



Universidad de Oviedo
Universidá d'Uviéu
University of Oviedo

MÁSTER UNIVERSITARIO DE BIOLOGÍA Y TECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

“Resultados perinatales en transferencias con embriones crioconservados”

Junio de 2020

Alumna: Patricia Vargas González

Tutora: Dra. Lourdes Sánchez Castro

La Dra. LOURDES SÁNCHEZ CASTRO, Facultativo especialista de la Unidad de Reproducción Asistida del Hospital Universitario Central de Asturias,

CERTIFICA:

Que el trabajo presentado por Dña. Patricia Vargas González, titulado: “Estudios perinatales en transferencias con embriones crioconservados”, realizado bajo su dirección, dentro del programa de Máster en “Biología y Tecnología de la Reproducción”, reúne a su juicio las condiciones necesarias para ser admitido como Trabajo Fin de Máster, y por ello autoriza la presentación del mismo.

Para que así conste donde convenga, firma la presente certificación en Oviedo a 25 de Mayo de 2020

Fdo. Dra. Lourdes Sánchez Castro.

Agradecimientos

A mi tutora, la Dra. Lourdes Sánchez Castro, por su guía, ayuda y por el tiempo invertido en este Trabajo Fin de Máster.

A mi madre y hermana, por ser mis referentes en la vida, por sus sacrificios, su apoyo constante y lucha diaria.

A mi abuela, por enseñarnos el camino a seguir, por su generosidad, su agradecimiento continuo, por ser punto de encuentro y por su ilusión ante nuestros nuevos inicios pese a saber que tenemos que alejarnos.

A mi familia (tíos y primos), por su alegría en los momentos buenos y malos, por su aliento incluso en la distancia y por su mano tendida de manera perenne.

A Manuel David, Manu, Ricardo, Belén, Guille y Pablo, por ser mis confidentes y un pilar fundamental en mi vida desde 2013.

Y finalmente, a mí, por mi esfuerzo, ilusión, trabajo, constancia y sueños, sin los cuales no hubiese podido llegar hasta aquí.

Abreviaturas

ASEBIR: Asociación Española para el Estudio de la Biología Reproductiva

COC: Cúmulo Corona Ovocito

ESHRE: Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología.

FIV: Fecundación In Vitro

FSH: Hormona Estimulante del Folículo

GnRH: Hormona Liberadora de Gonadotropinas

hCG: Hormona Coriónica Humana

HUCA: Hospital Universitario Central de Asturias

IA: Inseminación Artificial

ICSI: Inyección Intracitoplasmática de espermatozoides

IMC: Índice de Masa Corporal

INE: Instituto Nacional de Estadística

LGA: Large for Gestational Age

LH: Hormona Luteinizante

OMS: Organización Mundial de la Salud

SEF: Sociedad Española de Fertilidad

RO: Reserva Ovárica

SHO: Síndrome de Hiperestimulación Ovárica

TRA: Técnicas de Reproducción Asistida

Índice

1.Introducción.....	1
2.Hipótesis y objetivos	6
3.Materiales y métodos.....	7
3.1. Población.....	7
3.2. Protocolo de estimulación ovárica	7
3.3. Punción ovárica.....	8
3.4. Protocolo de laboratorio	8
3.5. Protocolos de vitrificación/desvitrificación	9
3.6. Transferencia embrionaria	9
3.7. Control de gestación	10
3.8. Tratamiento estadístico	10
4.Resultados.....	11
4.1. Resultados peso recién nacidos.....	11
4.2. Resultados semanas de gestación.....	11
4.3. Resultados sexo recién nacidos.....	12
4.4. Resultados tipos de parto	12
5. Discusión	14
6. Conclusiones.....	17
7. Bibliografía.....	18

1. Introducción

La infertilidad es definida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como “una enfermedad del sistema reproductor caracterizada por el fallo en la consecución de un embarazo clínico tras 12 meses o más de relaciones sexuales regulares sin protección”(Zegers-Hochschild et al., 2009).

Se estima que en España aproximadamente un 14% de las parejas en edad reproductiva sufren problemas de fertilidad (Matorras et al., 2011). Las causas de la esterilidad se dividen en un 30% por causas femeninas, 30% por causas masculinas, 25% causas mixtas y 15% de origen desconocido (Matorras et al., 2011) (Figura 1). Entre las causas de infertilidad femenina se encuentran los desórdenes ovulatorios, factores tubáricos, endometriosis, adhesiones pélvicas, etc (Barbieri, 2019). Respecto a los casos de esterilidad por causa masculina, algunos de sus orígenes pueden ser alteraciones en la espermatogénesis (desbalances endocrinos, causas genéticas, etc.), alteraciones del seminograma, obstrucciones o anomalías del aparato reproductor masculino, entre otros (Turek, 2013).

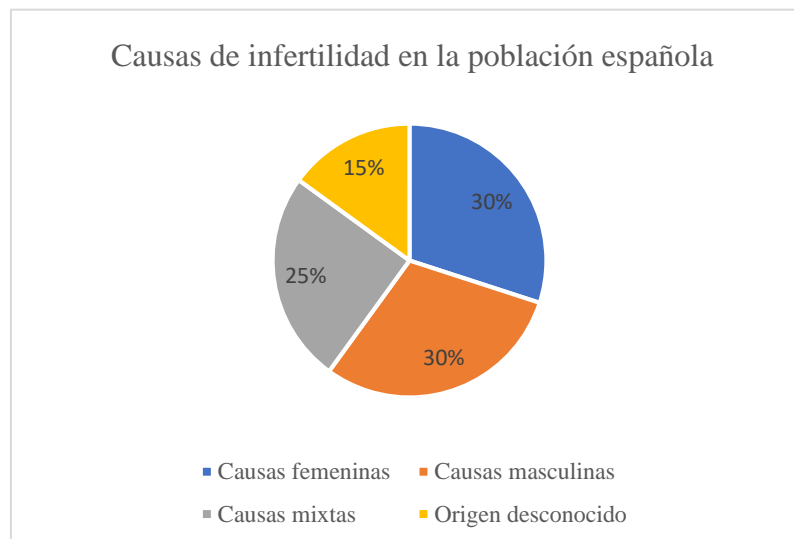


Figura 1. Gráfico representativo de las causas de infertilidad en la población española.

Debemos destacar como causa importante de la infertilidad la clara tendencia observada en las últimas décadas en los países desarrollados de retrasar la maternidad; Mientras que en el año 1975 los registros del Instituto Nacional de Estadística (INE) muestran que las mujeres tenían su primer hijo con una edad media de 25,25 años, los del año 2019 muestran un aumento de 6 años en dicha edad (31,09 años) (Figura 2) (INE, 2020). El retraso en la edad materna es multifactorial y alguna de las causas son el desarrollo de métodos anticonceptivos más fiables y seguros, el acceso a estudios superiores y al mercado laboral, así como el desarrollo de las Técnicas de Reproducción Asistida (TRA) (Varea et al., 2018).

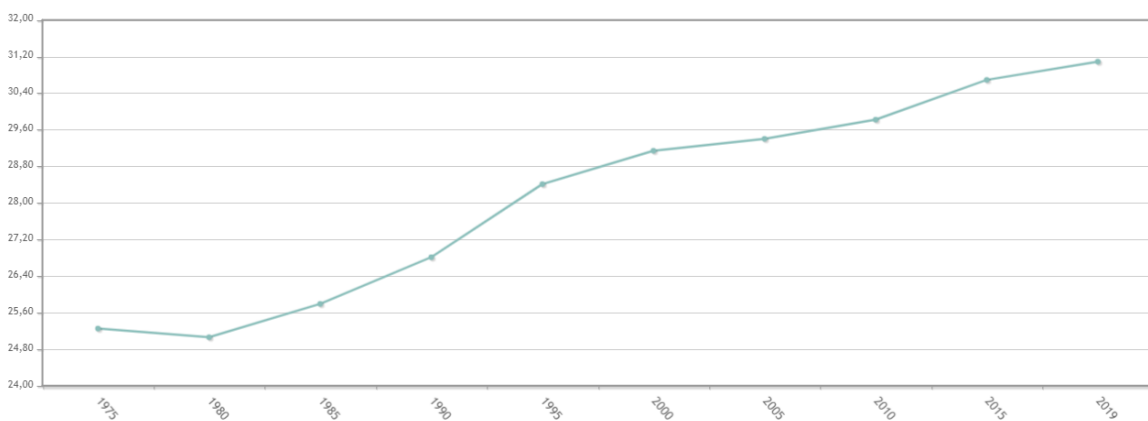


Figura 2. Gráfico en el que se refleja el aumento de la edad en la que se tiene el primer hijo en España (INE, 2020).

Desde que se reportara por primera vez en 1943 el uso de la Inseminación Artificial (IA) en humanos, las TRA han ido evolucionando rápidamente, dando paso en 1978 al nacimiento mediante Fecundación In Vitro (FIV) de Louise Brown, la denominada primer “bebé probeta” (Sharma et al., 2018). Desde entonces, estas técnicas han sido usadas ampliamente para ayudar a parejas con problemas de fertilidad, dando lugar al nacimiento de más de 8 millones de niños en todo el mundo mediante su uso (Morin et al., 2018). Pese a la alta tasa de éxito que poseen y al perfeccionamiento que han sufrido en los últimos años, presentan una serie de riesgos tanto para la mujer que realiza el tratamiento como para el bebé resultante del mismo. Por una parte, con el fin de obtener el mayor número de ovocitos posible por ciclo, la paciente se somete a una estimulación ovárica controlada;

para ello se le administran diferentes hormonas con objeto de conseguir el crecimiento de los folículos y desencadenar la ovulación de estos antes de la punción. La hormona Coriónica Humana (hCG) es el fármaco más usado para desencadenar la ovulación en estos tratamientos. Su administración está directamente relacionada con el Síndrome de Hiperestimulación Ovárica (SHO), debido a la vida media de la hormona en plasma. Este síndrome se caracteriza por un aumento del tamaño del ovario y retención de líquidos, pudiendo derivar en otras complicaciones. Un 5% de las pacientes sufre SHO moderado, un 2% presenta un Síndrome grave lo que conlleva su hospitalización y en 3 de cada 10.000 ciclos se produce la muerte de la paciente debido a SHO (Grafodatskaya et al., 2013). Los riesgos perinatales son otra de las complicaciones de las TRA. En el 25-50% de los ciclos en los que se transfieren más de un embrión se produce un embarazo múltiple (Grafodatskaya et al., 2013). Este tipo de embarazos se relacionan con partos prematuros, bajo peso al nacer, resistencia a la insulina, diversas alteraciones neurológicas como desordenes motores, así como desordenes endocrinos, metabólicos y nutricionales e incluso muerte (Grifo et al., 2013; Morin et al., 2018).

El desarrollo de las TRA llevó aparejado la investigación y materialización de procedimientos que permitieron la criopreservación de embriones humanos. En 1984 nació el primer bebé a partir de un embrión de ocho células crioconservado por Alan Trouson. Esta técnica se ha convertido en rutinaria en las clínicas y áreas de reproducción de hospitales (Jiang et al., 2017). En los primeros años el método desarrollado fue la congelación lenta (Slow-Freezing), consistente en la deshidratación celular mediante el uso de velocidades de enfriamiento bajas junto con bajas concentraciones de crioprotectores permeables y no permeables (Iussig et al., 2019). Sin embargo, las tasas de supervivencia embrionarias dejaban margen a la mejora y esto llevó al desarrollo de la vitrificación. Esta técnica se basa en velocidades de enfriamiento mucho más altas, así como mayores concentraciones de crioprotectores, para conseguir que la célula alcance un estado vítreo y, se caracteriza por la ausencia de formación de hielo durante el proceso (Valojerdi et al., 2009). Mediante vitrificación se obtienen mayores tasas de supervivencia en ovocitos en Metafase II, embriones y blastocistos (Edgar et al., 2012). En el caso de los embriones la supervivencia tras vitrificación es de 84,3% frente al 52,5% tras congelación lenta, además en el caso de la vitrificación un 75,4% de embriones presentaban todas sus blastómeras intactas, porcentaje que desciende hasta el 28,6% en el caso de congelación lenta (Debrock

et al., 2015). Por otro lado, con respecto a la supervivencia post-criopreservación de blastocistos, los porcentajes son del 90% en los vitrificados frente al 60% conseguido al emplear congelación lenta (Roy et al., 2014).

La mejora del manejo de los ciclos de estimulación junto con el desarrollo de técnicas de criopreservación más eficaces, han incidido directamente sobre las dos principales complicaciones asociadas a las TRA: El SHO y el embarazo múltiple. En el caso de SHO, el embarazo está desaconsejado ya que empeora la clínica. En estas circunstancias, la vitrificación de todos los embriones resultantes del ciclo para transferirlos en ciclos posteriores reduce el riesgo de SHO y evita perder el ciclo de estimulación (Roque et al., 2017). En un estudio realizado por Shi y colaboradores en el año 2018 se observó que en las transferencias de embriones previamente crioconservados se producía SHO en un 0.6% de las pacientes mientras que en las transferencias en fresco se producía en un 2% de ellas (Shi et al., 2018). Por otro lado, la alta eficacia de la técnica de vitrificación ha tenido como consecuencia la reducción del número de embriones que se transfieren por ciclo, ya que nos permite conservar los embriones durante tiempo indefinido, sin que esto afecte a su potencial implantatorio. Este hecho ha incidido directamente sobre la política de transferencia de embrión único dirigida a evitar los embarazos múltiples. En un estudio retrospectivo realizado en 2013 por Grifo y colaboradores se obtuvo como conclusión el descenso de la tasa de embarazos múltiples cuando se realizan transferencias de un único embrión vitrificado, la cual es de un 2% de los casos frente al 34,2% producido por transferencias en fresco (Grifo et al., 2013).

Recientemente, se ha introducido una nueva estrategia denominada *freeze-all*, consistente en la criopreservación de toda la cohorte de embriones conseguidos tras la punción y fecundación de los ovocitos recuperados en un ciclo, para realizar la transferencia de estos en diferido (Laval et al., 2020). Se han realizado numerosos estudios en los que se puede observar una mejora en la tasa de embarazo, recién nacido vivo y en los resultados perinatales de los niños nacidos tras la aplicación de esta estrategia. Las investigaciones llevadas a cabo muestran una reducción en las tasas de partos prematuros, bajo peso al nacer y morbilidad (Sciorio et al., 2019).

La implantación masiva de la técnica de vitrificación y el uso frecuente de la estrategia *freeze-all* ha llevado a varios autores a realizar un análisis de los resultados

perinatales de los niños nacidos mediante transferencias de embriones crioconservados para determinar la seguridad de las mismas. Las variables más estudiadas han sido el peso al nacer, la prematuridad del parto y la concordancia entre el peso del bebé y la edad gestacional, denominada *large for gestational age* (LGA). La mayor parte de los estudios realizados concluyen que se produce un aumento significativo en el peso de los niños nacidos de embriones crioconservados con respecto al peso de los niños nacidos en fresco. El menor peso se asocia en las transferencias en fresco a la probable asincronía entre el embrión y el endometrio por los elevados niveles hormonales resultantes de la estimulación. Las transferencias de embriones crioconservados se asocian también a un menor riesgo de parto prematuro y a una mayor incidencia de casos de LGA, oscilando entre un 3,6% y un 25,2% (Berntsen et al., 2018; Maheshwari et al., 2018; Sha et al., 2018). Otro de los parámetros estudiados es la relación existente en macrosomía y transferencias de embriones crioconservados; sobre esta variable varios estudios concluyen que hay un aumento significativo de casos de macrosomía en el grupo de embriones crioconservados con respecto a las transferencias en fresco e incluso con respecto a los embarazos naturales (Berntsen et al., 2018).

En la Unidad de Reproducción Asistida del Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA), la vitrificación está implantada como técnica mayoritaria de crioconservación desde el año 2012. Además, siguiendo las recomendaciones hechas por sociedades como la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (ESHRE) y la Sociedad Española de Fertilidad (SEF), se ha tratado en los últimos años de optimizar el programa de reproducción asistida, disminuyendo el número de embriones a transferir y aumentando el número de ciclos *freeze-all*, para evitar las dos mayores complicaciones de las TRA: SHO y embarazo múltiple. Todo ello se traduce en un aumento significativo en los últimos años de los ciclos de criotransferencia. Por este motivo y, siguiendo lo publicado por otros autores, nos propusimos analizar los resultados perinatales de niños procedentes de embriones vitrificados y estudiar si se observaban diferencias con los nacidos de transferencias con embriones en fresco.

2. Hipótesis y objetivos

Nuestra hipótesis de trabajo es que los recién nacidos procedentes de criotransferencias presentan los mismos resultados perinatales que los recién nacidos de transferencia con embriones en fresco.

Para ello nos hemos fijado los siguientes objetivos:

1. Analizar si el origen del embrión influye sobre el peso de los recién nacidos.
2. Determinar si el origen del embrión afecta a las semanas de gestación.
3. Estudiar si el sexo de los niños se relaciona con el origen del embrión.
4. Comprobar si el origen del embrión influye sobre el tipo de parto.

3. Materiales y métodos

3.1.Población

El presente trabajo es un estudio retrospectivo de la Unidad de Reproducción Asistida del HUCA donde se han incluido un total de 134 transferencias de embrión único: 67 se corresponden con transferencias de embriones crioconservados y 67 son transferencias de embriones en fresco. El período en el que se llevaron a cabo las transferencias fue desde 2013 hasta 2019. Todas las transferencias incluidas en este estudio proceden de embriones vitrificados en día +2 o +3 de su desarrollo.

Las variables estudiadas fueron: peso del recién nacido, sexo del recién nacido, semanas de embarazo y tipo de parto.

3.2.Protocolo de estimulación ovárica

Se utilizó un protocolo corto de estimulación ovárica. La programación de los ciclos se hizo con píldoras anticonceptivas que se dejaban 5-7 días antes del comienzo de la estimulación. Se les realizó a las pacientes un control ecográfico para verificar que los ovarios se encontraban en reposo antes de iniciar el estímulo con la inyección subcutánea diaria de Hormona Estimulante del Folículo (FSH) recombinante o urinaria. La dosis para administrar de esta hormona varió entre 150-300 UI/día dependiendo de la edad de la paciente, Índice de Masa Corporal (IMC) y los marcadores de Reserva Ovárica (RO). Para evitar la ovulación espontánea, se les administró a las pacientes antagonistas de Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH) a partir del 6º día de estimulación, de esta manera se inhibe el eje hipotálamo-hipófisis-ovario, evitando el pico endógeno de Hormona Luteinizante (LH).

Al 7º día de estimulación se les realizó un control ecográfico con el fin de medir la cantidad de folículos y el espesor del endometrio. Este control permitía la modificación de la dosis de gonadotropinas según la respuesta ovárica de la paciente. En el día 10 de estimulación se les realizó un análisis de sangre para determinar los niveles de estradiol y progesterona, además se les hizo una nueva ecografía y, finalmente, se programó el día de la punción en función de los resultados hormonales y de la cantidad de folículos de más de 15mm de diámetro vistos en la ecografía. La ovulación se desencadenó con hCG o con

análogo de GnRH, 36h antes de la punción. En el caso de las pacientes en las que se desencadenó la ovulación con análogo se vitrificaron los embriones y se pospuso la transferencia a otro ciclo. El mantenimiento de la fase lútea se hizo con 200mg de progesterona cada 8h.

3.3.Punción ovárica

La punción ovárica fue llevada a cabo 36 horas después de la inducción de la ovulación. El procedimiento fue llevado a cabo en el quirófano bajo sedación anestésica y con punción transvaginal ecoguiada. La recuperación folicular se realizó mediante una aspiración controlada, depositando los folículos en tubos estériles que fueron entregados al laboratorio para que el personal realizara la recuperación de éstos

3.4.Protocolo de laboratorio

En el laboratorio, el contenido de los tubos estériles (líquido folicular) fue vertido en placas estériles para realizar la recuperación de los ovocitos. Esta recuperación se llevó a cabo bajo lupa en una campana de flujo laminar calefactada. Los COCs (Cúmulos Corona Ovocito) fueron recogidos de la placa mediante el uso de una pipeta y se pasaron a una nueva placa que contenía medio para el lavado de gametos. A continuación, se pasaron a otra placa con medio de fertilización y se depositaron en el incubador a 6% CO₂ y 37 °C. Tras un tiempo de adaptación en el incubador, los ovocitos fueron fertilizados mediante FIV o Inyección Intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) según el diagnóstico de esterilidad de los pacientes. Para realizar ICSI, previamente, se llevó a cabo la decumulación de los ovocitos con hialuronidasa (80 IU/ml).

Todos los medios usados son aptos para el uso en humanos (marcaje CE). Los medios se prepararon el día previo a la punción para que se equilibraran, asegurando así la estabilidad del pH del cultivo.

La fecundación se evaluó entre 17-19 horas post-punción. Se valoraron como correctamente fecundados aquellos embriones que presentaban dos corpúsculos polares y dos pronúcleos. Éstos, junto con los embriones en los que había duda sobre su fecundación, fueron puestos en cultivo. El resto fue desechado.

La valoración de la calidad embrionaria fue realizada en día +2/+3 siguiendo la clasificación proporcionada por la Asociación Española para el Estudio de la Biología Reproductiva (ASEBIR).

3.5. Protocolos de vitrificación/desvitrificación

Para la vitrificación y desvitrificación de los embriones se usaron los medios y las pajuelas de la casa *Vitrolife*®. Se siguió el protocolo indicado por la casa, en campana de flujo laminar y superficie calefactada para mantener la temperatura a 37 °C.

Se trata de un sistema de vitrificación cerrado y, una vez vitrificados los embriones, se procedió al sellado de las pajuelas antes de introducirlas en los bancos de embriones de los que dispone la Unidad.

El procedimiento de desvitrificación fue igualmente el indicado por la casa comercial, sin modificar y en campana de flujo laminar y superficie calefactada a 37 °C.

3.6. Transferencia embrionaria

En cuanto a las transferencias con embriones frescos, estas fueron realizadas 48-72h post-punción. En el caso de los embriones crioconservados, la desvitrificación se realizó siempre un día antes y se llevó a cabo la transferencia después de una noche de cultivo.

Las transferencias se realizaron ecoguiadas en el quirófano. La paciente acudió a la cita con vejiga llena para facilitar la entrada del catéter. Primero, el ginecólogo introdujo la cánula externa en el útero para que, una vez canalizado, el embriólogo acudiera con el embrión en el catéter interno y lo depositara en el útero. Según la Ley 14/2006, del 26 de Mayo, sobre Técnicas de Reproducción Asistida, se permite la transferencia de un máximo de 3 preembriones. En el HUCA se transfieren un máximo de 2 embriones y desde el año 2017, según los protocolos de transferencia de la Unidad, se transfiere un embrión único a pacientes con buen pronóstico, o en las que está contraindicado un embarazo múltiple.

Los embriones sobrantes de ciclos en fresco se vitrificaron siempre y cuando cumplieran unas características mínimas de calidad: no se vitrificaron embriones de calidad D, y los C en función de su evolución. En pacientes con un gran número de embriones sobrantes, estos fueron puestos en cultivo y llevados hasta estadio de blastocisto para,

posteriormente, evaluar su calidad y vitrificarlos. En pacientes con un número reducido de embriones sobrantes, se vitrificaron en día +2/+3.

3.7. Control de la gestación.

Las pacientes se realizaron una prueba de embarazo en orina 15 días después de la transferencia. Todas las pacientes acudieron a una cita 5 semanas después de la transferencia y se les realizó una ecografía de control. Se consideró embarazo clínico positivo la presencia de saco gestacional

3.8. Tratamiento estadístico

Para el análisis estadístico de las variables cuantitativas, peso y semanas de gestación, usamos la prueba T para la igualdad de medias en muestras independientes. La independencia se comprobó con la prueba de Levene para la igualdad de varianzas.

Para analizar la asociación entre variables cualitativas como el sexo del recién nacido y el tipo de parto usamos tablas de contingencia y la prueba no paramétrica χ^2 de Pearson.

El software usado fue SPSS 20.0 y el nivel de significación fue $p < 0,05$.

4.Resultados

4.1.Resultados peso recién nacidos

Tabla 1. Resultados del peso de los recién nacidos en los grupos de transferencias en fresco y criotransferencias.

	n	Media (gr) ± SD	Valor de p
Embriones frescos	67	3076,79 ± 568,11	0,019
Embriones crioconservados	67	3287,48 ± 448,142	

El peso medio de los recién nacidos mediante transferencias en fresco es significativamente menor que el peso medio de los recién nacidos a partir de transferencias de embriones crioconservados (Tabla 1).

4.2.Resultados semanas de gestación

Tabla 2. Resultados de la edad gestacional en los grupos de transferencias en fresco y criotransferencias.

	n	Media (semanas) ± SD	Valor de p
Embriones frescos	67	39,33 ± 2,198	0,673
Embriones crioconservados	67	39,16 ± 1,806	

En cuanto a la edad gestacional, no existen diferencias significativas entre la media de semanas de gestación de embarazos producidos tras transferencias en fresco y los producidos tras criotransferencias (Tabla 2).

4.3.Resultados sexo recién nacidos

Tabla 3. Resultados del sexo de los recién nacidos en los grupos de transferencias en fresco y criotransferencias.

	n	Niños	Niñas	Valor de p
Embriones frescos	67	35 (52,2%)	32 (47,8%)	0,730
Embriones crioconservados	67	33 (49,3%)	34 (50,7%)	

En el caso del sexo de los recién nacidos tampoco existen diferencias significativas entre el porcentaje de niños y de niñas nacidos en ambos grupos de estudio (Tabla 3).

4.4.Resultados tipos de parto

Tabla 4. Resultados de los partos eutócicos e instrumentales en los grupos de transferencias en fresco y criotransferencias.

	n	Eutócicos	Instrumentales	Valor de p
Embriones frescos	67	40 (59,7%)	11 (16,4%)	0,014
Embriones crioconservados	67	29 (43,3%)	23 (34,3%)	

En la comparación de los tipos de parto encontramos diferencias significativas en el número de partos instrumentales en el grupo de embriones crioconservados frente al grupo de transferencias en fresco, siendo mayor en el primero. Además, se observa un descenso

también significativo en el número de partos eutócicos en el grupo de transferencias de embriones crioconservados frente a las transferencias en fresco (Tabla 4).

Tabla 5. Resultados de los partos eutócicos e instrumentales frente a partos por cesárea en los grupos de transferencias en fresco y criotransferencias

	n	Eutócicos + Instrumentales	Cesárea	Valor de p
Embriones Frescos	67	51 (76,1%)	16 (23,9%)	0,838
Embriones crioconservados	67	52 (77,6%)	15 (22,4%)	

Finalmente, al estudiar el número de partos eutócicos e instrumentales agrupados y de partos por cesáreas observamos que no existen diferencias significativas entre estos tipos de parto en los grupos de transferencias en fresco y de criotransferencias (Tabla 5).

5. Discusión

En las técnicas de reproducción humana asistida el SHO y el embarazo múltiple son las principales complicaciones descritas. En los últimos años se han desarrollado nuevos fármacos como los antagonistas de la GnRH, que procuran un mejor manejo de los ciclos de estimulación ovárica evitando el SHO (Al-Inany et al., 2016). Por otro lado, dentro de los laboratorios, el desarrollo y perfeccionamiento de las técnicas de criopreservación de gametos y embriones, han permitido una mejor supervivencia de los mismos. El resultado es un mejor aprovechamiento del material obtenido, bien sean óvulos o embriones, que pueden ser usados en ciclos posteriores evitando tanto el SHO como las gestaciones múltiples. Estos dos factores han tenido un impacto directo sobre el número de ciclos con criotransferencias, las cuales han aumentado a nivel mundial en un 27,6% desde 2008 hasta 2010 y en un 13,8% de 2010 a 2011 (Dyer et al., 2016; Adamson et al., 2018). Este incremento, ha llevado a numerosos autores a estudiar los resultados perinatales de los recién nacidos tras criotransferencia para saber cómo influye el proceso sobre el desarrollo y la salud del recién nacido.

En este trabajo hemos recogido los datos perinatales de recién nacidos de parto único en la Unidad de Reproducción Asistida del HUCA. El estudio recoge diversas variables perinatales de los niños nacidos de transferencias de embriones crioconservados, que se comparan con las obtenidas de embriones transferidos en fresco. Cuando comparamos el peso al nacer de ambos grupos el resultado mostró que los niños nacidos tras criotransferencia tienen un peso significativamente superior al de los procedentes de embriones en fresco. Este aumento es concordante con numerosos estudios previos en los que se detecta que el peso de los niños procedentes de embriones crioconservados es mayor (Wennerholm et al., 2013; Ozgur et al., 2015; Vidal et al., 2017; Shavit et al., 2017; Hwang et al., 2019; Laval et al., 2020). Algunos metaanálisis encuentran menos incidencia de bajo (<2500gr) y muy bajo (<1500gr) peso al nacer en los niños nacidos de criotransferencias; teniendo mayor incidencia en este grupo el peso alto (>4000gr) y muy alto (>4500gr) (Maheshwari et al., 2012; Sha et al., 2018; Maheshwari et al., 2018). El motivo por el que se produce un aumento de peso en los recién nacidos mediante criotransferencias es desconocido. Algunas hipótesis señalan que este hecho se produce por una asincronía entre el embrión y endometrio, sin embargo, se considera que la preparación endometrial en las

criotransferencias es más natural ya que no existe el exceso de hormonas que se produce en los ciclos en fresco (Berntsen et al., 2018; Orvieto et al., 2020). Algunos autores barajan como posible causa de este aumento de peso los cambios epigenéticos producidos por el proceso de vitrificación y desvitrificación. Finalmente, se señalan las características propias de los progenitores como otro posible motivo, aunque en este caso también influirían en los recién nacidos de embriones en fresco (Orvieto et al., 2020).

Cuando analizamos la edad gestacional, no hemos encontrado diferencias significativas entre los embriones crioconservados y los embriones en fresco, lo cual coincide con el estudio publicado en 2015 por Ozgur y colaboradores, donde la media de semanas de gestación en criotransferencias es de 37,98 frente a 37,93 en las transferencias en fresco (Ozgur et al., 2015). Además, en 2016 el grupo de Sekhon y colaboradores publicó un trabajo en el que tampoco observaron diferencias significativas en la edad gestacional entre los dos tipos de transferencia (Sekhon et al., 2016); este resultado se volvió a confirmar en el estudio llevado a cabo por Barsky y colaboradores, quienes obtienen 38,7 semanas en los embriones crioconservados y 38,8 semanas de gestación en los embriones en fresco (Barsky et al., 2016). Asimismo, Shavit y colaboradores publicaron en 2017 su trabajo sobre resultados perinatales, concluyendo que no existen diferencias significativas en la edad gestacional (38,3 semanas en crioconservados vs 38,34 en embriones frescos) (Shavit et al., 2017). Más recientemente, en 2020, Laval y colaboradores tampoco han encontrado diferencias significativas en las semanas de gestación de ambos grupos de estudio (39,18 frescos vs 39,3 crioconservados) (Laval et al., 2020). Sin embargo, también se han publicado resultados concordantes con gestaciones más largas en el grupo de las criotransferencias. Roy y colaboradores muestran que, aunque la media es la misma en ambos grupos, la mediana de las semanas de gestación es significativamente mayor en el grupo de crioconservados (Roy et al., 2014). Otros estudios también señalan diferencias en la edad gestacional de los embriones crioconservados y embriones frescos, siendo mayor en el primer grupo (+1.4 días y +0.6 semanas) (Spijkers et al., 2017; Ainsworth et al., 2019).

Respecto al sexo de los recién nacidos, al igual que ocurre en nuestro estudio, diversos autores no encuentran diferencias significativas entre el sexo de los embriones

crioconservados y de los embriones frescos (Aflatoonian et al., 2016; Spijkerset al., 2017; Ainsworth et al., 2019). Este resultado es un hecho esperable ya que es un factor que depende la carga cromosómica del embrión, la cual no es susceptible de modificación durante el proceso de vitrificación/desvitrificación.

Cuando analizamos los tipos de parto, nuestro trabajo refleja un aumento significativo de los partos instrumentales en el grupo de criotransferencias y un descenso también significativo en los partos eutócicos en este mismo grupo. Este resultado podría ser debido a que el mayor peso de los niños nacidos de embriones congelados podría influir sobre la labor del parto, obligando en más ocasiones a usar instrumentos como la ventosa o espátulas para ayudar a los niños a nacer. Esto no se traduce, sin embargo, en un mayor número de partos por cesárea, coincidiendo este resultado con el trabajo de Ainsworth y colaboradores, donde no se obtienen diferencias significativas entre ambos tipos de partos (Ainsworth et al., 2019). En nuestro trabajo, cuando agrupamos los partos eutócicos y los instrumentales y los comparamos con el número de cesáreas (tabla 5) no se encuentran diferencias significativas. Por lo tanto, podemos concluir que, en nuestra casuística, el aumento de peso de los recién nacidos no provoca un mayor número de nacimientos por cesáreas. Este resultado no concuerda, sin embargo, con los publicados por otros autores que sí observan un aumento significativo del número de partos mediante cesárea en el grupo de embriones crioconservados (Shavit et al., 2017; Laval et al., 2020). Las discrepancias en los resultados pueden explicarse por diferencias en el tamaño muestral. Mientras que nuestra serie cuenta con una muestra de 134 transferencias, concordante con la publicada por Ainsworth y colaboradores (n=136), los trabajos de Shavit y colaboradores, y Laval y colaboradores analizan resultados de 3086 y, 5406 transferencias respectivamente. En estudios futuros habría que analizar si al aumentar la casuística se sigue manteniendo el resultado o, por el contrario, se observa un mayor número de cesáreas. También se podría analizar si otras variables como la longitud al nacer pueden influir en el resultado.

6. Conclusiones

1. Los niños nacidos procedentes de embriones crioconservados tienen mayor peso al nacer que los nacidos de transferencias con embriones en fresco.

2. No se aprecian diferencias significativas entre la edad gestacional de embriones crioconservados y embriones en fresco.

3. No existen diferencias significativas entre el sexo de los embriones criopreservados y los embriones en fresco.

4. Con las criotransferencias se produce un aumento significativo de los partos instrumentales frente a los partos eutócicos.

5. No se encuentran diferencias significativas en el número partos por cesárea cuando se compara la transferencia de embriones en fresco con la de embriones crioconservados.

7. Bibliografía

- Adamson, G. D., de Mouzon, J., Chambers, G. M., Zegers-Hochschild, F., Mansour, R., Ishihara, O., Banker, M., & Dyer, S. (2018). International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology: world report on assisted reproductive technology, 2011. *Fertility and Sterility*, *110*(6), 1067-1119.
- Aflatoonian, A., Maybodi, M. A. K., Aflatoonian, N., Tabibnejad, N., Amir-Arjmand, M. H., Soleimani, N., Aflatoonian, B., & Aflatoonian, A. (2016). Perinatal outcome in fresh versus frozen embryo transfer in ART cycles. *International Journal of Reproductive BioMedicine*, *14*(3), 167-172.
- Ainsworth, A. J., Wyatt, M. A., Shenoy, C. C., Hathcock, M., & Coddington, C. C. (2019). Fresh versus frozen embryo transfer has no effect on childhood weight. *Fertility and Sterility*, *112*(4), 684-690.e1.
- Al-Inany, H. G., Youssef, M. A., Ayeleke, R. O., Brown, J., Lam, W. S., & Broekmans, F. J. (2016). Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, *4*.
- Barbieri, R. L. (2019). Female Infertility. En Strauss, J., & Barbieri, R. L.(Ed), *Yen & Jaffe's Reproductive Endocrinology: Physiology, Pathophysiology, and Clinical Management: 8th edition (pp.556-558.e)*. Elsevier Inc.
- Barsky, M., St. Marie, P., Rahil, T., Markenson, G. R., & Sites, C. K.(2016). Are perinatal outcomes affected by blastocyst vitrification and warming?. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, *215*(5), 603.e1-603.e5.
- Berntsen, S., & Pinborg, A. (2018). Large for gestational age and macrosomia in singletons born after frozen/thawed embryo transfer (FET) in assisted reproductive technology (ART). *Birth Defects Research*, *110*(8), 630–643.
- Debrock, S., Peeraer, K., Fernandez Gallardo, E., De Neubourg, D., Spiessens, C., & D'Hooghe, T. M. (2015). Vitrification of cleavage stage day 3 embryos results in higher live birth rates than conventional slow freezing: A RCT. *Human Reproduction*, *30*(8), 1820–1830.
- Dyer, S., Chambers, G. M., de Mouzon, J., Nygren, K. G., Zegers-Hochschild, F., Mansour, R., Ishihara, O., Banker, M., & Adamson, G. D. (2016). International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technologies world report: Assisted Reproductive

- Technology 2008, 2009 and 2010. *Human Reproduction*, 31(7), 1588-1609.
- Edgar, D. H., & Gook, D. A. (2012). A critical appraisal of cryopreservation (slow cooling versus vitrification) of human oocytes and embryos. *Human Reproduction Update*, 18(5), 536–554.
- Grafodatskaya, D., Cytrynbaum, C., & Weksberg, R. (2013). The health risks of ART. *EMBO Reports*, 14(2), 129–135.
- Grifo, J. A., Hodes-Wertz, B., Lee, H. L., Amperloquio, E., Clarke-Williams, M., & Adler, A. (2013). Single thawed euploid embryo transfer improves IVF pregnancy, miscarriage, and multiple gestation outcomes and has similar implantation rates as egg donation. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 30(2), 259–264.
- Hwang, S., Dukhovny, D., Gopal, D., Cabral, H., Diop, H., Coddington, C. C., & Stern, J. E. (2019). Health outcomes for Massachusetts infants after fresh versus frozen embryo transfer. *Fertility and Sterility*, 112(5), 900-907.
- Instituto Nacional de Estadística (INE). (2020). Edad Media a la Maternidad por orden del nacimiento según nacionalidad (española/extranjera) de la madre. Madrid, España. Recuperado de: <https://www.ine.es/jaxiT3/Datos.htm?t=1579#!tabs-tabla>
- Iussig, B., Maggiulli, R., Fabozzi, G., Bertelle, S., Vaiarelli, A., Cimadomo, D., Ubaldi, F. M., & Rienzi, L. (2019). A brief history of oocyte cryopreservation: Arguments and facts. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 98(5), 550–558.
- Jiang, Z., Wang, Y., Lin, J., Xu, J., Ding, G., & Huang, H. (2017). Genetic and epigenetic risks of assisted reproduction. En *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology* (Vol. 44, pp. 90–104). Bailliere Tindall Ltd.
- Laval, M., Garlantézec, R., & Guivarc’h-Levêque, A. (2020). Birthweight difference of singletons conceived through in vitro fertilization with frozen versus fresh embryo transfer: An analysis of 5406 embryo transfers in a retrospective study 2013–2018. *Journal of Gynecology Obstetrics and Human Reproduction*, 49(1), 1-7.
- Maheshwari, A., Pandey, S., Shetty, A., Hamilton, M., & Bhattacharya, S. (2012). Obstetric and perinatal outcomes in singleton pregnancies resulting from the transfer of frozen thawed versus fresh embryos generated through in vitro fertilization treatment: a systematic review and meta-analysis. *Fertility and Sterility*, 98(2), 368-

377.e9.

- Maheshwari, A., Pandey, S., Raja, E. A., Shetty, A., Hamilton, M., & Bhattacharya, S. (2018). Is frozen embryo transfer better for mothers and babies? Can cumulative meta-analysis provide a definitive answer? *Human Reproduction Update*, *24*(1), 35–58.
- Matorras, R., Coroleu, B., Romeu, A., & Pérez, F. (Eds). (2011). Libro blanco sociosanitario: “la infertilidad en España: situación actual y perspectivas”. Las Matas (Madrid), España: Imago Concept & Image Development, S.L.
- Morin, S. J., & Seli, E. (2018). Assisted Reproductive Technology and Origins of Disease: The Clinical Realities and Implications. *Seminars in Reproductive Medicine*, *36*(3–4), 195–203.
- Orvieto, R., Kirshenbaum, M., & Gleicher, N. (2020). Is embryo cryopreservation causing macrosomia—and what else?. *Frontiers in Endocrinology*, *11*, 1-6.
- Ozgun, K., Berkkanoglu, M., Bulut, H., Humaidan, P., & Coetzee, K. (2015). Perinatal outcomes after fresh versus vitrified-warmed blastocyst transfer: retrospective analysis. *Fertility and Sterility*, *104*(4), 899-907.e3.
- Roque, M., Valle, M., Kostolias, A., Sampaio, M., & Geber, S. (2017). Freeze-All cycle in reproductive medicine: Current perspectives. *Jornal Brasileiro de Reproducao Assistida*, *21*(1), 49–53.
- Roy, T. K., Bradley, C. K., Bowman, M. C., & McArthur, S. J. (2014). Single-embryo transfer of vitrified-warmed blastocysts yields equivalent live-birth rates and improved neonatal outcomes compared with fresh transfers. *Fertility and Sterility*, *101*(5), 1294-1301.e2.
- Sciorio, R., & Esteves, S. C. (2019). Clinical utility of freeze-all approach in ART treatment: A mini-review. *Cryobiology*, November.
- Sekhon, L., Herlihy, N., Rodriguez-Purata, J., Lee, J. A., Sandler, B., Stein, D. E., & Copperman, A. B. (2016). Vitrification and thawing of preimplantation embryos does not affect perinatal outcome. *Fertility and Sterility*, *106*(3), e72.
- Sha, T., Yin, X., Cheng, W., & Massey, I. Y. (2018). Pregnancy-related complications and perinatal outcomes resulting from transfer of cryopreserved versus fresh embryos in

- vitro fertilization: a meta-analysis. *Fertility and Sterility*, 109(2), 330-342.e9.
- Sharma, R. S., Saxena, R., & Singh, R. (2018). Infertility & assisted reproduction: A historical & modern scientific perspective. *Indian Journal of Medical Research*, 148(1), 10-14.
- Shavit, T., Oron, G., Weon-Young, S., Holzer, H., & Tulandi, T. (2017). Vitrified-warmed single-embryo transfers may be associated with increased maternal complications compared with fresh single-embryo transfers. *Reproductive Biomedicine Online*, 35, 94-102.
- Spijkers, S., Lens, J. W., Schats, R., & Lambalk, C. B. (2017). Fresh and frozen-thawed embryo transfer compared to natural conception: differences in perinatal outcome?. *Gynecologic and Obstetric Investigation*, 82,538-546.
- Turek, P. J. (2013). Male Infertility. En Strauss, J., & Barbieri, R. L. (Ed), *Yen and Jaffe's Reproductive Endocrinology: 7th Edition* (pp. 538–550). Elsevier Inc.
- Valojerdi, M. R., Eftekhari-Yazdi, P., Karimian, L., Hassani, F., & Movaghar, B. (2009). Vitrification versus slow freezing gives excellent survival, post warming embryo morphology and pregnancy outcomes for human cleaved embryos. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 26(6), 347–354.
- Varea, C., Terán, J. M., Bernis, C., & Bogin, B. (2018). The impact of delayed maternity on foetal growth in Spain: An assessment by population attributable fraction. *Women and Birth*, 31(3), e190–e196.
- Vidal, M., Vellvé, K., González-Comadran, M., Robles, A., Prat, M., Torné, M., Carreras, R., & Checa, M. A. (2017). Perinatal outcomes in children born after fresh or frozen embryo transfer: a Catalan cohort study based on 14,262 newborns. *Fertility and Sterility*, 108(4), 940-947.
- Wennerholm, U-B., Henningsen, A-K. A., Romundstad, L. B., Bergh, C., Pinborg, A., Skjaerven, R., Forman, J., Gissler, M., Nygren, K. G., & Tiitinen, A. (2013). Perinatal outcomes of children born after frozen-thawed embryo transfer: a Nordic cohort study from the CoNARTaS group. *Human Reproduction*, 28(9), 2545-2553.
- Zegers-Hochschild, F., Adamson, G. D., De Mouzon, J., Ishihara, O., Mansour, R., Nygren, K., Sullivan, E., & 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. *Human Reproduction*, 24(11), 2683–2687.