. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca (HCUVA). IMIB-Arrixaca. Universidad de Murcia. Colaboración con Unidad de Reproducción asistida HCUVA y clínicas concertadas. Teléfono de contacto: 644028720.

Este documento de consentimiento informado describe el presente estudio y le ayudará a decidir si desea o no participar en esta investigación. Además, le proporciona información relevante acerca de los requerimientos y preguntas a los cuales estará sujeto durante el estudio y sus derechos como participante. Por otro lado, le permite conocer los riesgos y beneficios que pueden surgir si participa en este proyecto. La firma del documento, indicaría que usted está de acuerdo en participar en el estudio. En caso de tener cualquier duda acerca de este formulario o desearse obtener más información sobre el estudio o cualquier otra cuestión, debe contactar con el equipo de investigación.

No se comprometa a participar en este estudio a menos que el equipo de investigación haya respondido a todas sus preguntas. Usted tiene el derecho de decidir si quiere o no ser parte del presente estudio.

#### **¿CUÁL ES LA FINALIDAD DE ESTE ESTUDIO?**

Las técnicas de reproducción asistida son una herramienta útil para tratar la infertilidad, y cada vez son más las parejas que recurren a ellas. La finalidad de este estudio es conocer el estado de salud de los niños concebidos mediante estas técnicas durante los dos primeros años de vida, así como evaluar su desarrollo psicomotor y ponderal.

Invitamos a participar en este estudio, a madres tratadas en la Unidad de Reproducción Asistida del HCUVA entre mayo de 2012 y de 2014 y a sus hijos. Nos gustaría obtener datos sobre la terapia reproductiva recibida, antecedentes familiares y personales de enfermedad, evolución de la gestación, parto y periodo neonatal de su hijo, así como conocer el estado de salud y desarrollo de éste durante los primeros dos años de edad. Por otro lado, también invitamos a las madres de niños concebidos de forma natural y a sus hijos que nacieron en el mismo periodo que los casos, con el objetivo de recoger los mismos datos y realizar una evaluación de salud similar. La participación en este estudio científico no debe remplazar ningún examen físico específico o de rutina ni tampoco visitas a su médico de cabecera.

### **¿CÓMO SE DESARROLLARÁ ESTE ESTUDIO?**

En caso de que desee participar en el estudio se recogerán datos relacionados con la técnica de reproducción asistida utilizada (FIV/ICSI/TEC), fármacos recibidos, número de embriones transferidos, día de transferencia, etc., así como de la evolución de la gestación y periodo neonatal. Además, se evaluará clínicamente a su hijo a los 12-20 meses y 26-40 meses de edad y se le ofrecerá realizar un extracción sanguínea para estudio analítico general, que incluya: hemograma, VSG, glucemia, urea/creatinina, Ca/P, Na, K, Cl, transaminasas, triglicéridos, colesterol, hormonas tiroideas, transaminasas, amilasas, ac. Úrico, CK, y previo consentimiento específico (ver anexo adjunto), extracción de ADN para su reserva en Biobanco (Biobanc-Mur), por si precisa estudio genético posterior. Tras la revisión se les enviará un informe al domicilio.

Es posible que se requiera la toma de fotografías para tener un registro gráfico morfológico y para su publicación en revistas científicas y/o médicas, si procede.

Autorizo la obtención de una muestra de sangre mediante venopunción en mi hijo/a para la realización de analítica general especificada en el estudio:

- SI
- NO

Autorizo la extracción adicional de ADN para reserva en Biobanco del excedente de la muestra (adjuntar consentimiento específico firmado):

- SI
- NO

Autorizo la realización de fotografías para el estudio:

- SI
- NO

Autorizo la publicación de las fotografías en revistas de científicas y/o médicas:

- SI
- NO

Tengo el derecho de negar la autorización para publicar mis fotografías en cualquier momento. Para esto, deberá contactar con el médico a cargo del estudio.

#### **¿CUÁNTAS PERSONAS PARTICIPARÁN DE ESTE ESTUDIO?**

Se estima una participación de 250-270 mujeres tratadas en HCUVA en las que se consigue gestación (diagnóstico ecográfico a la 6<sup>a</sup>/8<sup>a</sup> semana), en la primera parte del estudio; y un total de 350-380 niños (incluyendo casos y controles), en la segunda parte del mismo.

#### **¿CUÁL ES LA DURACIÓN DE LAS VISITAS?**

El estudio no requiere de mucho tiempo (45-60 minutos), solo el necesario para informarle acerca de él, firmar el consentimiento informado, evaluar clínicamente al niño en dos ocasiones y tomar una muestra sanguínea si lo consiente, así como realizar las pruebas consideradas oportunas si se detecta alguna patología.

#### **¿CUÁLES SON LOS RIESGOS DE ESTE ESTUDIO?**

No existe ningún riesgo grave al participar en este estudio científico. La recogida de la muestra de sangre es un procedimiento muy sencillo que consiste en pinchar una vena periférica, habitualmente del brazo y extraer de 6-10 ml de sangre. Pueden existir excepcionalmente problemas de sangrado o infección en la zona de venopunción. El personal asistirá cualquier eventualidad si es necesario.

### **¿CUÁLES SON LOS BENEFICIOS DE ESTE ESTUDIO?**

Con este estudio puede no obtener un beneficio directo inmediato. A medio plazo, la participación de su hijo en este estudio implica una evaluación periódica de su desarrollo y estado de salud. De esta forma, en el momento en el que se detecte algún problema de salud, será atendido y recibirá un adecuado asesoramiento médico. Además, a largo plazo, el mejor conocimiento de la historia natural de estos niños, permitirá mejorar el asesoramiento de las parejas que vayan a recibir terapias de reproducción asistida.

### **¿CUÁL ES EL COSTE DE ESTE ESTUDIO?**

Usted no deberá pagar ningún coste por participar en este estudio. Tampoco recibirá ninguna remuneración por su participación. La participación en este estudio es voluntaria y gratuita.

### **¿CÓMO SE PROTEGERÁ LA CONFIDENCIALIDAD DE MIS DATOS?**

Todos los datos relativos a este estudio serán tratados con carácter confidencial y tendrá derecho al acceso a la información recogida en la base de datos, derecho de rectificación de la misma, cancelación y oposición, de acuerdo a lo establecido en la Ley Orgánica 15/1999 del 13 de diciembre de Protección de Datos de Carácter Personal y su desarrollo en el Real Decreto 1720/2007 de 21 de Diciembre.

Sólo el equipo investigador tendrá acceso a sus datos personales y clínicos. Sus datos clínicos sólo serán divulgados de manera anónima, y aparecerán codificados en la base de datos. Al firmar este documento informativo, usted otorga su consentimiento para que sus datos personales sean procesados de la manera expuesta.

### **¿ES ESTE ESTUDIO VOLUNTARIO?**

La participación en este estudio de investigación es completamente voluntaria. Usted puede optar por participar o no de este estudio. Aún cuando usted decida participar en este estudio, en cualquier momento puede dejar de

participar si así lo desea. Si usted decide no participar en este estudio, o si usted deja de participar en cualquier momento, usted no será penalizado ni perderá ningún beneficio para participar en otro estudio.

### **¿QUÉ PASA SI DECIDO RENUNCIAR AL ESTUDIO?**

Usted puede renunciar al estudio comunicando al equipo de estudio que ya no está interesado en participar. Alternativamente, usted podrá enviar una carta de renuncia a la participación de este estudio.

### **¿RECIBIRÉ INFORMACION DURANTE LA PARTICIPACION DE ESTE ESTUDIO?**

Se le proporcionará cualquier nueva información de este estudio que pueda afectar a su deseo de continuar participando en él.

### **¿PUEDE ALGUIEN MÁS TERMINAR MI PARTICIPACIÓN EN ESTE ESTUDIO?**

El investigador puede retirarle del estudio sin su previo consentimiento, en caso que pueda ser más beneficioso para usted y su hijo o finalice el estudio.

### **¿QUÉ PASA SI TENGO MÁS PREGUNTAS?**

Sugerimos que efectúe más preguntas. Si usted tiene alguna pregunta sobre el estudio científico en sí, por favor contacte con el equipo investigador en los teléfonos indicados. Este formulario de consentimiento no es un contrato. Se trata de un conjunto de explicaciones por escrito de lo que sucederá durante el estudio si usted decide participar. Aceptando participar en este estudio usted no está renunciando a ningún derecho legal.

Su firma indica: que se la ha explicado a usted los requerimientos y procedimientos de este estudio, que sus inquietudes y preguntas han sido contestadas, y que se compromete a participar en este estudio.

Usted recibirá una copia firmada de este formulario.

Firma de la participante:

Fecha:

---

Nombre de la participante:

\_\_\_\_\_

Hijo/Hija:

\_\_\_\_\_

Declaración de la persona que obtuvo el consentimiento.

La información contenida en este documento ha sido explicada y discutida con el participante o, en su caso, con el representante legal autorizado del participante. El participante ha indicado que entiende los riesgos, beneficios y procedimientos relacionados con la participación en este estudio de investigación.

\_\_\_\_\_  
(Firma de la persona que obtuvo el consentimiento)

(Fecha)

\_\_\_\_\_  
(Nombre de la persona que obtuvo el consentimiento)

## 8.2. ANEXO 2. RECOGIDA DE DATOS SOBRE FERTILIDAD Y TRA

Nº de identificación \_\_\_\_\_

NHC del niño \_\_\_\_\_

Teléfono \_\_\_\_\_

FERTILIDAD Y TRA

Antecedentes familiares (AF) de infertilidad/esterilidad:  
SI/NO \_\_\_\_\_

AF de enfermedades crónicas: SI/NO \_\_\_\_\_

AF de MC mayor en familiar 1<sup>a</sup> grado  
SI/NO \_\_\_\_\_

AF o AP de enfermedad genética en familiar de 1<sup>o</sup> grado:  
SI/NO \_\_\_\_\_

- Tipo de enfermedad
- Estudio molecular

Paridad: SI/NO \_\_\_\_\_

Abortos previos: n° \_\_\_\_\_ EG \_\_\_\_\_ causa \_\_\_\_\_



Examen diagnóstico \_\_\_\_\_

EM (años): ≤ 30 \_\_\_\_\_ 31-34 \_\_\_\_\_ 35-40 \_\_\_\_\_

IMC materno: <25 \_\_\_\_\_ 25- 29 \_\_\_\_\_ 30-39 \_\_\_\_\_ >40 \_\_\_\_\_

○ FSH basal \_\_\_\_\_ Estradiol basal \_\_\_\_\_

Edad paterna \_\_\_\_\_

○ Morfología estricta seminal (4, 5-14 y >14) según criterio de Kruger

Tipo de infertilidad: masculina, Fememnina/ tubárica, Mixta, EOD

Años de esterilidad y tipo (primaria o secundaria) \_\_\_\_\_

Consanguinidad: SI/NO \_\_\_\_\_

Tipo de TRA y fecha de inicio del ciclo de tratamiento:

- FIV \_\_\_\_\_ ICSI \_\_\_\_\_

- TEC tras FIV o ICSI \_\_\_\_\_

Tipo de gonadotrofina empleada en ciclo de EO:

- FSH recombinante

- FSH ultrapurificada

- FSH-LH: recombinante

- hMG

- Combinación de varias

Protocolo de estimulación: largo con agonista, corto con agonistas o con antagonistas.

Nº de ovocitos: recuperados, maduros, microinyectados o fecundados

Nº de embriones evolutivos, transferidos o congelados

Día de transferencia \_\_\_\_\_ Toma de AFPC: SI/NO (tiempo) \_\_\_\_\_

Diagnóstico prenatal: SI triple screening, BVC o AA; NO \_\_\_\_\_

Normal \_\_\_\_\_ Anormal \_\_\_\_\_

ADJUNTAR ARBOL GENEALÓGICO SI PRECISA

### 8.3. ANEXO3. RECOGIDA DE DATOS SOBRE GESTACIÓN, PARTO Y PERIODO NEONATAL

Nº de identificación \_\_\_\_\_

NHC del niño \_\_\_\_\_

Teléfono \_\_\_\_\_

#### GESTACIÓN

Tipo de gestación: Única, gemelar, (M-M, M-BI, BI-BI) o Triple

Reducción embrionaria: SI/NO \_\_\_\_\_

Muerte fetal intraútero (después de 20 SG)  
SI/NO \_\_\_\_\_

Causa: cromosomopatía, patología materna, alteraciones ecográficas (MC mayor), desconocida \_\_\_\_\_

Patología gestacional: SI/NO

- Fiebre Infecciones HTA Preclampsia HELLP
- RPM amenaza de parto prematuro (APP), diabetes gestacional
- Otras \_\_\_\_\_

Hábitos tóxicos: Madre: SI/NO Padre: SI/NO

Cantidad y frecuencia (veces/semana)

- Alcohol
- Café, té, cola
- Tabaco
- Drogas ilegales

Retirada del consumo de tóxicos:

- Durante la búsqueda del embarazo (meses) \_\_\_\_\_
- Al diagnóstico (SG) \_\_\_\_\_
- Posteriormente (SG) \_\_\_\_\_

Fármacos durante el embarazo SI/NO, (dosis y frecuencia): \_\_\_\_\_

Exposición a factores físicos SI/NO (frecuencia) \_\_\_\_\_

Anomalías ecográficas: SI/NO \_\_\_\_\_

Maduración pulmonar SI/NO \_\_\_\_\_

PARTO Y PERIODO NEONATAL

Sexo (M/F) \_\_\_\_\_ SG \_\_\_\_\_ Tipo de parto: \_\_\_\_\_

Peso al nacimiento (p) \_\_\_\_\_ Longitud (p) \_\_\_\_\_ PC (p) \_\_\_\_\_ Apgar \_\_\_\_\_

PEG SI/NO \_\_\_\_\_

GEG SI/NO \_\_\_\_\_

MC SI/NO: especificar \_\_\_\_\_

Patología médica neonatal SI/NO: especificar \_\_\_\_\_

Patología                      quirúrgica                      neonatal                      SI/NO:  
especificar \_\_\_\_\_

Cribado metabólico \_\_\_\_\_ OEA \_\_\_\_\_ PEATC \_\_\_\_\_

Ingreso en Neonatología SI/NO \_\_\_\_\_

Ingreso en UCIN SI/NO \_\_\_\_\_

Enfermedad crónica \_\_\_\_\_

Tratamiento \_\_\_\_\_

Muerte en periodo neonatal SI/NO \_\_\_\_\_

ABORTO

SG:

Malformación detectada en ecografías SI/NO \_\_\_\_\_

AA/BVC SI/NO \_\_\_\_\_

Causa: cromosomopatía, patología materna, infección, causa desconocida,  
etc.

8.4. ANEXO 4. RECOGIDA DE DATOS DE SEGUIMIENTO

Nº de identificación \_\_\_\_\_

NHC del niño \_\_\_\_\_

Teléfono \_\_\_\_\_

VISITA: (1ª/2ª) \_\_\_\_\_ Fecha \_\_\_\_\_

Somatometría: Peso, talla, IMC, PC (percentiles y DE)

Otros datos de interés \_\_\_\_\_

Patología médica e ingresos \_\_\_\_\_ Tratamientos \_\_\_\_\_

Mortalidad en periodo postnatal \_\_\_\_\_

Exploración física:

- Cráneo y cara (orejas, ojos, nariz, boca), cuello y cabello
- Tórax y abdomen
- Genitourinario:
- Locomotor:
- Piel

Exploración neurológica y valoración del desarrollo psicomotor por áreas:

- Postural/ motora
- Manipulativa/ adaptativa
- Lenguaje/ Lógica-matemática
- Social

Utilización de escalas de *Haizea-Llevant (1991)* y *V.C Vaughan modificado*

Desarrollo psicomotor alterado SI/NO \_\_\_\_\_

Valoración de signos compatibles con TEA o rasgos TEA  
SI/NO \_\_\_\_\_

Utilización de escala *M-CHAT* y evaluación por Neuropediatría

ANALÍTICA DE SANGRE SI/NO. RESULTADOS

RESERVA DE ADN SI/NO.

FOTOGRAFÍAS SI/NO

## 8.5. ANEXO 5. CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA DEPÓSITO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS DE MENORES EN EL BIOBANCO (BIOBANC-MUR)



**BIOBANC-MUR**  
Biobanco en Red de la Región de Murcia



### DOCUMENTO DE INFORMACIÓN AL DONANTE (v.3)

#### UTILIZACIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y MATERIAL BIOLÓGICO EXCEDENTE DEL PROCESO ASISTENCIAL PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y SU CONSERVACIÓN EN UN BIOBANCO.

En el **Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca**, igual que en la mayoría de hospitales, además de la asistencia a los pacientes, se realiza investigación biomédica. La finalidad de esta investigación es progresar en el conocimiento de las enfermedades y en su prevención, diagnóstico, pronóstico y tratamiento. Esta investigación biomédica requiere recoger datos clínicos y muestras biológicas de pacientes y donantes sanos para analizarlos y obtener conclusiones con el objetivo de conocer mejor las enfermedades y avanzar su diagnóstico y/o tratamiento.

Las muestras y datos clínicos obtenidos para el diagnóstico o control de las enfermedades, una vez utilizadas con esta finalidad, resultan también útiles y necesarias para la investigación. De hecho, muchos de los avances científicos obtenidos en los últimos años en medicina son fruto de este tipo de estudios

**Solicitamos su autorización para incorporar al *Biobanc-Mur Nodo Área I* del hospital el material biológico sobrante de las pruebas que, como parte del actual proceso asistencial, se le han realizado o se le van a realizar en este centro, con el fin de que puedan ser utilizadas en investigación biomédica.**

Siguiendo lo establecido por la Ley 14/2007, de Investigación Biomédica, la Ley Orgánica 15/1999, de Protección de Datos Personales, y sus normas de desarrollo, le solicitamos que lea detenidamente este documento de información y el consentimiento informado que se le adjunta al final para su firma, si está de acuerdo en participar en esta propuesta

#### ¿Qué es un biobanco?: Institución para favorecer la investigación y la salud.

Un biobanco es una institución, regulada por leyes específicas, que facilita la investigación biomédica, es decir, aquella dirigida a promover la salud de las personas.

Las muestras incluidas en un biobanco pueden ser cedidas para investigación en Medicina, siempre bajo la supervisión de un comité científico y otro de ética. Las muestras se cederán generalmente sin información personal asociada, aunque a veces podrá ser necesario el acceso a la historia clínica o al resultado de otras pruebas para completar la investigación.

La investigación biomédica es, hoy en día, un fenómeno global por lo que ocasionalmente estas muestras podrán ser cedidas a grupos de investigación fuera de España, siempre que se cumplan los requisitos de la legislación española y lo aprueben los correspondientes comités.

**Muestras biológicas e información asociada:** *En ningún caso se le practicarán más pruebas de las imprescindibles para su adecuada atención médica.*

Se guardará y dispondrá del material biológico sobrante que se le extraiga durante el proceso asistencial (muestras de sangre, líquidos biológicos y/o tejidos), sin que este hecho le cause molestias adicionales. La donación de muestras excedentes de este proceso asistencial no impedirá que usted o su familia puedan usarlas, cuando sea necesario por motivos de salud, siempre que estén disponibles. Las muestras y la información asociada a las mismas se custodiarán y/o guardarán en el Biobanco **Biobanc-Mur Nodo Área I** del **Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca** hasta su extinción. Este Biobanco forma parte como nodo de la Red Temática de Investigación Cooperativa (RETIC) de Biobancos del Instituto de Salud Carlos III con la referencia **RD09/0076/00065**, y está en proceso de Registro con el desarrollo de la normativa regional de Biobancos que aplica la normativa nacional.

Este biobanco acoge colecciones organizadas de muestras biológicas e información asociada en las condiciones y garantías de calidad y seguridad que exige la legislación anteriormente referida y los códigos de conducta aprobados por los Comités de Ética. Dichas muestras y su información asociada quedan disponibles para aquellos investigadores que lo soliciten al biobanco.



**Biobanc-Mur. Biobanco en Red de la Región de Murcia**  
Red Nacional de Biobancos - ISCIII. Versión julio 2012



**BIOBANC-MUR**  
Biobanco en Red de la Región de Murcia



Cualquier estudio de investigación para el que se solicite la utilización de estos datos o muestras deberá disponer siempre de la aprobación del Comité de Ética de la Investigación (CEI) competente, que velará para que los investigadores desarrollen sus estudios siguiendo siempre las más estrictas normas éticas y legales. Además, el comité científico del biobanco garantizará que los proyectos sean de excelencia científica.

A partir de las muestras donadas, en los casos en que la investigación lo requiera, se realizarán estudios genéticos, y a partir de ellos se puede obtener información acerca de su salud y la de sus familiares. Siempre se actuará velando por la protección de esta información (ver apartado de protección de datos y confidencialidad).

Por este consentimiento, los responsables del Biobanco del Hospital podrán consultar su historial clínico, solamente en el caso de que ello sea imprescindible para la realización del proyecto para el que se soliciten las muestras y previa autorización por parte del Comité de Ética correspondiente.

En caso de ser necesaria alguna muestra adicional, la institución sanitaria se podría poner en contacto con usted para solicitarle nuevamente su colaboración. En este caso se le informará de los motivos y se le solicitará de nuevo su consentimiento.

**Protección de datos y confidencialidad:** *Las muestras se conservarán codificadas.*

Los datos personales que se recojan serán obtenidos, tratados y almacenados cumpliendo en todo momento el deber de secreto, de acuerdo con la legislación vigente en materia de protección de datos de carácter personal.

La identificación de las muestras biológicas del Biobanco será sometida a un proceso de codificación. A cada muestra se le asigna un código de identificación, que será el utilizado por los investigadores. Únicamente el personal autorizado por el biobanco podrá relacionar su identidad con los citados códigos. Mediante este proceso los investigadores que soliciten muestras al biobanco no podrán conocer ningún dato que revele su identidad. Asimismo, aunque los resultados obtenidos de la investigación realizada con sus muestras se publiquen en revistas científicas, su identidad no será facilitada. En aquellos estudios en los que no se prevean resultados potencialmente útiles para su salud, y de acuerdo con el correspondiente Comité de Ética, las muestras y datos podrán ser anonimizados, es decir, no habrá ninguna posibilidad de volver a asociar la muestra con su identidad.

Sus muestras y los datos clínicos asociados a las mismas, pasarán a formar parte del fichero del Biobanco, inscrito en la Agencia de Protección de datos.

*Responsable del fichero : Fundación para la Formación e Investigación Sanitarias de la Región de Murcia.  
Dirección Postal: Calle Luis Fontes Pagan, 9-1, 30003 Murcia*

Usted podrá ejercer sus derechos de acceso, rectificación, cancelación y objeción, así como obtener información sobre el uso de sus muestras y datos asociados, dirigiéndose a:

Fundación para la Formación e Investigación Sanitarias de la Región de Murcia  
Responsable del nodo Calle Luis Fontes Pagan, 9-1, 30003 Murcia  
Tel.: 968359757 E-mail: juanp.serna@carm.es

**Carácter altruista de la donación.** *La cesión de muestras biológicas que usted realiza al Biobanco del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca es gratuita.*

La donación tiene por disposición legal carácter altruista, por lo que usted no obtendrá ni ahora ni en el futuro ningún beneficio económico por la misma, ni tendrá derechos sobre posibles beneficios comerciales de los descubrimientos que puedan conseguirse como resultado de la investigación biomédica. Sin embargo, los conocimientos obtenidos gracias a los estudios llevados a cabo a partir de su muestra y de muchas otras pueden ayudar al avance médico y, por ello, a otras personas.



**Biobanc-Mur. Biobanco en Red de la Región de Murcia**  
Red Nacional de Biobancos – ISCIII. Versión julio 2012



**BIOBANC-MUR**  
Biobanco en Red de la Región de Murcia



**Participación voluntaria. Su negativa NO repercutirá en su asistencia médica, presente o futura**

Su participación es totalmente voluntaria. Si firma el consentimiento informado, confirmará que desea participar. Puede negarse a participar o retirar su consentimiento en cualquier momento posterior a la firma sin tener que explicar los motivos y esto no repercutirá negativamente en su asistencia médica, presente o futura.

**Revocación del consentimiento: si usted decide firmar este consentimiento, podrá también cancelarlo libremente.**

Si en un futuro usted quisiera anular su consentimiento, sus muestras biológicas serían destruidas y los datos asociados a las mismas serían retirados del biobanco. También podría solicitar la anonimización de las muestras, en cuyo caso se eliminaría la relación entre sus datos personales (que revelan su identidad) y sus muestras biológicas y datos clínicos asociados. Los efectos de esta cancelación o anonimización no se podrían extender a la investigación que ya se hubiera llevado a cabo.

Si deseara anular su consentimiento, deberá solicitarlo por escrito al Director del Biobanco, en la dirección anteriormente indicada.

**Información sobre los resultados de la investigación: se le proporcionará información si usted desea recibirla**

En el caso de que usted lo solicite expresamente, el Biobanco podrá proporcionarle información acerca de cuáles son las investigaciones en que se han utilizado sus muestras y de los resultados globales de dichas investigaciones, salvo en el caso de cancelación o anonimización.

Los métodos utilizados en investigación Biomédica suelen ser diferentes de los aprobados para la práctica clínica, por lo que no deben de ser considerados con valor clínico para usted. Sin embargo, en el caso que estas investigaciones proporcionen datos que pudieran ser clínica o genéticamente relevantes para usted e interesar a su salud o a la de su familia, le serán comunicados si así lo estima oportuno. Asimismo, podría darse el caso de obtenerse información relevante para su familia, le corresponderá a usted decidir si quiere o no comunicárselo. Si Ud. quiere que se le comunique dicha información relevante debe consignarlo en la casilla que aparece al final de este documento.

Si usted no desea recibir esta información, tenga en cuenta que la ley establece que, cuando la información obtenida sea necesaria para evitar un grave perjuicio para la salud de sus familiares biológicos, un Comité de expertos estudiará el caso y deberá decidir si es conveniente informar a los afectados o a sus representantes legales.

**Por favor, pregunte al personal sanitario que le ha comunicado esta información sobre cualquier duda que pueda tener, ahora o en el futuro, en relación con este consentimiento. Asimismo, puede comentar sus dudas con su médico, quien le pondrá en contacto con el personal sanitario autorizado.**

*Le agradecemos su desinteresada colaboración con el avance de la ciencia y la medicina. De esta forma está usted colaborando a vencer las enfermedades y ayudar a multitud de enfermos actuales y futuros.*



**Biobanc-Mur. Biobanco en Red de la Región de Murcia**  
Red Nacional de Biobancos – ISCIII. Versión julio 2012



**CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA MENORES**

**UTILIZACIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y MATERIAL BIOLÓGICO EXCEDENTE DEL PROCESO ASISTENCIAL PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y SU CONSERVACIÓN EN UN BIOBANCO.**

Nombre y Apellidos (donante).....  Etiqueta Identificativa Paciente  Edad:      Sexo:      DNI:.....	Persona del centro que informa .....  DNI:.....
--	--

Nombre y apellidos del tutor legal que firma.....      DNI.....  
Relación con el donante:.....

**Si ha comprendido la información que se le ha proporcionado, ha resuelto cualquier duda que pudiese tener y decide colaborar con *Biobanc-Mur Nodo Área I* en los términos antes explicados, por favor, lea y firme a continuación esta hoja**

El abajo firmante autoriza al *Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca* a que el material biológico sobrante de las pruebas que se le han realizado o se le van a realizar como parte del actual proceso asistencial sean incorporadas en el *Biobanco Biobanc-Mur Nodo Área I*, y que sea cedido desde el mismo con la finalidad de llevar a cabo proyectos de investigación biomédica, siempre que éstos cuenten con la obligada aprobación del Comité de Ética de Investigación competente. Esta autorización la concede tras haber sido informado verbalmente y haber leído la información adjunta.

El abajo firmante confirma que:

- Se me ha informado que, llegada la mayoría de edad de mi representado, este tendrá derecho a revocar o modificar este consentimiento, para lo cual deberá estar debidamente informado. En caso de que no ejerza dicho derecho, se considerará que el actual documento de consentimiento informado sigue vigente.  
 SI       NO
- Desea que se le comunique la información derivada de la investigación que realmente sea relevante y aplicable para su salud o la de su familia       SI       NO      Teléfono o E-mail de contacto.....
- Autoriza a ser contactado en el caso de necesitar más información o muestras biológicas adicionales  
 SI       NO      Teléfono o E-mail de contacto: .....
- He expresado mi deseo de que se respeten las siguientes excepciones respecto al objetivo y métodos de las investigaciones:  
.....  
.....
- Me autoriza a firmar en su nombre.

TUTOR	ASENTIMIENTO DEL MENOR CAPACITADO	PERSONA QUE INFORMA
Firma	Firma	Firma







**BIOBANC-MUR**  
**Biobanco en Red de la Región de Murcia**



En.....a.....de.....de.....

**REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO**

**UTILIZACIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y MATERIAL BIOLÓGICO EXCEDENTE DEL PROCESO ASISTENCIAL PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y SU CONSERVACIÓN EN UN BIOBANCO.**

**POR EL DONANTE:**

Yo, D./Dña. .... con DNI ..... anulo el consentimiento  
 prestado en fecha.....de.....de 20..... y no deseo proseguir la donación voluntaria al biobanco *Biobanc-  
 Mur Nodo Área I*, que doy por finalizada al día de hoy.

- SOLICITO ELIMINACIÓN SOLO DE LA MUESTRA.  
 SOLICITO ELIMINACIÓN SOLO DE MIS DATOS PERSONALES.

La muestra quedará anonimizada irreversiblemente y podrá ser utilizada en proyectos de investigación.

- SOLICITO ELIMINACIÓN TOTAL DE MIS DATOS Y MUESTRAS.

Fdo.:

En.....a.....de.....de 20.....

**POR EL TUTOR/REPRESENTANTE LEGAL DEL DONANTE:**

Yo, D./Dña. .... con DNI ....., Como representante legal de  
 D./Dña..... con DNI....., anulo el consentimiento prestado en  
 fecha.....de.....de 20.....y no deseo proseguir la donación voluntaria al biobanco *Biobanc-Mur Nodo Área I*,  
 que doy por finalizada al día de hoy.

- SOLICITO ELIMINACIÓN SOLO DE LA MUESTRA.  
 SOLICITO ELIMINACIÓN SOLO LOS DATOS PERSONALES.

La muestra quedará anonimizada irreversiblemente y podrá ser utilizada en proyectos de investigación.

- SOLICITO ELIMINACIÓN TOTAL DE MIS DATOS Y MUESTRAS.

Fdo.:

En.....a.....de.....de 20.....



*Biobanc-Mur. Biobanco en Red de la Región de Murcia*  
 Red Nacional de Biobancos - ISCIII. Versión julio 2012

## 8.6 ANEXO 6. COMUNICACIONES EN CONGRESOS, PREMIOS Y MENCIONES

### 8.6.1 Comunicaciones en congresos

1. **Estudio de casos y controles anidados en una cohorte de gestaciones clínicas conseguidas mediante TRA: evaluación de salud de 439 niños al año y tres años de edad.** Nombre del congreso: IX Congreso ASEBIR 15-17 noviembre- Madrid 2017. Autores: MJ. Sánchez Soler, V. López González, MJ. Ballesta Martínez, M. Nicolás Arnao, J. Sánchez, M. Pérez Izquierdo, L. Sarabia Cos, E. Gómez Sánchez, V. Pérez Fernández, E. Guillén Navarro.

2. **Seguimiento de una cohorte de 243 gestaciones clínicas conseguidas mediante técnicas de reproducción asistida: evaluación de salud de los RN hasta los 3 años de edad y análisis de posibles factores asociados.** Nombre de la Jornada: II Jornadas científicas del IMIB-Arrixaca. 27/11/2017. Región de Murcia. Autores: MJ. Sánchez Soler, V. López-González; MJ. Ballesta-Martínez; AT. Serrano-Antón. Gálvez Pradillo; J. Álvarez-Castillo; V. Pérez Fernández; E. Guillén-Navarro

3. **Estudio prospectivo controlado de una cohorte de gestaciones clínicas conseguidas gracias a TRA: descripción de anomalías vasculares, cutáneas e hipercrecimiento en 212 niños.** Nombre del congreso: 65 congreso de la AEP. Santiago de Compostela, Galicia, España. Fecha de celebración: 01/06/2017- 03/06/2017. Autores: MJ. Sánchez-Soler; AT. Serrano-Antón; V. López-González; MJ. Ballesta-Martínez; V. Pérez-Fernández; E. Guillén-Navarro.

4. **Fenotipo facial similar en una cohorte de 232 niños concebidos gracias a técnicas de reproducción asistida asociado a malformaciones congénitas mayores.** Nombre del congreso: I Congreso Interdisciplinar en Genética Humana. Comunidad de Madrid, España. 25/04/2017- 28/04/2017. Entidad organizadora: ASGH-AEDP-SEAGen-SGCD- ATSEFFGC. Autores: MJ Sánchez Soler; J. Gálvez Pradillo; V. López González; MJ. Ballesta Hernández; AT. Serrano Antón; M. Nicolás Arnao; J. Sánchez; M. Pérez Izquierdo; L. Sarabia Cos; R. Gil Ferrer; V. Pérez Fernández; E. Guillén Navarro.

5. **Estudio prospectivo de una cohorte de 232 niños concebidos gracias a TRA: descripción de anomalías vasculares, hipercrecimiento y posibles factores asociados.** Nombre del congreso: 28 Reunión del Grupo Español de Dermatología. Granada, España. 27-28/01/2017. Entidad organizadora: Academia Española de Dermatología y Venereología. Autores: MJ. Sánchez-Soler; J. Gálvez-Plradillo; V. López-González; MJ. Ballesta-Martínez; R. Gil-Ferrer, M. Nicolás Arnao; J. Sánchez; M. Pérez-Izquierdo; L. Sarabia-Cos; T. Martínez-Menchón, T; V. Pérez-Fernández; E. Guillén-Navarro.

6. **Anomalías Vasculares complejas e hipercrecimiento. Importancia de la Genética.** Ponencia en la VIII Reunión anual de la sociedad española de anomalías vasculares. Murcia, España. Fecha: 07/10/2016

Entidad organizadora: Sociedad española de anomalías vasculares.

Autora: María José Sánchez Soler

7. **Posibles riesgos de las TRA en el RN. Anomalías congénitas y desarrollo de los niños nacidos por TRA.** Sesión del I Máster en Reproducción Humana de la Universidad de Murcia, España. Fecha: 30/05/2016. Entidad organizadora: Universidad de Murcia y URA-HCUVA. Autora: María José Sánchez Soler

8. **Estudio de cohorte prospectivo: seguimiento de 243 gestaciones clínicas conseguidas mediante técnicas de reproducción asistida y evaluación al año de edad de los recién nacidos vivos.** Nombre del congreso: Congreso Nacional de la Asociación Española de Pediatría. Comunidad Valenciana, España. Fecha: 02/06/2016-04/06/2016. Entidad organizadora: Asociación Española de Pediatría. Autores: MJ. Sánchez Soler; J. Gálvez Pradillo; V. López González; MJ. Ballesta Martínez; R. Gil Ferrer; E. Guillén Navarro.

9. **Estudio caso control anidado a una cohorte de gestaciones clínicas conseguidas gracias a técnicas de reproducción asistida: evaluación de salud de 152 niños a los 12-20 meses de edad.** Nombre del congreso: XLIII Reunión de la Sociedad de Pediatría del Sureste de España (SPSE). Región de Murcia. Fecha: 22-23/04/2016. Entidad organizadora:

Sociedad de Pediatría del Sureste de España. Autores: MJ. Sánchez Soler; J. Gálvez Pradillo; V. López González; MJ. Ballesta Martínez; E. Guillén Navarro.

10. **Frecuencia de malformaciones congénitas y abortos en una cohorte de gestaciones clínicas conseguidas mediante TRA y posibles factores asociados.** Nombre del congreso: XXVIII Congreso Nacional de Genética Humana-AEGH. Palma de Mallorca. Entidad Organizadora: AEGH. Fecha: 13-15 de mayo 2015. Autores: MJ. Sánchez Soler; J. Gálvez Pradillo; V. Pérez Fernández; S. García Miñaur; MC. Martínez Romero; V. López González; MJ. Ballesta Martínez; E. Daghoum Dorado; R. Gil Ferrer; L. Rodríguez; J. Álvarez Castillo; A. Nieto Díaz; M. Sánchez Solís; E. Guillén Navarro.

11. **Major congenital malformations and neonatal complications in a cohort of Spanish children born after assisted reproductive techniques and associated factors.** Nombre del congreso: European Human Genetics Conference 2015. Entidad organizadora: European Society of Human Genetics. Glasgow, Scotland, UK, June 6-9, 2015. Authors: MJ. Sánchez Soler; J. Gálvez Pradillo; V. López González; MJ. Ballesta Martínez; L. Rodríguez; S. García Miñaur; J. Álvarez Castillo; A. Nieto Díaz; E. Guillén Navarro.

12. **Niños concebidos gracias a TRA ¿Conocemos su estado de salud?** Nombre del congreso: XLII Reunión Científica de la SPSE. Universidad de Lorca. Entidad organizadora: Sociedad de Pediatría del Sureste de España. Región de Murcia. Fecha: 24-25/04/2015. Autores: MJ. Sánchez Soler; J. Gálvez Pradillo; E. Daghoum Dorado; V. López González; MJ. Ballesta Martínez; E. Guillén Navarro

13. **Presentación de resultados de Investigación en las 3 Jornadas de Investigación y Doctorado. Universidad Católica de Murcia (UCAM).** Junio de 2015, 2016 y 2017.

14. **Presentación de resultados de estudio de cohorte prospectivo controlado de niños concebidos por TRA en las Clínicas de Reproducción Asistida:** Instituto Bernabeu, Alicante y en Clínica IVI, Murcia. Fechas: 11 de enero 2018 y 16 de febrero 2018.

### 8.6.2 Premios y menciones

- **Premio al mejor póster**

**Fenotipo facial similar en una cohorte de 232 niños concebidos gracias a técnicas de reproducción asistida asociado a malformaciones congénitas mayores.** Nombre del congreso: I Congreso Interdisciplinar en Genética Humana. Entidad concesionaria: ASGH-AEDP-SEAGen-SGCD- ATSEFFGC. Ciudad entidad concesionaria: Madrid.

Fecha de concesión: 28/04/2017.

- **Premio Mención Especial Mejores Comunicaciones**

**Estudio de cohorte prospectivo: seguimiento de 243 gestaciones clínicas conseguidas mediante técnicas de reproducción asistida y evaluación al año de edad de los recién nacidos vivos.** Entidad concesionaria: Asociación Española de Pediatría. Ciudad entidad concesionaria: Comunidad Valenciana

Fecha de concesión: 02/06/2016

- **Premio a la mejor comunicación**

**Niños concebidos gracias a TRA ¿Conocemos su estado de salud?**

Entidad concesionaria: Sociedad de Pediatría del Sureste de España. Ciudad entidad concesionaria: Murcia.

Fecha de concesión: 25/04/2015.





