



Universidad de Oviedo

MÁSTER UNIVERSITARIO DE BIOLOGÍA Y
TECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

“Resultados perinatales tras técnicas de reproducción asistida”

AUTOR DEL TRABAJO FIN DE MÁSTER:

David Antelo Iranzo

TUTORAS:

Mónica Viejo Díaz

Vanesa Castañón Bernardo

Carmen Perillán Méndez

Junio 2024

Índice

1. Introducción	1
1.1. Objetivos.....	3
2. Metodología	3
3. Resultados	4
3.1. Principales aspectos analizados sobre la salud de los niños nacidos tras TRA.....	4
3.1.1. Resultados perinatales.....	5
3.1.2. Resultados a largo plazo.....	16
3.2. Efecto de las diferentes metodologías TRA sobre la descendencia.....	26
3.2.1. Efecto de la estimulación ovárica.....	28
3.2.2. FIV clásica vs ICSI.....	32
3.2.3. Transferencia en estadio de blastómeras vs blastocistos.....	37
3.2.4. Efectos de la criopreservación embrionaria (ET vs FET).....	40
3.2.5. SET vs transferencia de varios embriones.....	42
3.2.6. Efecto de la biopsia embrionaria para PGT.....	46
3.2.7. Efecto de las condiciones de cultivo.....	49
3.2.8. Uso de gametos de donante.....	52
3.3. Epigenética.....	55
4. Discusión	59
4.1. Limitaciones de los estudios y posibles soluciones.....	64
5. Conclusiones/perspectivas futuras	67
6. Bibliografía	67

Resumen

Las técnicas de reproducción asistida han experimentado una gran evolución y un gran incremento de su uso en los últimos años. Como consecuencia, ha aumentado el número de nacimientos conseguidos, lo que ha despertado curiosidad acerca de la seguridad de estas técnicas. Aunque se hayan llevado a cabo numerosos estudios para analizar los resultados perinatales tras las técnicas de reproducción asistida, ha sido complicado llegar a una conclusión debido a la gran heterogeneidad de los datos. En este trabajo, se han analizado los resultados perinatales publicados en la bibliografía en niños concebidos por métodos *in vitro*, comparando los efectos de cada una de las tecnologías disponibles en la reproducción asistida. Mientras que en algunos aspectos hay un mayor cuerpo de evidencia, como el mayor riesgo de niños con exceso de crecimiento tras la criopreservación de embriones, en la gran mayoría de las técnicas analizadas se encuentran resultados muy contradictorios entre los estudios. La mayor limitación encontrada es conseguir averiguar si las alteraciones vistas en la descendencia se deben a las técnicas realizadas o a la propia infertilidad de los pacientes. La conclusión es que, para salir de dudas, hay que organizar muy bien los análisis diseñando grupos de estudio adecuados y es necesaria una recogida exhaustiva de toda la información disponible en cada ciclo de reproducción asistida para poder eliminar factores de confusión.

Palabras clave: técnicas de reproducción asistida, resultados perinatales, infertilidad, FIV, ICSI, concepciones naturales, estimulación ovárica, blastocistos, transferencia embrionaria, criopreservación, transferencia de un único embrión, biopsia, epigenética.

Abstract

Assisted reproductive technologies have undergone a great evolution and a great increase in their use in recent years. Therefore, the number of births achieved has increased, which has aroused curiosity about the safety of these techniques. Although numerous studies have been carried out to analyze perinatal outcomes after assisted reproductive technologies, it has been difficult to reach a conclusion due to the great heterogeneity of the data. In this work, I have analyzed the published data of perinatal outcomes in children conceived by *in vitro* methods, comparing the effects of each of the technologies available in assisted reproduction. While in some elements there is a greater body of evidence, such as the increased risk of overgrowing children after embryo cryopreservation, in the great majority of the techniques analyzed there are very contradictory results among the studies. The major limitation encountered is to find out whether the alterations seen in the offspring are due to the techniques performed or to the infertility of the patients. The conclusion is that it is necessary to organize the studies conscientiously, designing adequate study groups and an exhaustive collection of all the information available in each cycle of assisted reproduction is necessary to be able to eliminate confounding factors.

Keywords: assisted reproductive technologies, perinatal outcomes, infertility, IVF, ICSI, spontaneously conceived, ovarian stimulation, blastocyst, embryo transfer, cryopreservation, single embryo transfer, biopsy, epigenetics.

Listado de abreviaturas (por orden de aparición en el texto)

-OMS, Organización Mundial de la Salud.

-TRA, técnicas de reproducción asistida.

-PGT, de sus siglas en inglés "*Preimplantation Genetic Testing*", diagnóstico genético preimplantacional.

-FIV, fecundación *in vitro*.

-SC, de sus siglas en inglés "*Spontaneously Conceived*", concepciones naturales (conseguidas sin TRA).

-PTB, de sus siglas en inglés "*Preterm Birth*", nacimiento prematuro (<37 semanas gestacionales).

-LBW, de sus siglas en inglés "*Low Birth Weight*", bajo peso al nacer (<2500 g).

-ICMART, de sus siglas en inglés "*International Committee Monitoring Assisted Reproductive Technologies*".

-ESHRE, de sus siglas en inglés "*European Society of Human Reproduction and Embryology*".

-CIE-11, Clasificación Internacional de Enfermedades (11.^a Edición).

-EPTB, de sus siglas en inglés "*Extremely Preterm Birth*", nacimiento extremadamente prematuro (<28 semanas gestacionales).

-VPTB, de sus siglas en inglés "*Very Preterm Birth*", nacimiento muy prematuro o prematuro temprano (<32 semanas gestacionales).

-VLBW, de sus siglas en inglés "*Very Low Birth Weight*", muy bajo peso al nacer (<1500 g).

-ELBW, de sus siglas en inglés "*Extremely Low Birth Weight*", peso extremadamente bajo al nacer (<1000 g).

-HBW, de sus siglas en inglés "*High Birth Weight*", peso elevado al nacer (>4000 g).

- LGA, de sus siglas en inglés "*Large for Gestational Age*", grande para la edad gestacional.
- SGA, de sus siglas en inglés "*Small for Gestational Age*", pequeño para la edad gestacional.
- CHD, de sus siglas en inglés "*Congenital Heart Defects*", defectos cardíacos congénitos.
- ICSI, de sus siglas en inglés "*Intracytoplasmic Sperm Injection*", inyección intracitoplasmática de espermatozoides.
- IUI, de sus siglas en inglés "*Intrauterine Insemination*", inseminación intrauterina.
- OI, de sus siglas en inglés "*Ovulation Induction*", inducción de la ovulación/superovulación.
- CP, de sus siglas en inglés "*Cerebral Palsy*", parálisis cerebral.
- VTS, de sus siglas en inglés "*Vanishing Twin Syndrome*", síndrome del embrión o gemelo desaparecido.
- SET, de sus siglas en inglés "*Single Embryo Transfer*", transferencia de un único embrión.
- FET, de sus siglas en inglés "*Frozen Embryo Transfer*", transferencia de embriones tras ciclos de congelación-descongelación (criotransferencia).
- AMH, de sus siglas en inglés "*Anti-Müllerian Hormone*", hormona antimülleriana.
- LH, de sus siglas en inglés "*Luteinizing Hormone*", hormona luteinizante.
- FSH, de sus siglas en inglés "*Follicle-Stimulating Hormone*", hormona folículo estimulante.
- FIV-c, FIV clásica.
- EOC, estimulación ovárica controlada.

-GnRH, de sus siglas en inglés "*Gonadotropin-Releasing Hormone*", hormona liberadora de gonadotropinas.

-SHO, síndrome de hiperestimulación ovárica.

-CT, de sus siglas en inglés "*Cleavage stage embryo Transfer*", transferencia embrionaria en estadio de blastómeras (Día 2-3).

-BT, de sus siglas en inglés "*Blastocyst stage embryo Transfer*", transferencia embrionaria en estadio de blastocisto (Día 5-6).

-MZT, de sus siglas en inglés "*Monozygotic Twins*", gemelos monocigóticos.

-ET, de sus siglas en inglés "*Embryo Transfer*", transferencia embrionaria en fresco.

-DET, de sus siglas en inglés "*Double Embryo Transfer*", transferencias de dos embriones.

-ADN, ácido desoxirribonucleico.

-ARN, ácido ribonucleico.

Declaración de originalidad del TFM

Yo, David Antelo Iranzo, con DNI 54238215Y, estudiante del Máster en Biología y Tecnología de la Reproducción de la Universidad de Oviedo, declaro que he realizado el Trabajo Fin de Máster titulado “Resultados perinatales tras técnicas de reproducción asistida”. El trabajo es original y todas las fuentes bibliográficas utilizadas para su realización han sido debidamente citadas en el mismo.

Oviedo, 4 de junio de 2024.

Firmado:

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'David', enclosed within a large, loopy oval shape.

1. Introducción

La infertilidad es considerada un problema de salud mundial por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (Wang *et al.*, 2022). Se define como la incapacidad de conseguir un embarazo tras 12 meses o más de relaciones sexuales regulares sin protección (European Society of Human Reproduction and Embryology [ESHRE], 2021; World Health Organization [WHO], 2023). Según los datos más actuales, 1 de cada 6 personas en el mundo ha sufrido infertilidad en alguna etapa de su vida (WHO, 2023), afectando actualmente a más de 80 millones de personas en todo el mundo (Potiris *et al.*, 2024).

Para tratar de cumplir el deseo genésico de las parejas que sufren infertilidad, surgieron las técnicas de reproducción asistida (TRA). Las TRA son el conjunto de manipulaciones realizadas sobre gametos y embriones, llevadas a cabo en el laboratorio (*“in vitro”*), con el objetivo de conseguir una gestación y un recién nacido vivo sano (Wang *et al.*, 2022). Estas TRA se encuentran incluidas en la práctica clínica en lo que se conocen como los ciclos de reproducción asistida. Cada ciclo se adapta a las necesidades de los pacientes tratados, pero en general, los procedimientos que incluyen son: estimulación ovárica, obtención de ovocitos mediante punción folicular, preparación del semen en el laboratorio y fertilización de los ovocitos recuperados, y finalmente, transferencia de los embriones generados (Graham *et al.*, 2023). Aunque esta sea la base, hay muchas variaciones en los ciclos en función del caso clínico tratado, incluyéndose también ciclos de congelación/descongelación de embriones, uso de semen/ovocitos de donante o el diagnóstico genético preimplantacional (PGT, de sus siglas en inglés *“Preimplantation Genetic Testing”*) (Berntsen *et al.*, 2019; Graham *et al.*, 2023).

La rápida evolución de las TRA ha permitido que, desde que nació la primera niña por fecundación *in vitro* (FIV) en el año 1978 (Steptoe & Edwards, 1978), hayan nacido más de 10 millones de bebés en todo el mundo a partir de estas técnicas (ESHRE, 2023; Potiris *et al.*, 2024). Este gran aumento en el número de bebés concebidos tras TRA ha despertado la necesidad de estudiar

las consecuencias de estas técnicas. Ya que, aunque se consideran procedimientos seguros, se han reportado casos de resultados adversos sobre la salud de los recién nacidos, tanto a corto como a largo plazo (Berntsen *et al.*, 2019; Graham *et al.*, 2023; Gullo *et al.*, 2023; Potiris *et al.*, 2024; Stern *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2022). Así, en la bibliografía se pueden encontrar numerosos estudios que demuestran un mayor riesgo de resultados perinatales adversos tras TRA en comparación con las concepciones naturales (SC, de sus siglas en inglés “*Spontaneously Conceived*”) (Berntsen *et al.*, 2019; Graham *et al.*, 2023; Potiris *et al.*, 2024; Stern *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2022; Yuan *et al.*, 2022).

Entre los aspectos perinatales más comúnmente analizados se encuentran los nacimientos pretérmino o prematuros (PTB, de sus siglas en inglés “*Preterm Birth*”), el bajo peso al nacer (LBW, de sus siglas en inglés “*Low Birth Weight*”), las anomalías congénitas, las anomalías cromosómicas y la incidencia de muerte perinatal (Berntsen *et al.*, 2019; Potiris *et al.*, 2024; Wang *et al.*, 2022; Yuan *et al.*, 2022). Aunque los resultados perinatales sean los más investigados, muchos estudios van más allá y analizan los efectos que estas técnicas pueden tener sobre la salud a largo plazo. Estos analizan la incidencia de parálisis cerebral, cáncer, autismo, defectos cardíacos y alteraciones metabólicas, entre otros (Berntsen *et al.*, 2019; Cavero-Ibiricu *et al.*, 2024; Graham *et al.*, 2023; Potiris *et al.*, 2024). Pero prácticamente todas las investigaciones realizadas se encuentran con el mismo problema: es difícil concluir si esos efectos adversos sobre la salud encontrados están producidos por las TRA, o son producto de los problemas de fertilidad de las personas que acuden a reproducción asistida (Berntsen *et al.*, 2019; Potiris *et al.*, 2024; Stern *et al.*, 2022).

Establecer un grupo control adecuado es clave para poder analizar qué efecto tienen por separado la infertilidad y las TRA sobre la descendencia (Berntsen *et al.*, 2019). Sin embargo, es difícil escoger una población control específica, ya que los datos generados tras TRA son muy heterogéneos. Existen numerosas patologías que derivan en diferentes tipos de infertilidad, y como se ha mencionado anteriormente, los ciclos de reproducción asistida tienen muchas variantes. A todo ello hay que sumarle la gran variedad de perfiles de

pacientes (edad, etnia, nivel socioeconómico, hábitos de vida, patologías...) que se someten a estas TRA (Wang *et al.*, 2022; Yuan *et al.*, 2022) y la gran evolución de las TRA que hace que los procedimientos llevados a cabo estén en continuo cambio (Graham *et al.*, 2023).

1.1. Objetivos

Se pretende analizar la información existente acerca de los efectos perjudiciales que pueden tener las TRA sobre la descendencia. Para ello, se ha realizado una revisión bibliográfica de publicaciones que han estudiado diferentes parámetros de la salud de los recién nacidos a corto y largo plazo, centrandó la atención en los resultados perinatales. Se han analizado las diferentes metodologías incluidas en los ciclos de reproducción asistida, con el objetivo de estudiar qué relación puede haber entre cada una de ellas y los resultados obtenidos. Además, debido a la gran controversia existente entre los diferentes artículos analizados, se discuten cuáles son las principales limitaciones que hacen que estos estudios tengan dificultades para obtener resultados concluyentes, y se proponen algunas alternativas para mejorar el análisis de los datos.

2. Metodología

Para la búsqueda de información se han utilizado recursos web que se centran en la recopilación de bibliografía científica en general, principalmente PubMed y los sitios web de revistas de gran prestigio en el ámbito de la reproducción asistida como son *Human Reproduction* o *Fertility and Sterility*, utilizando las siguientes palabras clave: “técnicas de reproducción asistida, resultados perinatales, infertilidad, FIV, ICSI, concepciones naturales, estimulación ovárica, blastocistos, transferencia embrionaria, criopreservación, transferencia de un único embrión, biopsia, epigenética” en diferentes combinaciones (por ejemplo: resultados perinatales tras técnicas de reproducción asistida; resultados perinatales tras la transferencia de embriones criopreservados; FIV clásica vs ICSI; efecto de la biopsia embrionaria sobre los

resultados perinatales; efecto de la estimulación ovárica sobre los resultados perinatales; etc.).

Como criterio de búsqueda se ha tenido en cuenta el prestigio de la revista científica en la que se publicó el artículo. Para ello se ha comprobado que la revista esté incluida en el primer o en el segundo cuartil de la lista de JCR: “*Journal Citation Reports*”. Además, al tratarse de un trabajo de revisión bibliográfica, el objetivo es actualizar la información disponible sobre el tema (los resultados perinatales obtenidos tras la realización de técnicas de reproducción asistida). Por ello, sólo se han escogido artículos que hayan sido publicados en los últimos 5 años, con la excepción de la publicación de Steptoe & Edwards (1978) que relata un hecho clave en el mundo de la reproducción asistida, el primer nacimiento tras TRA (Steptoe & Edwards, 1978). Finalmente, tras una primera búsqueda de revisiones generales sobre el tema, se escogieron algunos de los artículos citados en dichas revisiones, con el fin de obtener una visión más profunda de ciertos temas.

3. Resultados

3.1. Principales aspectos analizados sobre la salud de los niños nacidos tras TRA

Para analizar el efecto de las TRA, es indispensable contar con un buen registro de los nacimientos conseguidos en todo el mundo. Recogiendo mediciones en los recién nacidos y datos detallados de los ciclos de reproducción asistida llevados a cabo en cada caso, se puede estudiar la posible correlación existente entre las TRA utilizadas y los resultados adversos sobre la salud de los recién nacidos. Por ello, instituciones internacionales a nivel mundial como el ICMART (de sus siglas en inglés “*International Committee Monitoring Assisted Reproductive Technologies*”) o la ESHRE (de sus siglas en inglés “*European Society of Human Reproduction and Embryology*”) en Europa, recalcan la importancia de monitorizar los ciclos de reproducción asistida (Banker *et al.*, 2021; Chambers *et al.*, 2021; ESHRE, 2023).

Los estudios que analizan los resultados perinatales se basan en los datos recogidos durante el embarazo y en el momento del nacimiento. A pesar de que también se han encontrado resultados adversos sobre la salud de la madre que se somete a TRA (Berntsen *et al.*, 2019; Graham *et al.*, 2023), en este trabajo sólo se tratarán los aspectos que afectan al recién nacido. Y, aunque se preste más atención a los resultados perinatales, debido a la creciente preocupación acerca de los posibles efectos a largo plazo de las TRA sobre la descendencia, también se tratarán algunos resultados adversos que se han reportado a lo largo de la vida de personas que nacieron por estas técnicas (Berntsen *et al.*, 2019; Cavero-Ibiricu *et al.*, 2024; Graham *et al.*, 2023).

3.1.1. Resultados perinatales

Según la 11^a. Edición de la Clasificación Internacional de Enfermedades (CIE-11) de la OMS, el periodo perinatal es aquel que se inicia 22 semanas después de la fecundación y acaba 7 días después del parto (WHO, 2022). Para analizar los efectos a corto plazo de las TRA sobre la descendencia, los estudios revisan parámetros medidos en los recién nacidos tales como: edad gestacional, peso y tamaño al nacer, presencia de anomalías congénitas o defectos en el nacimiento, muerte perinatal e incidencia de mortinatos, y presencia de anomalías cromosómicas (Berntsen *et al.*, 2019; Graham *et al.*, 2023; Potiris *et al.*, 2024; Yuan *et al.*, 2022).

Edad gestacional

El nacimiento prematuro o pretérmino (PTB) es aquel que ocurre antes de las 37 semanas completas de gestación, concretamente antes de los 259 días (WHO, 2022). Cuando el nacimiento se produce antes de las 28 semanas completas de gestación (196 días) se considera un nacimiento extremadamente prematuro (EPTB, de sus siglas en inglés “*Extremely Preterm Birth*”) (WHO, 2022). Aunque estas sean las dos clasificaciones contempladas en la CIE-11 de la OMS, algunos artículos analizan la prematuridad en un punto intermedio. De esta manera, surge el concepto de nacimiento muy prematuro o prematuro temprano (VPTB, de sus siglas en inglés “*Very Preterm Birth*”) para referirse a

los nacimientos que ocurren antes de las 32 semanas de gestación (Berntsen *et al.*, 2019; Premru-Srsen *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2022).

La prematuridad es considerada una de las causas principales de morbimortalidad en neonatos y en niños menores de 5 años (Premru-Srsen *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2022). En comparación con los nacimientos a término, los PTB llevan asociadas una serie de complicaciones que pueden afectar a la salud del recién nacido, o incluso manifestarse en alteraciones en el desarrollo a largo plazo (Premru-Srsen *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2022). Aunque aún existe controversia (Potiris *et al.*, 2024; Wang *et al.*, 2022), muchos estudios han encontrado un mayor riesgo de PTB cuando el embarazo se ha conseguido mediante TRA (Berntsen *et al.*, 2019; Graham *et al.*, 2023; Potiris *et al.*, 2024; Premru-Srsen *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2022). Por lo que, según estos datos, las TRA estarían aumentando la incidencia de PTB y de las complicaciones asociadas. Habría que seguir investigando esta relación entre PTB y TRA, y en el caso de confirmarse, se debería mejorar el cuidado perinatal de los niños nacidos tras TRA para intentar minimizar el riesgo de complicaciones (Wang *et al.*, 2022).

Peso y tamaño al nacer

Otro de los parámetros importantes a medir en el recién nacido es el peso al nacer, ya que también se ha visto una relación entre el uso de TRA y alteraciones en el peso de los bebés (Landsverk *et al.*, 2023; Luke *et al.*, 2021; Potiris *et al.*, 2024). En este caso, la CIE-11 clasifica el peso al nacer como: bajo peso al nacer (LBW) cuando el niño nace con menos de 2500 g (entre 1500 y 2499 g); peso muy bajo al nacer (VLBW, de sus siglas en inglés “*Very Low Birth Weight*”) cuando pesa menos de 1500 g (entre 1000 y 1499 g); peso extremadamente bajo al nacer (ELBW, de sus siglas en inglés “*Extremely Low Birth Weight*”) cuando el peso es 999 g o menor, y macrosomía o peso elevado al nacer (HBW, de sus siglas en inglés “*High Birth Weight*”) cuando tiene un peso al nacer mayor de 4000 g (WHO, 2022).

Relacionando el peso de los recién nacidos con la edad gestacional surgen otros dos conceptos. Un recién nacido se considera grande para la edad gestacional (LGA, de sus siglas en inglés “*Large for Gestational Age*”) cuando su peso al nacer está por encima del percentil 90 para su edad gestacional, o cuando pesa entre 4000 y 4499 g a término, independientemente del periodo de gestación. Por el contrario, se considera pequeño para la edad gestacional (SGA, de sus siglas en inglés “*Small for Gestational Age*”) cuando el peso al nacer es inferior al percentil 10 para su edad gestacional (WHO, 2022). Además del peso, algunos estudios analizan la simetría y el tamaño de los recién nacidos midiendo la talla y la circunferencia de la cabeza. De esta manera, se puede estudiar si las TRA afectan al crecimiento fetal tanto en peso como en tamaño (Landsverk *et al.*, 2023).

Anomalías congénitas o defectos del nacimiento

Cuando un órgano, aparato o sistema no se desarrolla de manera correcta durante el periodo prenatal se producen anomalías congénitas, que son aquellos trastornos que afectan a la descendencia desde el nacimiento (WHO, 2022). Según la CIE-11, estas malformaciones congénitas pueden ser debidas a fallos en el desarrollo de un único aparato o sistema, o pueden ser múltiples, cuando varios aparatos o sistemas se ven implicados. Además, dentro de los defectos del nacimiento se pueden incluir las patologías producidas por alteraciones en los cromosomas, tanto en el número como en su estructura (anomalías cromosómicas) (WHO, 2022). A pesar de que la CIE-11 proporciona una lista de las diferentes anomalías congénitas que se pueden dar, no hace una clasificación que permita estudiarlas en función de la gravedad. Existen diferentes clasificaciones de los defectos del nacimiento (Berntsen *et al.*, 2019), pero la mayoría de los artículos revisados hacen simplemente una distinción entre los defectos que requieren cirugía para corregirlos (defectos mayores) y los que no la requieren (defectos menores) (Berntsen *et al.*, 2019; Luke *et al.*, 2021; Potiris *et al.*, 2024). Además, algunos de ellos tienen en cuenta si esos defectos están o no producidos por anomalías cromosómicas (Luke *et al.*, 2021; Luke *et al.*, 2022).

Aunque existen datos contradictorios, en la bibliografía se encuentra evidencia de que las TRA se relacionan con una mayor incidencia de anomalías congénitas en comparación con las SC (Berntsen *et al.*, 2019; Gullo *et al.*, 2023; Luke *et al.*, 2021; Potiris *et al.*, 2024). La controversia existente surge de la dificultad que supone establecer una relación directa entre los defectos del nacimiento y las TRA, y saber qué papel juega la infertilidad. Además, hay que tener en cuenta que los embarazos tras TRA se monitorizan de forma más exhaustiva que los naturales. Esto puede llevar a una detección de anomalías fetales en el diagnóstico prenatal de forma más efectiva en los embarazos tras TRA, lo que estaría sesgando los datos de estudio. Es decir, podría ser que no hubiera más incidencia de anomalías en los embarazos conseguidos por TRA, sino que al llevar un seguimiento más cercano de estas pacientes, es más común encontrar defectos (Berntsen *et al.*, 2019). A pesar de las dificultades, estudiar la implicación que pueden tener las TRA en los defectos del nacimiento es importante. Si se consiguiera establecer una relación entre las TRA y la aparición de diferentes anomalías congénitas, se podría elaborar un plan de actuación a seguir durante el periodo gestacional en los embarazos tras TRA (Gullo *et al.*, 2023). De esta manera se conseguiría llegar a tiempo e incluso podrían corregirse algunas de estas anomalías antes del nacimiento del niño.

Las anomalías más comúnmente encontradas tras TRA son los defectos cardíacos y las anomalías en el aparato genitourinario (especialmente de los varones) (Berntsen *et al.*, 2019; Gullo *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2024; Potiris *et al.*, 2024). Los defectos cardíacos congénitos (CHD, de sus siglas en inglés “*Congenital Heart Defects*”) se producen por malformaciones de los tabiques del corazón, de las válvulas y de los vasos sanguíneos, que dan lugar a problemas cardiovasculares a corto y largo plazo (Li *et al.*, 2024). Los CHD son los defectos congénitos más comunes en la población general y se ha visto que las TRA aumentan aún más la incidencia (Li *et al.*, 2024). Se ha reportado una mayor incidencia de CHD en general (sin distinguir entre las diferentes malformaciones incluidas en los CHD) tras TRA en comparación con las SC (Gullo *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2024). Pero como se ha mencionado anteriormente,

sólo los defectos congénitos mayores son los que requieren cirugía para corregirlos, y por tanto son los que más importancia clínica adquieren. Por lo que, para comprobar si las TRA realmente suponen un riesgo cardiovascular en la descendencia, se estudian los CHD mayores o severos y los menores por separado. Por una parte, se ha visto una mayor incidencia de CHD menores tras TRA en comparación con las SC (Gullo *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2024). Sin embargo, estas alteraciones menores no adquieren una importancia clínica que suponga una preocupación ya que no requieren medidas quirúrgicas o terapéuticas (Gullo *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2024). Por otra parte, la implicación de las TRA en los CHD mayores no está tan clara. En este caso existe una mayor controversia: hay autores que concluyen que la incidencia de CHD mayores es la misma en TRA y en SC, y otros que aseguran que las TRA aumentan la incidencia (Gullo *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2024). La conclusión es que, según la bibliografía disponible, las TRA aumentan el riesgo de CHD menores, que en principio no tienen importancia clínica, y que no hay mucha evidencia que relacione a las TRA con los defectos mayores. Teniendo en cuenta la importancia clínica de las CHD mayores, es necesario seguir investigando su relación con las TRA. En el caso de no encontrar una relación clara, el control gestacional que se ha propuesto anteriormente no tendría un beneficio claro en cuanto al estudio de defectos cardíacos. Es decir, no merecería la pena realizar un diagnóstico de CHD de todos los embarazos tras TRA, porque si no hay un riesgo de CHD mayores, lo único que se encontrarían serían CHD menores que no requieren tratamiento quirúrgico. Esto sólo aumentaría la preocupación de los progenitores (Gullo *et al.*, 2023).

En cuanto a las malformaciones genitourinarias, las TRA se han relacionado con una mayor incidencia de criptorquidia y de hipospadias en los varones (Berntsen *et al.*, 2019; Potiris *et al.*, 2024). La criptorquidia es una anomalía congénita de los genitales masculinos que supone la ausencia de uno o de los dos testículos en la bolsa escrotal (WHO, 2022). La mayor incidencia de criptorquidia en los varones nacidos tras TRA adquiere una gran importancia, ya que la presencia del testículo fuera de la bolsa escrotal se relaciona con cáncer

de testículo, además de con una disminución de la fertilidad (Berntsen *et al.*, 2019; Potiris *et al.*, 2024; WHO, 2022). Según la CIE-11, las hipospadias son anomalías congénitas de la uretra que cursan con una malformación de la uretra y con una localización anormal del meato urinario, que se posiciona en la cara inferior del pene (WHO, 2022). Se ha visto que el uso de TRA aumenta hasta 5 veces el riesgo de hipospadias en comparación con las SC (Berntsen *et al.*, 2019; Potiris *et al.*, 2024). Algunos autores mencionan que el mayor riesgo de hipospadias viene dado por la pauta de progesterona durante el embarazo, y que el uso de progesterona durante las TRA aumentaría este riesgo (Potiris *et al.*, 2024). Sin embargo, otros autores relacionan el mayor riesgo de hipospadias con el origen de los espermatozoides usados durante las TRA, siendo mayor el riesgo al usarse espermatozoides procedentes de biopsia de testículo (Berntsen *et al.*, 2019).

Hay que dejar claro que, aunque los CHD y las malformaciones genitourinarias en el varón son las anomalías congénitas más estudiadas tras el uso de TRA, eso no quiere decir que sean las únicas que se han relacionado con estas técnicas (Berntsen *et al.*, 2019; Luke *et al.*, 2021; Potiris *et al.*, 2024).

Anomalías cromosómicas

Las anomalías cromosómicas pueden ser heredadas o pueden generarse de forma espontánea (“*de novo*”) en la descendencia (Belva *et al.*, 2020). Al estar estudiando la implicación de las TRA en la salud de la descendencia, en este trabajo lo que interesa analizar es la tasa de aparición de anomalías cromosómicas *de novo* tras el uso de TRA. Esto es importante, ya que las anomalías cromosómicas pueden ser letales y son la principal causa de abortos y de fallos de gestación (Yuan *et al.*, 2022). Las anomalías cromosómicas pueden afectar tanto a los cromosomas autosómicos como a los sexuales, y a su vez pueden producir alteraciones en el número y/o en la estructura de los mismos (Belva *et al.*, 2020; Yuan *et al.*, 2022). Existen algunas anomalías cromosómicas compatibles con la vida, como son: las trisomías de los cromosomas 13 (síndrome de Patau), 18 (síndrome de Edwards) o 21 (síndrome

de Down) y algunas aneuploidías de los cromosomas sexuales, como el síndrome de Turner (45,X) o el síndrome de Klinefelter (47,XXY) (WHO, 2022; Yuan *et al.*, 2022). Sin embargo, aunque permiten la vida, estas alteraciones suponen una serie de complicaciones de diferente gravedad, llegando incluso a suponer la muerte de los recién nacidos poco después del parto (WHO, 2022; Yuan *et al.*, 2022). Teniendo esto en cuenta, surge la necesidad de conocer el efecto de las TRA sobre la aparición de anomalías cromosómicas *de novo*.

En diferentes estudios se ha encontrado una mayor incidencia de anomalías cromosómicas *de novo* en la descendencia concebida por TRA en comparación con las SC (Belva *et al.*, 2020; Berntsen *et al.*, 2019; Potiris *et al.*, 2024). Pero como en la mayoría de los resultados perinatales tras TRA mencionados, de nuevo hay controversia, ya que mientras algunos estudios muestran un mayor riesgo de anomalías cromosómicas tras TRA, otros aseguran que el riesgo aumenta mínimamente o incluso proponen que las TRA no están relacionadas con la aparición de anomalías cromosómicas *de novo* (Potiris *et al.*, 2024; Yuan *et al.*, 2022). En la revisión de Berntsen *et al.* (2019) se habla de una mayor incidencia de anomalías cromosómicas *de novo* en recién nacidos concebidos por TRA (1,6%), en comparación con la presente en la población general (0,5%). En este caso, se hace referencia concretamente a ciclos en los que la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI, de sus siglas en inglés "*Intracytoplasmic Sperm Injection*") fue la técnica de fertilización utilizada. Además, la incidencia aumenta cuando el progenitor tiene una baja concentración de espermatozoides (Berntsen *et al.*, 2019). Belva *et al.* (2020) estudiaron la incidencia de anomalías cromosómicas *de novo* en la descendencia obtenida tras ICSI. Según sus resultados, un 3,2% de los fetos analizados cuentan con anomalías cromosómicas *de novo*, lo que es superior al 0,45% que se obtiene en la población general. Entre las anomalías encontradas, la gran mayoría afectaban al número de cromosomas autosómicos, mientras que la tasa de anomalías de cromosomas sexuales era sólo del 0,5%, aun así, superior al 0,23-0,27% de la población general (Belva *et al.*, 2020). Pero a pesar del riesgo asociado a la ICSI, de nuevo entra en juego la infertilidad del

progenitor. Según Belva *et al.* (2020), una mala calidad seminal, concretamente una baja concentración o un recuento espermático por debajo de 10 millones, se asocia con un riesgo doble de aparición de anomalías cromosómicas *de novo* en la descendencia. Por ello, en parejas con factor masculino severo, se suele considerar el uso de PGT o la realización de test prenatal (Belva *et al.*, 2020). Relacionado con el PGT, en este mismo estudio aportan un dato muy interesante acerca de las anomalías cromosómicas heredadas. Este grupo, en su estudio de 2020, encontró una proporción de anomalías cromosómicas heredadas mucho más baja de la que obtuvieron en un estudio previo llevado a cabo en 2002 (Belva *et al.*, 2020). Esta disminución viene dada por la tendencia que se ha adquirido a lo largo de los años de hacer cariotipo y PGT para descartar embriones anómalos a las parejas que se someten a TRA. Es un ejemplo que pone de manifiesto la gran utilidad de las tecnologías de PGT, que en este caso han permitido disminuir la herencia de anomalías en el cariotipo de los progenitores a su descendencia.

Volviendo a las anomalías cromosómicas *de novo*, en un estudio más reciente, Yuan *et al.* (2022) comparan los resultados de pruebas prenatales realizados en fetos concebidos por TRA y por SC (Yuan *et al.*, 2022). En este caso no encuentran diferencias significativas en cuanto a la incidencia de anomalías cromosómicas *de novo* en el grupo TRA (6,75%) comparado con el grupo SC (6,16%). Sin embargo, cuando estudian la variable edad materna, se dan cuenta de que con una edad materna menor de 35 años, sí que hay una ligera mayor incidencia de anomalías *de novo* en el grupo TRA (6,20%) con respecto al grupo SC (4,54%). Pero cuando la edad materna es mayor de 35 años, ocurre todo lo contrario, el grupo SC tiene una mayor incidencia de anomalías *de novo* (9,60%) que el grupo TRA (7,55%), aunque en ambos casos las diferencias no son estadísticamente significativas (Yuan *et al.*, 2022). Al igual que en el estudio de Belva *et al.* (2020), las anomalías más encontradas fueron aneuploidías en los autosomas en ambos grupos, y llama la atención que la prevalencia de anomalías de cromosomas sexuales fue mayor en el grupo SC (41,77%) que en el grupo TRA (16,48%). La conclusión de este estudio es que

la incidencia de anomalías cromosómicas *de novo*, medidas por diagnóstico prenatal, no presenta diferencias estadísticamente significativas entre el uso de TRA o una SC. Lo que sí parece claro es la relación existente entre la edad materna y las anomalías cromosómicas, ya que en ambos grupos existe un claro aumento de anomalías cuando la edad materna es mayor de 35 años (Yuan *et al.*, 2022). A la vista de los resultados, aunque en el estudio de Yuan *et al.* (2022) no encuentren diferencias estadísticamente significativas, sí que se observa un ligero aumento de las anomalías cromosómicas *de novo* en el grupo TRA (Yuan *et al.*, 2022). Esto, junto con los resultados obtenidos en los otros artículos mencionados (Belva *et al.*, 2020; Berntsen *et al.*, 2019; Potiris *et al.*, 2024), parece mostrar una posible influencia de las TRA en la aparición de anomalías cromosómicas *de novo*. Lo que sí parece claro es que el mayor riesgo se asocia a ciclos de TRA en los que la ICSI ha sido la técnica de elección. El problema es saber si es la técnica como tal, la baja calidad seminal o patologías ocultas en el hombre (como por ejemplo mosaicismos) lo que hace que el riesgo tras ICSI se vea aumentado (Potiris *et al.*, 2024). Es necesario por tanto seguir investigando este aspecto de las TRA para, en caso de encontrarse relación, tomar medidas que permitan reducir al mínimo la concepción de niños con problemas cromosómicos. El consejo que se puede dar con los datos actuales es que en parejas con factor masculino severo o edad materna avanzada se debe aumentar el nivel de control. Esto incluiría: hacer a estas parejas cariotipo, proporcionar consejo genético con la posible opción de PGT y llevar a cabo una monitorización más cercana por el mayor riesgo asociado (Potiris *et al.*, 2024; Yuan *et al.*, 2022).

Muerte perinatal

El concepto de muerte perinatal incluye a los mortinatos (bebés que nacen sin vida) y a los bebés que nacen con vida, pero mueren durante el periodo neonatal (muerte neonatal) (Westvik-Johari *et al.*, 2023; Wong *et al.*, 2021). El periodo neonatal incluye los 28 días después del parto (WHO, 2022), sin embargo, algunos artículos analizan la muerte neonatal temprana, considerada

aquella que ocurre en los primeros 7 días de vida (Sarmon *et al.*, 2021). La pérdida de un bebé por muerte perinatal supone una experiencia traumática para la pareja, sobre todo en aquellos pacientes con infertilidad que habían depositado todas sus esperanzas en ese embarazo (Westvik-Johari *et al.*, 2023).

La muerte perinatal está relacionada con otras complicaciones perinatales ya mencionadas, como el PTB o la presencia de anomalías congénitas (Hamilton *et al.*, 2023; Westvik-Johari *et al.*, 2023). Por lo que, al igual que con dichas complicaciones perinatales, el aumento en el uso de las TRA en los últimos años ha aumentado la preocupación de los profesionales acerca de si estas técnicas también pueden estar relacionadas con un mayor riesgo de muerte perinatal. Desgraciadamente, varios estudios han encontrado una mayor incidencia de muerte perinatal, tanto de mortinatos como de muerte neonatal, tras el uso de TRA (Hamilton *et al.*, 2023; Sarmon *et al.*, 2021; Westvik-Johari *et al.*, 2023; Wong *et al.*, 2021). En el estudio de Westvik-Johari *et al.* (2023) comparan el riesgo de muerte neonatal y de mortinatos en parejas sometidas a TRA y en SC. Según sus resultados, los nacimientos tras TRA están sujetos a un mayor riesgo de PTB, lo que a su vez se asoció con un mayor riesgo de muerte neonatal. Sin embargo, en cuanto a la incidencia de mortinatos, no consiguieron establecer una relación clara, solamente vieron que parecía haber mayor riesgo si el nacimiento se daba entre las semanas 22-27 de gestación (EPTB). Es decir, el uso de TRA aumenta el riesgo de muerte neonatal como consecuencia de un aumento de los PTB, mientras que en el caso de los mortinatos, sólo hay un riesgo aumentado cuando el nacimiento se produce de forma extremadamente prematura (Westvik-Johari *et al.*, 2023). Teniendo en cuenta la relación existente entre el PTB y la muerte perinatal, Hamilton *et al.* (2023) llevaron a cabo un estudio para determinar cuál es la mejor semana para el parto en embarazos concebidos tras TRA. Para ello debían encontrar un equilibrio entre el riesgo de mortinato (muerte antes del parto) y el riesgo de problemas perinatales/muertes neonatales. Concluyen que el momento ideal para un parto tras TRA es en la semana 39 de gestación, siempre y cuando no haya otra indicación más que ser un embarazo conseguido tras TRA. El parto antes o después de esa semana se

asociaría con un mayor riesgo de resultados perinatales adversos (Hamilton *et al.*, 2023).

En el metaanálisis llevado a cabo por Wong *et al.* (2021) se muestra un mayor riesgo de mortinatos tras TRA en comparación con SC y con otros tratamientos de infertilidad no considerados “*in vitro*”, como son la inseminación intrauterina (IUI, de sus siglas en inglés “*Intrauterine Insemination*”) o los métodos de inducción de la ovulación/superovulación (OI, de sus siglas en inglés “*Ovulation Induction*”) en los que no se usa ninguna otra técnica adicional. En concreto, determinaron un aumento del riesgo de mortinato de 1-3 mortinatos más por cada 1000 nacimientos cuando se usan TRA en comparación a cuando no son utilizadas (Wong *et al.*, 2021). Sarmon *et al.* (2021) en su metaanálisis concluyen que el riesgo de mortinatos es mayor en parejas infértiles que se someten a TRA en comparación con parejas sanas que consiguen una gestación natural (Sarmon *et al.*, 2021). Con este estudio surge la pregunta que se viene repitiendo hasta ahora: ¿son las técnicas las que aumentan la incidencia de mortinatos, o es la infertilidad de los pacientes? En ese mismo estudio vieron que en mujeres infértiles que consiguieron un embarazo de forma espontánea, el riesgo de mortinatos también estaba aumentado en comparación con la población sana. Esto significa que podría ser la infertilidad y no la técnica lo que esté aumentando el riesgo, o lo más seguro, una combinación de las dos (Hamilton *et al.*, 2023; Sarmon *et al.*, 2021; Wong *et al.*, 2021). Sin embargo, aún no hay nada claro acerca de la implicación de la infertilidad en el riesgo de muerte perinatal. Para estudiar esto a fondo habría que analizar de forma individualizada los diferentes problemas de infertilidad existente para comprobar qué implicación tienen en el riesgo de muerte perinatal. Con esa información se podría proporcionar consejo preconcepcional personalizado a cada paciente y así establecer modos de actuación en función de las diferentes necesidades (Sarmon *et al.*, 2021).

Además del efecto desconocido de los diferentes tipos de infertilidad, existen otras limitaciones que complican el análisis de las muertes perinatales. Una de ellas es que hay diferentes modos para definir un mortinato. Algunos

artículos se basan en la edad gestacional y otros en el peso, incluso hay diferentes clasificaciones en cuanto a la edad gestacional, ya que algunas clasificaciones definen como mortinato aquel feto que muere entre la semana 20 de gestación y el parto (Sarmon *et al.*, 2021), mientras que otras como la OMS incluyen fetos con una edad gestacional mayor de 28 semanas que mueren antes del parto o durante el mismo (Wong *et al.*, 2021). Esto introduce un sesgo porque según el artículo estudiado, al tener en cuenta el peso o una semana de gestación u otra, se ha podido sobreestimar o subestimar el número total de mortinatos (Sarmon *et al.*, 2021; Wong *et al.*, 2021). Esto es otro ejemplo más de la complejidad existente en el estudio de los resultados tras TRA, de nuevo se demuestra que existe una gran heterogeneidad en los datos.

Tanto la elevada incidencia de muerte neonatal como de mortinatos implican tener en cuenta los eventos que ocurren durante el parto y los riesgos preparto, mientras que la muerte neonatal implica adicionalmente el cuidado neonatal temprano. Es decir, si realmente las TRA se relacionan con mayor incidencia de muerte perinatal, sería recomendable mejorar el cuidado preparto, durante el parto y durante el periodo neonatal en los embarazos conseguidos tras TRA (Wong *et al.*, 2021). La conclusión es que el riesgo de muerte perinatal debe incluirse en el conjunto de resultados perinatales adversos encontrados tras TRA. Esta información no debe hacer cambiar de opinión a las parejas que desean someterse a TRA, simplemente debe servir para reforzar la atención profesional al periodo perinatal con el objetivo de disminuir los resultados adversos y aumentar el número de nacidos vivos sanos.

3.1.2. Resultados a largo plazo

Al igual que con los resultados perinatales, el gran aumento en el uso de TRA también ha despertado en los profesionales la necesidad de investigar las posibles consecuencias que pueden tener estas técnicas en la salud de la descendencia a lo largo de la vida. Para estudiar los resultados a largo plazo, es necesario hacer un seguimiento de los nacidos por estas técnicas durante todas las etapas de la vida (Graham *et al.*, 2023; Laugesen *et al.*, 2023). El problema

es que este seguimiento es complejo, ya que depende de la disponibilidad de las personas estudiadas, y de otro aspecto muy importante como es la edad que posee actualmente la descendencia concebida por TRA (Berntsen *et al.*, 2019; Graham *et al.*, 2023; Laugesen *et al.*, 2023; Schroeder *et al.*, 2022). Al haberse conseguido el primer nacimiento por TRA en 1978, la modalidad de la reproducción asistida es todavía joven. Las personas con más edad nacidas por estas técnicas tienen en la actualidad menos de 50 años, y teniendo en cuenta que la explosión de las TRA ha ocurrido en los últimos 20 años, la mayoría se encuentran en la infancia o adolescencia temprana, lo que limita el estudio de sujetos adultos y ancianos (Graham *et al.*, 2023; Schroeder *et al.*, 2022). Ante la imposibilidad de conocer al completo los efectos a largo plazo de las TRA en humanos, se llevan a cabo investigaciones en animales que pueden proporcionar información extrapolable a las personas (Graham *et al.*, 2023). Por ejemplo, gracias a los estudios en animales, se ha podido comprobar que la manipulación de las células en el laboratorio durante los ciclos de TRA, inducen alteraciones metabólicas en el embrión que afectan al metabolismo de los lípidos y de la glucosa (Graham *et al.*, 2023). También se ha visto que hay cambios en los patrones de expresión de genes y que se altera el mecanismo de placentación. Una placenta anómala se ha relacionado con efectos a largo plazo de las TRA, incluyéndose alteraciones metabólicas y cardiovasculares de la descendencia (Graham *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2024; Schroeder *et al.*, 2022). La epigenética parece jugar un papel importante en todo esto. La manipulación de gametos y embriones *in vitro* induciría modificaciones epigenéticas, que podrían estar implicadas en el porvenir del embarazo y en los resultados a largo plazo de estas técnicas (Berntsen *et al.*, 2019; Caverio-Ibiricu *et al.*, 2024; Graham *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2024; Schroeder *et al.*, 2022).

En la bibliografía se pueden encontrar estudios que han analizado diferentes efectos a largo plazo que podrían ser relacionados con las TRA, como son: efectos neurológicos (Berntsen *et al.*, 2019; Carlsen *et al.*, 2023; Caverio-Ibiricu *et al.*, 2024; Graham *et al.*, 2023; Schroeder *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2021), efectos metabólicos y cardiovasculares (Berntsen *et al.*, 2019; Graham *et*

al., 2023; Laugesen *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2024; Potiris *et al.*, 2024; Schroeder *et al.*, 2022), posible riesgo de cáncer (Berntsen *et al.*, 2019; Luke *et al.*, 2022), y aunque haya poca información al respecto, también se han analizado los efectos sobre la salud reproductiva de la descendencia (Berntsen *et al.*, 2019; Schroeder *et al.*, 2022).

Efectos neurológicos

Las TRA se han relacionado con una mayor incidencia de alteraciones neurológicas, tales como: discapacidad intelectual, alteraciones del desarrollo cognitivo, autismo y parálisis cerebral (CP, de sus siglas en inglés “*Cerebral Palsy*”) (Berntsen *et al.*, 2019; Cavero-Ibiricu *et al.*, 2024; Graham *et al.*, 2023). Sin embargo, existen datos contradictorios en cuanto a la asociación de las TRA con las alteraciones en el desarrollo neurológico y con el autismo. Los estudios analizados no llegan a una conclusión clara. A pesar de ello, coinciden en que el mayor riesgo se asocia a las gestaciones múltiples, ya que cuando se analizan nacimientos únicos tras TRA, no hay diferencias significativas en comparación con las SC (Berntsen *et al.*, 2019; Graham *et al.*, 2023; Schroeder *et al.*, 2022).

La CP ha sido mucho más estudiada que los trastornos del neurodesarrollo o el autismo, y aunque sigue habiendo controversia, la información al respecto parece más esclarecedora (Berntsen *et al.*, 2019; Carlsen *et al.*, 2023; Cavero-Ibiricu *et al.*, 2024; Graham *et al.*, 2023; Wang *et al.*, 2021). La CP es un conjunto de trastornos que afectan al desarrollo motor, y que tienen como consecuencia una limitación de las actividades motoras y otras alteraciones asociadas (Carlsen *et al.*, 2023; Wang *et al.*, 2021). Se produce por un daño cerebral que ocurre en el cerebro en desarrollo y que no progresa a más. Las gestaciones múltiples, los PTB y las restricciones en el crecimiento intrauterino se postulan como principales factores de riesgo de CP (Carlsen *et al.*, 2023; Wang *et al.*, 2021). Como ya se ha discutido en este trabajo, las TRA están relacionadas con un mayor riesgo de alteraciones perinatales y de gestaciones múltiples, que a su vez aumentan el riesgo de CP. Por lo que en la bibliografía se encuentran datos que relacionan a las TRA con un mayor riesgo de CP (Berntsen *et al.*,

2019; Carlsen *et al.*, 2023; Cavero-Ibiricu *et al.*, 2024; Graham *et al.*, 2023; Wang *et al.*, 2021). Concretando aún más, el grupo de Cavero-Ibiricu *et al.* (2024) asegura que las alteraciones perinatales (como el PTB o el LBW) están menos relacionadas con la incidencia de CP que las prenatales (gestaciones múltiples o crecimiento intrauterino retardado), de hecho, el 75% de los casos de CP tendría una causa prenatal (Cavero-Ibiricu *et al.*, 2024). Según los resultados obtenidos en el estudio de Carlsen *et al.* (2023), la prevalencia de CP en niños noruegos nacidos tras TRA era el doble en comparación con niños nacidos tras SC, aunque el riesgo en general era bajo. El mayor riesgo era debido a la prevalencia de embarazos múltiples y de PTB, ya que, al estudiar nacimientos únicos a término, el riesgo de CP era el mismo para el grupo TRA y para el grupo de SC (Carlsen *et al.*, 2023). En el metaanálisis llevado a cabo por Wang *et al.* (2021) reportan un aumento del riesgo de CP tras TRA del 117% en comparación con las SC, aunque ese riesgo disminuye al 36% cuando sólo se estudian nacimientos únicos. De nuevo, el mayor riesgo se encuentra en gestaciones múltiples y en PTB (Wang *et al.*, 2021). De igual forma, Cavero-Ibiricu *et al.* (2024) reportan un riesgo aumentado del 48% de CP en nacimientos únicos concebidos tras TRA, y concluyen que las TRA no aumentan el riesgo de CP que va implícito en las gestaciones múltiples o en los PTB. Es decir, el riesgo de CP tras una gestación múltiple o un PTB es el mismo se hayan usado o no TRA (Cavero-Ibiricu *et al.*, 2024).

Queda claro por tanto que la mayor incidencia de CP tras TRA está debida mayoritariamente a la mayor incidencia de gestaciones múltiples y de PTB producida por estas técnicas. Pero ¿por qué en los nacimientos únicos a término también se puede ver un mayor riesgo de CP? Una posible explicación podría ser el síndrome del embrión o gemelo desaparecido (VTS, de sus siglas en inglés “*Vanishing Twin Syndrome*”) (Berntsen *et al.*, 2019; Cavero-Ibiricu *et al.*, 2024; Wang *et al.*, 2021). Este síndrome consiste en embarazos que comienzan siendo gemelares (múltiples), pero uno de los fetos desaparece y sólo queda el otro, que es el que acaba naciendo. Este evento es muy común en la reproducción asistida, ya que ocurre hasta en un 30% de los embarazos

concebidos tras TRA (Berntsen *et al.*, 2019; Cavero-Ibiricu *et al.*, 2024; Wang *et al.*, 2021). La pérdida de uno de los fetos hace que el superviviente esté expuesto a resultados perinatales adversos, que a su vez derivan en riesgo de CP (Cavero-Ibiricu *et al.*, 2024; Wang *et al.*, 2021). Los riesgos en el feto superviviente dependen del momento en el que desaparece el otro, de manera que se asocia un mayor riesgo perinatal y neuronal al VTS que ocurre en etapas más avanzadas del desarrollo, concretamente a partir de la semana 14 de gestación (Li *et al.*, 2020). Otra explicación del aumento del riesgo de CP en los nacimientos únicos es la contribución de la infertilidad (Carlsen *et al.*, 2023; Cavero-Ibiricu *et al.*, 2024; Wang *et al.*, 2021). Se ha demostrado que en parejas infértiles que consiguen concebir de forma natural sin el uso de TRA, el riesgo de CP sigue siendo mayor en comparación con la población sana. Sin embargo, el impacto de la infertilidad sigue siendo un tema controvertido que necesita más investigación (Wang *et al.*, 2021).

Tanto para disminuir el riesgo de complicaciones perinatales y obstétricas de las gestaciones múltiples, como para evitar el VTS, la estrategia más recomendada es la transferencia de un único embrión (SET, de sus siglas en inglés “*Single Embryo Transfer*”) (Carlsen *et al.*, 2023; Cavero-Ibiricu *et al.*, 2024; Graham *et al.*, 2023; Wang *et al.*, 2021). Aunque haya aumentado el uso de TRA en los últimos años, según el estudio de Carlsen *et al.* (2023), ha disminuido la incidencia de CP en los niños concebidos por estas técnicas (concretamente en Noruega). En el año 2002, la prevalencia de CP era de 7,79 por cada 1000 nacimientos, mientras que en el año 2015 baja a 3,55 por cada 1000 nacimientos (Carlsen *et al.*, 2023). Es decir, se ha observado una disminución en la incidencia de CP a lo largo del tiempo (Carlsen *et al.*, 2023; Cavero-Ibiricu *et al.*, 2024). Esto es una muestra de la evolución de las TRA, de la mejora de los cuidados perinatales y de lo importante que es la tendencia que ha hecho que en los últimos años se priorice la SET para evitar gestaciones múltiples y todos los riesgos asociados (Carlsen *et al.*, 2023; Graham *et al.*, 2023; Wang *et al.*, 2021). Tanto es así, que hay estudios que no han encontrado ningún caso de CP cuando se lleva a cabo SET (Wang *et al.*, 2021).

La conclusión es que los resultados relacionados con la salud neurológica de los nacidos tras TRA (a excepción de la CP, donde parece haber resultados más coherentes) son muy contradictorios. Sin embargo, en la mayoría de los casos el riesgo desaparece cuando se excluyen las gestaciones múltiples.

Efectos metabólicos y cardiovasculares

La programación fetal es un evento que ocurre durante el desarrollo fetal e influencia lo que ocurrirá durante el desarrollo postnatal y la vida adulta (Schroeder *et al.*, 2022). Durante el embarazo, la placenta está continuamente adaptándose a las diferentes situaciones que se puedan dar (como pueden ser alteraciones en los patrones de nutrición materna, tabaquismo o estrés) modificando el flujo sanguíneo al feto, la expresión de genes e incluso su perfil epigenético (Schroeder *et al.*, 2022). Estas adaptaciones de la placenta están a su vez modificando el ambiente fetal, de manera que el feto se ve expuesto tanto a los cambios en el ambiente como a las modificaciones que lleva a cabo la placenta para amortiguar esos cambios externos. Esto es la base de la teoría de Barker (“Orígenes del desarrollo de la salud y la enfermedad”). Según esta teoría, cambios en el microambiente uterino durante el embarazo y cambios en el ambiente durante la etapa postnatal, pueden resultar en efectos adversos a largo plazo en la vida adulta, sobre todo en forma de alteraciones metabólicas y cardiovasculares (Li *et al.*, 2024; Schroeder *et al.*, 2022; S. Zhang *et al.*, 2024). De igual forma, el ambiente en el que se encuentran los ovocitos y embriones en el periodo pregestacional también tendría consecuencias a largo plazo en la descendencia (Li *et al.*, 2024; S. Zhang *et al.*, 2024). Las TRA actúan tanto en la etapa pregestacional (manipulación de células en el laboratorio), como en la etapa gestacional debido al estrés que suponen estos procedimientos en la mujer gestante (Li *et al.*, 2024; Schroeder *et al.*, 2022). Teniendo todo esto en cuenta, cabe esperar que las TRA, a través de los mecanismos de reprogramación embrionaria y fetal mencionados, tengan consecuencia sobre la salud cardiovascular y metabólica a largo plazo de la descendencia. Sin embargo, los datos son muy limitados, ya que como se ha mencionado anteriormente, hay pocos sujetos que permitan estudiar el efecto de las TRA

sobre la edad adulta (Berntsen *et al.*, 2019; Graham *et al.*, 2023). Además, es difícil saber si el efecto es producido por las técnicas o por la causa de infertilidad que llevó a la pareja a someterse a reproducción asistida (Laugesen *et al.*, 2023).

Con los datos recogidos durante la infancia y la adolescencia, se ha reportado un incremento de la presión sanguínea, altos niveles de glucosa y triglicéridos en sangre, y un aumento de la grasa corporal en los niños nacidos tras TRA en comparación con las SC (Berntsen *et al.*, 2019; Potiris *et al.*, 2024). Sin embargo, no parece haber cambios en el índice de masa corporal ni en los niveles de lipoproteína de baja densidad, de colesterol o de insulina (Berntsen *et al.*, 2019). El estudio de Laugesen *et al.* (2023) también concluye que las TRA no afectan al índice de masa corporal, en este caso comparando niños entre 5 y 8 años, concebidos tras TRA y mediante técnicas que no suponen manejo *in vitro* de células como la OI, con o sin IUI (Laugesen *et al.*, 2023). Utilizando los pocos datos disponibles de la salud en la adolescencia y en la vida adulta temprana, Schroeder *et al.* (2022) sugieren que los efectos adversos descritos en la infancia, como el mayor riesgo de presión sanguínea elevada, podrían ser transitorios. Esto quiere decir que, aunque se haya visto mayor riesgo cardiovascular en los niños nacidos tras TRA, esos problemas desaparecerían al llegar a la edad adulta (Schroeder *et al.*, 2022). De forma contradictoria, otros artículos sugieren que un perfil metabólico alterado en la infancia puede dar lugar a un índice de masa corporal aumentado y a problemas cardiovasculares en la edad adulta (Potiris *et al.*, 2024). Así, las alteraciones metabólicas como la obesidad, la diabetes o la dislipemia funcionarían como factores de riesgo cardiovascular (Li *et al.*, 2024). Se ha visto que la descendencia de TRA tiene mayor riesgo de alteración del metabolismo de la glucosa y mayores niveles de colesterol. Aunque esto depende de la edad ya que, al alcanzar la adolescencia, se ha reportado un aumento de los triglicéridos y una disminución de los niveles de lipoproteína de alta densidad (Li *et al.*, 2024). Los altos niveles de triglicéridos son un factor de riesgo cardiovascular a largo plazo, lo que significa que la descendencia de TRA estaría sometida a un mayor riesgo cardiovascular a

mayores edades. Por lo que, según Li *et al.* (2024), todas las alteraciones metabólicas que se observan en la infancia de los nacidos tras TRA podrían ser indicadores de un riesgo cardiovascular en el futuro (Li *et al.*, 2024). Esto vuelve a contradecir la teoría de Schroeder *et al.* (2022), que sugieren que los efectos adversos reportados en la infancia son transitorios y no se manifiestan en la edad adulta (Schroeder *et al.*, 2022). Por lo que queda demostrado que las enfermedades cardiovasculares son complejas y tienen un origen multifactorial. Teniendo esto en cuenta, la acción conjunta de un ambiente uterino alterado, resultados perinatales adversos y los defectos metabólicos, todos ellos exacerbados por las TRA, podría estar indicando un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular tras TRA (Li *et al.*, 2024). Todavía queda por dilucidar cuáles son los mecanismos que hacen que las TRA aumenten todos estos resultados adversos. La epigenética se postula como uno de los mecanismos principales implicados en esa reprogramación embrionaria y fetal que se manifiesta en la vida postnatal. Pero es necesario seguir investigando porque todavía no hay nada claro (Li *et al.*, 2024).

Como se puede comprobar, no hay una respuesta clara en la bibliografía que permita establecer una relación reproducible entre las TRA y las alteraciones cardíacas y metabólicas. El mayor problema es que hay pocos datos de adultos con los que trabajar y no se conocen los efectos que tienen los diferentes tipos de infertilidad, de manera que lo poco que se sabe es que parece haber un incremento de la presión sanguínea y alteraciones en el perfil metabólico y en la función cardiovascular (Berntsen *et al.*, 2019; Laugesen *et al.*, 2023; Potiris *et al.*, 2024). La conclusión es que todos estos resultados a largo plazo sobre la salud cardiovascular y metabólica sólo serán mejor definidos en el futuro, cuando la descendencia concebida por TRA adquiera edades mayores y puedan ser estudiados (Graham *et al.*, 2023).

Cáncer

Algunos estudios han relacionado las TRA con un mayor riesgo de cáncer infantil. Sin embargo, existen datos muy contradictorios: mientras algunos

estudios reportan que existe un mayor riesgo de cualquier tipo de cáncer tras TRA, otros dicen que no hay riesgo en general, sino de ciertos tipos concretos de cánceres (Berntsen *et al.*, 2019; Graham *et al.*, 2023; S. Zhang *et al.*, 2024). Por ejemplo, en el estudio de Hargreave *et al.* (2019), en el que estudiaron la incidencia de cáncer infantil en niños daneses nacidos por TRA, no encontraron una asociación significativa entre el uso de TRA y un mayor riesgo de cáncer en general. Sin embargo, cuando estudiaban la criotransferencia de embriones tras ciclos de congelación-descongelación (FET, de sus siglas en inglés “*Frozen Embryo Transfer*”), sí que vieron un mayor riesgo estadísticamente significativo de ciertos tipos concretos de cánceres, como leucemia o tumores del sistema nervioso simpático (Hargreave *et al.*, 2019). Por otro lado, hay estudios que aseguran que no hay mayor riesgo de cáncer (Berntsen *et al.*, 2019; Graham *et al.*, 2023; Luke *et al.*, 2022; S. Zhang *et al.*, 2024). Pero en estos artículos que no relacionan las TRA con un mayor riesgo de cáncer, ese riesgo ha sido medido en general, mientras que lo más apropiado sería hacer estudios sobre tipos específicos de cánceres, para ver si realmente existe un riesgo aumentado o no (Berntsen *et al.*, 2019). Por otro lado, los resultados perinatales adversos y los defectos de nacimiento se relacionan con un mayor riesgo de cáncer (Luke *et al.*, 2022; S. Zhang *et al.*, 2024). Por lo que el riesgo de cáncer viene determinado por el tratamiento de fertilidad utilizado, pero también viene determinado por la presencia de defectos del nacimiento. Esta información es importante porque revela que los niños con defectos de nacimiento, hayan sido concebidos por TRA o de manera natural, tienen aumentado el riesgo de padecer cáncer en algún momento de su vida. Esto hay que tenerlo en cuenta para ofrecer un seguimiento más cercano a estas personas que nacieron con algún defecto (Luke *et al.*, 2022).

Según todo esto, parece haber cierta seguridad en el uso de TRA en cuanto a riesgo de cáncer, aunque hay artículos que han encontrado un mayor riesgo tras el uso de FET (Hargreave *et al.*, 2019; S. Zhang *et al.*, 2024). Para arrojar más luz sobre este tema, habría que centrar el estudio sobre tipos concretos de cánceres más que hacer un análisis general, y hay que analizar el

riesgo de cáncer en etapas más avanzadas de la vida, aunque esto último sólo será posible en un futuro cuando los niños concebidos por TRA alcancen la edad adulta.

Efectos sobre la salud reproductiva

En los últimos años ha surgido la preocupación de saber si las TRA afectarán a la capacidad reproductiva de la descendencia. Hay muy poca información sobre este aspecto, teniendo en cuenta que la mayoría de los niños tras TRA aún no han alcanzado la edad reproductiva (Berntsen *et al.*, 2019; S. Zhang *et al.*, 2024). Utilizando los datos disponibles, se ha observado una mayor incidencia de microdeleciones del cromosoma Y en varones concebidos tras TRA en comparación con las SC (S. Zhang *et al.*, 2024). También se ha reportado menor recuento, concentración y movilidad espermática total en varones concebidos tras ICSI, lo que indica una menor calidad seminal en comparación con la población general (Berntsen *et al.*, 2019; Schroeder *et al.*, 2022; S. Zhang *et al.*, 2024). A pesar de ello, los niveles de hormonas sexuales eran iguales en el grupo TRA y en el grupo SC (Berntsen *et al.*, 2019; S. Zhang *et al.*, 2024). En cuanto a las mujeres concebidas tras TRA, con los datos disponibles hasta ahora, no se han encontrado diferencias con respecto a las nacidas por SC (Berntsen *et al.*, 2019; S. Zhang *et al.*, 2024). Encontrándose un recuento de folículos antrales y niveles en sangre de hormona antimülleriana (AMH, de sus siglas en inglés “*Anti-Müllerian Hormone*”), hormona luteinizante (LH, de sus siglas en inglés “*Luteinizing Hormone*”) y hormona folículo estimulante (FSH, de sus siglas en inglés “*Follicle-Stimulating Hormone*”) similares (Berntsen *et al.*, 2019). Algunos estudios tratan de determinar si hay diferencias en la edad de la menarquia, pero los resultados son muy contradictorios (Schroeder *et al.*, 2022; S. Zhang *et al.*, 2024). Con la información disponible, lo más preocupante que se ha reportado es la disminución en la calidad seminal de la descendencia concebida tras ICSI. Aun así, es necesario seguir investigando la salud reproductiva de la descendencia porque no hay ninguna conclusión clara hasta el momento.

Estudiar los efectos a largo plazo de las TRA es importante ya que, si se conocen, se pueden tratar y prevenir, evitando enfermedades que se desarrollarán en edades más avanzadas (Schroeder *et al.*, 2022). Sin embargo, como se puede comprobar con la información recogida en este apartado, con los datos disponibles en la actualidad es difícil establecer la influencia de las TRA en esos efectos a largo plazo. Es por ello que este aspecto es uno de los retos a futuro en las investigaciones de TRA.

3.2. Efecto de las diferentes metodologías TRA sobre la descendencia

A pesar de lo importante que es tener un buen registro de todos los parámetros perinatales medidos en el recién nacido, estos datos por sí solos no proporcionan demasiada información. Los ciclos de reproducción asistida incluyen una gran variedad de técnicas, de manera que, en función de los problemas de infertilidad de cada pareja, hay que saber elegir los procedimientos idóneos para cada caso (Graham *et al.*, 2023). Para estudiar los efectos que pueden tener las TRA sobre la descendencia, lo interesante sería analizar los resultados perinatales o a largo plazo, en función de las técnicas que se han llevado a cabo en cada uno de los casos. De esta forma, habría que tener un registro (Chambers *et al.*, 2021) donde se especifiquen: todos y cada uno de los procedimientos llevados a cabo durante un ciclo de reproducción asistida, qué problemas de infertilidad de la madre o el padre han llevado a la pareja a acudir a la consulta de reproducción, información de la mujer gestante y de la pareja (edad, etnia, tiempo de infertilidad, hábitos de vida (tabaquismo, consumo de alcohol, trabajo...)) (Wang *et al.*, 2022) y por último, los datos perinatales del recién nacido y cualquier efecto adverso sobre la salud observado a lo largo de la vida de la persona (Adeleye *et al.*, 2023). Sólo de esta manera se puede obtener la información completa de un ciclo de reproducción asistida, lo que permite estudiar de forma más exacta qué efectos específicos tienen cada uno de los procedimientos TRA sobre la salud de la descendencia.

Un ciclo de reproducción asistida consta de una serie de pasos que se llevan a cabo de forma secuencial (Graham *et al.*, 2023). En el momento en el que una pareja acude a una consulta de reproducción asistida, el primer paso sería hacer un análisis físico, psicológico y de la historia clínica personal de ambos miembros de la pareja. Dependiendo de la causa de infertilidad encontrada, se decide el procedimiento a seguir (Graham *et al.*, 2023). Las dos opciones serían la IUI (con o sin OI) o la FIV, que a su vez incluye la FIV clásica (FIV-c) y la ICSI (Lai *et al.*, 2024). Cuando la mujer es menor de 40 años y hay buen pronóstico, se puede intentar primero la IUI, que no implica manejo de embriones *in vitro*. Si no hay éxito, la siguiente opción sería la FIV (Carson & Kallen, 2021; Graham *et al.*, 2023), aunque hay artículos que discuten si es mejor

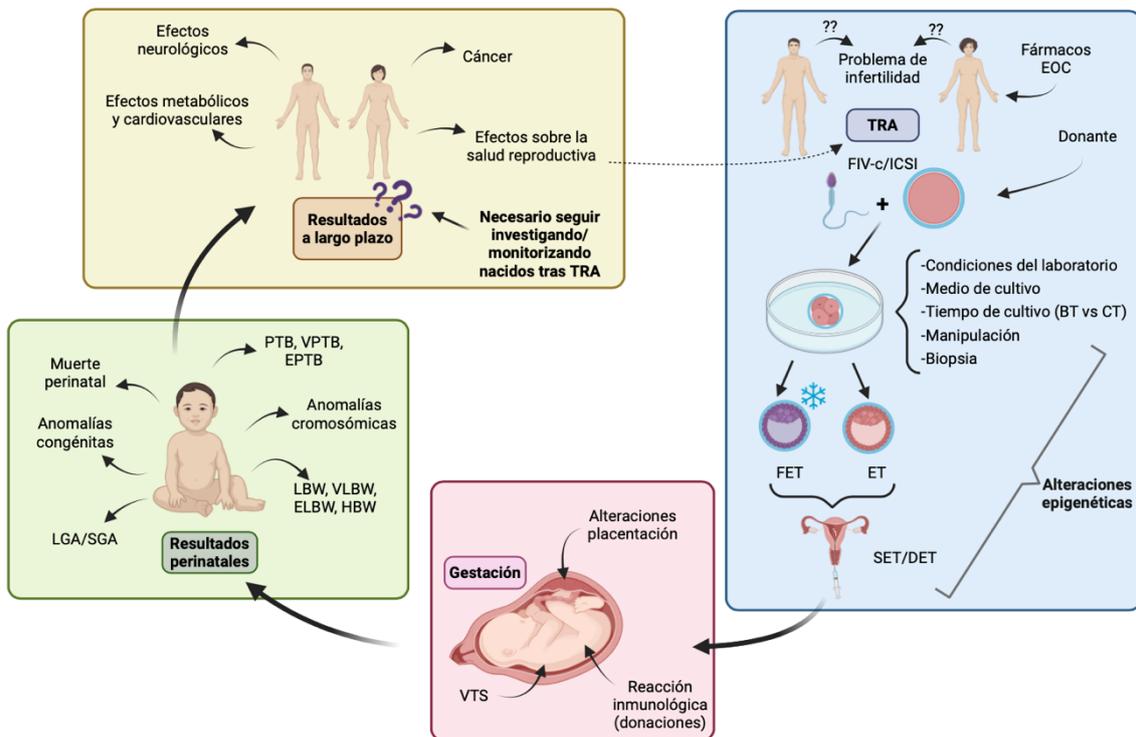


Figura 1. Efecto de las TRA sobre los resultados perinatales y a largo plazo encontrados en la descendencia. Los cuadros de colores muestran cada una de las fases que debe atravesar la descendencia concebida por reproducción asistida. Se puede comprobar como los procedimientos llevados a cabo en las TRA tienen consecuencias tanto durante la gestación como en la vida postnatal a corto y largo plazo. Figura propia elaborada con *BioRender*.

probar la IUI primero o empezar directamente con una FIV (Chiu *et al.*, 2022; Lai *et al.*, 2024). Las técnicas de OI, de IUI y los fármacos utilizados para mejorar la fertilidad no son considerados TRA, porque no suponen manejo de embriones en el laboratorio (Wang *et al.*, 2022; Wong *et al.*, 2021). Se ha visto que estos procedimientos se relacionan con una menor calidad de los embriones, sin embargo, los resultados sobre la salud tras el uso de estas técnicas no han sido tan estudiados como los efectos que tienen las técnicas *in vitro* (Wang *et al.*, 2022). Por ello, este trabajo se centrará en discutir el efecto que tiene cada uno de los pasos de un procedimiento de FIV sobre la salud de la descendencia (**Figura 1**), haciendo énfasis en los resultados perinatales.

3.2.1. Efecto de la estimulación ovárica

Los ciclos de FIV comienzan con una estimulación ovárica controlada (EOC) seguida de la aspiración de múltiples folículos ováricos mediante punción folicular (Carson & Kallen, 2021; Graham *et al.*, 2023). La EOC es un tratamiento farmacológico que induce el crecimiento de los folículos ováricos (Carson & Kallen, 2021; Graham *et al.*, 2023). Se puede hacer una estimulación suave, para inducir el crecimiento de un solo folículo, con el objetivo de facilitar la fecundación mediante relaciones programadas o IUI (Carson & Kallen, 2021). Pero lo más común es la realización de una estimulación para FIV, que tiene como objetivo inducir el crecimiento del mayor número de folículos posible para la obtención de múltiples ovocitos mediante punción folicular (Carson & Kallen, 2021; Graham *et al.*, 2023).

El tratamiento farmacológico para la EOC puede realizarse mediante citrato de clomifeno, inhibidores de aromatasa, gonadotropinas o todos ellos en distintas combinaciones. El objetivo es manipular los niveles fisiológicos de las hormonas implicadas en el ciclo menstrual para favorecer el crecimiento folicular en el ovario (Carson & Kallen, 2021). De esta manera, tanto el citrato de clomifeno como los inhibidores de aromatasa disminuyen el efecto inhibitorio de los estrógenos sobre el eje hipotálamo-hipófisis. Esto se traduce en un aumento de la frecuencia de pulsos de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH, de

sus siglas en inglés “*Gonadotropin-Releasing Hormone*”), lo que a su vez induce la producción de LH y FSH sobre la hipófisis, y son estas hormonas las que actúan sobre los folículos ováricos promoviendo su desarrollo (Carson & Kallen, 2021). Cuando hay un problema en el eje hipotálamo-hipófisis, las hormonas (GnRH, LH o FSH) se administran de forma exógena para suplir la función del eje (Carson & Kallen, 2021). En el momento en el que los folículos alcanzan el tamaño correcto, se utilizan fármacos inductores de la ovulación para promover la maduración ovocitaria final, con el objetivo de que los ovocitos recogidos en la punción estén en un estado de maduración que permita la fecundación.

La EOC se ha relacionado con una mayor incidencia de LBW (Berntsen *et al.*, 2019; Pontesilli *et al.*, 2021; Wessel *et al.*, 2021). Estudiar el efecto individual de la EOC sobre la descendencia es complicado, porque hay que tener en cuenta el efecto de la infertilidad y de las manipulaciones *in vitro* que se llevarán a cabo una vez los ovocitos sean aspirados tras la punción. Para estudiar el efecto de la EOC sobre los resultados perinatales, lo ideal sería comparar niños que han nacido tras un ciclo de EOC, con niños que han nacido mediante SC, todo ello en parejas con infertilidad de origen desconocido (Wessel *et al.*, 2021). Partiendo de esta idea, Wessel *et al.* (2021) comparaban nacimientos procedentes de parejas infértiles conseguidos mediante EOC+IUI con nacimientos concebidos de manera natural, para ver qué efecto tenía la EOC sobre la descendencia. Como se ha mencionado anteriormente, no se ha demostrado que la IUI tenga efecto sobre los resultados perinatales, porque no hay manipulación de embriones en el laboratorio. Es por ello que utilizan esta técnica para inseminar al grupo EOC, porque los resultados perinatales observados se deberán exclusivamente al tratamiento farmacológico de estimulación y no a las técnicas llevadas a cabo en el laboratorio (Wessel *et al.*, 2021). Además, como en todos los casos son parejas infértiles, también se demuestra que los resultados obtenidos se deben a la técnica utilizada, en este caso a la EOC y no a la infertilidad (Wessel *et al.*, 2021). También comparaban recién nacidos únicos obtenidos tras ciclos de FIV con estimulación monofolicular y de ciclos de FIV con estimulación multifolicular (ambas seguidas

de SET), con las SC (Wessel *et al.*, 2021). Para las IUI, llevaron a cabo dos tipos de estimulación, una con FSH y otra con citrato de clomifeno. Encontraron un menor peso al nacer estadísticamente significativo entre el grupo EOC+IUI (tanto para FSH como para citrato de clomifeno) y las SC, mientras que ambos grupos FIV tenían los mismos resultados de peso al nacer que las SC. Al contrario, encontraron un número significativamente menor de niños con HBW tras IUI+FSH (6,7%) o IUI+citrato de clomifeno (5,5%) en comparación con las SC (15,2%). Por lo que el uso de EOC aumentaba el número de niños con LBW y disminuía la incidencia de HBW (Wessel *et al.*, 2021).

Varios artículos demuestran que el efecto que tienen los diferentes fármacos que se utilizan para la EOC sobre los resultados perinatales es el mismo, es decir, no hay diferencias en la incidencia de PTB o LBW al usarse FSH de larga duración o FSH diaria, ni al usarse FSH o citrato de clomifeno (Berntsen *et al.*, 2019; Wessel *et al.*, 2021). Lo que sí se ha visto es que los fármacos utilizados para la EOC dan lugar a niveles suprafisiológicos de estrógenos que podrían estar relacionados con los resultados perinatales adversos (Berntsen *et al.*, 2019; Pontesilli *et al.*, 2021; Ran *et al.*, 2022; Wessel *et al.*, 2021). De hecho, los altos niveles de estrógenos se han relacionado con una mayor incidencia de LBW y SGA (Pontesilli *et al.*, 2021; Ran *et al.*, 2022). Aunque no está claro el mecanismo que relaciona las alteraciones en el peso con la EOC, esto podría deberse al efecto endocrino que ejercen los estrógenos sobre el endometrio, lo que a su vez repercutirá en la implantación embrionaria, en la angiogénesis y en la placentación (Pontesilli *et al.*, 2021; Wessel *et al.*, 2021). Sin embargo, según el estudio de Wessel *et al.* (2021), los niveles de estradiol en el grupo FIV con desarrollo multifolicular serían más elevados, y sin embargo en estos casos no se observó mayor incidencia de LBW, por lo que el efecto de los niveles de estradiol sobre el endometrio y el peso al nacer son sólo una teoría (Wessel *et al.*, 2021). Otra posible explicación es la teoría del gemelo desaparecido (VTS) (Wessel *et al.*, 2021). Si la estimulación durante la IUI no está bien controlada, puede dar lugar a un embarazo gemelar por un desarrollo de dos folículos en vez de un desarrollo de un único folículo. Si uno de los dos fetos

desaparece durante el embarazo, el otro queda expuesto a un mayor riesgo de LBW y PTB, cosa que no ocurriría en un ciclo de FIV con SET (Berntsen *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020; Wessel *et al.*, 2021). Esto explicaría por qué se encuentra un mayor riesgo de LBW tras EOC+IUI en comparación con los ciclos de FIV, en los que se llevó a cabo SET disminuyendo al mínimo la posibilidad de gemelos.

Por otro lado, se ha visto que el número de ovocitos que se recuperan tras la punción folicular también puede estar relacionado con resultados perinatales adversos (Berntsen *et al.*, 2019; Pontesilli *et al.*, 2021). Así, cuando se recogen más de 20 ovocitos (lo que se considera una respuesta ovárica excesiva debido a la EOC), el riesgo de PTB y LBW se encuentra aumentado. Sin embargo, estos resultados son comprometidos, ya que otros artículos no han encontrado relación entre el número de ovocitos conseguidos tras punción y la aparición de resultados perinatales adversos (Berntsen *et al.*, 2019; Pontesilli *et al.*, 2021). En el estudio de Pontesilli *et al.* (2021) concluyen que el número de ovocitos recuperados tras realizar una EOC no se relaciona con un mayor riesgo de PTB o de ser SGA. Sin embargo, la recuperación de un alto número de ovocitos sí que tiene un efecto negativo sobre el peso del recién nacido, concretamente aumentando el riesgo de LBW (Pontesilli *et al.*, 2021).

Se ha visto que hay diferencias en los niveles de factores de crecimiento y de sus proteínas de unión en el líquido folicular dependiendo del tipo de análogo de GnRH usado durante la EOC. Todavía no se sabe si estas alteraciones en el microambiente de los ovocitos podrían estar relacionadas con la mayor incidencia de LBW tras la EOC (Pontesilli *et al.*, 2021). Pero lo que sí se ha reportado por diferentes estudios es que esas fluctuaciones del microambiente folicular inducen modificaciones epigenéticas en el ovocito que determinarán el porvenir del futuro embrión e incluso podrán manifestarse durante la vida postnatal (Graham *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2024; Pontesilli *et al.*, 2021).

Una de las pocas complicaciones que se pueden dar durante los ciclos de reproducción asistida es el síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO). Este puede ocurrir en mujeres que se someten a una EOC, ya que el principal factor

relacionado con el inicio del SHO es la gonadotropina coriónica humana utilizada para la inducción de la ovulación (Ran *et al.*, 2022; Schirmer *et al.*, 2020). El SHO cursa con una gran variedad de síntomas relacionados con la acumulación de exudado extravascular, que tendrán más o menos consecuencias sobre la salud de la mujer en función de la gravedad (Ran *et al.*, 2022; Schirmer *et al.*, 2020). Al ser una complicación de las TRA, se ha querido estudiar cual puede ser el efecto de este SHO sobre los resultados perinatales. Según el estudio de Ran *et al.* (2022), los resultados perinatales de nacimientos únicos cuyas madres han pasado por un SHO son similares a pacientes que no han sufrido el síndrome (Ran *et al.*, 2022). Por su parte, Schirmer *et al.* (2020) en su estudio encontraron un riesgo aumentado de PTB y LBW en mujeres que sufrían un SHO, aunque concluían que ese aumento no era clínicamente significativo. Sin embargo, al estudiar el efecto del síndrome sobre los embarazos múltiples, sí que vieron un efecto significativo sobre los PTB y el peso al nacer. Según sus resultados, en los embarazos gemelares de mujeres que habían sufrido SHO, el momento del parto se adelantaba una media de 1 semana en comparación con los embarazos de mujeres que no habían pasado por SHO. Por lo que el SHO sí que tendría un efecto significativo sobre los PTB y el peso al nacer cuando se habla de embarazos múltiples (Schirmer *et al.*, 2020).

A la vista de los resultados se puede concluir que los fármacos utilizados para la EOC pueden influir en los resultados perinatales obtenidos tras TRA. La mayoría de los estudios analizados reportan una alteración en el peso de los recién nacidos tras el uso de EOC, dando lugar a nacimientos con LBW. Sin embargo, no están claros los mecanismos que relacionan la EOC con el LBW.

3.2.2. FIV clásica vs ICSI

Los ovocitos recuperados en el proceso de punción folicular pueden ser fecundados en el laboratorio mediante dos técnicas: la FIV-c o la ICSI (Berntsen *et al.*, 2019; Carson & Kallen, 2021; Graham *et al.*, 2023). La FIV-c consiste en cultivar a los ovocitos maduros en una placa de Petri con una concentración

determinada de espermatozoides para que ocurra la fecundación (Graham *et al.*, 2023). La ICSI es un procedimiento más invasivo, en el que se utiliza un microinyector para insertar un único espermatozoide en el citoplasma de un ovocito maduro (Graham *et al.*, 2023). Inicialmente, la ICSI comenzó a utilizarse para el tratamiento del factor masculino severo, en casos en los que la calidad espermática no permitía realizar FIV-c porque los espermatozoides por sí solos no tenían la capacidad de fecundar al ovocito (Liu *et al.*, 2020). Sin embargo, en los últimos años ha aumentado el uso de la ICSI para cualquier ciclo, tanto es así que el 73% de los ciclos de reproducción asistida en todo el mundo llevan a cabo la fecundación por ICSI, frente a un 27% que usan la FIV-c (Berntsen *et al.*, 2019; ESHRE, 2023). Debido al uso tan extendido de la ICSI y a la invasividad del procedimiento, ha aumentado la preocupación acerca de si la ICSI es una técnica segura para la descendencia (Berntsen *et al.*, 2019; Graham *et al.*, 2023). Hay que tener en cuenta que en esta técnica el espermatozoide que va a fecundar al ovocito es elegido por el embriólogo, en función a criterios subjetivos como la morfología o la movilidad del espermatozoide. Además, es una técnica en la que se penetra la zona pelúcida y la membrana del ovocito para insertar al espermatozoide en el citoplasma. Por todo esto, han surgido dudas sobre la seguridad de la técnica y hay controversia sobre si realmente es beneficioso el uso de la ICSI sobre la FIV-c en ciclos en los que no existe un factor masculino severo (Berntsen *et al.*, 2019; Graham *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2020).

Al analizar los resultados perinatales (edad gestacional, PTB, VPTB, LBW o muerte perinatal) tras FIV-c e ICSI, los estudios concluyen que el riesgo de resultados adversos es similar para las dos técnicas y que incluso puede llegar a ser menor para la ICSI en algunos aspectos concretos (Berntsen *et al.*, 2019; Cutting *et al.*, 2023; Wennerholm & Bergh, 2020; N. Zhang *et al.*, 2024). Liu *et al.* (2020) reportaron una tasa de nacido vivo similar para ICSI y FIV-c. No encontraron una diferencia significativa en la tasa de PTB, en el peso al nacer o en las medidas del recién nacido, y la media de edad gestacional en el momento del parto también era muy similar entre ambas técnicas (Liu *et al.*, 2020). Lo que sí se ha visto es que la ICSI se relaciona con un menor riesgo de admisión de

los recién nacidos en las unidades de cuidados neonatales intensivos en comparación con la FIV-c, en parejas con factor masculino severo. Una posible explicación es que la ICSI evita tener en contacto al ovocito con una gran cantidad de espermatozoides que producen especies reactivas de oxígeno y pueden dañar al embrión (Liu *et al.*, 2020). Según el metaanálisis realizado por Cutting *et al.* (2023) el riesgo de PTB es similar en ambas técnicas, lo que coincide con el estudio de Liu *et al.* (2020) (Cutting *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2020). Adicionalmente, N. Zhang *et al.* (2024) al igual que Liu *et al.* (2020), no encontraron diferencias en el peso al nacer (Liu *et al.*, 2020; N. Zhang *et al.*, 2024). Algunos estudios han reportado un menor riesgo de PTB tras ICSI en comparación con la FIV-c (Wennerholm & Bergh, 2020; N. Zhang *et al.*, 2024), mientras que el riesgo de VPTB era el mismo para las dos técnicas (N. Zhang *et al.*, 2024). El hecho de que la ICSI disminuya la incidencia de PTB en comparación con la FIV-c puede estar relacionado con que la ICSI suele aconsejarse a pacientes más jóvenes (N. Zhang *et al.*, 2024) y en casos en los que el problema reproductivo reside en el hombre (Berntsen *et al.*, 2019; Wennerholm & Bergh, 2020). Por lo que en teoría las mujeres que se someten a ciclos de ICSI poseen un buen estado de salud reproductiva, lo que está relacionado con mejores resultados perinatales (Berntsen *et al.*, 2019; Wennerholm & Bergh, 2020). Es decir, las indicaciones para FIV-c o ICSI no son las mismas, por lo que puede ser el problema de infertilidad y no las técnicas lo que esté relacionado con un menor riesgo de PTB tras ICSI (N. Zhang *et al.*, 2024). Sin embargo, como se ha mencionado antes, la ICSI se está utilizando para prácticamente todos los ciclos, incluso ciclos en los que el problema reproductivo reside en la mujer. Este puede ser el motivo por el que, en los estudios de Liu *et al.* (2020) y Cutting *et al.* (2023), la tasa de PTB obtenida para FIV-c e ICSI era muy similar (Cutting *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2020). A pesar de esto, los datos sugieren que los resultados perinatales obtenidos tras FIV-c e ICSI son comparables y por tanto no hay evidencia para priorizar el uso de la ICSI sobre la FIV-c en cuanto a resultados perinatales.

Con respecto al riesgo de anomalías congénitas, existe una mayor controversia, ya que hay estudios que reportan un mayor riesgo de defectos del nacimiento tras ICSI en comparación con la FIV-c, mientras que otros obtienen resultados similares entre ambas técnicas (Berntsen *et al.*, 2019; Wennerholm & Bergh, 2020; N. Zhang *et al.*, 2024). Por ejemplo, Luke *et al.* (2021) en su estudio observaron que los nacimientos únicos tras FIV-c tienen un 18% más riesgo de tener defectos del nacimiento no cromosómicos en comparación con las SC. Ese riesgo aumenta a un 30% cuando se realiza ICSI sin factor masculino, y a un 42% cuando se utiliza la ICSI y además existe un factor masculino. Según estos datos, el uso de ICSI estaría relacionado con un mayor riesgo de defectos congénitos en comparación con la FIV-c (Luke *et al.*, 2021). Parte de ese riesgo está debido a la mala calidad seminal, ya que en los casos en los que se usa ICSI con parámetros seminales normales, el riesgo es menor en comparación con el uso de ICSI para factor masculino severo. Pero la técnica en sí también jugaría un papel importante, ya que cuando no hay factor masculino, el riesgo es mayor al usar ICSI que al usar FIV-c (Luke *et al.*, 2021). Wennerholm & Bergh (2020) coinciden con los resultados de Luke *et al.* (2021) ya que, según su análisis, la ICSI se asocia con un mayor riesgo de anomalías congénitas. Además, parece ser que el riesgo de anomalías congénitas tras ICSI no está relacionado con el origen de semen, ya que se obtienen los mismos resultados tras el uso de semen eyaculado y de semen procedente de biopsia testicular (Wennerholm & Bergh, 2020). A pesar de estos resultados, muchos otros estudios reportan que no hay diferencias en el riesgo de anomalías congénitas al comparar el nacimiento de niños por ICSI y por FIV-c (Cutting *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2020; N. Zhang *et al.*, 2024). Por lo que hay que seguir investigando esta asociación.

La ICSI se relaciona con una mayor incidencia de anomalías cromosómicas en comparación con la FIV-c (Berntsen *et al.*, 2019; Berntsen *et al.*, 2021; Wennerholm & Bergh, 2020). Hay algunos estudios que relacionan la ICSI solo con un aumento de anomalías cromosómicas *de novo* (Berntsen *et al.*, 2019; Wennerholm & Bergh, 2020), mientras que otros observaron una mayor

incidencia de anomalías cromosómicas en general (tanto *de novo* como heredadas) tras ICSI (Berntsen *et al.*, 2021). Sin embargo, no está claro si ese riesgo está relacionado con el factor masculino del padre o con la técnica de ICSI como tal (Berntsen *et al.*, 2021). Según Wennerholm & Bergh (2020), el mayor riesgo de anomalías cromosómicas no heredadas (*de novo*) tras ICSI está asociado con parámetros espermáticos (concentración y movilidad), de manera que a menor concentración, mayor riesgo de anomalías cromosómicas. De nuevo, al igual que con los defectos congénitos, no se encontró asociación con el origen del semen (Wennerholm & Bergh, 2020). Berntsen *et al.* (2021) se encontraron con el problema de la gran heterogeneidad de los datos en reproducción asistida. Encontraron que realmente sí que había una mayor incidencia de anomalías cromosómicas tras ICSI, pero al filtrar los datos y eliminar factores de confusión, esa diferencia no era estadísticamente significativa. Concluyen que el mayor número de anomalías cromosómicas tras ICSI podría deberse a la baja calidad seminal o a la edad del padre más que a la técnica en sí (Berntsen *et al.*, 2021). Por lo que la conclusión es que la ICSI sí que se asocia con una mayor incidencia de anomalías cromosómicas en general, aunque la heterogeneidad de los datos y la falta de información en algunos ciclos hace que este resultado tenga un nivel de evidencia muy bajo (Berntsen *et al.*, 2021). Además, aunque haya un aumento de anomalías cromosómicas tras ICSI, la incidencia de esas anomalías sigue siendo bajo y no debería hacer dudar sobre la seguridad de la técnica (Berntsen *et al.*, 2021).

Los resultados que se obtienen tras las TRA pueden ser debidos a que estas técnicas inducen modificaciones epigenéticas en el ovocito y en el embrión, que se manifestarán durante el embarazo y en la vida (Graham *et al.*, 2023). Parece ser que la ICSI se relaciona con un mayor número de alteraciones epigenéticas que la FIV-c. De hecho, en estudios en animales se ha visto que la ICSI afecta a la transcripción y metilación de genes que están regulados por la epigenética, como aquellos relacionados con la impronta o genes ligados al cromosoma X (Graham *et al.*, 2023).

3.2.3. Transferencia en estadio de blastómeras vs blastocistos

Una vez los ovocitos son fecundados, se dejan en cultivo para que ocurra el desarrollo embrionario hasta el momento de la transferencia, proceso por el cual el embrión se introduce en el útero de la mujer para que ocurra la implantación. Hay dos momentos clave del desarrollo embrionario en el que se suele realizar la transferencia: transferencia embrionaria en estadio de blastómeras (CT, de sus siglas en inglés “*Cleavage stage embryo Transfer*”) y transferencia embrionaria en estadio de blastocisto (BT, de sus siglas en inglés “*Blastocyst stage embryo Transfer*”) (Graham *et al.*, 2023). El cultivo de los embriones hasta estadio de blastocisto permite una autoselección de los mejores embriones, ya que sólo llegarán a formar un blastocisto aquellos embriones con mejor pronóstico (Berntsen *et al.*, 2019). De manera que la BT (día 5-6), en comparación con la CT (día 2-3), está relacionada con una mejor selección del embrión más viable, y por tanto con una mayor tasa de gestación y de nacido vivo por transferencia (Marconi *et al.*, 2023; Spangmose *et al.*, 2020; Wennerholm & Bergh, 2020). Además, la selección de los mejores embriones en estadio de blastocisto permite la SET, disminuyendo la tasa de gestaciones múltiples y las complicaciones asociadas (Marconi *et al.*, 2023; Wennerholm & Bergh, 2020). Sin embargo, a pesar de todas estas ventajas, se ha visto que ese mayor tiempo de cultivo podría afectar a los resultados perinatales tras BT (Raja *et al.*, 2023; Siristatidis *et al.*, 2023).

Al estudiar los resultados perinatales tras la BT en comparación con la CT, se ha observado una mayor tasa de PTB y VPTB tras la BT (Berntsen *et al.*, 2019; Spangmose *et al.*, 2020; Wennerholm & Bergh, 2020). No se sabe muy bien por qué ocurre, pero una posible explicación podría ser una modificación genética o epigenética del trofoectodermo, que se traduce en una implantación y placentación anómala (Berntsen *et al.*, 2019; Siristatidis *et al.*, 2023; Spangmose *et al.*, 2020; Wennerholm & Bergh, 2020). El aumento del riesgo de placentación anómala y PTB tras BT podría explicarse por el mayor tiempo que pasa el embrión en cultivo. Un tiempo de cultivo más prolongado hace que el embrión

esté expuesto a cambios en la temperatura, en el pH o en la concentración de oxígeno. Estos cambios podrían estar influenciando la expresión de ciertos genes, lo que se traducirá en resultados perinatales adversos. Otra explicación es que la BT reduce el tiempo de comunicación que hay entre el embrión y el endometrio antes de la implantación en comparación con la CT (Spangmose *et al.*, 2020).

Otros grupos han estudiado la relación de la BT con otros resultados perinatales como son el LBW, ser SGA, ser LGA o el riesgo de anomalías congénitas (Berntsen *et al.*, 2019; Raja *et al.*, 2023; Spangmose *et al.*, 2020; Wennerholm & Bergh, 2020). Lo que no está claro es si las diferencias encontradas entre la BT y la CT se deben al cultivo largo hasta día 5, o a diferencias en las características maternas. Para comprobar esto, Raja *et al.* (2023) comparan los resultados perinatales en niños nacidos de la misma madre, uno mediante BT y otro mediante CT. Según los resultados de este estudio, el hermano nacido tras BT presenta un mayor riesgo de ser LGA y un menor riesgo de anomalías congénitas en comparación con el hermano nacido tras CT. Por otra parte, haciendo un estudio en general sobre nacimientos únicos, la BT se relacionaba con un menor riesgo de ser SGA y de anomalías congénitas. En el caso de los embarazos múltiples, la BT se relacionaba con un mayor riesgo de PTB (Raja *et al.*, 2023). Berntsen *et al.* (2019) y Wennerholm & Bergh (2020) reportan que no hay diferencias en el peso al nacer comparando los dos tipos de transferencias, y al igual que Raja *et al.* (2023), que existe un menor riesgo de SGA para los blastocistos transferidos (Berntsen *et al.*, 2019; Raja *et al.*, 2023; Wennerholm & Bergh, 2020). Sin embargo, no se reportan diferencias en la tasa de LGA al comparar ambos tipos de transferencias, lo que contradice los resultados de Raja *et al.* (2023) (Berntsen *et al.*, 2019; Raja *et al.*, 2023). Spangmose *et al.* (2020) tampoco observan ese mayor riesgo de LGA tras BT y lo más interesante es que obtienen una tasa de SGA comparable entre ambos tipos de transferencia, lo que rebate los resultados obtenidos por los grupos anteriores (Spangmose *et al.*, 2020).

Por lo que, según los estudios analizados, la BT se relaciona con un mayor riesgo de PTB y VPTB, con un menor riesgo de SGA y no se encuentran diferencias en el peso al nacer cuando se compara con la CT, mientras que existe más controversia en cuanto a si la BT aumenta la tasa de LGA. Por el contrario, hay otros estudios que no encuentran diferencias significativas para todos los resultados perinatales estudiados al comparar CT y BT (Marconi *et al.*, 2023; Siristatidis *et al.*, 2023). En cuanto al riesgo de anomalías congénitas, hay una mayor diversidad de resultados, algunos estudios aseguran que la BT se relaciona con un mayor riesgo de defectos del nacimiento, mientras que otros aseguran que el riesgo es similar o menor al que hay para la CT (Berntsen *et al.*, 2019; Raja *et al.*, 2023; Siristatidis *et al.*, 2023; Wennerholm & Bergh, 2020). Sí que se ha observado una mayor incidencia (hasta el doble) de gemelos monocigóticos (MZT, de sus siglas en inglés “*Monozygotic Twins*”) tras la transferencia de un único blastocisto en comparación con la CT (Berntsen *et al.*, 2019; Spangmose *et al.*, 2020; Wennerholm & Bergh, 2020). Otro aspecto interesante es que se ha visto que la BT se relaciona con el nacimiento de un mayor número de varones. Una posible explicación es que los embriones macho tienen un desarrollo más acelerado que los embriones hembra, lo que hace que tengan una mayor probabilidad de ser escogidos para la transferencia (Siristatidis *et al.*, 2023; Spangmose *et al.*, 2020; Wennerholm & Bergh, 2020).

Por lo que, aunque se hayan encontrado resultados perinatales adversos tras BT, no existe una homogeneidad de resultados que permita dar prioridad a un tipo de transferencia sobre la otra. No existe una evidencia que niegue el cultivo de embriones hasta estadio de blastocisto, de hecho, es la práctica que más se lleva a cabo a nivel mundial, debido a que la BT presenta una mayor tasa de gestación y de nacido vivo por transferencia que la CT (Marconi *et al.*, 2023). Además, los blastocistos tienen una mayor tasa de supervivencia a la criopreservación, por lo tanto, la BT es muy importante para aquellos ciclos en los que hay que recurrir a la criopreservación de embriones (Spangmose *et al.*, 2020). Sin embargo, hay que tener en cuenta la mayor incidencia de PTB, de MZT y la mayor ratio de embriones macho tras BT, que pueden hacer que en

ciertas ocasiones sea mejor recurrir a la CT. La conclusión es que hay que seguir investigando los efectos de ambos tipos de transferencias para dilucidar cuál es la que permite obtener los mejores resultados.

3.2.4. Efectos de la criopreservación embrionaria (ET vs FET)

Una vez los embriones llegan a día 3 o a día 5 de desarrollo, estos pueden ser transferidos en fresco (ET, de sus siglas en inglés “*Embryo Transfer*”) o pueden ser criopreservados para ser transferidos más adelante (FET) (Graham *et al.*, 2023). La criopreservación permite mantener viables aquellos embriones que se obtienen de un ciclo y que no han sido transferidos, permite almacenar los embriones después de haberles realizado una biopsia para ser analizados genéticamente y permite generar embriones a partir de gametos donados para aquellas parejas que los necesiten. Estos embriones pueden ser transferidos meses o incluso años después de su criopreservación. Para ello, la mujer debe pasar por un protocolo de preparación endometrial, que prepara el endometrio para la implantación, lo que no sería necesario en una ET (Graham *et al.*, 2023). Con el gran aumento en el número de ciclos de reproducción asistida y el avance de las tecnologías de análisis genéticos, la cantidad de embriones criopreservados ha aumentado considerablemente (Hesters *et al.*, 2024). Esto ha supuesto la necesidad de estudiar los efectos de la criopreservación de embriones sobre los resultados perinatales (Berntsen *et al.*, 2019).

Varios estudios han comparado los resultados perinatales tras ET y FET. Al contrario que con todas las técnicas y resultados perinatales analizados hasta ahora en este trabajo, parece haber una gran reproducibilidad de los resultados. Así, se ha reportado que la FET está relacionada con un menor riesgo de PTB, de LBW y de ser SGA en comparación con la ET. Mientras que la FET se relaciona con un mayor riesgo de ser LGA y de HBW, es decir, niños con un crecimiento excesivo (macrosomía) (Berntsen *et al.*, 2019; Hesters *et al.*, 2024; Landsverk *et al.*, 2023; Luke *et al.*, 2021; Maheshwari *et al.*, 2022; Zaat *et al.*, 2021). No se han encontrado diferencias en cuanto a la incidencia de mortinatos y muerte perinatal (Berntsen *et al.*, 2019; Westvik-Johari *et al.*, 2023), ni tampoco

en cuanto a la incidencia de anomalías congénitas (Hesters *et al.*, 2024). Hay que tener en cuenta que la ET supone cierto riesgo de SHO derivado de la EOC, que se puede evitar mediante la criopreservación de los embriones y la FET (Maheshwari *et al.*, 2022). Esto es otro de los motivos que explican el gran aumento del uso de la FET en los últimos años. La estrategia de criopreservar todos los embriones y luego llevar a cabo una FET, disminuye el riesgo de SHO, ya que este síndrome empeora cuando ocurre la gestación (Zaat *et al.*, 2021). Además, la EOC altera el ambiente uterino y el endometrio afectando a la implantación, por lo que al criopreservar los embriones, se evita tener que hacer una ET cuando el endometrio todavía se ve afectado por los fármacos de la EOC. Cuando el efecto haya desaparecido, se puede llevar a cabo la FET de los embriones criopreservados, en un ambiente uterino óptimo para la implantación (Zaat *et al.*, 2021). El mayor riesgo de SGA tras ET en comparación con la FET se podría explicar por ese ambiente uterino alterado a causa de los fármacos utilizados para la EOC. Estos fármacos generan un ambiente uterino hipoestrogénico, dando lugar a una implantación y placentación anómala, que se relacionan con un mayor riesgo de SGA. Cuando se lleva a cabo una FET, el efecto de los fármacos usados para la EOC ha desaparecido y el embrión implantará en un ambiente más natural en comparación con un ciclo en fresco (Berntsen *et al.*, 2019; Zaat *et al.*, 2021).

En cuanto al mayor peso al nacer y el mayor riesgo de LGA encontrado en los niños nacidos tras FET, hay varias teorías para explicar ese aumento de tamaño. Puede ser que el proceso de criopreservación induzca modificaciones epigenéticas en los estadios iniciales del embrión que aumentan el potencial de crecimiento del feto, puede ser debido a los problemas de infertilidad de los pacientes o puede estar influyendo el protocolo de preparación endometrial llevado a cabo (Berntsen *et al.*, 2019; Hesters *et al.*, 2024). En el reciente estudio de Hesters *et al.* (2024), analizaron los resultados perinatales de niños nacidos tras ET y de niños nacidos tras FET utilizando distintos protocolos de crioconservación y de preparación endometrial (Hesters *et al.*, 2024). Según sus resultados, no había ninguna diferencia entre los distintos medios, soportes o

protocolos de crioconservación analizados (congelación lenta o vitrificación). Sin embargo, cuando se tiene en cuenta el tipo de preparación endometrial, se observa que el riesgo de ser LGA es mayor cuando se realizan ciclos artificiales en comparación con los ciclos ovulatorios (tanto naturales como estimulados) (Hesters *et al.*, 2024). Los protocolos de preparación endometrial son indispensables para conseguir condiciones óptimas para la implantación embrionaria tras la FET. En los protocolos naturales y estimulados, la preparación endometrial es controlada por la producción endógena de estrógenos y progesterona. En el protocolo artificial, esas hormonas son administradas de forma exógena para estimular el ciclo menstrual, lo que se ha relacionado con un mayor riesgo de LGA en comparación con los protocolos ovulatorios. Esto se debe a la ausencia de cuerpo lúteo, que se relaciona con un mayor riesgo de trastornos hipertensivos del embarazo y a su vez con un mayor crecimiento fetal que se traduce en LGA (Hesters *et al.*, 2024). A la vista de estos resultados, parece ser que el mayor riesgo de LGA tras FET está asociado con el protocolo de preparación endometrial utilizado, concretamente con los ciclos artificiales, y no con el método de criopreservación como tal. Aunque en general, el riesgo de LGA fue mayor para el grupo FET que para el grupo ET (Hesters *et al.*, 2024).

Por lo que, aunque la FET se relacione con buenos resultados perinatales en comparación con la ET, está ampliamente demostrado que está asociada con el nacimiento de niños de un mayor tamaño. Aunque el tipo de preparación endometrial parece jugar un papel importante, el hecho de que la tasa de LGA sea mayor tras FET parece ser debida a la acción conjunta de la infertilidad de los pacientes, los cambios epigenéticos inducidos en el embrión durante el proceso de criopreservación y los ciclos de preparación endometrial utilizados.

3.2.5. SET vs transferencia de varios embriones

En el momento de la transferencia embrionaria hay que decidir el número de embriones que se van a transferir al útero de la mujer. En los inicios de la reproducción asistida, las TRA se relacionaban con una alta incidencia de

gestaciones múltiples debido a la transferencia de varios embriones en un mismo ciclo (Eapen *et al.*, 2020; Lin *et al.*, 2024). Sin embargo, con el avance del conocimiento en el ámbito de la reproducción, se ha demostrado que las gestaciones múltiples, en comparación con las gestaciones únicas, tienen mayores complicaciones maternas y perinatales asociadas (Eapen *et al.*, 2020; Marleen *et al.*, 2024; Rodriguez-Wallberg *et al.*, 2023). Eapen *et al.* (2020) reportan que los embarazos gemelares suponen un mayor riesgo de PTB, EPTB, LBW, muerte perinatal y una mayor admisión en unidades de cuidados neonatales intensivos en comparación con los nacimientos únicos (Eapen *et al.*, 2020). En el estudio de Marleen *et al.* (2024) quisieron comparar el riesgo que había en gestaciones múltiples concebidas tras TRA, tras tratamientos de fertilidad no considerados TRA (como OI o IUI) y tras SC. Los niños concebidos a partir de gestaciones múltiples tras TRA tenían un mayor riesgo de anomalías congénitas, PTB, alteraciones en el peso y de ser admitidos en unidades de cuidados neonatales intensivos en comparación con aquellos en los que se llevó a cabo OI o IUI, o con los que nacieron tras SC (Marleen *et al.*, 2024). Es decir, además del riesgo aumentado que supone una gestación múltiple en comparación con una gestación única, hay que sumar el efecto de las TRA. Ya que, según los datos del estudio de Marleen *et al.* (2024), estas técnicas aumentan aún más las complicaciones asociadas a las gestaciones múltiples (Marleen *et al.*, 2024).

El riesgo aumentado de resultados perinatales adversos tales como LBW y PTB tras las gestaciones múltiples han motivado el uso extendido de la SET (Eapen *et al.*, 2020; Rodriguez-Wallberg *et al.*, 2023). Es decir, en los últimos años se ha instalado la tendencia de reducir el número de embriones por transferencia. De esta manera, actualmente el número medio de embriones transferidos en todo el mundo es de 1,81 por transferencia. De hecho, en Europa, la tasa de parto múltiple por transferencia ha disminuido de un 26,9% en el año 2000 a un 12,2% en el año 2019 (ESHRE, 2023). Para disminuir la transferencia de múltiples embriones, la ESHRE ha desarrollado una serie de guías que recomiendan el uso de la SET (Alteri *et al.*, 2024). Según estas

recomendaciones, la transferencia de más de un embrión solo debe considerarse en casos muy concretos cuando la paciente tiene muy mal pronóstico reproductivo. Por ejemplo, una paciente de edad avanzada, con embriones de muy mala calidad o varios intentos de TRA previos fallidos (Rodríguez-Wallberg *et al.*, 2023). Sin embargo, aunque se tengan en cuenta estos factores, hay que priorizar los posibles riesgos asociados a un embarazo múltiple tanto para la mujer gestante como para la descendencia (Alteri *et al.*, 2024). Aunque las TRA se relacionan con una mayor incidencia de embarazos múltiples debido a la transferencia de varios embriones, en algunas ocasiones pueden generarse gemelos a partir de un único embrión, lo que se conocen como gemelos monocigóticos (MZT) (Lin *et al.*, 2024). De hecho, se ha reportado una mayor incidencia de MZT tras TRA (0,7-5,6%) en comparación con las SC (0,4%). No se sabe cuál puede ser la explicación para la mayor incidencia tras TRA, aunque se proponen la BT y el uso de la eclosión asistida como posibles factores de riesgo (Lin *et al.*, 2024). Por lo que, según estos datos, hay que tener en cuenta que las TRA suponen una mayor incidencia de MZT, y por tanto de embarazos múltiples, con las complicaciones que estos conllevan (Lin *et al.*, 2024). Además, los MZT se relacionan con un mayor riesgo de PTB, LBW, SGA y muerte perinatal en comparación con los gemelos que nacen a partir de dos embriones independientes (Lin *et al.*, 2024). Debido a la mayor incidencia de MZT observada tras BT, según las guías de recomendación de la ESHRE, los blastocistos deben ser transferidos mediante SET (Alteri *et al.*, 2024).

Las transferencias de dos embriones (DET, de sus siglas en inglés “*Double Embryo Transfer*”) o más no sólo tienen efectos negativos por dar lugar a embarazos múltiples y a partos gemelares (que tienen muchas más complicaciones que los embarazos y partos únicos), sino que también afectarán a partos donde hay un único nacido. Esto hace referencia al VTS, que como se ha mencionado anteriormente, consiste en la reducción espontánea de uno de los dos fetos durante el embarazo dejando secuelas en el feto superviviente (Berntsen *et al.*, 2019). Además, la incidencia de VTS aumenta con el número de sacos gestacionales iniciales. De manera que la VTS ocurre en el 36% de los

embarazos con 2 sacos gestacionales iniciales, en el 53% de los embarazos con 3 sacos y en el 65% de los embarazos con 4 o más sacos (Li *et al.*, 2020). Hay estudios que reportan que no hay diferencias entre los nacimientos únicos que no han pasado por VTS y aquellos que han sufrido VTS, sin embargo, otros estudios sí que asocian un mayor riesgo perinatal a aquellos nacimientos que han pasado por VTS (Berntsen *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020; Rodriguez-Wallberg *et al.*, 2023; Zhu *et al.*, 2020). Las diferencias en los resultados obtenidos por los distintos estudios se deben a que la definición de VTS varía según el autor. En la bibliografía analizada en esta revisión, el VTS tras una DET se relaciona con un mayor riesgo de PTB y LBW del gemelo superviviente en comparación con los nacimientos únicos procedentes de SET (Berntsen *et al.*, 2019; Zhu *et al.*, 2020). Sin embargo, si tras la DET, en el primer control ecográfico se observa un solo saco gestacional, estos resultados perinatales adversos no son muy diferentes a los obtenidos tras una SET. Esto quiere decir que los efectos del embrión que desaparece son más pronunciados cuando la reducción ocurre en un momento más avanzado del embarazo, de manera que cuanto más avanzado está el embarazo en el momento de la desaparición de un gemelo, peor pronóstico perinatal tiene el gemelo superviviente (Berntsen *et al.*, 2019; Zhu *et al.*, 2020). Según los resultados del estudio realizado por Li *et al.*, (2020), si la pérdida del feto ocurre antes de la semana 14 de gestación, los resultados perinatales son similares a aquellos nacimientos únicos que no han pasado por VTS. Sin embargo, si la desaparición del feto ocurre más allá de esa semana 14, el feto superviviente tendrá un mayor riesgo de LBW y PTB en comparación con un niño nacido tras TRA sin sufrir VTS (Li *et al.*, 2020). Para Zhu *et al.* (2020) la clave es la presencia o no de actividad cardíaca fetal. De esta manera, si el VTS ocurre una vez se ha detectado actividad cardíaca en el feto que desaparece, los resultados perinatales (PTB y LBW) serán de peor pronóstico para el feto superviviente. Mientras que, si no se detecta actividad cardíaca, no hay diferencias con un embarazo único. Por lo que, según este artículo, el umbral para determinar si ocurrirán resultados perinatales adversos tras VTS es la presencia de actividad cardíaca fetal (Zhu *et al.*, 2020). La reabsorción del tejido

fetal y placentario necrosado producido por la pérdida de un feto se relaciona con la liberación de citoquinas proinflamatorias y de prostaglandinas, que comienzan un proceso inflamatorio y alteran la circulación sanguínea entre la placenta y el feto. Esto se traduce en una reducción temporal del aporte nutritivo al feto superviviente que podría explicar el mayor riesgo de PTB y LBW (Li *et al.*, 2020). Por lo que independientemente de la definición de VTS, está claro que la desaparición de un feto durante el embarazo compromete la salud del superviviente, lo que sugiere el uso de SET (Zhu *et al.*, 2020).

Agrupando toda la información, queda claro que la SET disminuye los riesgos perinatales asociados a las gestaciones múltiples y al VTS, aun así, hay que tener presente la posibilidad de MZT. Por lo que según esta información y según las recomendaciones de la ESHRE, la conclusión es que siempre debe priorizarse la SET ya que proporciona las mayores oportunidades de un embarazo sano minimizando los riesgos de los embarazos múltiples (Alteri *et al.*, 2024).

3.2.6. Efecto de la biopsia embrionaria para PGT

El PGT es una opción dentro de los ciclos de reproducción asistida que se ofrece a parejas que poseen riesgo de generar embriones con alteraciones genéticas o cromosómicas (Zheng *et al.* 2021). Existen diferentes tipos de PGT, que permiten analizar la presencia de aneuploidías, enfermedades monogénicas o reordenamientos estructurales en los embriones (Ginström Ernstad *et al.*, 2023; Graham *et al.*, 2023). Para llevar a cabo un análisis por PGT, hay que realizar una biopsia sobre el embrión, con el objetivo de obtener una muestra para analizar (Alteri *et al.*, 2023). Esa muestra se puede obtener de tres maneras distintas: biopsia de corpúsculo polar, biopsia de blastómeras o biopsia de trofoectodermo (Alteri *et al.*, 2023). Al ser un procedimiento invasivo (que supone la extracción desde 1-2 células en estadio de blastómeras hasta 5-10 células en estadio de blastocisto), la biopsia embrionaria ha despertado la necesidad de estudiar qué efectos puede tener la manipulación y extracción de células del

embrión sobre los resultados perinatales (Alteri *et al.*, 2023; Ginström Ernstad *et al.*, 2023; Van Heertum *et al.*, 2024).

Aunque se pueda pensar que la invasividad del procedimiento de biopsia puede tener cierta relación con la aparición de resultados perinatales adversos, la bibliografía en general demuestra que esto no es tan así. En el estudio de Alteri *et al.* (2023) no se encuentra una evidencia clara que demuestre un aumento de los riesgos perinatales en los niños nacidos tras biopsia para PGT. Sí que se ha visto una posible asociación entre la biopsia de blastómeras y un riesgo aumentado de LBW y de ser SGA, y entre la biopsia de trofoectodermo y un mayor riesgo de PTB y de defectos congénitos. Sin embargo, no hay una significancia estadística en estos hallazgos y por tanto el grado de evidencia es muy bajo (Alteri *et al.*, 2023). Ginström Ernstad *et al.* (2023) no encontraron diferencias significativas en el riesgo de PTB, LBW, macrosomía, LGA o SGA al comparar nacimientos tras biopsia para PGT y tras ciclos de FIV-c/ICSI sin biopsia. Tampoco encontraron diferencias en la tasa de defectos del nacimiento (Ginström Ernstad *et al.*, 2023). De forma interesante, encontraron una mayor probabilidad de sexo femenino tras PGT, lo que puede ser debido a la elección de embriones hembra en los casos de enfermedades ligadas al cromosoma X (Ginström Ernstad *et al.*, 2023). En el estudio de Zheng *et al.* (2021) comparan los resultados perinatales obtenidos tras ciclos de TRA con biopsia para PGT, con los obtenidos tras SC. En este caso los ciclos con biopsia se relacionan con un mayor riesgo de LBW y PTB en comparación con las SC. Sin embargo, este estudio no permite saber qué efecto está teniendo la biopsia por sí sola sobre los resultados perinatales y qué efectos están teniendo las TRA en general. Seguramente los peores resultados se deben a las características de los pacientes y a las técnicas *in vitro* utilizadas y no al efecto aislado de la biopsia (Zheng *et al.* 2021). Para intentar eliminar las dudas, compararon ciclos de TRA con y sin biopsia. En este caso encontraron que los resultados perinatales (PTB, LBW, anomalías congénitas) eran muy similares en ambos casos, incluso encontraron un menor riesgo de VPTB y VLBW cuando la biopsia era realizada (Zheng *et al.* 2021). Ese menor riesgo puede ser debido a diferencias en los

problemas de infertilidad de los pacientes, aunque no se sabe exactamente cuál es la explicación (Zheng *et al.* 2021).

Hay que tener en cuenta que, aunque el procedimiento de biopsia sea idéntico para todos los tipos de PGT, estos no tienen las mismas indicaciones. Esto puede suponer un factor de confusión, ya que el PGT para aneuploidías suele indicarse en pacientes con infertilidad, mientras que el PGT para detectar enfermedades monogénicas se suele indicar en pacientes fértiles que quieren evitar transmitir una enfermedad a su descendencia (Alteri *et al.*, 2023; Ginström Ernstad *et al.*, 2023). Como se ha ido demostrando en este trabajo, la infertilidad por sí sola es un factor de riesgo para la aparición de resultados perinatales adversos. Por lo que las biopsias para el estudio de aneuploidías tendrán un mayor riesgo de resultados perinatales adversos en comparación con las biopsias para enfermedades monogénicas, por el simple hecho de indicarse en parejas infértiles (Alteri *et al.*, 2023; Ginström Ernstad *et al.*, 2023; Zheng *et al.* 2021). Otro factor de confusión importante es la criopreservación de los embriones biopsiados, ya que la biopsia para PGT suele estar seguida de la criopreservación de los embriones, y como consecuencia de una FET, mientras se esperan los resultados del análisis (Alteri *et al.*, 2023; Van Heertum *et al.*, 2024). Como se ha mencionado anteriormente, la FET se relaciona con mayor riesgo de LGA, de HBW y de alteraciones en la placentación. Por lo que es importante estudiar el efecto de la biopsia embrionaria por separado para saber si los resultados perinatales obtenidos se deben a la extracción de células del embrión o al proceso de crioconservación (Alteri *et al.*, 2023; Van Heertum *et al.*, 2024). En el estudio de Van Heertum *et al.* (2024) no encuentra diferencias estadísticamente significativas en el riesgo de PTB, SGA, alteraciones del peso o LGA al comparar la realización o no de biopsia con una posterior FET. Sin embargo, en el caso concreto en el que se realiza ET, sí que se ha visto un ligero aumento en el riesgo de ser SGA tras biopsia, que no se ve cuando se analizan sólo las SET, por lo que podría estar asociado a las gestaciones múltiples y no a la biopsia (Van Heertum *et al.*, 2024). De hecho, cuando se comparan los ciclos con y sin biopsia, todos ellos con FET, se encuentran ligeras diferencias en el

riesgo de PTB y de alteraciones en el peso al nacer. Sin embargo, cuando se eliminan las gestaciones múltiples y sólo se tienen en cuenta las gestaciones y nacimientos únicos, esas diferencias desaparecen, lo que significa que se debían a las gestaciones múltiples y no al hecho de haberse realizado biopsia (Van Heertum *et al.*, 2024).

El grupo de embriones no biopsiados presenta un mayor número de transferencias de múltiples embriones y por tanto una mayor incidencia de gestaciones múltiples (Van Heertum *et al.*, 2024). Esto es así ya que la biopsia embrionaria y el análisis por PGT permite seleccionar al mejor embrión para transferir, reduciendo el número de embriones por transferencia y favoreciendo la SET (Van Heertum *et al.*, 2024). De manera que la biopsia para PGT no sólo no se asocia con peores resultados perinatales, sino que está implicada en una mejora de esos resultados debido a que favorece la SET y por tanto reduce el número de embarazos múltiples (Van Heertum *et al.*, 2024). Así, cuando se estudian los resultados perinatales en embriones biopsiados y sin biopsiar, tanto en ET como en FET (llevando a cabo SET en ambos casos), no se encuentra ninguna diferencia (Van Heertum *et al.*, 2024). Por lo que, según estos resultados, la biopsia embrionaria por sí sola no supone un riesgo aumentado de resultados perinatales adversos.

3.2.7. Efecto de las condiciones de cultivo

Para explicar los resultados perinatales adversos encontrados tras las TRA, se han propuesto diferentes teorías. Pueden ser debidos a las características de los pacientes, a los problemas de infertilidad o a las manipulaciones en el laboratorio, pero también es importante pensar en el tipo medio de cultivo y en las condiciones en las que se encuentran los embriones durante su estancia en el laboratorio (Castillo *et al.*, 2020; Sonigo *et al.*, 2024). Tanto el tipo de medio de cultivo como los incubadores han ido evolucionando con el avance de las TRA. Los medios de cultivo han pasado de ser simples, basados en suero sanguíneo, a ser medios comerciales complejos compuestos por todas aquellas sustancias que permiten el desarrollo embrionario

(aminoácidos, factores de crecimiento, antibióticos...). Se ha pasado de utilizar incubadores simples que permitían mantener una presión de oxígeno de un 20% a incubadores más avanzados que mantienen un 5% de oxígeno, lo que se asemeja más a las condiciones fisiológicas, disminuyendo el estrés oxidativo (Sonigo *et al.*, 2024). Además, con la evolución de los medios y la aparición de los incubadores *Time Lapse*, se ha conseguido mejorar el cultivo continuo de los embriones, permitiendo la llegada a estadio de blastocisto con la mínima manipulación (Sonigo *et al.*, 2024). Sonigo *et al.* (2024) estudiaron las diferencias en los resultados perinatales comparando el uso de diferentes incubadores, concentraciones de oxígeno y medios de cultivo (de diferentes casas comerciales). En cuanto al uso de diferentes tipos de incubadores, no consiguen datos suficientes para llevar a cabo un análisis ya que los estudios acerca de la mayor seguridad de un tipo u otro de incubador son muy escasos. El cultivo de los embriones con una concentración de oxígeno del 20% con respecto al 5%, no parece tener diferencias en cuanto al peso al nacer, a la edad gestacional o a la incidencia de malformaciones congénitas (Sonigo *et al.*, 2024). Por último, algunos estudios reportan diferencias en el peso al nacer según la marca de medio de cultivo utilizado, sin embargo, según el metaanálisis de Sonigo *et al.* (2024), el medio de cultivo utilizado no tiene influencia sobre el peso al nacer o la edad gestacional al nacer (Sonigo *et al.*, 2024). Por lo que, según este estudio, no hay ninguna marca comercial de medio de cultivo recomendada sobre otra en cuanto a los resultados perinatales. Castillo *et al.* (2020) llevaron a cabo un análisis similar teniendo en cuenta el tipo de medio, el tipo de incubador y los niveles de oxígeno. Según sus resultados, las condiciones de cultivo no tienen impacto sobre la edad gestacional o el peso al nacer (Castillo *et al.*, 2020).

Hay dos estrategias de cultivo para las que se utilizan medios diferentes: los medios secuenciales son aquellos cuya composición va cambiando en función de las necesidades del embrión en cada fase de su desarrollo, mientras que los medios continuos contienen todos los elementos necesarios para el desarrollo embrionario completo, desde el principio hasta el estadio de blastocisto (Sacha *et al.*, 2022; Sonigo *et al.*, 2024). Sacha *et al.* (2022)

compararon los resultados perinatales observados en niños nacidos tras TRA usando un medio de cultivo secuencial con respecto a aquellos en los que se utilizó un medio continuo. No encontraron diferencias significativas en cuanto al riesgo de PTB, LBW o SGA. Sin embargo, encontraron un mayor riesgo estadísticamente significativo de ser LGA cuando se utiliza un medio continuo (Sacha *et al.*, 2022). No se conoce con exactitud la conexión existente entre el uso de medio continuo y el mayor riesgo de LGA, aunque han surgido algunas teorías. Puede ser que el medio altere la expresión de ciertos genes en el embrión o incluso induzca modificaciones epigenéticas que determinarán el porvenir de ese embrión (Berntsen *et al.*, 2019; Sacha *et al.*, 2022). De hecho, se sabe que el medio de cultivo puede inducir modificaciones epigenéticas en los embriones, alterando el desarrollo embrionario y fetal, y teniendo consecuencias en el crecimiento durante la vida postnatal según la teoría de Barker (“Orígenes del desarrollo de la salud y la enfermedad”) (Castillo *et al.*, 2020). Entre los factores que pueden estar influenciando en las modificaciones epigenéticas del embrión se encuentran el nivel de oxígeno, la temperatura, la composición del medio de cultivo y la duración del cultivo (Castillo *et al.*, 2020). Sin embargo, esto no explica por qué el medio continuo aumenta el riesgo de ser LGA, pero el secuencial no. Otra teoría es que si el embrión *in vitro* experimenta una falta de nutrientes durante los primeros momentos de su desarrollo (cuando su nutrición depende del medio de cultivo), puede reprogramarse y esto dar lugar a un crecimiento incrementado en el momento en el que se encuentran con un ambiente rico en nutrientes en el útero materno (Sacha *et al.*, 2022). Es decir, aunque los medios continuos estén preparados para suplementar todas las fases de desarrollo del embrión, puede que en los primeros momentos del desarrollo no permitan una correcta nutrición del embrión dando lugar a una reprogramación embrionaria.

Por lo que, aunque el cultivo de los embriones *in vitro* supone la exposición de estos a un ambiente artificial y diferente de lo que se encuentran *in vivo*, no parece haber una clara relación entre diferentes condiciones de cultivo y la aparición de resultados perinatales adversos (excepto el mayor riesgo de LGA

encontrado al utilizar cultivos continuos). Un problema que se encuentran los estudios a la hora de analizar la seguridad de los medios de cultivo y las condiciones en el laboratorio es que raramente se deja constancia de estos elementos al final de un ciclo (Berntsen *et al.*, 2019; Castillo *et al.*, 2020). De nuevo, se hace referencia a la necesidad de reportar cada uno de los pasos dados en un ciclo de reproducción asistida, para así poder hacer estudios robustos que permitan determinar la seguridad de cada uno de los procedimientos.

3.2.8. Uso de gametos de donante

Los ciclos que utilizan ovocitos de donante suponen entre un 5 y un 7% de todas las transferencias embrionarias realizadas (Caradeux *et al.*, 2024). El retraso de la maternidad por motivos sociales es el principal motivo por el que se recurre a donación de ovocitos. Otros motivos son el fallo ovárico prematuro, la presencia de enfermedades genéticas, mujeres que han sido tratadas con fármacos gonadotóxicos o pacientes con múltiples ciclos de FIV fallidos (Shah *et al.*, 2023). Aunque la donación de ovocitos supone una alternativa esperanzadora para aquellas parejas que han agotado todas sus opciones con ovocitos propios, el uso de ovocitos donados se ha relacionado con un mayor riesgo de complicaciones perinatales y obstétricas (Berntsen *et al.*, 2019; Caradeux *et al.*, 2024; Schwartz *et al.*, 2019; Shah *et al.*, 2023; Wennerholm & Bergh 2020). Así, los ciclos de FIV con ovocitos donados, en comparación con aquellos que utilizan ovocitos propios, tienen un mayor riesgo de alteraciones en la placentación, trastornos hipertensivos del embarazo y preeclampsia, que se traducen en un riesgo aumentado de resultados perinatales adversos tales como PTB o LBW (Berntsen *et al.*, 2019; Caradeux *et al.*, 2024; Mascarenhas *et al.*, 2021; Schwartz *et al.*, 2019; Shah *et al.*, 2023; Wennerholm & Bergh 2020).

El peor pronóstico tras el uso de ovocitos donados puede ser consecuencia de varios factores: las características de la mujer receptora (edad y tipo de infertilidad), la ausencia de cuerpo lúteo o la ausencia de tolerancia inmunológica frente al embrión “extraño” (Berntsen *et al.*, 2019; Caradeux *et al.*,

2024). La edad materna avanzada de las receptoras de los ovocitos de donante puede ser una de las explicaciones de los peores resultados perinatales (Schwartz *et al.*, 2019). Gran parte de las mujeres que recurren a donación de ovocitos presentan edad materna avanzada (>35 años), la cual por sí sola ya se relaciona con un mayor riesgo de resultados perinatales adversos, más complicaciones del embarazo y con una menor receptividad endometrial (Caradeux *et al.*, 2024; Schwartz *et al.*, 2019). Por lo que, es complicado determinar qué papel está jugando la edad materna avanzada y qué papel juega el que se esté utilizando un ovocito de donante (Schwartz *et al.*, 2019). Teniendo esto en cuenta, Schwartz *et al.* (2019) estudiaron los resultados perinatales en ciclos de donación de ovocitos y en ciclos con ovocitos propios llevados a cabo en mujeres jóvenes (<35 años). Según sus resultados, el uso de ovocitos de donante en mujeres jóvenes se relaciona con un mayor riesgo de PTB y LBW en comparación con ciclos en los que se usaron ovocitos propios. En cuanto al riesgo de muerte perinatal, no llegan a ninguna conclusión (Schwartz *et al.*, 2019). Es decir, según este estudio y otros que presentan resultados similares (Berntsen *et al.*, 2019; Wennerholm & Bergh 2020), los resultados perinatales adversos observados, parecen ser debidos al hecho de utilizar ovocitos de donante que son “extraños” para la receptora y no a la edad de la mujer gestante.

Para que ocurra la implantación y la gestación, el organismo materno debe desarrollar una tolerancia inmunológica hacia el embrión. La cuestión es que cuando el ovocito que da lugar al embrión procede de la propia paciente, el embrión será semialogénico, mientras que cuando el ovocito procede de donante, será completamente alogénico para la mujer gestante (Caradeux *et al.*, 2024). Esto hace que, en las donaciones de ovocitos, la incompatibilidad genética entre la madre y el embrión sea mayor, a lo que se responde con una reacción inmunológica diferente, dando lugar a un mayor riesgo de preeclampsia y de trastornos hipertensivos del embarazo. Además, esta respuesta inmune alterada en las donaciones también se ve reflejada en lesiones histológicas de la placenta (Caradeux *et al.*, 2024). Es decir, en las donaciones

de ovocitos hay una tolerancia inmunológica menor hacia el embrión “extraño” que tras el uso de ovocitos propios, lo que se traduce en peores resultados obstétricos y perinatales (Berntsen *et al.*, 2019; Caradeux *et al.*, 2024; Mascarenhas *et al.*, 2021; Schwartz *et al.*, 2019).

Sin embargo, aunque la teoría de la menor tolerancia inmunológica hacia el ovocito donado sea la más aceptada, también hay que tener en cuenta la infertilidad de la mujer que recibe el ovocito donado, ya que esta por sí sola también se relaciona con un mayor riesgo de PTB y LBW (Caradeux *et al.*, 2024; Schwartz *et al.*, 2019). Para comprobar esto, se han llevado a cabo estudios muy interesantes de gestaciones subrogadas en mujeres sanas (Berntsen *et al.*, 2019). Aunque en España no es posible, otros países como Estados Unidos ofrecen la opción de la gestación subrogada a aquellas mujeres que no pueden mantener una gestación propia. El mecanismo de gestación subrogada es muy similar a la donación de ovocitos, en cuanto a que el cuerpo de la mujer gestante va a interactuar con un embrión “extraño”. Sin embargo, en este caso, no se ha observado un mayor riesgo de PTB o LBW tras la gestación subrogada (Berntsen *et al.*, 2019). Una posible explicación es que en estos casos la mujer receptora de los ovocitos no tiene ningún problema de infertilidad y por tanto el ambiente uterino tiene una mayor capacidad de acoger un embarazo en comparación con el de una mujer con algún problema de infertilidad. Esto estaría permitiendo un ambiente obstétrico más sano que compensaría los posibles resultados perinatales adversos producidos por una reacción inmune frente al cuerpo “extraño” (Berntsen *et al.*, 2019). Otra cosa a tener en cuenta es que gran parte de las donaciones de ovocitos terminan con una FET y la preparación endometrial correspondiente. Como se mencionó anteriormente, la ausencia de cuerpo lúteo en los protocolos de preparación endometrial artificiales también se relaciona con una placentación anómala, por lo que este detalle también puede estar influenciando en los resultados obtenidos tras la donación de ovocitos (Caradeux *et al.*, 2024).

A la vista de toda la información recogida, queda claro que el uso de ovocitos de donante se relaciona con peores resultados obstétricos y

perinatales en comparación con los ovocitos propios. La explicación parece ser la acción conjunta de los problemas de infertilidad de la mujer receptora y de la respuesta inmune inducida por el ovocito “extraño”, sin olvidar el posible papel de la preparación endometrial en ciclos con FET. A pesar de esto, la donación de ovocitos se considera un procedimiento seguro y que ayuda a muchas parejas a cumplir su deseo genésico. Sin embargo, debido al mayor riesgo asociado de complicaciones del embarazo, las recomendaciones postulan a la SET como la única opción contemplada en ciclos con donación de ovocitos (Alteri *et al.*, 2024; Wennerholm & Bergh 2020).

En cuanto a las donaciones de semen, también se ha relacionado el uso de semen de donante con un mayor riesgo de preeclampsia y de trastornos hipertensivos del embarazo (Allen *et al.*, 2021). Esto, al igual que con los ovocitos donados, puede ser explicado por una placentación anómala debido a que el sistema inmune de la mujer reacciona frente a un elemento “extraño”, que en este caso sería el semen de donante. Sin embargo, esto también ocurriría en una mujer que consiga una gestación natural con semen de su pareja si nunca antes había entrado en contacto con ese semen. Es decir, si hay una exposición previa al semen, se generaría una tolerancia inmune evitando estos problemas en un embarazo futuro (Allen *et al.*, 2021). Además, no se ha encontrado una relación entre estos problemas hipertensivos y la aparición de resultados perinatales adversos tales como PTB o LBW tras el uso de semen de donante. Por lo que no habría que preocuparse al utilizar semen donado más que en aquellas mujeres de riesgo en las que un problema hipertensivo durante el embarazo pudiera comprometer su salud y la de la descendencia (Allen *et al.*, 2021).

3.3. Epigenética

La epigenética se ha postulado como uno de los posibles mecanismos por los cuales las TRA dan lugar a la aparición de resultados perinatales adversos (Graham *et al.*, 2023). Las modificaciones epigenéticas controlan la expresión de los genes sin alterar la secuencia de ADN (ácido desoxirribonucleico)

(Graham *et al.*, 2023; Henningsen *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2024). Aunque no se conocen con exactitud los mecanismos por los cuales la epigenética actúa sobre la expresión génica, se han descrito metilaciones, alteraciones de la impronta, generación de ARNs (ácidos ribonucleicos) no codificantes o modificaciones de los enlaces covalentes de las histonas (Graham *et al.*, 2023; Manna *et al.*, 2022). Estos procesos modifican la estructura de la cromatina y la accesibilidad al ADN, influyendo en la expresión normal de los genes (Li *et al.*, 2024). Además, lo más importante es que todas estas alteraciones epigenéticas se producen por cambios en el ambiente y pueden heredarse a la descendencia (Graham *et al.*, 2023).

Durante la gametogénesis y el desarrollo embrionario ocurren reprogramaciones epigenéticas que son indispensables para un correcto desarrollo del proceso reproductivo (Berntsen *et al.*, 2019; Graham *et al.*, 2023). En la reprogramación de la gametogénesis, se eliminan todas las marcas epigenéticas de las células primordiales, y después de la fertilización, se produce otra reprogramación que permitirá controlar la expresión de genes específicos procedentes de la madre o el padre, lo que se conoce como la impronta genética (Berntsen *et al.*, 2019). De forma que, si de alguna manera se interrumpe esta reprogramación epigenética, se producirán patrones de metilación alterados y modificaciones de las histonas que tendrán consecuencias durante el desarrollo fetal incluso en la vida postnatal (Graham *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2024). Aquí entra en juego el papel de las TRA, ya que todos los procedimientos incluidos en la reproducción asistida (la EOC, el cultivo de los embriones en el laboratorio con diferentes medios, condiciones de temperatura, pH o presión de oxígeno, la criopreservación o la manipulación), interfieren en los procesos de reprogramación epigenética, alterando los patrones de metilación y la expresión de genes, y comprometiendo el proceso de impronta genética (Berntsen *et al.*, 2019; Graham *et al.*, 2023; Henningsen *et al.*, 2020; La Rovere *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2024; Manna *et al.*, 2022). Para comprobar la posible alteración epigenética sobre la descendencia de las TRA, se han estudiado muestras de placentas, estructura generada a partir de las

células del trofoectodermo embrionario. Se han encontrado patrones de metilación diferentes en placentas obtenidas tras embarazos de TRA, en comparación con aquellas placentas presentes en las SC (Berntsen *et al.*, 2019; Manna *et al.*, 2022; Schroeder *et al.*, 2022). Esto confirma que, efectivamente, las TRA tienen una influencia epigenética sobre la descendencia.

Otros estudios analizan los patrones de impronta genética (Berntsen *et al.*, 2019; Henningsen *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2024; Schroeder *et al.*, 2022). La impronta genética consiste en un proceso epigenético que afecta a unos genes concretos. Este proceso permite que se produzca una expresión monoalélica de un gen determinado, dando lugar a la expresión del alelo heredado de uno de los progenitores y no del otro (Henningsen *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2024; Schroeder *et al.*, 2022). La metilación del ADN es la estrategia que sigue este mecanismo de impronta genética para marcar el alelo que procede de cada progenitor. De manera que, un error en este mecanismo de impronta, producido por modificaciones epigenéticas inducidas por el ambiente, daría lugar a enfermedades (Henningsen *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2024). Así, los patrones de impronta alterados conforman un grupo de doce enfermedades raras, entre las que destacan el síndrome de Beckwith-Wiedemann, el síndrome de Angelman, el síndrome de Prader-Willi o el síndrome de Silver-Russell (Berntsen *et al.*, 2019; Henningsen *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2024). Teniendo esto en cuenta, Henningsen *et al.* (2020) quisieron comprobar si el riesgo de sufrir esos cuatro síndromes relacionados con errores en la impronta genética era mayor tras TRA en comparación con las SC. Cuando se estudiaba el riesgo de sufrir cualquiera de los cuatro síndromes en general, no se encontraba un mayor riesgo tras TRA. Sin embargo, sí que observaron un mayor riesgo estadísticamente significativo de sufrir el síndrome de Beckwith-Wiedemann (Henningsen *et al.*, 2020). Lo que coincide con Manna *et al.* (2022), que reportan un riesgo de sufrir el síndrome de Beckwith-Wiedemann hasta seis veces superior tras TRA en comparación con las SC (Manna *et al.*, 2022). Esto sugiere que algunos genes son más vulnerables a los cambios ambientales, y por tanto son más susceptibles de ser alterados por las TRA.

No sólo la estancia en el laboratorio tiene influencia sobre las alteraciones epigenéticas de gametos y embriones. Se ha observado que el estilo de vida de una persona puede afectar a la epigenética de sus gametos, haciéndose visible en el desarrollo embrionario y en los resultados perinatales de la descendencia (Graham *et al.*, 2023). Uno de los factores más asociados con la alteración epigenética de gametos y embriones es el estrés, que da lugar a peores resultados obstétricos y perinatales. Por lo que también puede ser que el estrés generado al pasar por un ciclo de reproducción asistida, a través de la epigenética, esté afectando a los resultados reproductivos de la pareja (Graham *et al.*, 2023). También se ha propuesto que las modificaciones epigenéticas puedan ser debidas a la infertilidad de los pacientes y a la mala calidad de los gametos (Henningsen *et al.*, 2020; La Rovere *et al.*, 2019; Schroeder *et al.*, 2022). Así, se ha visto que los varones que presentan oligozoospermia tienen un mayor riesgo de generar espermatozoides con patrones de metilación anómalos en los genes relacionados con la impronta (La Rovere *et al.*, 2019). Esto es interesante al pensar en la ICSI, procedimiento que en teoría se realiza para el tratamiento de factor masculino severo (Manna *et al.*, 2022). Cuando se realiza ICSI, se trabaja con espermatozoides de peor calidad debido a los problemas de infertilidad del varón. Esto explicaría el por qué la ICSI se relaciona con un mayor riesgo de alteraciones epigenéticas, no por la técnica en sí, sino por la calidad de los espermatozoides empleados (Graham *et al.*, 2023). De manera que, las alteraciones epigenéticas son más frecuentes en los gametos de personas con problemas de infertilidad, haciendo que estos pacientes tengan un riesgo aumentado de problemas en la impronta y de expresión génica alterada independientemente del uso de las TRA (Henningsen *et al.*, 2020).

Por lo que parece que la acción conjunta de la infertilidad, que se muestra como patrones de metilación anómalos de los gametos, y las modificaciones epigenéticas inducidas por las diferentes metodologías incluidas en las TRA, pueden explicar parte de las alteraciones perinatales observadas tras la reproducción asistida. Aun así, el mundo de la epigenética está comenzando a descubrirse y necesita mucha más investigación para determinar cuáles son los

mecanismos que conectan las TRA con esos cambios en la expresión génica y qué genes concretos se están viendo afectados.

4. Discusión

El gran crecimiento de las TRA en los últimos años ha llevado a los investigadores a estudiar los efectos que pueden tener estos procedimientos sobre la descendencia. Tras una amplia revisión bibliográfica incluyendo artículos que han analizado los resultados perinatales obtenidos tras las diferentes metodologías incluidas en los ciclos de reproducción asistida, los hallazgos más importantes se encuentran resumidos en la **Tabla 1**. Haciendo un análisis general, queda claro que las TRA, en comparación con las SC, suponen un mayor riesgo de resultados perinatales adversos. Las manipulaciones de gametos y embriones en el laboratorio se reflejan en una mayor incidencia de PTB, alteraciones en el peso y en el tamaño, anomalías congénitas y cromosómicas e incluso de muerte perinatal. Cuando se analizan los diferentes procedimientos por separado, se puede observar que cada uno afecta a la salud de la descendencia de formas distintas. Esto quiere decir que las decisiones tomadas durante el ciclo pueden tener consecuencias en la salud. Por ello, es importante el estudio de todos estos efectos, para tener un mayor conocimiento y establecer recomendaciones sobre cuáles son las mejores estrategias para la concepción de niños sanos, que es el principal objetivo de la reproducción asistida.

Un ejemplo de la importancia de estudiar los resultados perinatales tras las TRA es que, gracias a estos estudios, se puede concluir que la SET es mucho más recomendable que la DET o la transferencia de más embriones, ya que las gestaciones múltiples presentan un mayor riesgo de prácticamente todos los resultados perinatales estudiados (Marleen *et al.*, 2024). Basándose en esta información, instituciones como la ESHRE han publicado guías recomendando la priorización de la SET, lo que ha conseguido reducir la amplia tasa de gestaciones múltiples observada en los inicios de la reproducción asistida (Alteri *et al.*, 2024). Estos estudios también han demostrado que técnicas invasivas

como la ICSI o la biopsia para PGT, no suponen un riesgo para la salud de la descendencia como se pensaba al principio. Esto es muy interesante porque en los últimos años el uso de la ICSI ha eclipsado a la FIV-c (ESHRE, 2023), práctica que muchos profesionales critican por la naturaleza invasiva de la ICSI (Graham *et al.*, 2023). Según el análisis llevado a cabo en este trabajo, los resultados

Tabla 1. Principales resultados perinatales encontrados tras las diferentes metodologías incluidas en las TRA.

	Edad gestacional al nacer	Peso al nacer	SGA/LGA	Anomalías congénitas	Anomalías cromosómicas	Muerte perinatal	Otros	Referencias
Efecto de la EOC	???	+ LBW - HBW	+ SGA	???	???	???	!!! Efecto del N.º de ovocitos recuperados +SHO	(Berntsen <i>et al.</i> , 2019; Pontesilli <i>et al.</i> , 2021; Ran <i>et al.</i> , 2022; Schirmer <i>et al.</i> , 2020; Wessel <i>et al.</i> , 2021)
FIV-c vs ICSI	= VPTB !!! PTB	=	=	!!!	+ tras ICSI	=	= Tasa nacido vivo - Admisión cuidados intensivos tras ICSI + Alteraciones epigenéticas tras ICSI	(Berntsen <i>et al.</i> , 2019; Berntsen <i>et al.</i> , 2021; Cutting <i>et al.</i> , 2023; Liu <i>et al.</i> , 2020; Luke <i>et al.</i> , 2021; Wennerholm & Bergh, 2020; N. Zhang <i>et al.</i> , 2024)
CT vs BT	+ PTB y VPTB tras BT	=	!!! LGA - SGA tras BT	!!!	???	???	Mejor selección embrionaria tras BT + MZT tras BT + Varones tras BT	(Berntsen <i>et al.</i> , 2019; Marconi <i>et al.</i> , 2023; Raja <i>et al.</i> , 2023; Siristatidis <i>et al.</i> , 2023; Spangmose <i>et al.</i> , 2020; Wennerholm & Bergh, 2020)
ET vs FET	- PTB tras FET	- LBW tras FET + HBW tras FET	- SGA tras FET + LGA tras FET	=	???	=	+ SHO tras ET Posible efecto del protocolo de preparación endometrial	(Berntsen <i>et al.</i> , 2019; Hesters <i>et al.</i> , 2024; Landsverk <i>et al.</i> , 2023; Luke <i>et al.</i> , 2021; Maheshwari <i>et al.</i> , 2022; Westvik-Johari <i>et al.</i> , 2023; Zaat <i>et al.</i> , 2021)
SET vs DET/múltiples	+ PTB y EPTB tras DET/múltiples	+ LBW tras DET/múltiples	???	+ tras DET/múltiples	???	+ tras DET/múltiples	+ Admisión cuidados intensivos tras DET/múltiples Cuidado con + MZT tras SET + VTS tras DET/múltiples	(Eapen <i>et al.</i> , 2020; Li <i>et al.</i> , 2020; Lin <i>et al.</i> , 2024; Marleen <i>et al.</i> , 2024)
Efecto de la biopsia	=	=	=	=	???	???	+ Hembras Posible efecto de la FET	(Alteri <i>et al.</i> , 2023; Ginström Ernstad <i>et al.</i> , 2023; Van Heertum <i>et al.</i> , 2024; Zheng <i>et al.</i> , 2021)
Condiciones de cultivo	=	=	+ LGA tras medio continuo	=	???	???	???	(Castillo <i>et al.</i> , 2020; Sacha <i>et al.</i> , 2022; Sonigo <i>et al.</i> , 2024)
Donación	+ PTB tras donación ovocitos	+ LBW tras donación ovocitos	???	???	???	!!!	+ Trastornos hipertensivos del embarazo y preeclampsia	(Berntsen <i>et al.</i> , 2019; Caradeux <i>et al.</i> , 2024; Mascarenhas <i>et al.</i> , 2021; Schwartz <i>et al.</i> , 2019; Shah <i>et al.</i> , 2023; Wennerholm & Bergh 2020)

-, menos riesgo/incidencia; +, mayor riesgo/incidencia; =, no se encuentran diferencias; ???, no estudiado/encontrado en la bibliografía analizada; !!!, resultados contradictorios en la bibliografía.

perinatales tras ICSI son comparables a los obtenidos tras FIV-c. Por lo que la ICSI, al menos a corto plazo, parece una técnica segura y debido a que reduce la probabilidad de fallo de fecundación total con respecto a la FIV-c (Liu *et al.*, 2020), muchas clínicas la utilizan como método de fertilización de rutina.

Un punto clave en las TRA es la transferencia embrionaria, donde se decidirá el embrión o embriones que van a ser transferidos al útero de la paciente. Quedando zanjado el asunto del número de embriones recomendados a transferir, el siguiente paso es decidir si se hará una transferencia de un embrión en estadio de blastómeras o en estadio de blastocisto (Graham *et al.*, 2023). La BT permite la selección del mejor embrión favoreciendo la SET, pero se relaciona con un mayor riesgo de resultados perinatales adversos en comparación con la CT, sobre todo en términos de PTB. Esto se ha relacionado con el tiempo de cultivo de los embriones, ya que el mejor ambiente para un embrión siempre será el útero materno. El cultivo de embriones hasta estadio de blastocisto supone la presencia del embrión en un ambiente artificial durante un tiempo más prolongado en comparación con el cultivo hasta estadio de blastómeras, comprometiendo los resultados perinatales tras la BT (Raja *et al.*, 2023). Por lo que la decisión de llevar a cabo una CT o una BT dependerá de las características de la paciente y de la información disponible de intentos de FIV previos, porque no hay ninguna evidencia que priorice un tipo de transferencia sobre otra. Por otra parte, hay que tener en cuenta si la transferencia se llevará a cabo en fresco o con embriones criopreservados. Aunque esto depende más de cómo se desarrolla el ciclo que de las decisiones tomadas, ya que muchas veces hay que recurrir a la criopreservación como medida de rescate (por ejemplo, cuando hay que cancelar una ET por SHO) (Maheshwari *et al.*, 2022). En este caso hay un gran cuerpo de evidencia que asegura que la FET se relaciona con mejores resultados perinatales que la ET, aunque presenta un mayor riesgo de LGA y macrosomía. Sin embargo, cuando se habla de FET, automáticamente hay que tener en cuenta el protocolo de preparación endometrial utilizado para asegurar un ambiente óptimo para la implantación del embrión transferido. Según un estudio actual, el sobrecrecimiento de los niños

tras FET podría estar exacerbado por el protocolo de preparación endometrial (Hesters *et al.*, 2024). Por lo que en general, el proceso de criopreservación incluyendo la preparación endometrial correspondiente se relaciona con un exceso de crecimiento fetal y un mayor tamaño de los recién nacidos. En cualquier caso, la criopreservación embrionaria está muy extendida, incluso hay clínicas que llevan a cabo todos los ciclos mediante una FET (Maheshwari *et al.*, 2022), por lo que sería interesante estudiar qué efectos puede tener esa macrosomía en etapas más avanzadas de la vida para establecer mejor la seguridad de la criopreservación.

Para tratar de explicar los resultados perinatales adversos tras técnicas como la BT o la FET se propone la epigenética. De hecho, el cultivo extendido de los embriones hasta estadio de blastocisto, y los medios y manipulaciones implicados en la criopreservación, se relacionan con alteraciones epigenéticas de los embriones (Li *et al.*, 2024; Manna *et al.*, 2022). También se ha estudiado qué efectos pueden tener diferentes condiciones de cultivo y diferentes medios de cultivo sobre los embriones, ya que la exposición a diferentes ambientes también podría generar alteraciones epigenéticas comprometiendo el porvenir de los embriones. Diferentes análisis realizados con medios de cultivo de varias casas comerciales, distintas condiciones de temperatura, de pH o de concentración de oxígeno disponible, y varios tipos de incubadores, no han encontrado diferencias en los resultados perinatales. Sin embargo, teniendo en cuenta la estrategia de cultivo, sí que hay un mayor riesgo de LGA cuando se utiliza un medio continuo en lugar de un medio secuencial, que también puede explicarse por cambios epigenéticos al usarse este tipo de medio.

Con respecto a la utilización de gametos de donante, los estudios muestran un mayor riesgo de complicaciones obstétricas y perinatales en comparación con el uso de gametos propios. La mayor incompatibilidad genética de las receptoras con los ovocitos donados supone una falta de tolerancia inmunológica que compromete el establecimiento de la gestación y da lugar a complicaciones obstétricas. Esto sugiere la posibilidad de llevar a cabo análisis de compatibilidad genética entre el ovocito donado y la madre

gestante. Sin embargo, esta práctica reduciría el número de ovocitos de donante susceptibles de ser recibidos por una paciente en específico, lo que haría muy complicado encontrar una donante adecuada. Por lo que estos estudios deberían recomendarse sólo a aquellas mujeres en las que un trastorno hipertensivo suponga un riesgo para su salud.

Si se realiza una vista general de los resultados obtenidos tras las TRA (**Tabla 1**), llama la atención que la mayoría de los estudios consideran como resultados perinatales alteraciones en el peso, en la talla o en la edad gestacional al nacer. Así, gran parte de la información publicada hace referencia a estos resultados, dejando de lado aspectos importantes como son las anomalías congénitas, las anomalías cromosómicas o la incidencia de muerte perinatal. Esto podría deberse a que los primeros parámetros son fácilmente medibles y más comúnmente registrados en las partidas de nacimiento. En el caso de las anomalías congénitas, más que un desconocimiento lo que hay es una gran controversia entre los estudios. Esto es debido a que no hay una clasificación concreta de anomalías congénitas, lo que hace que cada estudio establezca sus propias definiciones y por tanto los datos no sean comparables entre distintos trabajos (Berntsen *et al.*, 2019). Algo parecido ocurre con la incidencia de muerte perinatal, donde la definición de mortinato varía según el estudio. Aunque el verdadero problema es que la muerte perinatal no suele tenerse en cuenta y los estudios no la incluyen como posible resultado perinatal adverso. A pesar de esto, el parámetro más olvidado es la incidencia de anomalías cromosómicas. Tras haberse registrado un mayor riesgo de anomalías cromosómicas tras ICSI, la mayoría de los estudios que analizan fallos en los cromosomas se centran sólo en si el ciclo ha sido llevado a cabo por ICSI o no. Sin embargo, los trabajos que analizan otras características de las TRA no se preocupan por este aspecto. Tal vez sea porque el estudio de las anomalías cromosómicas es mucho más complejo que los demás, ya que requiere de la realización de un test prenatal o un análisis citogenético del recién nacido, pruebas que no se llevan a cabo de rutina. Otra posible explicación es que con el amplio uso del PGT, parece haber menos preocupación acerca de la

posibilidad de anomalías cromosómicas en la descendencia. Sin embargo, el PGT no se realiza en todos los ciclos, de hecho, sólo se realizará cuando exista una indicación para ello. Por lo que es muy útil detectando anomalías heredables que ya se podían intuir, pero las anomalías cromosómicas que se generan *de novo* no serían detectadas y pueden suponer un problema para la descendencia. Es decir, habría que hacer hincapié en el estudio de las anomalías cromosómicas porque es un resultado indispensable que hay que conocer para poder establecer la seguridad de las TRA.

4.1. Limitaciones de los estudios y posibles soluciones

Los estudios que analizan los resultados tras las TRA se encuentran con dos problemas principales que complican la obtención de conclusiones robustas. Por un lado, aunque se encuentren resultados perinatales adversos tras TRA, siempre hay que tener en cuenta el problema de infertilidad que ha hecho a la pareja acudir a la consulta. Por otro lado, un ciclo de reproducción asistida consta de muchos procesos diferentes y cada uno de ellos podría estar influyendo en los resultados obtenidos. Es decir, los datos de la reproducción son muy heterogéneos y muchas veces falta información porque no se recoge de rutina en las consultas o en los laboratorios.

Aislar el efecto que pueden tener los problemas de infertilidad sobre la descendencia del efecto producido por las TRA y la manipulación en el laboratorio es muy complicado. El problema comienza con que no se tiene en cuenta el tipo de infertilidad, ya que muchos estudios establecen dos grupos de estudio, uno compuesto por parejas infértiles que recurren a TRA y otro con parejas fértiles que consiguen SC (Berntsen *et al.*, 2019). De aquí surgen dos cuestiones: la primera es que dentro de la infertilidad hay muchas patologías diferentes y cada una de ellas puede tener más o menos peso sobre los resultados perinatales. Sería muy interesante enfocar estos estudios en función del tipo de infertilidad, para determinar qué pacientes tienen un mayor riesgo asociado de un resultado perinatal adverso concreto. La segunda cuestión es que comparar estos dos grupos no permite aislar los efectos de la infertilidad y

las TRA, ya que las personas fértiles no se están sometiendo a TRA y todas las que padecen infertilidad están recurriendo a estas técnicas. Por lo que para solucionar este problema lo más importante es diseñar correctamente los grupos de estudio. Lo interesante sería estudiar pacientes fértiles que se someten a reproducción asistida, o pacientes con infertilidad que consiguen una SC. Por ejemplo, una pareja que acuda a la consulta de reproducción y se les diagnostique algún tipo de infertilidad, pero antes de realizarse el tratamiento consiguen una SC (Adeleye *et al.*, 2023). Este grupo permite estudiar el efecto individual de la infertilidad sobre los resultados perinatales, y para que el estudio sea idóneo, habría que separar a este tipo de parejas en función del tipo de infertilidad. Un ejemplo parecido sería el estudio de hermanos nacidos de la misma madre, donde para uno de ellos se requirió reproducción asistida y el otro nació mediante una SC (Berntsen *et al.*, 2019). Este grupo proporcionaría una información muy valiosa, ya que los factores parentales son exactamente los mismos y lo único que cambia es el uso o no de TRA. Sin embargo, este estudio también tiene sus propias limitaciones ya que habría que tener en cuenta las diferencias entre el primer y el segundo embarazo en cuanto a: edad de los progenitores, tratamientos que puedan comprometer la fertilidad de los progenitores, sexo de los recién nacidos, etc. Aunque estos grupos control propuestos serían las situaciones idóneas de estudio, el problema es encontrar un número suficientemente elevado de este perfil de pacientes como para realizar estudios contundentes. El lado bueno es que las TRA cada vez son más utilizadas, por lo que la cantidad de datos analizables no para de crecer, lo que es una muy buena noticia para los estudios en reproducción.

Otro problema es que, aunque se consigan diseñar los mejores grupos de estudio, la heterogeneidad de los datos disponibles sigue siendo un obstáculo (Cavero-Ibircu *et al.*, 2024). Cuando se habla de un ciclo de reproducción asistida, hay que incluir muchas variables y procedimientos diferentes. Por ejemplo, estudiar el efecto aislado de la ICSI sobre los resultados perinatales es muy complicado, ya que hay que tener en cuenta las características de los pacientes, la infertilidad, los fármacos usados para la EOC,

las condiciones en el laboratorio, el tipo de transferencia embrionaria realizada, si se ha llevado a cabo criopreservación o biopsia de los embriones, etc. Este es sólo un ejemplo, pero ocurre lo mismo para cualquier técnica que quiera estudiarse de forma individual. A todo esto hay que sumarle el hecho de que hay muchos detalles que no se reportan de los ciclos de reproducción asistida, lo que dificulta aún más los estudios. La solución pasa por utilizar programas de recogida de información que estén perfectamente diseñados para atender a todos los pasos que se dan en un ciclo de reproducción asistida. De esta manera se podría crear una base de datos con información detallada de cada ciclo a la que puedan acceder los investigadores para solucionar el problema de falta de información.

Por último, no hay que olvidar que la reproducción asistida es una modalidad joven y que evoluciona de forma muy rápida. Algunos estudios no consideran este detalle y utilizan datos recopilados durante los primeros años de las TRA. Esto hay que tenerlo muy en cuenta a la hora de sacar información de este tipo de artículos ya que pueden dar lugar a confusiones (Luke *et al.*, 2021). En los últimos años, las TRA han experimentado muchos cambios que han mejorado su seguridad y su efectividad. Los artículos deben centrarse en analizar los datos obtenidos en los últimos años ya que reflejarán mejor la situación actual de las TRA. Sin embargo, no hay que olvidarse de los efectos a largo plazo. Como se ha discutido anteriormente, la descendencia concebida tras TRA no supera los 40-50 años, por lo que los estudios sobre adultos y ancianos deben esperar unos años más (Graham *et al.*, 2023; Schroeder *et al.*, 2022). De manera que el seguimiento de los nacidos por estas técnicas sigue siendo un gran reto, ya no solo a edades avanzadas porque de momento no exista este perfil de pacientes, sino también en edades tempranas, durante la infancia y la adolescencia, porque es complicado mantener el contacto con todos los pacientes.

5. Conclusiones/perspectivas futuras

El estudio realizado sobre los resultados perinatales adversos observados tras las TRA demuestra que estas técnicas pueden tener una influencia sobre la salud de la descendencia. Aun existiendo grandes dificultades que limitan los estudios, se ha conseguido información muy valiosa que permite analizar la seguridad de estos procedimientos y tomar decisiones siempre pensando en la salud de los pacientes y de su descendencia. Así, queda claro que la SET debe ser la prioridad para evitar las gestaciones múltiples y que técnicas que generan gran debate como la ICSI o la biopsia embrionaria son lo suficientemente seguras como para mantenerlas en los laboratorios de reproducción. Por lo que, aunque las TRA puedan aumentar el riesgo de resultados adversos, esto no debe suponer un impedimento para que las parejas acudan a las consultas de reproducción a cumplir su deseo genésico. Sino que es una información que debe utilizar el profesional para asesorar debidamente a los pacientes de los posibles riesgos y beneficios, y para tomar las decisiones correctas velando por la seguridad de los pacientes.

Los siguientes pasos a dar para seguir promoviendo la evolución de la reproducción asistida son: mejorar la recogida de información proporcionando a los investigadores datos de calidad, hacer más énfasis en resultados perinatales que han quedado en un segundo plano, como son la posibilidad de anomalías cromosómicas o de muerte perinatal, y realizar un seguimiento de la descendencia de las TRA, para rellenar el hueco importante en el conocimiento que supone no conocer con exactitud qué consecuencias a largo plazo tiene la realización de estas técnicas.

6. Bibliografía

Adeleye, A. J., Zablotska, L., Rinaudo, P., Huang, D., Lustig, R. H., & Cedars, M. I. (2023). Study protocol for a Developmental Epidemiological Study of Children born through Reproductive Technologies (DESCRT). *Human Reproduction Open*, 2023(2). <https://doi.org/10.1093/hropen/hoad013>

- Allen, C. P., Marconi, N., McLernon, D. J., Bhattacharya, S., & Maheshwari, A. (2021). Outcomes of pregnancies using donor sperm compared with those using partner sperm: Systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*, 27(1), 190–211. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmaa030>
- Alteri, A., Arroyo, G., Baccino, G., Craciunas, L., De Geyter, C., Ebner, T., Koleva, M., Kordic, K., Mcheik, S., Mertes, H., Pavicic Baldani, D., Rodriguez-Wallberg, K. A., Rugescu, I., Santos-Ribeiro, S., Tilleman, K., Woodward, B., Vermeulen, N., & Veleva, Z. (2024). ESHRE guideline: number of embryos to transfer during IVF/ICSI. *Human Reproduction*, 39(4), 647–657. <https://doi.org/10.1093/humrep/deae010>
- Alteri, A., Cermisoni, G. C., Pozzoni, M., Gaeta, G., Cavoretto, P. I., & Viganò, P. (2023). Obstetric, neonatal, and child health outcomes following embryo biopsy for preimplantation genetic testing. *Human Reproduction Update*, 29(3), 291–306. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmad001>
- Banker, M., Dyer, S., Chambers, G. M., Ishihara, O., Kupka, M., de Mouzon, J., Zegers-Hochschild, F., & Adamson, G. D. (2021). International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technologies (ICMART): world report on assisted reproductive technologies, 2013. *Fertility and Sterility*, 116(3), 741–756. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2021.03.039>
- Belva, F., Bonduelle, M., Buysse, A., van den Bogaert, A., Hes, F., Roelants, M., Verheyen, G., Tournaye, H., & Keymolen, K. (2020). Chromosomal abnormalities after ICSI in relation to semen parameters: Results in 1114 fetuses and 1391 neonates from a single center. *Human Reproduction*, 35(9), 2149–2162. <https://doi.org/10.1093/humrep/deaa162>
- Berntsen, S., Laivuori, H., La Cour Freiesleben, N., Loft, A., Söderström-Anttila, V., Oldereid, N. B., Romundstad, L. B., Magnusson, Å., Petzold, M., Bergh, C., & Pinborg, A. (2021). A systematic review and meta-analysis on the association between ICSI and chromosome abnormalities. *Human*

Reproduction Update, 27(5), 801–847.
<https://doi.org/10.1093/humupd/dmab005>

Berntsen, S., Söderström-Anttila, V., Wennerholm, U. B., Laivuori, H., Loft, A., Oldereid, N. B., Romundstad, L. B., Bergh, C., & Pinborg, A. (2019). The health of children conceived by ART: “The chicken or the egg?” *Human Reproduction Update*, 25(2), 137–158.
<https://doi.org/10.1093/humupd/dmz001>

Caradeux, J., Fernández, B., Ávila, F., Valenzuela, A., Mondión, M., & Figueras, F. (2024). Pregnancies through oocyte donation. A mini review of pathways involved in placental dysfunction. *Frontiers in Medicine*, 11, 1338516.
<https://doi.org/10.3389/fmed.2024.1338516>

Carlsen, H., Vik, T., Andersen, G. L., Stangenes, K., Bjellmo, S., Westvik-Johari, K., & Hollung, S. J. (2023). Cerebral palsy in children born after assisted reproductive technology in Norway: Risk, prevalence, and clinical characteristics. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, 102(11), 1450–1458. <https://doi.org/10.1111/aogs.14663>

Carson, S. A., & Kallen, A. N. (2021). Diagnosis and Management of Infertility: A Review. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 326(1), 65–76. <https://doi.org/10.1001/jama.2021.4788>

Castillo, C. M., Johnstone, E. D., Horne, G., Falconer, D. A., Troup, S. A., Cutting, R., Sharma, V., Brison, D. R., & Roberts, S. A. (2020). Associations of IVF singleton birthweight and gestation with clinical treatment and laboratory factors: A multicentre cohort study. *Human Reproduction*, 35(12), 2860–2870. <https://doi.org/10.1093/humrep/deaa244>

Cavero-Ibiricu, A., Canelas-Fernández, J., Gómez-Acebo, I., Alonso-Molero, J., Martínez-Jiménez, D., Llorca, J., Cabero-Perez, M. J., & Dierssen-Sotos, T. (2024). Association Between Assisted Reproductive Technology and Cerebral Palsy: A Meta-Analysis. *Pediatric Neurology*, 152, 115–124.
<https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2023.12.019>

- Chambers, G. M., Dyer, S., Zegers-Hochschild, F., de Mouzon, J., Ishihara, O., Banker, M., Mansour, R., Kupka, M. S., & Adamson, G. D. (2021). International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technologies world report: assisted reproductive technology, 2014†. *Human Reproduction*, 36(11), 2921–2934. <https://doi.org/10.1093/humrep/deab198>
- Chiu, Y. H., Yland, J. J., Rinaudo, P., Hsu, J., McGrath, S., Hernández-Díaz, S., & Hernán, M. A. (2022). Effectiveness and safety of intrauterine insemination vs. assisted reproductive technology: emulating a target trial using an observational database of administrative claims. *Fertility and Sterility*, 117(5), 981–991. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2022.02.003>
- Cutting, E., Horta, F., Dang, V., van Rumste, M. M. E., & Mol, B. W. J. (2023). Intracytoplasmic sperm injection versus conventional in vitro fertilisation in couples with males presenting with normal total sperm count and motility. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 8(8), CD001301. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD001301.pub2>
- Eapen, A., Ryan, G. L., Ten Eyck, P., & Van Voorhis, B. J. (2020). Current evidence supporting a goal of singletons: a review of maternal and perinatal outcomes associated with twin versus singleton pregnancies after in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Fertility and Sterility*, 114(4), 690–714. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.08.1423>
- European Society of Human Reproduction and Embryology. (2021). *Factsheet on infertility – prevalence, treatment and fertility decline in Europe* [Fact sheet]. <https://www.eshre.eu/Press-Room/Resources/Fact-sheets>
- European Society of Human Reproduction and Embryology. (2023). *ART fact sheet* [Fact sheet]. <https://www.eshre.eu/Press-Room/Resources/Fact-sheets>
- Ginström Ernstad, E., Hanson, C., Wånggren, K., Thurin-Kjellberg, A., Hulthe Söderberg, C., Syk Lundberg, E., Petzold, M., Wennerholm, U. B., & Bergh,

- C. (2023). Preimplantation genetic testing and child health: a national register-based study. *Human Reproduction*, 38(4), 739–750. <https://doi.org/10.1093/humrep/dead021>
- Graham, M. E., Jelin, A., Hoon, A. H., Jr, Wilms Floet, A. M., Levey, E., & Graham, E. M. (2023). Assisted reproductive technology: Short- and long-term outcomes. *Developmental medicine and child neurology*, 65(1), 38–49. <https://doi.org/10.1111/dmcn.15332>
- Gullo, G., Scaglione, M., Laganà, A. S., Perino, A., Andrisani, A., Chiantera, V., Cucinella, G., Gitas, G., Barra, F., & Riemma, G. (2023). Assisted Reproductive Techniques and Risk of Congenital Heart Diseases in Children: a Systematic Review and Meta-analysis. *Reproductive Sciences*, 30(10), 2896–2906. <https://doi.org/10.1007/s43032-023-01252-6>
- Hamilton, I., Martin, N., Liu, J., Defranco, E., & Rossi, R. (2023). Gestational Age and Birth Outcomes in Term Singleton Pregnancies Conceived with Infertility Treatment. *JAMA Network Open*, 6(8), e2328335. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2023.28335>
- Hargreave, M., Jensen, A., Hansen, M. K., Dehlendorff, C., Winther, J. F., Schmiegelow, K., & Kjær, S. K. (2019). Association between Fertility Treatment and Cancer Risk in Children. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 322(22), 2203–2210. <https://doi.org/10.1001/jama.2019.18037>
- Henningsen, A. A., Gissler, M., Rasmussen, S., Opdahl, S., Wennerholm, U. B., Spangsmose, A. L., Tiitinen, A., Bergh, C., Romundstad, L. B., Laivuori, H., Forman, J. L., Pinborg, A., & Lidegaard. (2020). Imprinting disorders in children born after ART: A Nordic study from the CoNARTaS group. *Human Reproduction*, 35(5), 1178–1184. <https://doi.org/10.1093/humrep/deaa039>
- Hesters, L., Sermondade, N., Lambert, C., Pouly, J.-L., Pereira, B., Lucas, C., Levy, R., & Brugnon, F. (2024). Is large for gestational age in singletons born after frozen embryo transfer associated with freezing technique or

endometrial preparation protocol? A longitudinal national French study. *Human Reproduction*, 39(4), 724–732. <https://doi.org/10.1093/humrep/deae027>

La Rovere, M., Franzago, M., & Stuppia, L. (2019). Epigenetics and neurological disorders in ART. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(17), 4169. <https://doi.org/10.3390/ijms20174169>

Lai, S., Wang, R., van Wely, M., Costello, M., Farquhar, C., Bendsdorp, A. J., Custers, I. M., Goverde, A. J., Elzeiny, H., Mol, B. W., & Li, W. (2024). IVF versus IUI with ovarian stimulation for unexplained infertility: a collaborative individual participant data meta-analysis. *Human Reproduction Update*, 30(2), 174–185. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmad033>

Landsverk, E., Westvik-Johari, K., Romundstad, L. B., & Opdahl, S. (2023). Birth size after embryo cryopreservation: larger by all measures? *Human Reproduction*, 38(7), 1379–1389. <https://doi.org/10.1093/humrep/dead094>

Laugesen, K., Veres, K., Hernandez-Diaz, S., Chiu, Y. H., Oberg, A. S., Hsu, J., Rinaudo, P., Spaan, M., van Leeuwen, F., & Sørensen, H. T. (2023). Overweight or obesity in children born after assisted reproductive technologies in Denmark: A population-based cohort study. *PLoS Medicine*, 20(12), 1–24. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1004324>

Li, J., Liu, Y., Huang, H., & Jin, L. (2024). Cardiovascular health of offspring conceived by assisted reproduction technology: a comprehensive review. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 11, 1–10. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2024.1287060>

Li, Y. xin, Sun, T. ze, Lv, M. qi, Zhou, L., Ge, P., Li, H. nan, & Zhou, D. xia. (2020). Is vanishing twin syndrome associated with adverse obstetric outcomes of ART singletons? A systematic review and meta-analysis. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 37(11), 2783–2796. <https://doi.org/10.1007/s10815-020-01928-x>

- Lin, J., Zhang, K., Wu, F., Wang, B., Chai, W., Zhu, Q., Huang, J., & Lin, J. (2024). Maternal and perinatal risks for monozygotic twins conceived following frozen-thawed embryo transfer: a retrospective cohort study. *Journal of Ovarian Research*, 17(1), 36. <https://doi.org/10.1186/s13048-024-01349-9>
- Liu, L., Wang, H., Li, Z., Niu, J., & Tang, R. (2020). Obstetric and perinatal outcomes of intracytoplasmic sperm injection versus conventional in vitro fertilization in couples with nonsevere male infertility. *Fertility and Sterility*, 114(4), 792–800. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.04.058>
- Luke, B., Brown, M. B., Wantman, E., Forestieri, N. E., Browne, M. L., Fisher, S. C., Yazdy, M. M., Ethen, M. K., Canfield, M. A., Watkins, S., Nichols, H. B., Farland, L. V., Oehninger, S., Doody, K. J., Eisenberg, M. L., & Baker, V. L. (2021). The risk of birth defects with conception by ART. *Human Reproduction*, 36(1), 116–129. <https://doi.org/10.1093/humrep/deaa272>
- Luke, B., Brown, M. B., Wantman, E., Schymura, M. J., Browne, M. L., Fisher, S. C., Forestieri, N. E., Rao, C., Nichols, H. B., Yazdy, M. M., Gershman, S. T., Sacha, C. R., Williams, M., Ethen, M. K., Canfield, M. A., Doody, K. J., Eisenberg, M. L., Baker, V. L., Williams, C., ... Lupo, P. J. (2022). The Risks of Birth Defects and Childhood Cancer With Conception by Assisted Reproductive Technology. *Human reproduction*, 37(11), 2672–2689. <https://doi.org/10.1093/humrep/deac196>
- Maheshwari, A., Bell, J. L., Bhide, P., Brison, D., Child, T., Chong, H. Y., Cheong, Y., Cole, C., Coomarasamy, A., Cutting, R., Hardy, P., Hamoda, H., Juszczak, E., Khalaf, Y., Kurinczuk, J. J., Lavery, S., Linsell, L., MacKlon, N., Mathur, R., ... Bhattacharya, S. (2022). Elective freezing of embryos versus fresh embryo transfer in IVF: A multicentre randomized controlled trial in the UK (E-Freeze). *Human Reproduction*, 37(3), 476–487. <https://doi.org/10.1093/humrep/deab279>
- Manna, C., Lacconi, V., Rizzo, G., De Lorenzo, A., & Massimiani, M. (2022). Placental Dysfunction in Assisted Reproductive Pregnancies: Perinatal,

Neonatal and Adult Life Outcomes. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(2), 659. <https://doi.org/10.3390/ijms23020659>

Marconi, N., Raja, E. A., Bhattacharya, S., & Maheshwari, A. (2023). Perinatal outcomes in singleton live births after blastocyst transfer: an analysis of 60,926 in vitro fertilization cycles from the United Kingdom. *Fertility and Sterility*, 120(2), 312–320. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2023.04.018>

Marleen, S., Kodithuwakku, W., Nandasena, R., Mohideen, S., Allotey, J., Fernández-García, S., Gaetano-Gil, A., Ruiz-Calvo, G., Aquilina, J., Khalil, A., Bhide, P., Zamora, J., & Thangaratinam, S. (2024). Maternal and perinatal outcomes in twin pregnancies following assisted reproduction: a systematic review and meta-analysis involving 802 462 pregnancies. *Human Reproduction Update*, 00(0), 1–14. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmae002>

Mascarenhas, M., Mehlawat, H., Kirubakaran, R., Bhandari, H., & Choudhary, M. (2021). Live birth and perinatal outcomes using cryopreserved oocytes: an analysis of the Human Fertilisation and Embryology Authority database from 2000 to 2016 using three clinical models. *Human Reproduction*, 36(5), 1416–1426. <https://doi.org/10.1093/humrep/deaa343>

Pontesilli, M., Hof, M. H., Ravelli, A. C. J., van Altena, A. J., Soufan, A. T., Mol, B. W., Kosteljik, E. H., Slappendel, E., Consten, D., Cantineau, A. E. P., van der Westerlaken, L. A. J., van Inzen, W., Dumoulin, J. C. M., Ramos, L., Baart, E. B., Broekmans, F. J. M., Rijnders, P. M., Curfs, M. H. J. M., Mastenbroek, S., ... Painter, R. C. (2021). Effect of parental and ART treatment characteristics on perinatal outcomes. *Human Reproduction*, 36(6), 1640–1665. <https://doi.org/10.1093/humrep/deab008>

Potiris, A., Perros, P., Drakaki, E., Mavrogianni, D., Machairiotis, N., Sfakianakis, A., Karampitsakos, T., Vrachnis, D., Antonakopoulos, N., Panagopoulos, P., Drakakis, P., & Stavros, S. (2024). Investigating the Association of Assisted Reproduction Techniques and Adverse Perinatal Outcomes.

Journal of Clinical Medicine, 13(2), 1–13.
<https://doi.org/10.3390/jcm13020328>

Premru-Srsen, T., Vrtačnik, E. B., Bizjak, T., Verdenik, I., Korošec, S., & Frangež, H. B. (2021). Preterm delivery risk in infertile women who conceived after reproductive surgery: natural conception versus IVF/ICSI. *Human Reproduction*, 36(6), 1630–1639.
<https://doi.org/10.1093/humrep/deaa380>

Raja, E. A., Bhattacharya, S., Maheshwari, A., & McLernon, D. J. (2023). A comparison of perinatal outcomes following fresh blastocyst or cleavage stage embryo transfer in singletons and twins and between singleton siblings. *Human Reproduction Open*, 2023(2), 1–13.
<https://doi.org/10.1093/hropen/hoad003>

Ran, S., Zu, R., Wu, H., Zheng, W., Yang, C., Yang, S., Ren, B., Zhang, W., Du, J., & Guan, Y. (2022). Perinatal outcomes of singleton live births after late moderate-to-severe ovarian hyperstimulation syndrome: A propensity score-matched study. *Frontiers in Endocrinology*, 13, 1–9.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1063066>

Rodriguez-Wallberg, K. A., Palomares, A. R., Nilsson, H. P., Oberg, A. S., & Lundberg, F. (2023). Obstetric and Perinatal Outcomes of Singleton Births Following Single- vs Double-Embryo Transfer in Sweden. *JAMA Pediatrics*, 177(2), 149–159. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2022.4787>

Sacha, C. R., Gopal, D., Liu, C. ling, Cabral, H. R., Stern, J. E., Carusi, D. A., Racowsky, C., & Bormann, C. L. (2022). The impact of single-step and sequential embryo culture systems on obstetric and perinatal outcomes in singleton pregnancies: the Massachusetts Outcomes Study of Assisted Reproductive Technology. *Fertility and Sterility*, 117(6), 1246–1254.
<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2022.03.005>

Sarmon, K. G., Eliassen, T., Knudsen, U. B., & Bay, B. (2021). Assisted reproductive technologies and the risk of stillbirth in singleton pregnancies:

a systematic review and meta-analysis. *Fertility and Sterility*, 116(3), 784–792. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2021.04.007>

Schirmer, D. A., 3rd, Kulkarni, A. D., Zhang, Y., Kawwass, J. F., Boulet, S. L., & Kissin, D. M. (2020). Ovarian hyperstimulation syndrome after assisted reproductive technologies: trends, predictors, and pregnancy outcomes. *Fertility and sterility*, 114(3), 567–578. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.04.004>

Schroeder, M., Badini, G., Sferruzzi-Perri, A. N., & Albrecht, C. (2022). The Consequences of Assisted Reproduction Technologies on the Offspring Health Throughout Life: A Placental Contribution. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 10, 906240. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.906240>

Schwartz, K. M., Boulet, S. L., Kawwass, J. F., & Kissin, D. M. (2019). Perinatal outcomes among young donor oocyte recipients. *Human Reproduction*, 34(12), 2533–2540. <https://doi.org/10.1093/humrep/dez213>

Shah, J. S., Figueras, F., Blázquez, A., Brazal, S., Buratini, J., Buscà, R., Canto, M. D., Iemmello, R., Jacobs, C. K., Lorenzon, A. R., Renzini, M. M., Ripero, M., & Sakkas, D. (2023). Perinatal outcomes in 6640 singleton pregnancies after donor oocyte IVF across three continents over 7 years. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 40(12), 2903–2911. <https://doi.org/10.1007/s10815-023-02965-y>

Siristatidis, C., Papapanou, M., Karageorgiou, V., Martins, W. P., Bellos, I., Teixeira, D. M., & Vlahos, N. (2023). Congenital anomaly and perinatal outcome following blastocyst- vs cleavage-stage embryo transfer: systematic review and network meta-analysis. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, 61(1), 12–25. <https://doi.org/10.1002/uog.26019>

Sonigo, C., Ahdad-Yata, N., Pirtea, P., Solignac, C., Grynberg, M., & Sermondade, N. (2024). Do IVF culture conditions have an impact on neonatal outcomes? A systematic review and meta-analysis. *Journal of*

Assisted Reproduction and Genetics, 41(3), 563–580.
<https://doi.org/10.1007/s10815-024-03020-0>

Spangmose, A. L., Ginström Ernstad, E., Malchau, S., Forman, J., Tiitinen, A., Gissler, M., Opdahl, S., Romundstad, L. B., Bergh, C., Wennerholm, U. B., Henningsen, A. A., & Pinborg, A. (2020). Obstetric and perinatal risks in 4601 singletons and 884 twins conceived after fresh blastocyst transfers: A nordic study from the CoNARTaS group. *Human Reproduction*, 35(4), 805–815.
<https://doi.org/10.1093/HUMREP/DEAA032>

Step toe, P. C., & Edwards, R. G. (1978). Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet*, 2(8085), 366. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(78\)92957-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(78)92957-4)

Stern, J. E., Liu, C. L., Cui, X., Cabral, H. J., Farland, L. V., Coddington, C., & Diop, H. (2022). Assisted reproductive technology treatment increases obstetric and neonatal risks over that of the underlying infertility diagnosis. *Fertility and sterility*, 117(6), 1223–1234.
<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2022.02.009>

Van Heertum, K., DeVilbiss, E. A., Goldfarb, J., Mumford, S. L., & Weinerman, R. (2024). Does embryo biopsy, independent of vitrification, impact perinatal outcomes? An analysis of perinatal outcomes following preimplantation genetic testing biopsy in fresh and frozen embryo transfer cycles. *F&S Reports*, 5(1), 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.xfre.2024.01.005>

Wang, F. F., Yu, T., Chen, X. L., Luo, R., & Mu, D. Z. (2021). Cerebral palsy in children born after assisted reproductive technology: a meta-analysis. *World Journal of Pediatrics*, 17(4), 364–374.
<https://doi.org/10.1007/s12519-021-00442-z>

Wang, R., Shi, Q., Jia, B., Zhang, W., Zhang, H., Shan, Y., Qiao, L., Chen, G., & Chen, C. (2022). Association of Preterm Singleton Birth with Fertility

Treatment in the US. *JAMA Network Open*, 5(2), 1–13.
<https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2021.47782>

Wennerholm, U. B., & Bergh, C. (2020). Perinatal outcome in children born after assisted reproductive technologies. *Upsala Journal of Medical Sciences*, 125(2), 158–166. <https://doi.org/10.1080/03009734.2020.1726534>

Wessel, J. A., Mol, F., Danhof, N. A., Bendsorp, A. J., Tjon-Kon Fat, R. I., Broekmans, F. J. M., Hoek, A., Mol, B. W. J., Mochtar, M. H., Van Wely, M., & INeS and SUPER Study Group (2021). Birthweight and other perinatal outcomes of singletons conceived after assisted reproduction compared to natural conceived singletons in couples with unexplained subfertility: Follow-up of two randomized clinical trials. *Human Reproduction*, 36(3), 817–825. <https://doi.org/10.1093/humrep/deaa298>

Westvik-Johari, K., Lawlor, D. A., Romundstad, L. B., Bergh, C., Wennerholm, U. B., Gissler, M., Henningsen, A. K. A., Håberg, S. E., Tiitinen, A., Spangmose, A. L., Pinborg, A., & Opdahl, S. (2023). Risk of stillbirth and neonatal death in singletons born after fresh and frozen embryo transfer: cohort study from the Committee of Nordic Assisted Reproduction Technology and Safety. *Fertility and Sterility*, 119(2), 265–276. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2022.10.020>

Wong, K., Carson, K. R., & Crane, J. (2021). Risk of stillbirth in singleton gestations following in vitro methods of conception: a systematic review and meta-analysis. *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 128(10), 1563–1572. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.16691>

World Health Organization. (2022). International Classification of Diseases, Eleventh Revision (ICD-11). <http://id.who.int/icd/entity/61370397>

World Health Organization. (2023). Infertility prevalence estimates, 1990-2021. <https://www.who.int/publications/i/item/978920068315>

- Yuan, S., Guo, L., Cheng, D., Li, X., Hu, H., Hu, L., Lu, G., Lin, G., Gong, F., & Tan, Y. Q. (2022). The de novo aberration rate of prenatal karyotype was comparable between 1496 fetuses conceived via IVF/ICSI and 1396 fetuses from natural conception. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 39(7), 1683–1689. <https://doi.org/10.1007/s10815-022-02500-5>
- Zaat, T., Zagers, M., Mol, F., Goddijn, M., van Wely, M., & Mastenbroek, S. (2021). Fresh versus frozen embryo transfers in assisted reproduction. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2(2), CD011184. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD011184.pub3>
- Zhang, N., Tian, T., Li, J., Zhu, X., Jiesisibieke, D., Fang, S., Liu, P., Li, R., Qiao, J., & Yang, R. (2024). A comparison of pregnancy outcomes and congenital malformations in offspring between patients undergoing intracytoplasmic sperm injection and conventional in vitro fertilization: a retrospective cohort study. *Fertility and Sterility*, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2024.01.025>
- Zhang, S., Luo, Q., Meng, R., Yan, J., Wu, Y., & Huang, H. (2024). Long-term health risk of offspring born from assisted reproductive technologies. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 41(3), 527–550. <https://doi.org/10.1007/s10815-023-02988-5>
- Zheng, W., Yang, C., Yang, S., Sun, S., Mu, M., Rao, M., Zu, R., Yan, J., Ren, B., Yang, R., & Guan, Y. (2021). Obstetric and neonatal outcomes of pregnancies resulting from preimplantation genetic testing: A systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*, 27(6), 989–1012. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmab027>
- Zhu, J., Wang, Z., Chen, L., & Liu, P. (2020). The late vanishing of a co-twin contributes to adverse perinatal outcomes in the surviving singleton. *Human Reproduction*, 35(7), 1553–1561. <https://doi.org/10.1093/humrep/deaa120>