



**Universidad de Oviedo**

Máster Universitario en Biología y Tecnología de la Reproducción

***“TRANSFERENCIA SELECTIVA DE  
EMBRIÓN ÚNICO EN CICLOS DE  
FECUNDACIÓN IN VITRO.”***

Autor trabajo fin de Máster:

**SARA ATIENZA DE NAVA**

Fecha: JUNIO 2013

D. IGNACIO HERRERO BARREIRO, corresponsable de laboratorios de la Unidad de Reproducción Humana Asistida del Hospital Nuestra Señora de Fátima, de Vigo

CERTIFICA:

Que el trabajo fin de Máster presentado por Dña. Sara Atienza de Nava, titulado "*Transferencia selectiva de embrión único en ciclos de fecundación in vitro. Datos estadísticos*", realizado bajo la dirección de D. Ignacio Herrero Barreiro, dentro del Máster Universitario en Biología y Tecnología de la Reproducción por la Universidad de Oviedo, reúne a su juicio las condiciones necesarias para ser admitido como Trabajo Fin de Máster en la Universidad de Oviedo.

V<sup>a</sup>B<sup>o</sup>



Fdo. Ignacio Herrero  
Tutor del proyecto

**“TRANSFERENCIA SELECTIVA DE  
EMBRIÓN ÚNICO EN CICLOS DE  
FECUNDACIÓN IN VITRO.”**

# ÍNDICE

---

---

“TRANSFERENCIA SELECTIVA DE EMBRIÓN ÚNICO EN CICLOS DE FECUNDACIÓN IN VITRO.” .....	1
ÍNDICE.....	2
AGRADECIMIENTOS .....	5
ABREVIATURAS .....	7
INTRODUCCIÓN.....	9
ESTERILIDAD Y FERTILIDAD. ....	10
<i>Epidemiología</i> .....	10
TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA.....	11
<i>Breve historia de las técnicas de reproducción asistida</i> .....	11
<i>Técnicas de fecundación in vitro</i> .....	12
EMBARAZO MÚLTIPLE.....	13
<i>Epidemiología embarazo múltiple en TRA</i> .....	14
TRANSFERENCIA DE EMBRIÓN/EMBRIONES .....	16
<i>Estudios comparativos</i> .....	17
TRANSFERENCIA DE EMBRIÓN ÚNICO .....	18
<i>Selección del embrión</i> .....	19
Clasificación morfológica .....	19
<i>Decisión número embriones transferidos</i> .....	20
Clínica .....	20
Pareja.....	22
COSTES .....	23
LEGISLACIÓN .....	25
PACIENTES Y MÉTODOS .....	29
PACIENTES .....	30
ESTIMULACIÓN OVÁRICA Y RECUPERACIÓN OVOCITARIA. ....	31
CULTIVO DE EMBRIONES Y TRANSFERENCIA. ....	32
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	33
RESULTADOS.....	35

REPRESENTACIONES GRÁFICAS. ....	39
DISCUSIÓN .....	42
CONCLUSIONES.....	47
BIBLIOGRAFÍA .....	49

# AGRADECIMIENTOS

---

La realización del presente proyecto no habría sido posible sin la colaboración de varias personas:

A Ignacio Herrero, por darme la oportunidad de incorporarme a su equipo durante el periodo de prácticas. Y por compartir conmigo los datos obtenidos en su Unidad de Reproducción.

A Dr. Abel Gayo, por ofrecerse a ser el tutor de este trabajo y por apoyarme y guiarme en todo momento, dedicando más tiempo del que tenía disponible.

A todas las personas que he conocido a lo largo del Máster y las prácticas, especialmente a María, Fani y Cope, por hacerme pasar buenos momentos que compartiremos siempre.

A María Fernández, por ayudarme en todo momento, pero sobre todo por *las risas* compartidas.

Y más que a nadie, a mis padres (Agustín y Susi), a mis abuelos (Ester y Peje) y a Esteban, por guiarme en lo importante que hay en la vida, aunque sé que aún me queda mucho por aprender de ellos.



# ABREVIATURAS

---

ANZARD: *Australian and New Zealand Assisted Reproduction Database.*

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

ASRM: *American Society of Reproduction Medicine.*

BOE: Boletín Oficial del Estado.

CARTR: *Canadian Assisted Reproductive Technologies Register.*

CET: Transferencia de cuatro embriones.

DET: Transferencia de dos embriones.

ESHRE: *European Society of Human Reproduction and Embryology.*

FIV: Fecundación *in vitro*.

HGC: Gonadotropina Coriónica Humana.

ICSI: Microinyección intracitoplasmática de espermatozoide.

NHS: *National Health Service.*

OMS: Organización Mundial de la Salud.

RAE: Real Academia Española.

REM: Recuperación espermatozoides móviles.

SEF: Sociedad Española de Fertilidad.

SET: Transferencia de embrión único.

TET: Transferencia de tres embriones.

TRA: Técnicas de Reproducción Asistida.

# INTRODUCCIÓN

---

---

## ***ESTERILIDAD Y FERTILIDAD.***

En la terminología española hasta hace pocos años se diferenciaba entre esterilidad y infertilidad. Siendo la esterilidad la dificultad para conseguir el embarazo y la infertilidad la dificultad para conseguir que el embarazo se lleve a término. Actualmente el Diccionario de la Real Academia de la Lengua (RAE) los considera términos sinónimos (1), y los define como “la incapacidad del macho para fecundar y la incapacidad de la hembra para concebir” (2).

En general, las sociedades científicas como la Sociedad Española de Fertilidad (SEF), la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (ESHRE) y la Sociedad Americana de Medicina de la Reproducción (ASRM) definen la esterilidad/infertilidad como la ausencia de consecución del embarazo tras 12 meses de relaciones sexuales sin método anticonceptivo (3). Sin embargo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) considera que el periodo sin consecución del embarazo para considerar esterilidad es de 24 meses (4).

Se suele distinguir entre esterilidad absoluta y subfertilidad. La esterilidad absoluta o infertilidad corresponde a las parejas que tienen un impedimento total para la consecución del embarazo. La subfertilidad o esterilidad relativa se usa para parejas en las que hay un impedimento parcial en su fecundidad, y este problema determina que su fecundidad sea baja, pero no nula (5).

La fertilidad se puede definir en sentido reproductivo como la “capacidad de tener hijos”. Es bien conocido que se encuentra estrechamente relacionada con la edad. En España la media de edad para una mujer en la que comienza la búsqueda de un embarazo es 32 años. A esa edad la fertilidad se reduce un 26% en relación a las mujeres entre 20-24 años (2).

### ***Epidemiología***

En parejas sanas, sin problemas reproductivos, la tasa de embarazo en el primer mes sin uso de métodos anticonceptivos es de 33%, siendo la media mensual durante el primer año del 20%. Durante el primer año, la tasa de embarazo espontáneo es del 92,1% y en el segundo año del 97,7% (2).

Teniendo en cuenta que la evolución de la vida reproductiva en una mujer no varía de forma lineal (6). Es muy difícil saber la capacidad reproductiva del ser humano, ya que esta evoluciona en función de diversos patrones sociales, como son: el cambio de papel en la

sociedad de la mujer, la postergación del matrimonio y del primer embarazo, el aumento del uso de anticonceptivos y de técnicas abortivas o la situación económica y medioambiental (7-8). Aunque el principal problema al que actualmente se enfrenta la técnica es la edad materna (2, 5, 9).

En el mundo se estima que hay 70 millones de parejas con problemas de fertilidad. Se estima que aproximadamente un 47% de las parejas son subfértiles (5). En España en la actualidad aproximadamente el 15% de las parejas en edad reproductiva tienen algún problema de esterilidad (9).

Y los datos epidemiológicos confirman un incremento de los problemas de fertilidad en la pareja, fundamentalmente por el retraso en la maternidad. Sin embargo, parece lógico que disponer de nuevos métodos terapéuticos unidos a una mejor consideración social, harán que aumente el número de consultas (9).

Los problemas de fertilidad en un 30% son de causa femenina, el 30% son de causa masculina, el 25% son de causa mixta y el 15% de causa desconocida (9).

## ***TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA***

### ***Breve historia de las técnicas de reproducción asistida***

Louise Brown fue la primera niña nacida tras la fertilización in vitro de un óvulo obtenido en el ciclo propio (10-11). Nació el 25 de Julio de 1978 en Oldham, Reino Unido. Los científicos que contribuyeron a este avance Patrick Stephore y Robert Edwards, recibieron el premio Nobel de Fisiología o Medicina en el año 2010 (12).

Este primer avance en reproducción asistida tenía una tasa de éxito muy baja, ya que en el ciclo menstrual natural de una mujer, normalmente, se obtiene un solo óvulo maduro. Dado que era una técnica innovadora, la capacidad de recuperación de los ovocitos era baja, y esto limitaba la disponibilidad de embriones a la hora de la transferencia, por lo que las tasas de cancelación del ciclo por no disponer de embriones eran muy altas (13).

A principios de los años 80 las tasas de embarazo aumentaron con el inicio de la estimulación ovárica controlada para el desarrollo de múltiples ovocitos y la posterior selección de 1 o más embriones (12, 14).

Los avances en esta técnica han ido mucho más allá gracias a las mejoras, no sólo en los protocolos de estimulación, sino también en los medios de cultivo, en las técnicas de

congelación/vitrificación, en los análisis morfológicos de selección y en todos los factores que puedan ser relevantes para la reproducción asistida.

### *Técnicas de fecundación in vitro*

Las técnicas de fecundación *in vitro* (FIV) nacieron como tratamiento de la infertilidad asociada a patologías tubáricas bilaterales, aunque actualmente tiene muchas más indicaciones, como la esterilidad por factor masculino, fallos en la inseminación artificial, disfunción ovárica (15).

La FIV, en general, consiste en poner en contacto el gameto masculino (espermatozoide) y el gameto femenino (ovocito) para lograr la fecundación y el desarrollo embrionario inicial fuera del organismo de la mujer (15).

Existen 2 modalidades fundamentales para producir la fecundación:

- Fecundación *in vitro* convencional (FIV).
- Microinyección intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI).

En las dos variantes se requiere de un número de ovocitos elevado. Para obtenerlos se necesita un tratamiento hormonal adecuado para estimular el desarrollo de los folículos. Este crecimiento se sigue mediante ecografía hasta que se constate la presencia de folículos ovulatorios maduros, en ese momento se desencadena la ovulación (2). Actualmente la tendencia seguida son protocolos de estimulación moderados con gonadotropinas que permiten ovocitos de mejor calidad y mejores tasas de implantación (16).

En ambas modalidades los embriones una vez fecundados pueden ser transferidos directamente en fresco o tras una vitrificación/congelación (2, 15). Según estudios actuales la vitrificación parece que no tienen efectos negativos sobre los neonatos. Incluso recientes publicaciones defienden mejores tasas de implantación y embarazo tras la vitrificación embrionaria y la posterior transferencia después de al menos un ciclo natural de la paciente. Estos resultados son explicados debido fundamentalmente a la mejor preparación embrionaria y sincronía embrión-endometrio (17-20).

La elección en el número de embriones transferidos se basa principalmente en la edad de la paciente, el número de ovocitos recuperados, y la clasificación y morfología embrionaria en el día de la transferencia. Estas directrices se crearon para ayudar a mantenerlas altas tasas de éxito de los centros de FIV, y reducir a la vez el número de embarazos múltiples (21).

## **EMBARAZO MÚLTIPLE**

Los nacimientos múltiples están asociados a mayores riesgos tanto para el feto como para la madre.

Más del 50% de los gemelos y el 90% de los trillizos nacen prematuramente (menos de 37 semanas de gestación) y con bajo peso al nacer (menos de 2500g) con las consecuencias que esto conlleva (21-23). El nacimiento prematuro es una causa de graves problemas de salud en neonatos, incluyendo dificultad respiratoria, dificultad para regular la temperatura del cuerpo o infecciones crónicas. En el 85% de los casos de discapacidad a largo plazo y el 75% las muertes en recién nacidos se producen en niños prematuros (24-25). También pueden ocurrir malformaciones, dificultad de desarrollo congénito, hospitalización prolongada (21, 26) y cirugías en los niños asociadas a la falta de maduración de órganos, como el implante coclear en el aparato auditivo (27), insuficiencias adrenal (28) o las cirugías neurológicas (29).

El riesgo de los niños (tanto partos múltiples como simples) nacidos después de una TRA de tener anomalías es mayor que el de los niños concebidos espontáneamente. Aunque estas anormalidades no dependen de la técnica usada (30-31) parece que tienen más que ver con el problema de infertilidad paterna que con las TRA (32). Esta infertilidad hace que aumente la prevalencia de los defectos epigenéticos en los gametos, que son heredados por su descendencia, incluyendo modificaciones del DNA como problemas en la metilación o en la impronta genómica. Más concretamente la mayoría de las pruebas sugieren una relación entre las TRA y una hipometilación del alelo materno. Es poco probable que las TRA causen defectos en la impronta genómica del alelo paterno, ya que se ha observado que la estructura del núcleo espermático es un punto crítico para el establecimiento de patrones epigenéticos paternos durante la gametogénesis y esta estructura provee un ambiente protector de la información epigenética paterna. Mientras que para el alelo materno la reprogramación epigenética no se completa hasta la ovulación, por lo que la impronta materna podría ser mucho más vulnerable a la estimulación ovárica (33-35).

Además los embarazos múltiples aumentan las tasas de mortalidad y morbilidad maternas, debido a desórdenes hipertensos, un elevado riesgo de preeclampsia, hipertensión, rotura prematura de la placenta. A parte de las cesáreas y las hemorragias postparto, que hacen que sea un grupo que requiera más hospitalización (36).

Los costes económicos de los embarazos y partos múltiples suponen un gran gasto para el estado, puesto que suponen muchas complicaciones fetales (37).

Históricamente la transferencia de grandes números de embriones se debía a las pobres tasas de embarazo después de los tratamientos FIV, pero los recientes avances en este campo han hecho, no solo que se disminuya en número de embriones transferidos manteniendo las tasas de embarazo, sino que también se puedan utilizar protocolos de estimulación más suaves (24, 38).

Algunos países escandinavos dadas sus altas tasas de partos múltiples, han desarrollado extensos planes, legislaciones y recomendaciones tanto para las clínicas de reproducción como para los pacientes, para la práctica de protocolos más conservativos (24).

Las estrategias más productivas a la hora de disminuir el número de embarazos múltiples son las que limitan en número de embriones transferidos (21). Pero la transferencia de un único embrión puede que no sea lo más conveniente para todas las mujeres sometidas a FIV ya que los resultados son sensibles a la utilización de distintos protocolos de laboratorio.

Es difícil limitar con una legislación firme el número de embriones a transferir, ya que se trata de mujeres con distintos pronósticos y características muy distintas. Basándose en estudios retrospectivos es complicado sacar conclusiones definitivas, ya que se tratan de grupos muy heterogéneos de estudio, en cuanto a la meteorología, variables de pronóstico o protocolos FIV (21).

### ***Epidemiología embarazo múltiple en TRA***

En Europa en 2008 se hicieron más de 300.000 tratamientos entre FIV convencional e ICSI, lo que representa un aumento en la actividad respecto al año 2007 del 7,9%. La tasa de embarazo conjunta de FIV+ICSI con la transferencia de 1, 2, 3 ó 4 embriones transferidos es respectivamente: 22,4, 53,2, 22,3 y 2,1%. La tasa de embarazo de feto único, gemelos y triples de la combinación FIV+ICSI es respectivamente 78,3, 20,7 y 1,0% (**Tabla 1.**) (39).

La tasa total de embarazo múltiple en Europa en 2008 fue 21,1%. Esto representa una disminución respecto al año 2007 que fue de 22,3%. Esta leve disminución se debe fundamentalmente al cambio de mentalidad y a estandarizar la transferencia de menos embriones (39).

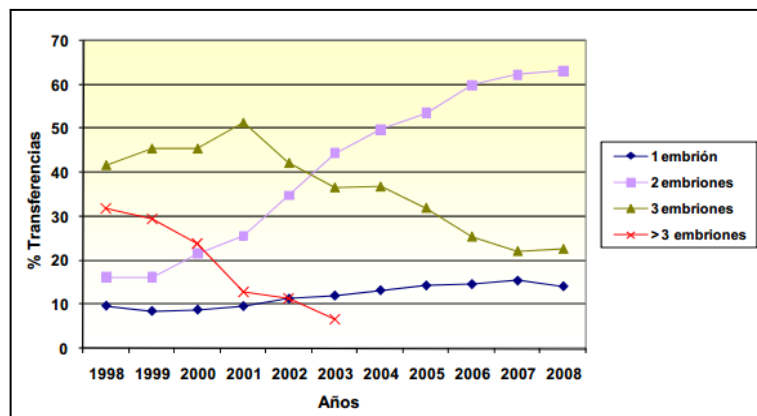


Nº embriones transferidos	1 embrión	2 embriones	3 embriones	4 embriones	Tasa de embarazo único	Tasa de embarazo gemelar	Tasa de embarazo triple
Tasa de embarazo (Europa)	22,4	53,2	22,3	2,1	78,3	20,7	1,0
Tasa de embarazo (España)	14,2	63,2	22,6	X	75,3	23,8%	0,9%

**Tabla 1.** Datos de porcentajes de tasas de embarazo usando la técnica FIV/ICSI.

En España es difícil saber el número de ciclos iniciados durante las últimas décadas, ya que no existe una base de datos nacional obligatoria, si no que la SEF lleva un registro no obligatorio donde participan de forma voluntaria entre 30-35% de los centros (40). El número de ciclos se estima a partir de la evolución del mercado de gonadotropinas y el gasto de material fungible de laboratorio, a partir de estos datos se estima que en 2003 ha habido 27000-30000 ciclos (FIV-ICSI) en España (39).

En España en el 2008 ha habido un total de 38.248 ciclos totales, de los cuales 26.246 ciclos fueron de FIV-ICSI lo que representa un (68,6%). La transferencia de un único embrión se realiza en el 14,2% de los ciclos FIV/ICSI, 2 embriones en 63,2% y 3 embriones 22,6%



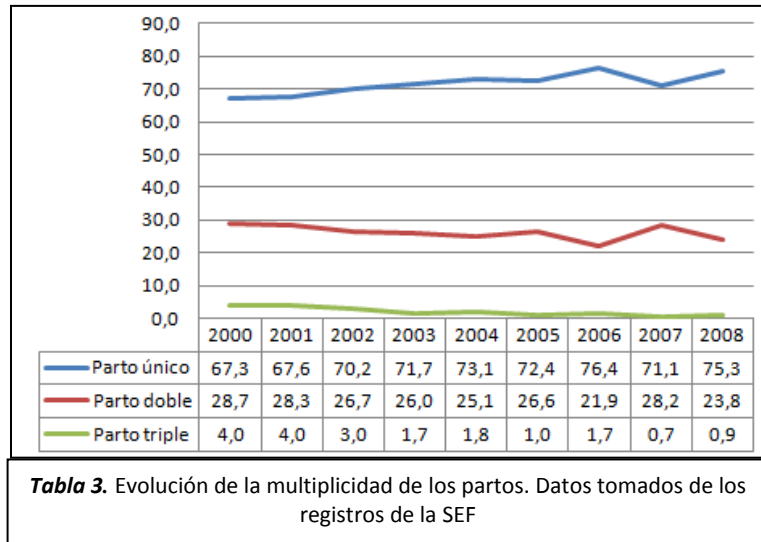
**Tabla 2.** Evolución de la política de transferencia de embriones en España. Tomada de los registros de la SEF

(Tabla 1.) (40). Actualmente la legislación española no permite la transferencia de más de 3 embriones (Tabla 2.) (39, 41).

La media de embriones transferidos fue 2,1 embriones/ciclo. Estos datos han ido disminuyendo progresivamente con el tiempo. En el año 2002 la media fue de 2,5 embriones/ciclo, en el año 2003 y 2004 fue 2,4 embriones/ciclo, en el año 2005 fue 2,2 embriones/ciclo y en los años 2006 y 2007 fueron 2,1 embriones/ciclo (40).

Las tasas de embarazo de feto único en España en el 2008 estaban en torno al 75,3% y la tasa de embarazo múltiple (embarazo doble + triple) fueron de 24,7% (Tabla 3.) (40, 42).

El factor más importante en las tasas de embarazos múltiples es el número de embriones transferidos. En 1993 en Suecia se propuso la reducción voluntaria del número de embriones transferidos, de 3 a 2, eliminando la tasa de embarazos triples, mientras



**Tabla 3.** Evolución de la multiplicidad de los partos. Datos tomados de los registros de la SEF

que la tasa de embarazos dobles se mantuvo (43). Algo semejante ha ocurrido en España a partir de la ley del 2003 de Reproducción Asistida (40-41).

## ***TRANSFERENCIA DE EMBRIÓN/EMBRIONES***

Los centros de reproducción han ido disminuyendo gradualmente el número de embriones en cada transferencia. Hay que tener en cuenta que aunque los especialistas en fertilidad puedan resolver problemas de infertilidad, también es necesario valorar los problemas que surgen durante la gestación y en el parto, sobre todo en embarazos múltiples que hacen que haya un aumento de los costes médicos y sociales.

Actualmente existen 3 políticas de transferencia distintas avaladas por resultados en distintas clínicas.

La primera muestra que el número de embriones transferido y la incidencia del embarazo no están proporcionalmente relacionadas. De esta forma mujeres que han optado por una transferencia de dos embriones (DET, por sus siglas en inglés) tienen una tasa de embarazo similar a las mujeres sometidas a varios ciclos de transferencia de embrión único (SET, por sus siglas en inglés), la primera con embriones frescos y las siguientes con embriones congelados/descongelados. En este contexto hay una drástica disminución de los embarazos múltiples (24, 44-46).

Una segunda política muestra que las tasas de embarazo después de un primer ciclo de SET son significativamente menores que DET (47-48), siendo los 2 grupos equilibrados en variables generalmente predictivas del embarazo, como son la edad de la mujer o el número de ovocitos recuperados (13, 49-50).

Una tercera corriente, hoy casi en desuso, compara, mediante ensayos clínicos aleatorios, grupos equilibrados SET y DET, dando resultados tasas de embarazo similares pero una disminución significativa de los embarazos múltiples en el grupo SET (44).

### *Estudios comparativos*

Un primer estudio en 1994 comparó DET con CET (transferencia de 4 embriones) en pacientes menores de 35 años con buen pronóstico, las tasas de nacimientos fueron (28,6% vs. 53,6%) y las tasas de embarazo múltiple (10,7% vs. 21,4%) (21).

Siguiendo la misma filosofía, posteriormente se hizo otro estudio comparando DET con TET (transferencia de 3 embriones), donde se vio que las tasas de embarazo no variaban significativamente (30.1% vs. 24.5%). Los embarazos se dividieron en múltiples de bajo orden, con unas tasas respectivas de (15.0% vs. 41.4%) y los embarazos de orden múltiple (de 4 fetos en adelante), cuyas tasas en el caso de DET disminuyeron sustancialmente (21).

En Europa, analizando los estudios en distintos países se concluyó que al transferir un único embrión en día 3 las tasas de embarazo no se veían comprometidas entre la transferencia de 2 a 1 embrión, pero la incidencia de embarazos múltiples disminuía a la mitad (36, 45). Este estudio se basaba en distintos datos obtenidos en países europeos.

En Finlandia se compararon mujeres de edad entre 36-39 años con transferencia de embrión único tanto en fresco como congelado y se compararon con mujeres de la misma edad a las que se transfirió DET. Se vio parecidas tasas de embarazo (33,1-29,9%) pero hay una reducción drástica en el número de embarazos múltiples (1,7-16,6%) (51).

En Bélgica, siguiendo el estudio se observó una disminución de la tasa de embarazo múltiple comparando la transferencia de dos embriones con la transferencia de embrión único, con unos resultados de 29,5 a 16,2% respectivamente (52).

En Suecia se hizo un ensayo multicéntrico con mujeres <36años que tuvieran al menos 2 embriones de buena calidad, se vio unas tasas comparativas de embarazo (42,9-38,8%) y una reducción de la tasa de embarazo múltiple (31,1-0,8%) comparando mujeres de ciclo en fresco (DET) con mujeres con transferencia de 1 embrión en fresco y un embrión congelado-descongelado si el primer ciclo fallaba (tasa de embarazo acumulada) (43, 53). Actualmente en Suecia se escoge SET >50% de los casos y la tasa de embarazo múltiple es tan solo del 5,7% (50).

En Australia y Nueva Zelanda se introdujo la política de transferencia única y se ha visto que la mortalidad perinatal ha disminuido un 53% entre SET y DET. Esta diferencia fue más

marcada sobre todo después de transferencias de embriones en fresco. Los nacidos después de la transferencia de 2 embriones en fresco en un mismo ciclo tenían un 74% más de riesgo de mortalidad que los nacidos después de la transferencia de un solo embrión en fresco (54).

En general, según un estudio randomizado de *Lukassen et al.* con pacientes de características iguales en ambos grupos, se muestra que 2 SET consecutivas tienen tasas de embarazos iguales a la primera DET (41% en SET y 36% en DET). Después de un único ciclo SET la tasa de embarazo es 26%, aunque la disminución de los embarazos múltiples es drástica (0% en SET y 37% en DET) (55).

La tendencia a la transferencia de menos embriones está creciendo en todo el mundo en general, pero la elección de SET aún tiene una baja incidencia (39, 50). En Europa el uso de SET está en torno al 20% y la tasa de partos múltiples está en torno al 22,7%. Y en Estados Unidos la tasa de embarazo múltiple es 31,7%, mucho mayor dado que las transferencias de 2 o más embriones se realizan en el 93% de los casos (50, 56).

Después de analizar diversos estudios se llegó a la conclusión de que la política SET mantiene las tasas de embarazo, siempre que haya un buen programa de congelación y una buena selección de los pacientes (21, 44).

## ***TRANSFERENCIA DE EMBRIÓN ÚNICO***

La transferencia de embrión único es una política perseguida actualmente, sobre todo debido a la necesidad de disminuir el número de embarazos múltiples (44). Los embarazos múltiples de forma natural tienen una prevalencia del 1% mientras que con el uso de técnicas de reproducción asistida, los embarazos múltiples pueden llegar al 30%.

SET, se puede dividir en 3 categorías, según el tipo de ovocitos recuperados (44):

- SET médico. Se considera en mujeres a las que un embarazo múltiple supondría un riesgo mucho mayor que para la población normal.
- SET electiva. Se selecciona entre 2 o más embriones, el más adecuado para la implantación.
- SET obligatoria. Cuando solo se tiene un embrión disponible. Normalmente cuando solo hay un embrión, este es de pobre calidad lo que significa bajas tasas de implantación. Sin embargo, si la calidad del embrión es óptima las tasas de embarazo y de nacimientos múltiples son comparables a las obtenidas con SET electivo (57).

## Selección del embrión

La habilidad de clasificar los mejores embriones es crucial para tener un SET exitoso, de esta forma se correlaciona la calidad embrionaria en función de unos criterios morfológicos, con el embarazo temprano (44).

La selección del embrión normalmente se hace según el centro con distintos sistemas de puntuación, en los que se valora el estadio del desarrollo: número de células y su morfología, su tamaño, regularidad, fragmentación o presencia de vacuolas.

Otros métodos más avanzados ya estudian cinética del embrión, su material genético, el transcriptoma del ovocito y de las células foliculares que lo acompañan. Actualmente se están desarrollando una serie de técnicas “ómicas” (metabolómica, proteómica),... que son capaces de predecir y seleccionar de forma no invasiva el embrión más capacitado para implantarse (58-62). Estas técnicas aún son experimentales y no se usan en la clínica diaria.

Para la elección de una política SET o DET hay que tener en cuenta muchos parámetros, como la duración del cultivo antes de la transferencia y el sistema utilizado para su criopreservación. Estos parámetros varían según el centro y son cruciales para medir el impacto del uso de SET (44).

El método más común a la hora de criopreservar es la vitrificación. Con él las tasas de embarazo conseguidas se pueden comparar a las tasas obtenidas con embriones frescos (63).

### Clasificación morfológica

El desarrollo embrionario, que comienza tras la fecundación. El cultivo de los embriones es la mejor manera de distinguir su potencial y transferir los embriones con mayores probabilidades de implantación. Actualmente no existe ninguna técnica de selección que no sea costosa o agresiva para el embrión (15).

Se han publicado numerosos estudios que relacionan la cantidad y calidad de los ovocitos obtenidos con los resultados de FIV después de una transferencia embrionaria en fresco. Y se conoce que la calidad del embrión transferido es la clave para el éxito del tratamiento FIV, las pacientes con mejores embriones tienen mayores tasas de embarazo (13, 45, 64-68).

Los embriones óptimos son los que tiene un correcto desarrollo y ninguna característica de mal pronóstico. Estos embriones serán transferidos o criopreservados. La Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción (ASEBIR) ha publicado unos criterios de valoración de embriones tempranos (69). Los embriones se clasifican en 4 tipos, A, B, C y D según sus

características, siendo el *tipo A* el más óptimo, el de mayor tasa de implantación y el tipo D el de menor tasa de implantación.

Dos factores muy importantes a la hora de medir la calidad embrionaria son la velocidad de división y la tasa de fragmentación, de esta forma en el día 2 debe constar de 4 ó 5 células regulares y en el día 3 más de 7 células; debe tener menos del 20% de fragmentación y no tener las blastómeras multinucleadas (69).

Estos criterios de selección morfológica no son compartidos por todos los centros. Según un estudio de la SEF, los criterios en cuanto al buen pronóstico con la ausencia de blastómeras multinucleadas eran compartidos por el 85,3% de los centros. El 90% de los centros consideraban que el embrión era óptimo si no tenían más del 10% de fragmentación (44, 70).

### ***Decisión número embriones transferidos***

Aunque la forma más eficaz de disminuir los embarazos múltiples es limitar el número de embriones transferidos, también hay que sopesar en cada caso para no disminuir la tasa de embarazo, ya que ni todos los pacientes ni todos los facultativos están por la labor de usar SET como técnica de rutina (50).

Los protocolos SET deberían ser evaluados por cada clínica según sus datos, siendo: paciente-específicos (es decir, adaptados a cada paciente), embrión-específicos (adaptados a los embriones) y ciclo-específicos (adaptados a cada ciclo) para determinar para cada centro su tasa de implantación y de nacido vivo, con el fin de desarrollar una política de transferencia que minimice la gestación multifetal y mantenga las tasas de embarazo y de nacido vivo (21).

### **Clínica**

Aunque el número de embarazos múltiples ha disminuido, aún se recomienda seguir disminuyendo el número de embriones transferidos (71), hasta bajar la tasa de embarazo múltiple por debajo del 10%, para igualarla a la tasa de embarazo múltiple espontáneo (45, 72).

Los buenos resultados de SET para reducir el número de embarazos múltiples requiere buena información sobre los factores pronósticos y un apropiado tratamiento (67).

En primer lugar, el uso de protocolos menos agresivos supondrá un menor número de ovocitos recuperados. Estos protocolos darán menos embriones, pero de mejor calidad (73).

Por otro lado, será necesario mejorar el proceso de selección de los embriones según la calidad, para escoger los embriones con mayor probabilidad de implantación. La habilidad a la

hora de clasificar estos embriones es crucial para tener un SET exitoso, de esta forma se correlaciona la calidad embrionaria en función de unos criterios morfológicos con el embarazo temprano (44, 74).

La calidad embrionaria nos predice un embarazo temprano, pero no predice la pérdida del embarazo en el primer trimestre. Según el estudio realizado por *De Neubourg et al.* la tasa de embarazo que se obtiene después de la transferencia de un solo embrión de alta calidad no se puede correlacionar con la edad, pero la pérdida de embarazo en el primer trimestre si es edad-dependiente (74).

Las mujeres buenas candidatas para SET, deben cumplir los siguientes criterios (21):

- Menores de 35 años
- Estar en el primer ciclo de TRA o haber tenido éxito en algún ciclo anterior.
- Tener un número relativamente elevado de embriones de alta calidad ( $\geq 3$ ), el día de la transferencia.
- Tener embriones disponibles para la criopreservación.

La clave en la introducción de SET es una buena selección embrionaria y una buena selección de pacientes. Los mayores cambios en las transferencias de embriones han sido decididos después de un análisis exhaustivo de parámetros como: la edad, la respuesta a la estimulación con gonadotropinas, y la cantidad y calidad de ovocitos el día de la punción.

La tasa de implantación va cayendo con la edad, como muestra el estudio de *Hunault et al.* (75). En este estudio se muestra que la tasa de implantación en mujeres menores de 35 años supera el 25%, sin embargo, en mujeres de 38 años en adelante las tasas no llegan al 11%.

Las mujeres entre 36-38 años no suelen ser incluidas como candidatas a SET, el estudio de *García del Real* afirma que estas mujeres pueden ser beneficiarias de SET ya que en este rango de edad es complicado y con mayor riesgo los embarazos múltiples y se pueden conseguir unas buenas tasas de embarazo similares a las obtenidas con DET (76). Así pues, este estudio, apoyado por muchos otros, fomenta la estrategia SET para el grupo de mujeres mayores de 36 años considerándolas de buen pronóstico si cumplen los demás criterios generales (77-78).

## Pareja

Se sabe que la principal complicación en las TRA son los embarazos múltiples, que aumentan la mortalidad y morbilidad tanto en la madre como en los niños (79-80). Y la política más adecuada para disminuir estas complicaciones es la reducción de embriones (79).

Para la elección del número de embriones, bien sea escogiendo la política SET o DET, se tiene en cuenta la opinión del clínico pero también la de la pareja. Las parejas muchas veces prefieren afrontar el riesgo asociado a la DET (81-83). A pesar de que las parejas, son informadas de forma muy detallada y precisa, están asociadas más fuertemente al éxito del tratamiento que a los riesgos que el DET conlleva, tanto para la madre como para el niño (84).

Por esta razón, es necesario mejorar la aceptación de SET con distintos métodos de información. Se hizo un estudio comparando 3 grupos a los que se les dio distinta información. Al grupo 1 se les dio la información estándar para todos las TRA. Al grupo 2 recibieron la información estándar e información extra focalizada en los posibles resultados adversos de los embarazos múltiples. Y al grupo 3 recibieron la misma información que el grupo 2, y después un pequeño debate sobre los embarazos múltiples, donde no se les dio nueva información pero las parejas podrían preguntar sus dudas. Los resultados revelaron que ninguno de los grupos cambió su actitud acerca de SET y sus conocimientos sobre embarazos múltiples, y siguieron con la misma decisión que tenían tomada antes de consultar con el clínico. (85).

Las razones de la preferencia de DET son múltiples, entre ellas destaca la incertidumbre sobre el tratamiento, y sobre próximos tratamientos dependientes de embriones congelados, la edad de la madre, la experiencia durante el tratamiento, el bienestar emocional y físico, el fin de la infertilidad o la carga financiera del tratamiento. Son muchos los factores que pueden combinarse e influir en la decisión final de la transferencia (44, 86-87). Incluso muchas parejas están dispuestas a una reducción embrionaria después de la transferencia múltiple en caso de embarazos triples o de mayor orden (88).

Analizando por separado ambos miembros de la pareja, en cuanto a la toma de decisión del número de embriones a transferir y los factores que intervienen en esta decisión, se observa que tanto hombres como mujeres, en la mayoría de los casos, no cambian su opinión después de consultar con el médico, es decir, ya tenían previamente decidida la transferencia de 1 ó 2 embriones, antes de hablar con el médico (89).

Las mujeres son más conscientes de los problemas subsecuentes a un embarazo múltiple, pero también parecen estar más influenciadas por factores personales, como la edad o la duración de la infertilidad. Las mujeres que escogieron la transferencia de un único



embrión, en general, eran jóvenes, con una duración de la fertilidad muy corta, con hijos anteriores y con un pronóstico de embarazo muy positivo (86).

Las mujeres durante todo el proceso de la infertilidad y el tratamiento se encuentran más afectadas que los hombres, para este estudio evaluaron parámetros como ansiedad, dificultad para dormir, tristeza, falta de confianza, aislamiento. Todo esto se debe a que la mujer tiene más deseo de ser madre y socialmente está muy vinculada la paternidad a la mujer. Los estudios concluyen con que la pareja se complementa a la hora de la toma de la decisión, por lo que hay que tratarlos como una unidad y no a la mujer y al hombre por separado (86, 89-90).

No hay muchos estudios orientados a la forma de actuar cuando fallan los tratamientos FIV y las parejas se enfrentan a la perspectiva de no tener un hijo “propio”. La mayoría de las mujeres se mueven a formas alternativas como la adopción. Pero para todas las parejas representa un trauma el no poder ser padres por propia voluntad (91).

Se ha visto que la mayoría de las parejas prefieren DET a SET, aunque actualmente se ha impulsado la política SET y está ganando más publicidad, pero aun así las parejas que optan por SET son mínimas aún (44). Se necesita un tiempo para cambiar el pensamiento de las parejas y así desarrollar la política SET.

## ***COSTES***

No solo los resultados clínicos, como son tasas de embarazo o de embarazo en curso, número de bebés vivos y número de bebés-en-casa, son importantes a la hora de validar un método clínico, también actualmente son importantes los resultados económicos (92). Al medir los costes en relación con la efectividad del tratamiento, hay que tener en cuenta que la definición de un tratamiento es efectivo cuando hay al menos un niño sano en casa.

Se compararon las 3 corrientes seguidas actualmente, SET y DET en diversos estudios, en los que unos eran ensayos clínicos aleatorios y otros estudios observacionales comparativos. Estos estudios se demuestran que DET es más costoso (55, 93-95).

Para estas determinaciones se miden los gastos maternos y del niño desde el inicio del tratamiento de reproducción hasta 6 meses después del parto. Un tratamiento de fertilización *in vitro* implica un proceso de obtención de ovocitos después de una estimulación hormonal pautada, su fertilización, su cultivo en el laboratorio y la transferencia a la madre de uno o más embriones, congelando/vitrificando los demás para su utilización posteriormente (44). De esta forma el coste intrínseco, debido únicamente al tratamiento, será mayor en SET por tener

mayores costes de laboratorio, fundamentalmente debido a vitrificación/congelación y posteriormente la descongelación.

Las complicaciones previas a la transferencia durante el tratamiento, como el síndrome de hiperestimulación ovárica, en los estudios propuestos, ocurrieron de forma mayoritaria en DET, aunque estos resultados no son dependientes de la técnica usada, por lo tanto no se tuvieron en cuenta para calcular el coste final (93).

El coste médico 6 semanas después del parto es el mismo para ambos tipos de transferencia, pero este coste aumenta cuando se trata de un parto múltiple. Y se han visto que las complicaciones son más graves en partos múltiples y según aumenta la edad materna, lo cual hace que los costes aumenten exponencialmente (96).

Las costes médicos y el periodo en el que se evalúan estos varían con cada país (97). En España cada parto único, desde la hospitalización hasta el alta tanto materno como del niño, cuesta en torno a 1.453€. Este coste se multiplica por 12 cuando se trata de partos gemelares y hasta por 58 cuando se trata de partos triples (98) (**Tabla 4.**).

País	Parto único (€)	Parto gemelar (€)	Parto triple (€)	Periodo valorado
Reino Unido	5.410	14.897	52.836	Embarazo - 1año después del parto
Holanda	2.625	13.873	Datos no disponibles	Embarazo - 6semanas después del parto
Finlandia	6.240	16.826	Datos no disponibles	Embarazo- 27días tras el parto
Australia	5.285	15237	59.561	Hospitalización – alta
España	1.453	17.414	84.460	Hospitalización – alta

**Tabla 4.** Datos comparativos entre los costes de partos únicos y múltiples por países.

Teniendo en cuenta todos los costes relacionados con el tratamiento, posibles complicaciones y el trabajo en el laboratorio, SET es menos costoso que DET. Esto es así porque aunque el trabajo de laboratorio en SET es más costoso, las complicaciones vinculadas a DET, como los partos múltiples, aumentas mucho los costes socio-sanitarios del proceso (55, 92-95).

## LEGISLACIÓN

La competencia entre clínicas unido a la medida del “éxito” hacen que sea muy difícil cambiar los protocolos de actuación para minimizar los embarazos múltiples. Por ello cada vez son más países que deciden regular las prácticas en las clínicas de reproducción asistida y más concretamente limitar el número de embriones, a través de leyes o recomendaciones (99).

En la legislación parece que ha habido una reducción progresiva en el número de embriones transferibles. Este número es más bajo, en general, en los países donde la tecnología está menos desarrollada (100). La mayoría de las legislaciones europeas tienden a limitar en 1 ó 2 el número de embriones transferibles por ciclo (101).

Países como España, Suecia, Noruega, Dinamarca, Bélgica, China o Alemania, tienen una legislación donde se limita el número de embriones transferidos en cada ciclo (**Tabla 5**).

En España está regulado en el Boletín Oficial del Estado (BOE) de Noviembre: ley 45/2003 del 21 de Noviembre, que modificó la ley 45/1988 para introducir la limitación máxima a 3 embriones transferidos en cada ciclo (41). Actualmente está en vigor la ley 14/2006 (102). Su incumplimiento también está legislado, aunque aun muchos países no tienen sanciones en el caso de incumplir la ley (99).

Cada país sigue una estrategia distinta para favorecer la transferencia de embrión único en detrimento de la transferencia de múltiples embriones. En el caso de Bélgica están totalmente financiados 6 ciclos FIV para mujeres menores de 42 años que, en el primer ciclo, escojan la política de transferencia de embrión único (103).

País	Nº embriones a transferir	Incumplimiento
<b>España</b>	3 como máximo.	Clausura de la clínica/multa.
<b>Escandinavia</b>	1 (en estadio de blastocisto).	Pérdida de licencia
<b>Bélgica</b>	- 1 si >42 años, hasta 6 ciclos; - Sin límite si +42 años.	No se refleja
<b>China</b>	- 2 si <35 años; - 3 en otros casos.	No se refleja
<b>Alemania</b>	- 2 si <38 años; - máximo 3.	3 años de cárcel

**Tabla 5.** Países con Legislación. Datos obtenidos de la revisión sobre ley y ética de la SEF.

Otros países optan seguir unas recomendaciones consensuadas entre las clínicas (99), en las que se marcan una serie de criterios y directrices para valorar el número de embriones a transferir para minimizar la incidencia de los embarazos múltiples (21) (**Tabla 6**).

País	Nº embriones a transferir
Nueva Zelanda	- de 1 en 1, 2 ciclos; - máximo 2 si <39 años.
Australia	Lo mínimo para mínimos embarazos múltiples.
Holanda	Máximo 2
India	Máximo 3; excepto en ocasiones excepcionales.
Hong Kong (ley independiente a China)	- No más 3; - 4-5 si >35 años.
Japón	- Solo 1; - Si >35 se repite el ciclo 2 veces.
UK	- 2 máximo si <40 años; - 3 máximo si >40 años; - Máximo 2 para ovodonación. - Todas las clínicas tienen que tener una estrategia para disminuir los embarazos múltiples un 10%.
USA	- 1-2 si <35 años; - 2-3 si 35-37 años; - 3-4 at 38-40 años; - 4-5 >40 años.

**Tabla 6.** Países con recomendaciones. Datos obtenidos de la revisión sobre ley y ética de la SEF.

Hay que destacar en este campo la participación de Canadá y de Nueva Zelanda. En estos países los resultados de cada clínica son comunicados a un registro nacional. El *Canadian Assisted Reproductive Technologies Register (104)* (CARTR, por sus siglas en inglés) en Canadá y en Nueva Zelanda y Canadá, el *Australian and New Zealand Assisted Reproduction Database (ANZARD por sus siglas en inglés) (105)*. Al no existir la competencia entre clínicas, ya que todas tienen que estar registradas, las recomendaciones se van variando de forma consensuada entre las clínicas. Actualmente siguen la política de transferencia de embrión único, y se ha visto que los nacimientos múltiples, la mortalidad perinatal, y los costes económicos relacionados disminuyeron drásticamente (54).

En el Reino Unido la práctica más habitual era DET, esto llevó a unas tasas de embarazo múltiples debidos a FIV del 25% (44). Para fomentar la política de transferencia de embrión único el sistema nacional de salud (*National Health Service, NHS*), recomendó financiar al menos un ciclo de transferencia única para cada pareja que reúna los requisitos (106).

Otros países no poseen legislación, pero si recomendaciones donde no se limita el número de embriones a transferir, como son: Brasil, Chile, Egipto o Sudáfrica. Y otros muchos países no tienen ningún de legislación ni recomendación, como son: Jordania, Venezuela, Colombia o Ecuador (99).

# HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

---

---

La transferencia de un único embrión por ciclo es la política más perseguida tanto por los laboratorios de forma individual, como por la legislación de cada país, por sus buenos resultados. Aunque actualmente aún no es la estrategia más seguida en comparación con DET.

Una buena forma de valorar el buen funcionamiento de un laboratorio es analizar los resultados obtenidos con los datos publicados. La mayoría de estudios sobre la transferencia electiva de un único embrión afirman que, aunque las tasas de embarazo en el primer ciclo no son comparables entre SET y DET, los resultados de tasas de embarazo acumulado entre ambos protocolos son muy parecidos.

Lo que si se destaca en la política SET es la drástica disminución de los embarazos múltiples, con la reducción de sus consecuentes problemas sociales, sanitarios y económicos.

Los criterios de selección de las parejas óptimas para SET se basan en la calidad embrionaria, en el número de ciclos previos y en la edad de la receptora. Se sabe que el éxito de SET está estrechamente relacionado con la edad de la paciente en el caso de ser óvulos propios de la mujer. La dependencia con la edad no es tan estricta en caso de óvulos obtenidos por ovodonación.

Los objetivos de este estudio han sido:

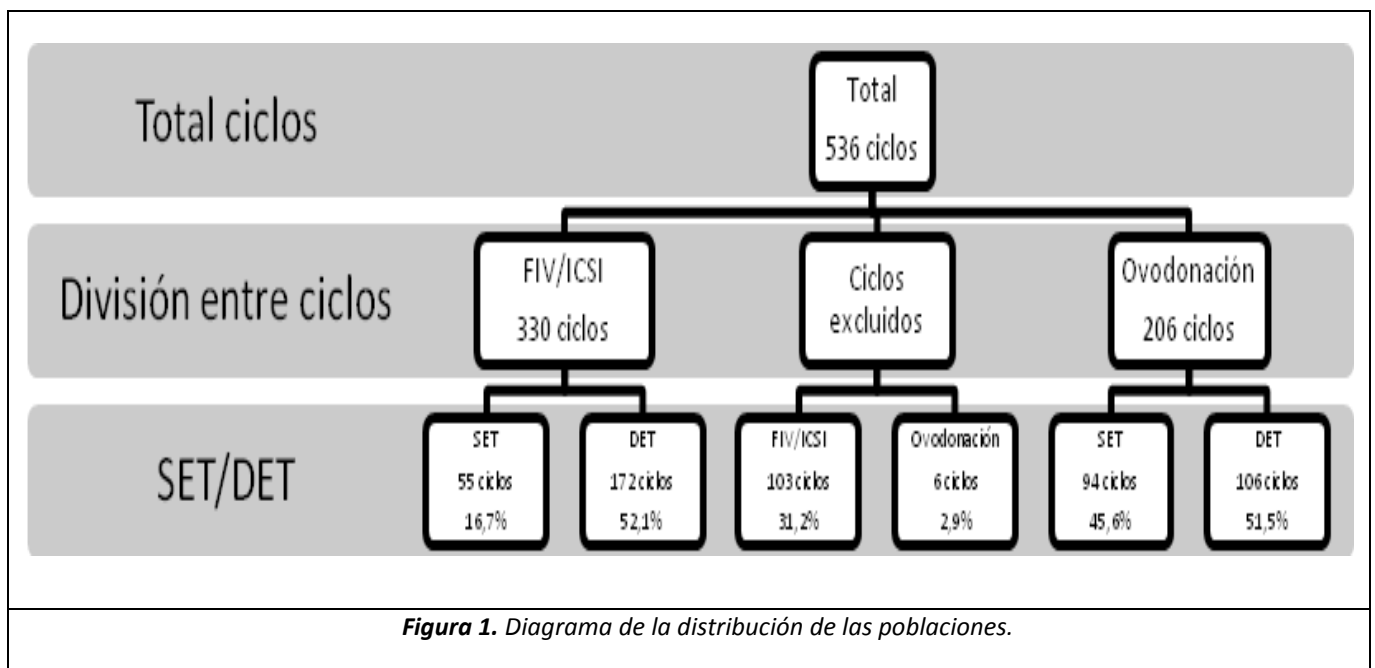
1. Comparación del número de ciclos SET con respecto a DET.
2. Comparación entre SET y DET de las tasas de embarazo en el primer tratamiento, en los ciclos en total y en los ciclos FIV/ICSI y de ovodonación por separado.
3. Comparación entre SET y DET de las tasas de embarazo acumulado, en los ciclos en total y en los ciclos FIV/ICSI y de ovodonación por separado.
4. Comparación entre SET y DET de las tasas de embarazo múltiple, en los ciclos en total y en los ciclos FIV/ICSI y de ovodonación por separado.
5. Comparación entre SET y DET de las tasas de embarazo acumulado respecto de la edad, en los ciclos en total y en los ciclos FIV/ICSI y de ovodonación por separado.

# MATERIAL Y MÉTODOS

---

## PACIENTES

Las parejas analizadas en este estudio realizaron su tratamiento en la Unidad de Reproducción del Hospital Fátima de Vigo entre el 1 de Enero de 2010 y el 31 de Diciembre del 2012. En total se realizaron 536 ciclos de los cuales 330 fueron ciclos FIV convencional o ICSI y 206 son ciclos de ovodonación (**Figura 1.**).



De los 330 ciclos FIV/ICSI el 16,7% (55 ciclos) representan SET. Y el 52,1% (172 ciclos) fueron sometidos a DET. En las pacientes sometidas a SET había al menos 3 embriones de buena calidad a la hora de transferir. Los restantes 103 ciclos no se han tenido en cuenta por no cumplir los criterios de inclusión en el estudio.

De los 206 de ovodonación el 45,7 (94 ciclos) fueron sometidos a SET y el 51,5% (106 ciclos) fueron sometidos a DET. También en las pacientes sometidas a SET había al menos 3 embriones de buena calidad a la hora da transferir. Los 6 ciclos restantes no se han tenido en cuenta en el estudio por no cumplir los criterios de inclusión.

En general, teniendo en cuenta las parejas FIV/ICSI y las parejas de ovodonación, el 27,8% de ellas (149 ciclos) fueron sometidas a SET, mientras que el 51,9 % (278 ciclos) fueron sometidos a DET.



## ***ESTIMULACIÓN OVÁRICA Y RECUPERACIÓN OVOCITARIA.***

Para la estimulación se utilizaron las mismas técnica biológica y clínica en FIV, ICSI y en las pacientes de ovodonación. Primero se sometieron a las pacientes a una supresión pituitaria y después a una estimulación ovárica.

Cuando la estimulación ovárica controlada es mayor, menor es la tasa de implantación y de gestación. Por lo tanto, para cada paciente hay que adecuar un protocolo de estimulación moderado, mejorando las tasas tanto de implantación como de gestación y además se obtienen ovocitos de mejor calidad. Los protocolos de estimulación ovárica pueden ser largos o cortos.

El protocolo largo de estimulación ovárica comienza aproximadamente el día 21 del ciclo anterior con el bloqueo de la hormona LH, secretada por la hipófisis, mediante administración, vía subcutánea o nasal, de un análogo de GnRH. De esta forma hay una supresión pituitaria y se evita la ovulación prematura de los folículos. En los primeros días de la menstruación se realiza una ecografía donde se mide el grosor del endometrio de la cavidad uterina y se comprueba que los ovarios no poseen quistes. Si la ecografía es correcta, se administra FSH diariamente por vía subcutánea para la estimulación del crecimiento de los folículos. La dosis de la hormona se ajusta para cada paciente, mediante los controles ecográficos. El objetivo es desarrollar de 4 a 7 folículos en cada ovario.

El protocolo corto de estimulación ovárica empieza en los primeros días de la menstruación, cuando se realiza una ecografía vaginal para medir el grosor del endometrio de la cavidad uterina y se comprueba que no existen quistes en los ovarios. Una vez comprobado esto, se administrará diariamente el análogo de GnRH (vía subcutánea o nasal) y FSH (vía subcutánea) para evitar la ovulación prematura y a la vez estimular el crecimiento folicular. Se ajusta la dosis según la paciente.

En ambos protocolos el desarrollo folicular es supervisado mediante ecografía vaginal con la medición de los folículos combinado con el análisis del estradiol en sangre. Estos controles se realizan cada 3/4 días. Cuando se aprecian al menos 3 folículos de un tamaño mayor de 18 mm se desencadena la ovulación.

Para desencadenar la ovulación se usa Gonadotropina Coriónica Humana (HGC) y 36 horas después se realiza la recuperación ovocitaria bajo anestesia general y por aspiración de los folículos mayores de 15 mm guiada por una ecógrafo transvaginal.

Se administra progesterona diariamente vía vaginal, desde el día de la punción hasta el día de la prueba de embarazo. De resultar negativa se suspenderá la administración de la misma, de resultar positiva se prolongará su uso hasta la décima semana de gestación.

### ***CULTIVO DE EMBRIONES Y TRANSFERENCIA.***

Los ovocitos obtenidos tras la punción, son lavados en medio MOPS al que se le ha añadido heparina para evitar los coágulos. Posteriormente se cultivan en un medio comercial (GIVF; Vitrolive™) y en incubadores *tri-gas*, que mantienen la concentración de CO<sub>2</sub> necesaria para tener el pH adecuado en el medio y además, crea un ambiente de hipoxia (5% O<sub>2</sub>) a partir de un ambiente rico en N<sub>2</sub> (90%).

La elección de la técnica de fecundación, FIV convencional o ICSI, depende de varios parámetros: la historia reproductiva de la paciente, edad, ciclos anteriores, fecundaciones previas, gestaciones o abortos. El más significativo es el valor obtenido después de la recuperación de espermatozoides móviles (REM):

- REM > 3 millones espermatozoides totales ⇒ Inseminación artificial.
- REM < 3 millones de espermatozoides totales ⇒ FIV clásica.
- REM < 1 millón de espermatozoides totales ⇒ ICSI.

Hay situaciones en las que se recomienda seguir una técnica, por ejemplo, en el caso de detectarse la presencia de un factor masculino grave, la elección más correcta sería realizar ICSI.

Tras 16-20h de la incubación de los embriones, se comprueba la presencia de 2 pronúcleos y 2 corpúsculos polares como prueba de la fertilización. La diferencia fundamental entre los embriones fecundados mediante FIV clásica o mediante ICSI es la cronología. La aparición de los pronúcleos se adelanta de 2 a 4 horas en la ICSI.

La morfología y sincronía de los pronúcleos es uno de los criterios que predicen la calidad embrionaria. Y la no observación de los pronúcleos y los corpúsculos hace pensar en un fallo de fecundación.

La valoración de la madurez tras la fecundación es más fácil en la técnica ICSI porque los ovocitos obtenidos de la punción, se desnudan con hialuronidasa y mecánicamente, haciéndolos pasar por capilares del tipo Flexipet® de diámetros decrecientes. En la FIV clásica no requiere desnudación, sino que se añaden los espermatozoides en una concentración determinada.

Después de la comprobación de la fecundación se cultivan los embriones individualmente en medios secuenciales. Durante las primeras 48 horas en un medio pobre en glucosa (G1-*plus*; Vitrolive™), diseñado para permitir el desarrollo del embrión hasta el estadio de 8 células. Posteriormente se evalúa la etapa de desarrollo y se pasan a un segundo medio más complejo, se reduce la concentración de piruvato y lactato y se aumenta la concentración de glucosa (G2-*plus*; Vitrolive™). En este medio se sostiene el desarrollo del embrión hasta estadio blastocisto.

El segundo y tercer día tras la recuperación ovocitaria se evalúa la etapa de desarrollo y el aspecto morfológico del embrión. Para definir un embrión de calidad óptima se usaron los mismos criterios para todos los ciclos. Los embriones debían tener una fertilización normal, con 2 pronúcleos, visibles y de igual tamaño. En el día 2 se debían observar 4 células regulares, no multinucleadas y todas en contacto. Y en el día de la transferencia, el día 3, al menos 8 células regulares, con menos del 20% de fragmentación e inicio de compactación.

El tipo de transferencia (SET o DET) se determinó el mismo día de la transferencia aconsejando a la pareja según sus características y la respuesta a la estimulación. Las mujeres en el primer o segundo ciclo FIV, con una buena respuesta a la estimulación y como resultado al menos 3 embriones de calidad óptima, susceptibles de ser congelados, reunían los requisitos para ser sometidas a SET. En todos los casos la decisión final sobre el tipo de transferencia fue tomada por la pareja.

Se transfirieron 1 ó 2 embriones el tercer día después de la recuperación ovocitaria. Los embriones no transferidos se vitrificaron siguiendo el protocolo *Kitazato* (107) y posteriormente descongelados siguiendo el mismo protocolo.

### ***ANÁLISIS ESTADÍSTICO.***

Para los 2 grupos de pacientes (SET/DET) los parámetros estadísticos de interés fueron: tasa de embarazo en el primer ciclo, tasa de embarazo acumulado, tasa de embarazos múltiples y edad media de las pacientes.

Los embarazos clínicos se confirmaron por ecografía transvaginal en la semana 6-7 de gestación. Y las tasas de embarazo acumulada se calcularon desde la primera transferencia en fresco y contando las siguientes teniendo en cuenta sólo una recuperación ovocitaria.

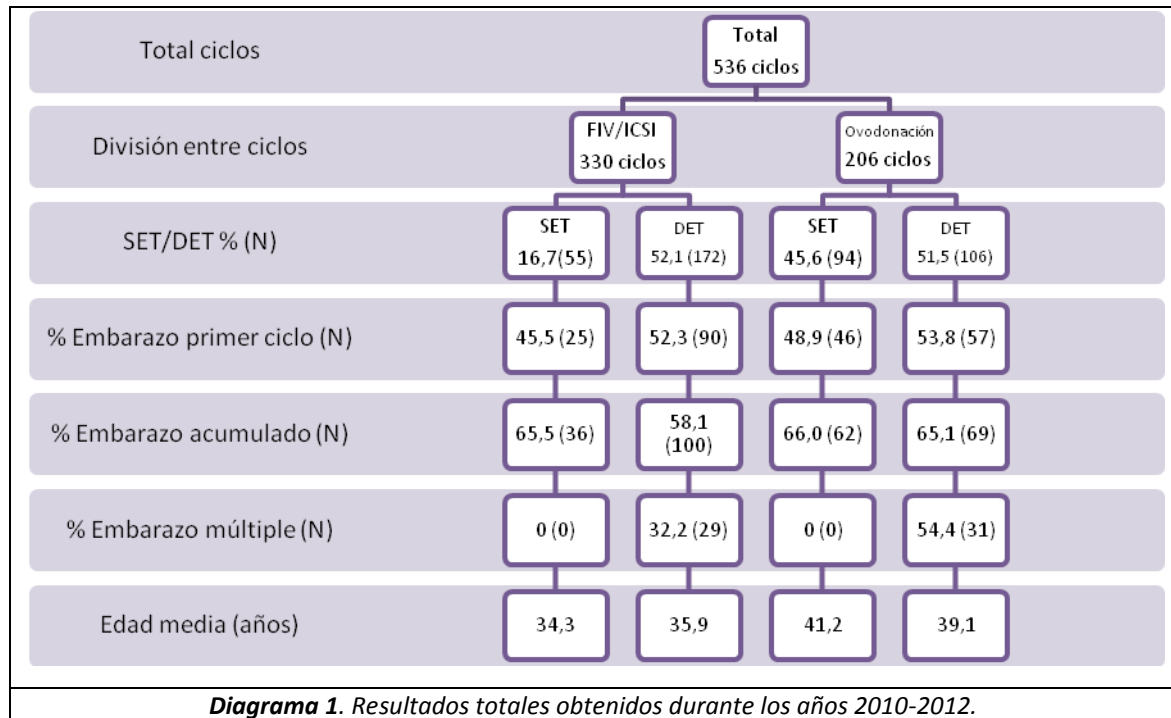
Para el análisis de los datos se usó el programa estadístico SPSS.19, con la colaboración de los servicios del Departamento Estadístico del Hospital Universitario Central de Asturias

(HUCA). Las comparaciones entre parámetros se realizaron mediante el análisis estadístico *Chi-cuadrado* con las variables dicotomizadas.

# RESULTADOS

---

Desde el 1 de Enero del 2010 hasta el 31 de Diciembre del 2012 se incluyeron un total de 536 parejas. De las cuales 330 fueron sometidas a FIV/ICSI y 206 necesitaron ovodonación (**Diagrama 1.**).



Considerando sólo los ciclos FIV/ICSI, se dividieron en 55 (16,6%) SET y 172 (52,1%) DET. Según el año estos porcentajes variaron entre 15,5-17,7% en SET y en DET variaron entre 50,0-54,0% (Tabla 1.).

Comparando las 2 estrategias el porcentaje de embarazos en el primer ciclo en las pacientes sometidas a SET es del 45,4% variando según los años desde 35,0-57,8%. En cuanto a la estrategia DET las tasa totales de embarazo en el primer ciclo son de 52,3% variando según el año entre 40,0-56,8 %.

En cuanto a los porcentajes de embarazo acumulado siguiendo la estrategia SET es de 65,4%, variando según el año entre 50,0-84,4%. Para las pacientes que siguieron la estrategia DET este porcentaje total es del 58,1%, variando entre 44,6-65,5%.

Las tasas de embarazos múltiples en el caso de SET son de 0,0%. Mientras que para DET el porcentaje de embarazos múltiples es de 32,2% variando entre 37,0-31,5%.

Por último, la edad media de las pacientes sometidas a SET fue de 34,3 años, variando entre 33,6-35,6 años. Mientras que en DET es 35,9 variando según el año entre 35,1-36,6 años.

	2010		2011		2012		TOTAL		P-Valor
<b>Número de ciclos</b>	124		90		116		330		
<b>FIV/ICSI</b>	SET	DET	SET	DET	SET	DET	SET	DET	
<b>%N (N)</b>	15,3 (19)	54,0 (67)	17,7 (16)	52,0 (47)	17,2 (20)	50,0 (58)	16,6 (55)	52,1 (172)	
<b>% Embarazo en el primer ciclo (N)</b>	57,8 (11)	56,7 (38)	43,7 (7)	40,0 (19)	35,0 (7)	56,8 (33)	45,4 (25)	52,3 (90)	0,439
<b>% Embarazo acumulado (N)</b>	84,4 (16)	61,1 (41)	62,5 (10)	44,6 (21)	50,0 (10)	65,5 (38)	65,4 (36)	58,1 (100)	0,349
<b>% Embarazo múltiple</b>	0,0 (0)	31,5 (11)	0,0 (0)	37,0 (7)	0,0 (0)	33,3 (11)	0,0 (0)	32,2 (29)	<b>&lt;0,001</b>
<b>Edad media</b>	33,6	35,1	33,6	36,6	35,6	36,0	34,3	35,9	

*Tabla 1. Resultados obtenidos en parejas FIV/ICSI desglosados por años*

Considerando sólo los ciclos ovodonación, se dividieron en 94 (45,6%) SET y 106 (51,4%) DET. Según el año estos porcentajes variaron entre 40,5-50,0% en SET y en DET variaron entre 44,8-57,9% (**Tabla 2.**).

Comparando las 2 estrategias el porcentaje de embarazos en el primer ciclo en las pacientes sometidas a SET es del 48,9% variando según los años desde 42,8-56,4%. En cuanto a la estrategia DET las tasa totales de embarazo en el primer ciclo son de 53,7% variando según el año entre 34,2-65,0 %.

En cuanto a los porcentajes de embarazo acumulado siguiendo la estrategia SET es de 66,0%, variando según el año entre 50,0-74,0%. Para las pacientes que siguieron la estrategia DET este porcentaje total es del 65,1%, variando entre 48,8-77,4%.

Las tasas de embarazos múltiples en el caso de SET son de 0,0%. Mientras que para DET el porcentaje de embarazos múltiples es de 54,5% variando entre 46,1-66,6%.

Por último, la edad media de las pacientes sometidas a SET fue de 41,2 años, variando entre 39,7-42,0 años. Mientras que en DET es 39,1 variando según el año entre 38,9-40,4 años.

	2010		2011		2012		TOTAL		
<b>Número de ciclos</b>	69		78		59		206		<b>P-Valor</b>
<b>OVODONACIÓN</b>	SET	DET	SET	DET	SET	DET	SET	DET	
<b>%N (N)</b>	40,5 (28)	57,9 (40)	50,0 (39)	44,8 (35)	45,7 (27)	52,5 (31)	45,6 (94)	51,4 (106)	
<b>% Embarazo en el primer ciclo (N)</b>	42,8 (12)	65,0 (26)	56,4 (22)	34,2 (12)	44,4 (12)	61,2 (19)	48,9 (46)	53,7 (57)	0,571
<b>% Embarazo acumulado (N)</b>	50,0 (14)	70,0 (28)	71,8 (28)	48,8 (17)	74,0 (20)	77,4 (24)	66,0 (62)	65,1 (69)	1,000
<b>% Embarazo múltiple (N)</b>	0,0 (0)	46,1 (12)	0,0 (0)	66,6 (8)	0,0 (0)	57,8 (11)	0,0 (0)	54,5 (31)	<b>&lt;0,001</b>
<b>Edad media</b>	39,7	39,1	42,0	40,4	41,8	38,9	41,2	39,1	

*Tabla 2. Resultados obtenidos en parejas ovodonación desglosados por años.*

TOTAL						
Número de ciclos	536		p-Valor	536		p-Valor
	SET	DET		FIV/ICSI	Ovodon.	
<b>%N (N)</b>	27,8 (149)	51,9 (278)	<b>&lt;0,001</b>	61,6 (330)	38,4 (206)	
<b>% Embarazo en el primer ciclo (N)</b>	47,7 (71)	52,9 (147)	0,312	50,7 (115)	51,5 (103)	0,923
<b>% Embarazo acumulado (N)</b>	65,8 (98)	60,8 (169)	0,356	59,9 (136)	65,5 (131)	0,270
<b>% Embarazo múltiple (N)</b>	0,0 (0)	40,8 (60)	0,017	12,8 (29)	15,5 (31)	0,117
<b>Edad media</b>	37,7	37,5		35,1	40,2	

*Tabla 3. Resultados totales*

Tomando todos los ciclos (tanto FIV/ICSI como ovodonación), el total de los ciclos entre los años 2010-2012 fue 536 de los cuales el 27,9% (149 ciclos) corresponden a parejas sometidas a SET, mientras que el 51,9% (278 ciclos) fueron DET.

Las tasas de embarazo conjuntas en el primer ciclo en SET fue 47,7% y en DET 52,9%.



El porcentaje de embarazos acumulados de parejas sometidas a SET fue 65,8% y para parejas que siguieron la estrategia DET fue 60,8%.

La tasa de embarazos múltiples para SET fue 0,0% mientras que para DET fue 40,8%.

Y la edad media de las pacientes que siguieron la estrategia SET o DET fue respectivamente 37,7 años y 37,5 años.

En cuanto a diferenciando los ciclos entre FIV/ICSI y ovodonación, entre el 2010-2012 el 61,6% (330 ciclos) fueron FIV/ICSI y el 38,4 % (206 ciclos) fueron parejas que recurrieron a la ovodonación.

Las tasas de embarazo en el primer tratamiento haciendo esta distinción fueron del 50,7% para FIV/ICSI y 51,5% en las parejas de ovodonación.

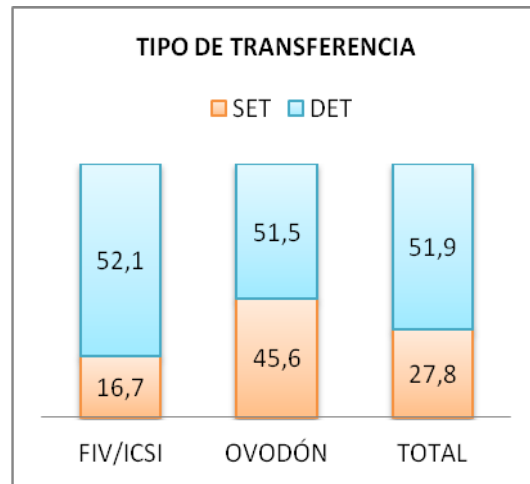
Las tasas de embarazo acumulado fueron 59,9% para parejas que recurrieron a FIV/ICSI y 65,5% para parejas de ovodonación.

En cuanto a las tasas de embarazo múltiple para las parejas que se sometieron directamente a FIV/ICSI fue del 12,8% y para las parejas que se sometieron a ovodonación fue del 15,5%.

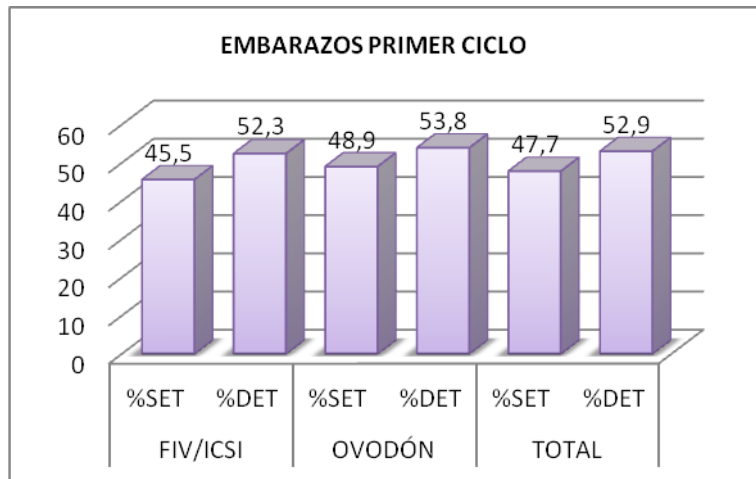
La edad media para FIV/ICSI y ovodonación fue respectivamente de 35,1 años y 40,2 años.

## **REPRESENTACIONES GRÁFICAS.**

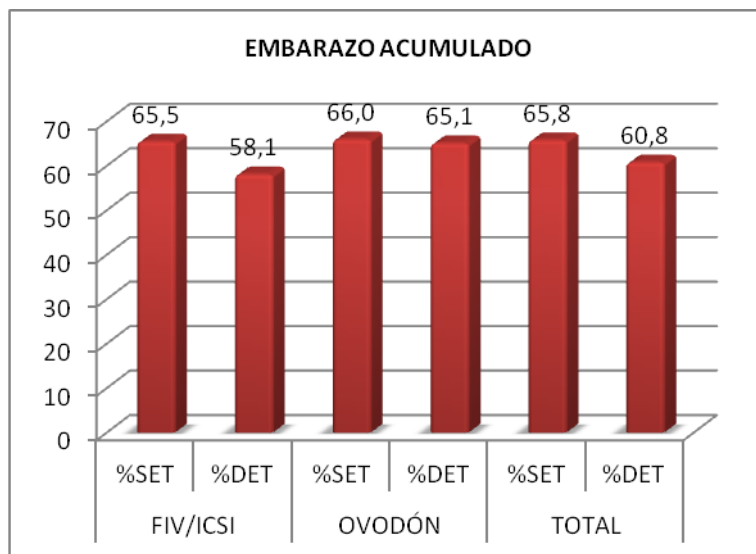
Cada una de las cinco variables estudiadas se representa individualmente, separando entre las parejas FIV/ICSI, las parejas que acudieron a ovodonación y por último la combinación de ambas.



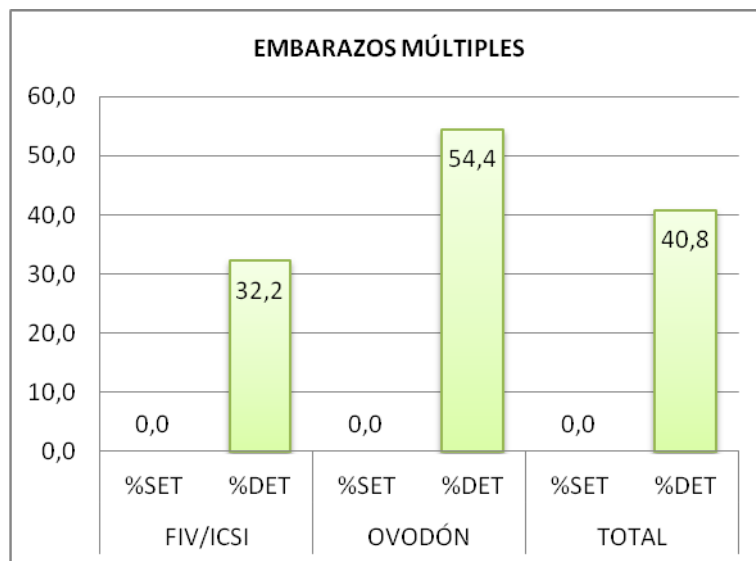
**Gráfica 1.** Porcentaje de cada tipo de transferencia



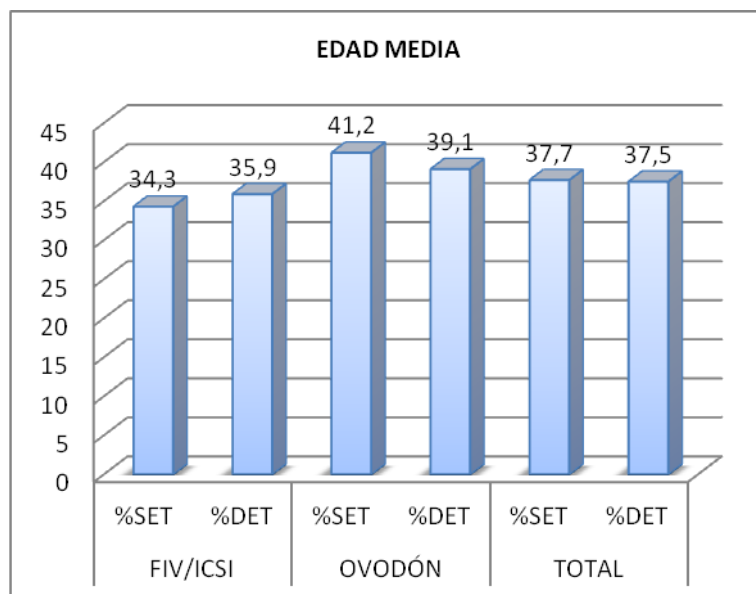
**Gráfica 2.** Representación de los embarazos en el primer ciclo.



**Gráfica 3.** Representación de los porcentajes de embarazo acumulado.



**Gráfica 4.** Representación de los embarazos múltiples respecto a la estrategia seguida.



**Gráfica 5.** Edad media para cada estrategia.

# DISCUSIÓN

---

---

Este estudio retrospectivo analiza los resultados obtenidos entre grupos heterogéneos de pacientes entre los años 2010 y 2012. Se hicieron 536 ciclos obteniendo 267 embarazos.

Las técnicas de reproducción asistida han mejorado desde sus inicios en 1978. No solo ha habido una mejora en la técnica, sino también en los protocolos de estimulación (12-13).

El principal problema de las técnicas de reproducción asistida radica en el aumento de los partos múltiples. Un embarazo múltiple tiene consecuencias sobre la madre y sobre los neonatos. Gran parte de los niños nacidos en partos múltiples nacen prematuramente y con bajo peso (21, 23). El principal problema de estos niños es la falta de maduración de los órganos, que a largo plazo puede desencadenar en una discapacidad (24-26). Además, las madres de estos niños tienen mayores tasas de mortalidad y movilidad (36).

Otro parte negativa de los partos múltiples es su elevado coste socio-sanitario. Esto ha llevado a que la transferencia de un número elevado de embriones sea una política en desuso y se tienda a una política de transferencia de los mínimos embriones, evitando así las altas tasas de embarazos múltiples, siguiendo la tendencia iniciada por países como Canadá, Nueva Zelanda o los países escandinavos (24).

Actualmente hay 3 corrientes de pensamiento. La primera afirma que las tasas de embarazo siguiendo la política SET nunca serán comparables a las tasas obtenidas con DET (47-48). Una segunda corriente sostiene que las tasas de embarazo acumuladas de varios ciclos SET son comparables a varios ciclos DET, con la ventaja de que las tasas de embarazos múltiples siguiendo SET caen drásticamente en comparación con las obtenidas en DET (24, 44-46). Y una tercera política afirma que las tasas de embarazo en el primer ciclo SET no tienen diferencia estadística respecto a la política DET, pero si una disminución significativa de las tasas de embarazo múltiple (44).

La selección de la política SET o DET se basó en las directrices dadas por las guías de fertilidad (21) incluyendo mujeres de mayor edad pero de buen pronóstico (51). Aunque la decisión final de la estrategia seguida en cuanto al número de embriones a transferir siempre fue tomada por la pareja (83-84).

Del total de ciclos, tan sólo el 27,8% de las parejas escogen seguir la estrategia SET, frente a un 51,9% de parejas que escogen DET. Esto es debido a que el deseo de las parejas de convertirse en padres supera a las posibles complicaciones derivadas de un embarazo múltiple,

a pesar de la información aportada por los ginecólogos (**Gráfica 1.**). Estos datos son correspondidos con los obtenidos en otros países europeos, donde el uso de SET está en torno a un 20% (50, 56), pero en general aún la incidencia de SET es baja (39, 50).

Teniendo en cuenta por separado las parejas que se sometieron a FIV/ICSI y las parejas que necesitaron ovodonación, los porcentajes de selección de SET varían. Las parejas FIV/ICSI escogieron en un menor porcentaje la estrategia SET (16,7%) que las parejas de ovodonación (45,6%).

En la ovodonación, las mujeres seleccionadas como donantes son jóvenes y con buena reserva ovárica, por lo que, los óvulos obtenidos suelen ser de calidad óptima. La calidad embrionaria el día de la transferencia es uno de los criterios propuestos por las guías para la elección del tipo de transferencia. Hay una mayor proporción de parejas receptoras que se deciden por la opción SET debido, no solo a la buena calidad de los embriones obtenidos, sino también a la cantidad de ellos, lo que les posibilita realizar varios ciclos al criopreservar los embriones sobrantes (66).

Por el contrario, las parejas que usaron sus propios óvulos son más reacias a la transferencia de embrión único. En muchos casos es debido a la calidad y cantidad embrionaria (67-68) unido a la edad de la mujer (77-78).

Los embarazos en el primer ciclo es uno de los parámetros que las parejas tienen más en cuenta a la hora de la toma de la decisión. Como muestran los datos obtenidos en la Unidad de Reproducción del Hospital de Fátima (**Gráfica 2.**) que coinciden con muchos resultados publicados en los últimos años (43, 55). Si es cierto, que con la estrategia DET hay una mayor tasa de embarazo en el primer ciclo, tanto en parejas FIV/ICSI como en parejas ovodonación, pero estadísticamente esta diferencia no es significativa (p-valor 0,312). Esto apoya la política de que la transferencia de un único embrión es efectiva y se conservan las tasas de embarazo en el primer ciclo, si hay una buena selección del pronóstico de la paciente (21, 44).

Para explicar las tasas de embarazo ligeramente superiores siguiendo la estrategia DET, se pueden sugerir 2 tendencias. Por un lado al ser 2 embriones la probabilidad de que se implante alguno o los dos aumenta y por lo tanto las tasas de embarazo también crecen (75).

Y por otro lado se podría explicar mediante la supresión de la respuesta inmunitaria materna. El sistema inmune materno durante la gestación debe tolerar, albergar y proteger a un individuo cuya dotación genética es en un 50% extraña. Tras la fecundación en las trompas de Falopio se liberan una serie de sustancias con las que se desencadena un “diálogo bioquímico” entre madre e hijo que concede al embrión una supresión inmunitaria materna

durante su gestación (108). Es el propio embrión el que modula esta respuesta de tolerancia materna (109), pudiendo ser que al ser dos embriones la supresión inmunitaria aumente y con ello la tasa de implantación de al menos uno de los embriones.

La tasa de embarazo acumulado (**Gráfica 3.**) es, junto con la tasa de embarazo múltiple, el dato que sostiene a SET como una política de transferencia efectiva.

Según los datos aportados, la diferencia entre las tasas de embarazo acumulado siguiendo SET o DET no es estadísticamente significativa. Esto apoya múltiples estudios y legislaciones que se dirigen hacia políticas de una transferencia mínima de embriones conservando las tasas de embarazo (7).

Algo reseñable es que siguiendo la política SET, tanto en parejas FIV/ICSI como parejas que necesitaron ovodonación, la tasa de embarazo acumulado es mayor que siguiendo la política DET. Esta diferencia es mayor en parejas FIV/ICSI. Las parejas que necesitan una ovodonación obtienen ovocitos más homogéneos en cuanto a cantidad y a calidad. Pero las mujeres receptoras tienen a una edad media mayor (**Gráfica 5.**), por lo que la tasa de implantación es menor (75).

Las tasas de embarazo múltiple es el pilar principal en la defensa de la política SET. Los costes del tratamiento, como son los procedimientos de laboratorio, los medicamentos usados y el personal médico son algo mayores siguiendo el protocolo SET, por los gastos derivados del aumento de vitrificaciones/desvitrificaciones siguiendo esa política (44). Cuando el parto es múltiple estos gastos se multiplican por 12 si es un parto gemelar y cuando se refiere a un parto triple los gastos aumentan exponencialmente (98). Todas las políticas sanitarias de los países con técnicas de reproducción asistida desarrolladas abogan por una disminución el número de embriones transferidos como principal solución al aumento alarmante de nacimientos múltiples. Los embarazos múltiples debidos a TRA superan el 30% del total de embarazos (92-94).

Según los resultados obtenidos teniendo en cuenta la política SET y DET, en la combinación de las técnicas FIV/ICSI y ovodonación, se aprecia una disminución drástica de los embarazos múltiples siguiendo la política SET (**Gráfica 4.**). Las tasas de embarazo múltiple siguiendo el protocolo DET llegan al 40,8% mientras que siguiendo la política SET son del 0,0% (p-valor 0,017). Estos resultados mejoran las tasas de embarazo múltiple espontáneo que se sitúan por debajo del 10% (45, 72).

La diferencia en la tasa de embarazo múltiple es más significativa comparando SET y DET en parejas que necesitaron ovodonación. Las parejas que recurrieron a ovodonación y

siguieron la estrategia DET obtuvieron en el 54,4 % de los embarazos, un embarazo múltiple mientras que siguiendo la política SET el porcentaje de embarazos múltiples descendió a 0,0% (p-valor <0,001). Esto vuelve a resaltar que la calidad embrionaria es un factor muy importante a la hora de establecer un pronóstico adecuado y una buena clasificación morfológica es crucial para obtener una transferencia de embrión único exitosa (44).

Estos resultados se asemejan a los obtenidos en el estudio aleatorio de *Lukassen et al.* donde las tasas de embarazo acumuladas no tienen diferencias significativas entre ambas políticas SET/DET (41% en SET y 36% en DET), sin embargo, las tasas de embarazos múltiples no sobrepasaron el 0% siguiendo la política SET (55).

Los estudios confirman que la edad elevada de la mujer es un factor pronóstico del embarazo negativo (**Gráfica 5.**) (77-78). El aumento de la edad supone una disminución de las tasas de implantación (75). Estos estudios no se ponen de acuerdo en la limitación de esta edad. La mayor parte de los autores afirman que la edad máxima para limitar la estrategia SET estaría en torno a 36 años (21). Pero actualmente hay corrientes nuevas que sostienen la utilización de SET hasta los 42 años en mujeres de buen pronóstico, sin variar las tasas de embarazo acumulado. Incluso esta estrategia podría ser fomentada porque en ese rango de edad los embarazos múltiples conllevan un mayor riesgo (76-78). Estos datos concuerdan con los obtenidos en el Hospital de Fátima, dado que la edad media de las pacientes que aceptaron el tratamiento siguiendo la política SET se sitúa en 34,3 años en las parejas FIV/ICSI y 41,2 años en parejas de ovodonación, siendo la media de 37,7 años.

Aún no hay consenso entre si la política SET es comparable a DET en el primer ciclo o si varios ciclos SET son comparables a DET. Según los resultados obtenidos por el Hospital de Fátima, en un primer ciclo SET da resultados que no son significativamente distintos a DET. Si se analiza las tasas de embarazo acumuladas después de varios ciclos SET y se comparan con las obtenidas en DET, la política SET mejora la tasa de embarazo.

El protocolo SET no podría ser extensible a todas las parejas, sino que los criterios de selección de las parejas susceptibles a su uso tienen que ser fijados por cada clínica. Estos protocolos son: paciente-específicos, embrión-específicos y ciclo-específicos. Con el fin de desarrollar una política de transferencia que minimice la gestación multifetal y mantenga las tasas de embarazo acumulado y de nacido vivo (21).



# CONCLUSIONES

---

1. La elección de la política SET es menor que la DET.
2. Las tasas de embarazo en el primer tratamiento siguiendo la política SET o DET no tienen diferencias significativas, tanto en los ciclos FIV/ICSI como en los ciclos de ovodonación.
3. Las tasas de embarazo acumulado siguiendo la política SET o DET no tienen diferencias significativas, tanto en los ciclos FIV/ICSI como en los ciclos de ovodonación.
4. Las tasas de embarazo múltiple siguiendo la estrategia SET son drásticamente inferiores que siguiendo la estrategia DET, tanto en los ciclos FIV/ICSI como en los ciclos de ovodonación.
5. La edad media de las pacientes que siguen la estrategia SET o DET no tienen diferencia significativa. La edad media de las pacientes sometidas a ovodonación es mayor que las pacientes que directamente recurrieron a ciclos FIV/ICSI.

# BIBLIOGRAFÍA

---

1. RAE. (2013) Diccionario de la Real Academia Española, <http://lema.rae.es/drae/?val=esterilidad>.
2. Remohí, J. A., (Ed.) (2012) *Manual práctico de la esterilidad y repdocucción humana. Aspectos clínicos*.
3. Zegers-Hochschild, F., Adamson, G. D., de Mouzon, J., Ishihara, O., Mansour, R., Nygren, K., Sullivan, E., and van der Poel, S. (2009) The International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) Revised Glossary on ART Terminology, 2009, *Hum Reprod* 24, 2683-2687.
4. Mascarenhas, M. N., Flaxman, S. R., Boerma, T., Vanderpoel, S., and Stevens, G. A. (2012) National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys, *PLoS Med* 9, e1001356.
5. Van Geloven, N., Van der Veen, F., Bossuyt, P. M., Hompes, P. G., Zwinderman, A. H., and Mol, B. W. (2013) Can we distinguish between infertility and subfertility when predicting natural conception in couples with an unfulfilled child wish?, *Hum Reprod* 28, 658-665.
6. Barnhart, K. T. (2011) Epidemiology of male and female reproductive disorders and impact on fertility regulation and population growth, *Fertil Steril* 95, 2200-2203.
7. Balasch, J., and Gratacos, E. (2012) Delayed childbearing: effects on fertility and the outcome of pregnancy, *Curr Opin Obstet Gynecol* 24, 187-193.
8. Wiener-Megnazi, Z., Auslender, R., and Dirnfeld, M. (2012) Advanced paternal age and reproductive outcome, *Asian J Androl* 14, 69-76.
9. Coloreu, B. (2011) Libro blanco sociosanitario. La infertilidad en España: situación actual y perspectivas, *Sociedad Española de Fertilidad*.
10. Coyne, A. M. (1978) "Test tube" baby precautions described, *Hosp Infect Control* 5, 127.
11. Bloomfield, B. P. (1986) The test-tube baby debate: an anthropological view, *Interdiscip Sci Rev* 11, 230-233.
12. Hartshorne, G. (2008) Thirty years of IVF, *Hum Fertil (Camb)* 11, 77-83.
13. Cai, Q., Wan, F., Huang, K., and Zhang, H. (2013) Does the number of oocytes retrieved influence pregnancy after fresh embryo transfer?, *PLoS One* 8, e56189.
14. Schendelaar, P., Heineman, K. R., Heineman, M. J., Jongbloed-Pereboom, M., La Bastide-Van Gemert, S., Middelburg, K. J., Van den Heuvel, E. R., and Hadders-Algra, M. (2013) Movement variation in infants born following IVF/ICSI with and without ovarian hyperstimulation, *Early Hum Dev*.
15. Remohí, J. A., (Ed.) (2012) *Manual práctico de esterilidad y reproducción humana. Laboratorio de reproducción*, 4ª ed ed.
16. Yoo, J. H., Cha, S. H., Park, C. W., Kim, J. Y., Yang, K. M., Song, I. O., Koong, M. K., Kang, I. S., and Kim, H. O. (2011) Comparison of mild ovarian stimulation with conventional ovarian stimulation in poor responders, *Clin Exp Reprod Med* 38, 159-163.
17. Roque, M., Lattes, K., Serra, S., Sola, I., Geber, S., Carreras, R., and Checa, M. A. (2013) Fresh embryo transfer versus frozen embryo transfer in in vitro fertilization cycles: a systematic review and meta-analysis, *Fertil Steril* 99, 156-162.
18. Ming, L., Liu, P., Qiao, J., Lian, Y., Zheng, X., Ren, X., Huang, J., and Wu, Y. (2012) Synchronization between embryo development and endometrium is a contributing factor for rescue ICSI outcome, *Reprod Biomed Online* 24, 527-531.

19. Sermondade, N., Hugues, J. N., Cedrin-Durnerin, I., Poncelet, C., Benzacken, B., Levy, R., and Sifer, C. (2010) Should all embryos from day 1 rescue intracytoplasmic sperm injection be transferred during frozen-thawed cycles?, *Fertil Steril* 94, 1157-1158.
20. Aflatoonian, A., Oskouian, H., Ahmadi, S., and Oskouian, L. (2010) Can fresh embryo transfers be replaced by cryopreserved-thawed embryo transfers in assisted reproductive cycles? A randomized controlled trial, *J Assist Reprod Genet* 27, 357-363.
21. (2008) Guidelines for the number of embryos to transfer following in vitro fertilization No. 182, September 2006, *Int J Gynaecol Obstet* 102, 203-216.
22. Blondel, B., Kogan, M. D., Alexander, G. R., Dattani, N., Kramer, M. S., Macfarlane, A., and Wen, S. W. (2002) The impact of the increasing number of multiple births on the rates of preterm birth and low birthweight: an international study, *Am J Public Health* 92, 1323-1330.
23. Sazonova, A., Kallen, K., Thurin-Kjellberg, A., Wennerholm, U. B., and Bergh, C. (2012) Neonatal and maternal outcomes comparing women undergoing two in vitro fertilization (IVF) singleton pregnancies and women undergoing one IVF twin pregnancy, *Fertil Steril*.
24. Moustafa, M. K., Sheded, S. A., and El Aziz Moustafa, M. A. (2008) Elective single embryo transfer versus double embryo transfer in assisted reproduction, *Reprod Biomed Online* 17, 82-87.
25. Roggero, P., Gianni, M. L., Garbarino, F., and Mosca, F. (2013) Consequences of prematurity on adult morbidities, *Eur J Intern Med*.
26. Ooki, S. (2011) Birth defects in Singleton versus multiple ART births in Japan (2004-2008), *J Pregnancy* 2011, 285706.
27. Hof, J. R., Stokroos, R. J., Wix, E., Chenault, M., Gelders, E., and Brokx, J. (2013) Auditory maturation in premature infants: A potential pitfall for early cochlear implantation, *Laryngoscope*.
28. El-Khuffash, A., McNamara, P. J., Lapointe, A., and Jain, A. (2013) Adrenal Function in Preterm Infants Undergoing Patent Ductus Arteriosus Ligation, *Neonatology* 104, 28-33.
29. Filan, P. M., Hunt, R. W., Anderson, P. J., Doyle, L. W., and Inder, T. E. (2012) Neurologic outcomes in very preterm infants undergoing surgery, *J Pediatr* 160, 409-414.
30. Sebastiani, G., Pertierra Cortada, A., Vidal Sorde, E., Figueras Aloy, J., and Balasch Cortina, J. (2009) [Factors associated with assisted reproduction technologies and neonatal outcomes], *An Pediatr (Barc)* 70, 323-332.
31. Farhi, A., Reichman, B., Boyko, V., Hourvitz, A., Ron-El, R., and Lerner-Geva, L. (2013) Maternal and neonatal health outcomes following assisted reproduction, *Reprod Biomed Online*.
32. Grady, R., Alavi, N., Vale, R., Khandwala, M., and McDonald, S. D. (2012) Elective single embryo transfer and perinatal outcomes: a systematic review and meta-analysis, *Fertil Steril* 97, 324-331.
33. Vasco, G. C., Gil Villa, A. M., Piedrahita Ochoa, C., Cardona Maya, W., and Cadavid Jaramillo, A. (2008) [Influence of the male genomic imprinting on the reproduction], *Actas Urol Esp* 32, 1004-1012.
34. Owen, C. M., and Segars, J. H., Jr. (2009) Imprinting disorders and assisted reproductive technology, *Semin Reprod Med* 27, 417-428.
35. Manipalviratn, S., DeCherney, A., and Segars, J. (2009) Imprinting disorders and assisted reproductive technology, *Fertil Steril* 91, 305-315.
36. Mullin, C. M., Fino, M. E., Talebian, S., Krey, L. C., Licciardi, F., and Grifo, J. A. (2010) Comparison of pregnancy outcomes in elective single blastocyst transfer versus double blastocyst transfer stratified by age, *Fertil Steril* 93, 1837-1843.

37. Duyos Mateo, I., de la Calle, M., Revello, R., Salas, P., Zapardiel, I., and Gonzalez, A. (2013) [Fetal complications and early neonatal outcomes on 147 triplets], *Ginecol Obstet Mex* 81, 86-91.
38. Kato, K., Takehara, Y., Segawa, T., Kawachiya, S., Okuno, T., Kobayashi, T., Bodri, D., and Kato, O. (2012) Minimal ovarian stimulation combined with elective single embryo transfer policy: age-specific results of a large, single-centre, Japanese cohort, *Reprod Biol Endocrinol* 10, 35.
39. Ferraretti, A. P., Goossens, V., de Mouzon, J., Bhattacharya, S., Castilla, J. A., Korsak, V., Kupka, M., Nygren, K. G., and Nyboe Andersen, A. (2012) Assisted reproductive technology in Europe, 2008: results generated from European registers by ESHRE, *Hum Reprod* 27, 2571-2584.
40. SEF. (2010) Registro FIV-ICSI de la Sociedad Española de Fertilidad. Año 2008.
41. BOE. (2003) LEY 45/2003, de 21 de noviembre, por la que se modifica la Ley 35/1988, de 22 de noviembre, sobre Técnicas de Reproducción Asistida.
42. Bosser, R., Gispert, R., Torne, M., and Calaf, J. (2009) Status of human assisted reproduction in Spain: results from the new registry of Catalonia, *Reprod Biomed Online* 19, 727-733.
43. Bergh, C. (2005) Single embryo transfer: a mini-review, *Hum Reprod* 20, 323-327.
44. Roberts, S., McGowan, L., Hirst, W., Brison, D., Vail, A., and Lieberman, B. (2010) Towards single embryo transfer? Modelling clinical outcomes of potential treatment choices using multiple data sources: predictive models and patient perspectives, *Health Technol Assess* 14, 1-237.
45. McLernon, D. J., Harrild, K., Bergh, C., Davies, M. J., de Neubourg, D., Dumoulin, J. C., Gerris, J., Kremer, J. A., Martikainen, H., Mol, B. W., Norman, R. J., Thurin-Kjellberg, A., Tiitinen, A., van Montfoort, A. P., van Peperstraten, A. M., Van Royen, E., and Bhattacharya, S. (2010) Clinical effectiveness of elective single versus double embryo transfer: meta-analysis of individual patient data from randomised trials, *BMJ* 341, c6945.
46. Yilmaz, N., Engin-Ustun, Y., Inal, H., Gorkem, U., Bardakci, Y., and Gulerman, C. (2013) The impact of single embryo transfer policy on pregnancy outcomes after legislative change, *Gynecol Endocrinol* 29, 600-602.
47. Pandian, Z., Bhattacharya, S., Ozturk, O., Serour, G., and Templeton, A. (2009) Number of embryos for transfer following in-vitro fertilisation or intra-cytoplasmic sperm injection, *Cochrane Database Syst Rev*, CD003416.
48. Gleicher, N. (2013) The irrational attraction of elective single-embryo transfer (eSET), *Hum Reprod* 28, 294-297.
49. Baruffi, R. L., Mauri, A. L., Petersen, C. G., Nicoletti, A., Pontes, A., Oliveira, J. B., and Franco, J. G., Jr. (2009) Single-embryo transfer reduces clinical pregnancy rates and live births in fresh IVF and Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI) cycles: a meta-analysis, *Reprod Biol Endocrinol* 7, 36.
50. Fauque, P., Jouannet, P., Davy, C., Guibert, J., Viallon, V., Epelboin, S., Kunstmann, J. M., and Patrat, C. (2010) Cumulative results including obstetrical and neonatal outcome of fresh and frozen-thawed cycles in elective single versus double fresh embryo transfers, *Fertil Steril* 94, 927-935.
51. Veleva, Z., Vilksa, S., Hyden-Granskog, C., Tiitinen, A., Tapanainen, J. S., and Martikainen, H. (2006) Elective single embryo transfer in women aged 36-39 years, *Hum Reprod* 21, 2098-2102.
52. Gerris, J., De Neubourg, D., Mangelschots, K., Van Royen, E., Vercruyssen, M., Barudy-Vasquez, J., Valkenburg, M., and Ryckaert, G. (2002) Elective single day 3 embryo transfer halves the twinning rate without decrease in the ongoing pregnancy rate of an IVF/ICSI programme, *Hum Reprod* 17, 2626-2631.

53. Thurin, A., Hausken, J., Hillensjo, T., Jablonowska, B., Pinborg, A., Strandell, A., and Bergh, C. (2004) Elective single-embryo transfer versus double-embryo transfer in in vitro fertilization, *N Engl J Med* 351, 2392-2402.
54. Umstad, M. P., Hale, L., Wang, Y. A., and Sullivan, E. A. (2013) Multiple deliveries: The reduced impact of in vitro fertilisation in Australia, *Aust N Z J Obstet Gynaecol*.
55. Lukassen, H. G., Braat, D. D., Wetzels, A. M., Zielhuis, G. A., Adang, E. M., Scheenjes, E., and Kremer, J. A. (2005) Two cycles with single embryo transfer versus one cycle with double embryo transfer: a randomized controlled trial, *Hum Reprod* 20, 702-708.
56. Wright, V. C., Chang, J., Jeng, G., and Macaluso, M. (2008) Assisted reproductive technology surveillance--United States, 2005, *MMWR Surveill Summ* 57, 1-23.
57. Straughen, J. K., Salihu, H. M., Keith, L., Petrozzino, J., and Jones, C. (2013) Obligatory versus elective single embryo transfer in in vitro fertilization. A population-based analysis of data from the U.K. Human Fertilisation and Embryology Authority, *J Reprod Med* 58, 95-100.
58. Ajduk, A., and Zernicka-Goetz, M. (2012) Advances in embryo selection methods, *F1000 Biol Rep* 4, 11.
59. Li, Q., Wang, W. J., Zhang, N. F., Ouyang, N. Y., Li, R. Q., Mai, M. Q., Lao, W. S., Yang, D. Z., and Zhang, Q. X. (2013) Ammonium Concentration of Spent Medium Provides a Noninvasive Assessment of Embryonic Developmental Potential in IVF, *Reprod Sci*.
60. Campbell, A., Fishel, S., Bowman, N., Duffy, S., Sedler, M., and Hickman, C. F. (2013) Modelling a risk classification of aneuploidy in human embryos using non-invasive morphokinetics, *Reprod Biomed Online*.
61. Zhao, Q., Yin, T., Peng, J., Zou, Y., Yang, J., Shen, A., and Hu, J. (2013) Noninvasive Metabolomic Profiling of Human Embryo Culture Media Using a Simple Spectroscopy Adjunct to Morphology for Embryo Assessment in in Vitro Fertilization (IVF), *Int J Mol Sci* 14, 6556-6570.
62. Wathlet, S., Adriaenssens, T., Segers, I., Verheyen, G., Van Landuyt, L., Coucke, W., Devroey, P., and Smits, J. (2013) Pregnancy Prediction in Single Embryo Transfer Cycles after ICSI Using QPCR: Validation in Oocytes from the Same Cohort, *PLoS One* 8, e54226.
63. Herrero, L., Martinez, M., and Garcia-Velasco, J. A. (2011) Current status of human oocyte and embryo cryopreservation, *Curr Opin Obstet Gynecol* 23, 245-250.
64. Sunkara, S. K., Rittenberg, V., Raine-Fenning, N., Bhattacharya, S., Zamora, J., and Coomarasamy, A. (2011) Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment cycles, *Hum Reprod* 26, 1768-1774.
65. van Loendersloot, L. L., van Wely, M., Limpens, J., Bossuyt, P. M., Repping, S., and van der Veen, F. (2010) Predictive factors in in vitro fertilization (IVF): a systematic review and meta-analysis, *Hum Reprod Update* 16, 577-589.
66. Clua, E., Tur, R., Coroleu, B., Boada, M., Rodriguez, I., Barri, P. N., and Veiga, A. (2012) Elective single-embryo transfer in oocyte donation programmes: Should it be the rule?, *Reprod Biomed Online* 25, 642-648.
67. Roberts, S. A., Fitzgerald, C. T., and Brison, D. R. (2009) Modelling the impact of single embryo transfer in a national health service IVF programme, *Hum Reprod* 24, 122-131.
68. Gleicher, N., Kim, A., Weghofer, A., and Barad, D. H. (2012) Lessons from elective in vitro fertilization (IVF) in, principally, non-infertile women, *Reprod Biol Endocrinol* 10, 48.
69. ASEBIR. (2010) Cuadernos de embriología clínica. Criterios ASEBIR de valoración morfológica de oocitos, embriones tempranos y blastocistos humanos., <http://www.asebir.com/es/actividad-asebir/publicaciones/cuaderno-asebir/cuaderno-de-embriologia-clinica-criterios-de-valoracion-morfologica-de-oocitos-embriones-tempranos-y-blastocistos-humanos/>.

70. Bruna, I. (2005) Multiple pregnancies after IVF-ICSI in Spain: incidence and criteria for embryo transfer, *FERTILIDAD* 22, 99-111.
71. (2013) Criteria for number of embryos to transfer: a committee opinion, *Fertil Steril* 99, 44-46.
72. (2011) Multiple births from fertility treatment in the UK: a consensus statement, *Hum Fertil (Camb)* 14, 151-153.
73. Patrizio, P., and Sakkas, D. (2009) From oocyte to baby: a clinical evaluation of the biological efficiency of in vitro fertilization, *Fertil Steril* 91, 1061-1066.
74. De Neubourg, D., Gerris, J., Mangelschots, K., Van Royen, E., Vercruyssen, M., and Elseviers, M. (2004) Single top quality embryo transfer as a model for prediction of early pregnancy outcome, *Hum Reprod* 19, 1476-1479.
75. Hunault, C. C., Eijkemans, M. J., Pieters, M. H., te Velde, E. R., Habbema, J. D., Fauser, B. C., and Macklon, N. S. (2002) A prediction model for selecting patients undergoing in vitro fertilization for elective single embryo transfer, *Fertil Steril* 77, 725-732.
76. Rodríguez, L., Pons, I., Grande, C., Ruesta, S., and Fernández-Shaw, C. (2007) Elective single embryo-transfer results in URH-García del Real, *FERTILIDAD* 24, 11-17.
77. Niinimäki, M., Suikkari, A. M., Makinen, S., Soderstrom-Anttila, V., and Martikainen, H. (2013) Elective single-embryo transfer in older women, *Hum Reprod* 28, 1144-1145.
78. Niinimäki, M., Suikkari, A. M., Makinen, S., Soderstrom-Anttila, V., and Martikainen, H. (2013) Elective single-embryo transfer in women aged 40-44 years, *Hum Reprod* 28, 331-335.
79. Milne, P., Cottell, E., Allen, C., Spillane, H., Vasallo, J., and Wingfield, M. (2010) Reducing twin pregnancy rates after IVF--elective single embryo transfer (eSET), *Ir Med J* 103, 9-11.
80. Barnes, M., Roiko, A., Reed, R., Williams, C., and Willcocks, K. (2012) Outcomes for women and infants following assisted conception: implications for perinatal education, care, and support, *J Perinat Educ* 21, 18-23.
81. Pinborg, A., Loft, A., Schmidt, L., and Andersen, A. N. (2003) Attitudes of IVF/ICSI-twin mothers towards twins and single embryo transfer, *Hum Reprod* 18, 621-627.
82. Porter, M., and Bhattacharya, S. (2005) Investigation of staff and patients' opinions of a proposed trial of elective single embryo transfer, *Hum Reprod* 20, 2523-2530.
83. Leese, B., and Denton, J. (2010) Attitudes towards single embryo transfer, twin and higher order pregnancies in patients undergoing infertility treatment: a review, *Hum Fertil (Camb)* 13, 28-34.
84. Scotland, G. S., McNamee, P., Peddie, V. L., and Bhattacharya, S. (2007) Safety versus success in elective single embryo transfer: women's preferences for outcomes of in vitro fertilisation, *BJOG* 114, 977-983.
85. Murray, S., Shetty, A., Rattray, A., Taylor, V., and Bhattacharya, S. (2004) A randomized comparison of alternative methods of information provision on the acceptability of elective single embryo transfer, *Hum Reprod* 19, 911-916.
86. de Lacey, S., Davies, M., Homan, G., Briggs, N., and Norman, R. J. (2007) Factors and perceptions that influence women's decisions to have a single embryo transferred, *Reprod Biomed Online* 15, 526-531.
87. Borkenhagen, A., Brahler, E., and Kentenich, H. (2007) Attitudes of German infertile couples towards multiple births and elective embryo transfer, *Hum Reprod* 22, 2883-2887.
88. Munks, E. B., Edelman, A. B., Jensen, J. T., Nichols, M. D., Burry, K., and Patton, P. (2007) IVF patients' attitudes toward multifetal pregnancy reduction, *J Reprod Med* 52, 635-638.
89. Blennborn, M., Hellberg, D., and Nilsson, S. (2007) Differences in female and male perception of information and decision-making in single-embryo transfer in in vitro fertilization in Sweden, *J Assist Reprod Genet* 24, 337-342.



90. Boden, J. (2013) The ending of treatment: The ending of hope?, *Hum Fertil (Camb)* 16, 22-25.
91. Boden, J. (2007) When IVF treatment fails, *Hum Fertil (Camb)* 10, 93-98.
92. Fiddelers, A. A., Severens, J. L., Dirksen, C. D., Dumoulin, J. C., Land, J. A., and Evers, J. L. (2007) Economic evaluations of single- versus double-embryo transfer in IVF, *Hum Reprod Update* 13, 5-13.
93. Kjellberg, A. T., Carlsson, P., and Bergh, C. (2006) Randomized single versus double embryo transfer: obstetric and paediatric outcome and a cost-effectiveness analysis, *Hum Reprod* 21, 210-216.
94. Fiddelers, A. A., van Montfoort, A. P., Dirksen, C. D., Dumoulin, J. C., Land, J. A., Dunselman, G. A., Janssen, J. M., Severens, J. L., and Evers, J. L. (2006) Single versus double embryo transfer: cost-effectiveness analysis alongside a randomized clinical trial, *Hum Reprod* 21, 2090-2097.
95. Gerris, J., De Sutter, P., De Neubourg, D., Van Royen, E., Vander Elst, J., Mangelschots, K., Vercruyssen, M., Kok, P., Elseviers, M., Annemans, L., Pauwels, P., and Dhont, M. (2004) A real-life prospective health economic study of elective single embryo transfer versus two-embryo transfer in first IVF/ICSI cycles, *Hum Reprod* 19, 917-923.
96. Mannan, M. A., Jahan, N., Dey, S. K., Uddin, M. F., and Ahmed, S. (2012) Maternal and foetal risk factor and complication with immediate outcome during hospital stay of very low birth weight babies, *Mymensingh Med J* 21, 639-647.
97. Connolly, M. P., Hoorens, S., and Chambers, G. M. (2010) The costs and consequences of assisted reproductive technology: an economic perspective, *Hum Reprod Update* 16, 603-613.
98. García-Malpartida, F. (2011) Repercusiones sociosanitarias derivadas de la aplicación de las TRA en Extremadura, *Tesis Doctoral. Badajoz: Universidad de Extremadura*.
99. Ricciarelli, E. (2007) World frame work attitude towards multiple gestations: Legislation and guidelines, *FERTILIDAD* 24, 405-412.
100. Jones, H. W., Jr., and Cohen, J. (2010) IFFS surveillance 2010, *Fertil Steril* 87, S1-67.
101. Bastu, E., Celik, C., Keskin, G., and Buyru, F. (2013) Evaluation of embryo transfer time (day 2 vs day 3) after imposed single embryo transfer legislation: When to transfer?, *J Obstet Gynaecol* 33, 387-390.
102. BOE. (2006) LEY 14/2006, de 26 de mayo, sobre técnicas de reproducción humana asistida.
103. (2013) Belgian Society for Reproductive Medicine, <http://www.bsrm.be/>.
104. (2012) Canadian Assisted Reproductive Technologies Register, [http://www.cfas.ca/index.php?option=com\\_content&view=article&id=1207:2011-cartr-results&catid=1012:cartr&Itemid=670](http://www.cfas.ca/index.php?option=com_content&view=article&id=1207:2011-cartr-results&catid=1012:cartr&Itemid=670).
105. (2010) Australian and New Zealand Assisted Reproduction Database, <http://www.aihw.gov.au/WorkArea/DownloadAsset.aspx?id=10737423255>.
106. (2012) Fertility: assessment and treatment for people with fertility problems, <http://www.nice.org.uk/nicedia/live/12157/59278/59278.pdf>.
107. (2013) Protocolo Kit Kitazato, <http://www.dibimed.com/LinkClick.aspx?fileticket=bDAie20MuYq%3d&tabid=213>.
108. Huppertz, B., Berghold, V. M., Kawaguchi, R., and Gauster, M. (2012) A variety of opportunities for immune interactions during trophoblast development and invasion, *Am J Reprod Immunol* 67, 349-357.
109. Walker, C. G., Meier, S., Littlejohn, M. D., Lehnert, K., Roche, J. R., and Mitchell, M. D. (2010) Modulation of the maternal immune system by the pre-implantation embryo, *BMC Genomics* 11, 474.