



Editorial

Técnicas de reproducción asistida y defectos congénitos: ¿riesgo “teratogénico” o genético?

María Luisa Martínez-Frías. Directora del Centro de Investigación sobre Anomalías Congénitas. Instituto de Salud Carlos III. Ministerio de Sanidad y Consumo. Profesora del Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid. (España). Correo electrónico: mlmartinez.frias@isciii.es

Términos clave en inglés: reproductive techniques, assisted; congenital, hereditary, and neonatal diseases and abnormalities; genomic imprinting

Términos clave en español: técnicas de reproducción asistida; malformaciones y enfermedades congénitas, hereditarias y neonatales; impresión genómica

Fecha de recepción: 15 de noviembre de 2006
Fecha de aceptación: 17 de noviembre de 2006

Fecha de publicación: 1 de diciembre de 2006

Evid Pediatr. 2006; 2: 66 doi: [vol2/2006_numero_2/2006_vol2_numero4.2.htm](https://doi.org/10.1016/S1136-2015(06)00042-2)

Citation of this article

Martínez-Frías ML. Técnicas de reproducción asistida y defectos congénitos: ¿riesgo “teratogénico” o genético? Evid Pediatr. 2006; 2: 66

Para recibir Evidencias en Pediatría en su correo electrónico debe darse de alta en nuestro boletín por medio del ETOC <http://www.aepap.org/EvidPediatr/etoc.htm>

Este artículo está disponible en: http://www.aepap.org/EvidPediatr/numeros/vol2/2006_numero_2/2006_vol2_numero4.2.htm
EVIDENCIAS EN PEDIATRIA es la revista oficial del Grupo de Pediatría Basada en la Evidencia de la Asociación Española de Pediatría de Atención Primaria. © 2005-06. Todos los derechos reservados

Técnicas de reproducción asistida y defectos congénitos: ¿riesgo “teratogénico” o genético?

María Luisa Martínez-Frías. Directora del Centro de Investigación sobre Anomalías Congénitas. Instituto de Salud Carlos III. Ministerio de Sanidad y Consumo. Profesora del Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid. (España). Correo electrónico: mlmartinez.frias@isciii.es

Las técnicas de reproducción asistida (TRA) son definidas por algunos como tratamientos en los que el ovocito y el espermatozoide se manipulan en el laboratorio, como ocurre con la fecundación in vitro (FIV) y la inyección intracitoplásmica de espermatozoide (ICSI). Otros, sin embargo, consideran también en esa denominación todos los procedimientos incluyendo la inseminación intrauterina o artificial (IA), la estimulación ovárica (EO) mediante tratamientos hormonales e, incluso, los tratamientos quirúrgicos. En cualquier caso, las TRA han mostrado ser tan eficaces para el tratamiento de las parejas infértiles en edad reproductiva que se ha estimado que, entre el 1 y 4% del total de nacimientos anuales de los países desarrollados, son consecuencia de TRA¹⁻⁸.

Desde sus inicios, y aunque la IA y la EO se han considerado los tratamientos más seguros, ha existido una gran preocupación sobre la posibilidad de que las TRA pudieran tener efectos adversos tanto sobre el desarrollo embrionario, como a largo plazo. A pesar de ello, y aunque las técnicas que más preocupación han despertado son la FIV y, sobre todo, la ICSI (que se introdujo hace algo más de una década), hay centros en los que hasta el 80% de los tratamientos de reproducción que se aplican son mediante una ICSI^{4,7}. Pero también se están realizando diferentes tipos de estudios dirigidos a tratar de determinar esos efectos y sus posibles causas y/o mecanismos.

De hecho, aunque la utilización clínica de las TRA apenas sobrepasa las tres décadas, la literatura científica existente sobre las mismas es enorme. Al introducir en PubMed las palabras “assisted reproductive technology in human” se han recuperado 26.958 trabajos. Si a las palabras anteriores se añade “pregnancy outcome” se obtienen 3.061, y si se substituye “pregnancy outcome” por “birth defects” el resultado es de 1.384 trabajos, números que se incrementan día a día. Limitando la revisión a los trabajos que evalúan los defectos congénitos (excluyendo los que analizan los efectos a largo plazo) en relación con las TRA, sobre todo en periodos más recientes, observamos que la mayoría siguen siendo descripciones de casos o de series de casos muy seleccionadas. Por otra parte, los escasos estudios epidemiológicos que no tienen graves problemas de diseño, o de análisis, obtienen resultados contradictorios, por lo que no son fáciles de interpretar, sobre todo por los no expertos en estos análisis. Además, al revisar la literatura resulta fácil detectar diferentes posicionamientos frente a los efectos de las TRA, no sólo en distintos grupos sino también en las diferentes áreas profesionales desde las que se estudian estos procesos (investigación básica, obstétrica, pediátrica, reproductiva y ética, entre otras). Y es muy posible que la mayoría

de esos posicionamientos se deban a las dificultades inherentes a la interpretación y evaluación de los análisis y resultados obtenidos en trabajos diferentes que, además, estudian aspectos parciales del problema.

Por todo lo anterior, el enfoque que se plantea en este artículo es analizar los resultados publicados sobre los potenciales riesgos de las TRA para el desarrollo embrionario y fetal, desde el punto de vista de los conocimientos científicos actuales sobre los procesos biológicos básicos de ese desarrollo. El objetivo es determinar, sobre la base de esos procesos, si se puede establecer que los defectos congénitos observados en los niños nacidos tras alguna de las TRA, pudieran ser consecuencia de algunas de las causas de la infertilidad (que serían causas intrínsecas y/o genéticas) o de las técnicas utilizadas y sus procedimientos, que los podríamos considerar como “teratogénicos”. La palabra “teratogénico” se suele utilizar para definir los defectos y malformaciones congénitas producidas por la exposición prenatal a factores ambientales (no genéticos) como, por ejemplo, ciertos medicamentos, enfermedades maternas incluyendo la fiebre, los disolventes orgánicos y estilos de vida, entre otros muchos. En consecuencia, en ese contexto y en un sentido amplio, cualquier factor no genético (como las TRA) que pudiera alterar el desarrollo embrionario y/o fetal, se podría considerar y analizar como un factor potencialmente teratogénico.

Resumen de los conocimientos existentes sobre los potenciales riesgos para defectos congénitos en los niños concebidos mediante una TRA

Entre los resultados que han sido más consistentes en los diferentes trabajos, se encuentran la relación entre las TRA y un incremento de abortos, de partos múltiples, de partos pretérmino, y de recién nacidos con bajo peso^{3,5,8}. Por el contrario, existe menos concordancia entre los distintos trabajos en cuanto al riesgo para malformaciones congénitas en general, y para distintos tipos de defectos congénitos y malformaciones mayores^{1,2,5,6,9-23}. En relación con los estudios epidemiológicos, los resultados también han sido contradictorios^{1,6,18}. No obstante, en una reciente publicación⁶, se realiza un estudio conjunto de 25 trabajos previamente publicados, encontraron o no, un incremento del riesgo para la asociación entre ICSI y FIV y defectos congénitos. Los autores llegan a la conclusión que, tanto la ICSI como la FIV, se relacionan con un importante incremento del riesgo para malformaciones congénitas en relación con los niños concebidos naturalmente⁶.

En los años 2002 y 2003 se publicaron dos trabajos describiendo casos de niños nacidos tras ICSI que tenían síndrome de Angelman^{24,25}, en los que se observó un

patrón de metilación anormal, consistente en la pérdida de la metilación en SNRPN del alelo materno. Estos trabajos y otros²⁴⁻²⁶ llevaron a pensar que la ICSI podría ser el factor de riesgo determinante de ese problema de "imprinting". Posteriormente se describió la posibilidad de un incremento de niños con síndrome de Beckwith-Wiedemann (SBW) concebidos mediante una ICSI o una FIV²⁷⁻²⁹, a los que han seguido otros³⁰⁻³⁴, que también sugerían una relación entre esta técnica y problemas de "imprinting". Esta asociación fue valorada como posible, sobre todo porque en 13 de los 14 casos de SBW nacidos tras una ICSI que se analizaron molecularmente, se detectó que habían perdido la metilación de las zonas de "imprinting" KvDMR en el gen KCNQ1²⁷⁻²⁹. La frecuencia de esta alteración en los SBW nacidos mediante una TRA se ha considerado como significativamente superior a la observada en los nacidos por fecundación natural³⁰, aunque esos cálculos se han realizado sobre estimaciones aproximadas de las frecuencias. Sin embargo, no todos los casos de SBW nacidos por una TRA fueron por ICSI, lo que ha generado dudas sobre la relación entre la ICSI y el "imprinting". Otros trabajos han descrito casos de niños nacidos mediante una FIV que presentaron retinoblastoma³⁵⁻³⁹ y síndrome de Russell-Silver⁴⁰, y se considera que podrían estar relacionados con los mismos mecanismos.

En el año 2004 se publicaron los resultados de un metanálisis¹⁸, sobre los efectos de la FIV y la ICSI y, sin separar por cada tipo de TRA, se observó un incremento del riesgo global para malformaciones mayores de 1,29 (intervalo de confianza del 95%: 1,01-1,67). Los autores no encontraron diferencias entre la FIV y la ICSI, aunque comentan que los trabajos incluidos en el metanálisis tienen muchos sesgos, por lo que no está claro que el riesgo observado se pueda atribuir a estas técnicas. Además, consideran que los controles que usan en esos trabajos para las comparaciones no son apropiados, proponiendo como tales, las parejas infértiles que tuvieran un hijo espontáneamente sin haber sido sometidas a una TRA. En este número de Evidencias en Pediatría se comenta un estudio⁴¹ publicado este mismo año¹⁶, que utiliza como grupo control las parejas con problemas de fertilidad que se quedaron embarazadas espontáneamente sin haber seguido ningún TRA, como proponían los autores anteriores¹⁸.

Como se ha comentado antes, el principal problema que tienen la inmensa mayoría de los trabajos publicados hasta la fecha, radica en que suelen ser observaciones puntuales o análisis de series de casos, más o menos grandes, pero muy seleccionadas, por lo que es difícil llegar a obtener conclusiones válidas. Igualmente, una gran proporción de los estudios epidemiológicos que se han realizado, aparte de incluir muestras pequeñas y seleccionadas, tienen múltiples problemas tanto de diseño como de factores de confusión no controlados. Por ejemplo, en muchos se incluyen todos los tipos de TRA en un solo grupo, en la inmensa mayoría - si no en todos - tampoco se realizan los análisis para cada tipo de

problema de fertilidad, otros sólo incluyen casos nacidos mediante TRA sin grupos de comparación y los que los utilizan no son grupos adecuados. Esto, además de que no se suelen evaluar otros muchos factores de confusión como, por ejemplo, consanguinidad entre la pareja, tratamientos farmacológicos concomitantes, hábitos alimenticios y de estilos de vida, entre otros aspectos, para los que las parejas sometidas a TRA pueden diferir notoriamente de los grupos de comparación.

A pesar de todas las dificultades para diseñar estudios apropiados, y de que la información existente es contradictoria, creo que podríamos tener una visión más clara sobre la posibilidad de que las causas de los defectos congénitos fueran intrínsecas (es decir, relacionadas con el problema de infertilidad subyacente) o extrínsecas por efecto de la manipulación en las TRA (y, por tanto, "teratogénicas"), si analizamos su plausibilidad biológica. Para ello, debemos interpretar los datos disponibles teniendo en cuenta tanto los conocimientos actuales que se han obtenido en experimentación con embriones de animales, como las bases biológicas del desarrollo embrionario humano. Además de evaluar también, la relación entre el momento del desarrollo en el que se producen los diferentes defectos observados en los niños nacidos tras una TRA, con el momento en el que se realizan las diferentes técnicas.

Datos experimentales

En relación con los datos de experimentación animal, los resultados han mostrado que los procedimientos y técnicas utilizadas en el cultivo in vitro de los embriones podrían relacionarse con procesos epigenéticos^{42,43}. Los procesos epigenéticos se definen como cambios hereditarios en la función de ciertos genes que no conllevan alteraciones en la secuencia del ADN. Esos cambios, que se relacionan con la metilación y el "imprinting", entre otros procesos, regulan la expresión de ciertos genes según procedan de la madre o del padre. En experimentación se ha observado una relación directa entre TRA y alteraciones de "imprinting" en las ovejas sin problemas de fertilidad⁴⁴. En éstas, tras ser sometidas a TRA tenían crías muy grandes -de hecho se les denomina "Large offspring syndrome (LOS)"- en las que se observó que tenían pérdida de metilación en el centro de control de "imprinting" en el gen IGF2R. En otros experimentos también se ha encontrado una relación entre ciertas TRA y defectos relacionados con alteraciones epigenéticas⁴⁵.

Algunas bases biológicas sobre los procesos del desarrollo

Existen numerosos estudios sobre las fases biológicas en las que se producen los procesos epigenéticos⁴⁶⁻⁵⁴. Aunque la mayoría de los trabajos son sobre animales de experimentación, se ha observado que los ratones parecen ser un modelo que se ajusta bien a los del hombre^{42,43,54}. Así, se ha comprobado que el periodo de preimplantación del embrión es particularmente crítico para el mantenimiento del "imprinting" y la re-

programación epigenética, que es esencial para que el desarrollo embrionario y fetal sea adecuado⁵⁵. La formación de las células primordiales de la línea germinal que darán lugar a la formación de los gametos (figura 1), se inicia en las primeras fases de diferenciación embrionaria⁴⁶⁻⁵⁶.

En el proceso del desarrollo embrionario que se inicia tras la fertilización, se produce una desmetilación general de las zonas que no son de "imprinting", mientras que las zonas de imprinting se mantienen metiladas. A partir del estadio de blastocisto, que consta de dos tipos de células, las que constituyen el botón embrionario y las del trofoblasto, las células de la parte embrionaria, tras la implantación, se diferenciarán en dos tipos, las de la línea somática y las células primordiales de la línea germinal (figura 1). Esas células primordiales de los futuros gametos, que aún tienen totalmente metiladas las zonas de "imprinting", se sitúan en la base del alantoides, en la parte posterior del tallo primitivo, y posteriormente emigran hacia su destino final en los primordios de las gónadas perdiendo la metilación (figura 2), y donde siguen su desarrollo para formar los gametos. Si éstos van a ser espermatozoides, la re-metilación de las zonas de "imprinting", se inicia prenatalmente en células preespermatozóicas y se completa postnatalmente (a partir de la pubertad) en la fase de paquitena meiótica durante la maduración de los gametos. Si las células germinales van a formar ovocitos, la re-metilación se adquiere asincrónicamente en diferentes loci, pero en todos se completa (postnatalmente) en la metafase II de la meiosis que se producirá tras la fecundación. La metilación de las zonas de "imprinting" se establece, pues, en forma diferente en cada sexo y, una vez que se han metilado, se mantienen así durante todo el desarrollo embrionario y fetal sin que se afecten por los procesos de desmetilación/metilación de las células somáticas durante el mismo (línea continua post-fertilización de la figura 2). Como se indica en la figura 2, la desmetilación y metilación del resto del genoma no relacionado con las zonas de imprinting paterno-materno, también presentan ciertas diferencias entre ambos gametos en las fases iniciales del desarrollo⁵²⁻⁵⁶.

Correlación entre el momento del desarrollo en el que se realizan las TRA y en el que se producen los defectos congénitos observados

Teniendo en cuenta los procesos antes comentados, observamos varios aspectos importantes. Primero, que cuando se realiza una ICSI o una FIV, se están manipulando células (gametos) que aún no han finalizado sus procesos de re-metilación de las zonas de "imprinting", y que se van a finalizar precisamente como consecuencia de la fecundación. Segundo, que los procesos de la desmetilación del genoma (aunque no de las zonas de imprinting), están ya realizándose durante los primeros días (figura 2) tras la formación del cigoto (preimplantación), que es el periodo durante el que se mantiene al embrión en cultivo antes de su transferencia al útero. Tercero, que en el estado de blastocisto se inician los procesos

de diferenciación celular que, un poco más tarde, producirá la diferenciación de las células primordiales de la línea germinal (figura 2), que iniciarán su emigración hacia los primordios de las gónadas. Por ello, retrasar la implantación hasta estos estadios, también podría introducir alteraciones en los gametos del futuro hijo, que sólo se manifestarían en la siguiente generación. Es decir, en los hijos de las personas que nacieron mediante alguna de estas TRA.

En consecuencia, teniendo en cuenta esos aspectos, y que los problemas de "imprinting" observados en niños, se han producido también en los experimentos con animales sin problemas de fertilidad, no es insensato considerar que los problemas de "imprinting" observados en los seres humanos podrían ser consecuencia del efecto ("teratogénico") de estas técnicas.

En relación con las causas por las que se podrían asociar ciertas TRA con otras malformaciones congénitas, como se ha observado en algunos estudios^{1,9-13,20-22}, podrían ser varias y difíciles de delimitar, como ha sido discutido por ciertos autores^{56,57}. En primer lugar, vamos a comentar aquellas en las que es probable que los defectos estuvieran relacionados con ciertas causas responsables de los problemas de infertilidad (intrínsecas/genéticas) de la pareja. En estos casos, la relación entre los defectos congénitos y las TRA radica en que con estas técnicas se estarían eludiendo las barreras de la selección natural que actúa en contra de los gametos anómalos. Por tanto, es probable que en estas situaciones los problemas de los embarazos puedan ser consecuencia, fundamentalmente de las anomalías de los gametos. De hecho, se ha observado mayor frecuencia de alteraciones cromosómicas en los ovocitos generados para FIV⁵⁸⁻⁶⁰, y en los espermatozoides de hombres con grave oligospermia⁶¹. Además, hay que tener en cuenta otras consecuencias que se producirían en algunos casos en los que las causas de la infertilidad (tanto de origen paterno como materno) fueran genéticas, y es que esos problemas se estarían transmitiendo a la descendencia. Transmisión que es en forma directa si se realiza una TRA con los gametos de la pareja. Sin embargo, este efecto va a ser más difícil de estudiar, ya que se manifestaría en la generación siguiente. En segundo lugar, enumeramos aquellas causas que podrían ser aplicables a las propias TRA ("teratogénicas"). Entre ellas, se pueden destacar las siguientes:

1.- En ciertos tratamientos se realiza una limpieza de todo el cúmulo de células que rodean al ovocito antes de la fecundación y es posible que todo ese complejo de células sea importante para ciertas actividades del ovocito como, por ejemplo, para el mantenimiento de la parada meiótica⁶². Esto implicaría que su eliminación podría producir cambios tanto en la progresión de la meiosis (dando lugar a alteraciones cromosómicas) como problemas de "imprinting".

2.- Con la ICSI no sólo se introduce el pro-núcleo del espermatozoides en el citoplasma del ovocito, sino el acromio y las enzimas digestivas, lo que podría alterar los mecanismos

de la homeostasis celular⁶⁰.

3.- Con la inyección intracitoplásmica, se podría producir también una destrucción mecánica del huso mitótico⁶⁰.

4.- Los diferentes medios de cultivo que se utilizan podrían estar relacionados con las alteraciones del desarrollo. De hecho, en experimentación, se ha vinculado con problemas del suero⁴²⁻⁴⁵ y con el contenido de metionina de los cultivos, que algunos autores⁶³ consideran que podría ser un factor crítico en los cambios de metilación.

5.- La duración del tiempo de cultivo de los embriones, puede tener también efectos adversos según se ha observado al comentar las figuras 1 y 2.

6.- Muchas, si no todas, las TRA utilizan la estimulación ovárica para producir una sobre-ovulación que actuará sobre ovocitos inmaduros, lo que podría dar lugar, entre otros cambios, a diferentes alteraciones cromosómicas y problemas de "imprinting", como ha sido observado recientemente⁶⁴.

7.- Las TRA, sobre todo las que mantienen más tiempo el embrión sin transferir, podrían dar lugar a alteraciones en la formación de los gametos del futuro hijo.

Teniendo en cuenta todas estas posibilidades, no estoy de acuerdo con que el grupo control idóneo para estudiar los riesgos sea el de parejas infértiles que espontáneamente tuvieron un hijo, como se ha propuesto¹⁸ y que se ha utilizado en el trabajo de Zhu et al¹⁶. Ante todo, porque creo que el problema de fertilidad que tengan las parejas que espontáneamente tienen un hijo, posiblemente es muy diferente del que tienen las parejas que no llegan a tener hijos sin el concurso de una TRA. Por otra parte, porque considero que el estudio debería hacerse separando no sólo los distintos tipos de TRA, sino, y más importante, por las diferentes causas que se pueden establecer de la infertilidad. Aunque es cierto que para hacer esas separaciones se necesitan muestras muy grandes (ya hay series grandes publicadas), cabe la opción de incluir esos aspectos en alguno de los modelos de análisis múltiple, junto con otros factores de confusión.

Al revisar la literatura me ha sorprendido que, en muchos de los trabajos publicados en relación con los posibles efectos que pudieran tener las TRA sobre el recién nacido, se comenta que la gran mayoría de los niños nacen sin defectos congénitos y que el riesgo atribuible es muy bajo. Esto, aunque bajo cierto enfoque es correcto, desde el punto de vista del análisis epidemiológico es incorrecto, porque se basa en una evaluación parcial de los resultados del potencial efecto de las TRA. En realidad, aunque hay trabajos que analizan sólo la eficacia de diferentes TRA para conseguir un embarazo, son muy pocos -si es que hay alguno- los que analicen el riesgo sobre el desarrollo del embrión y/o feto incluyendo la totalidad de los embriones transferidos en todas las mujeres de la muestra analizada. Es decir, analizando el resultado de cada uno de esos embriones. En este mismo año, se ha publicado un trabajo⁶⁵ que nos sirve de ejemplo para ilustrar lo que estoy diciendo. Este trabajo se ha estructurado sólo

para determinar si el número de gestaciones y de partos conseguidos por FIV o ICSI mediante la transferencia de un solo embrión en estado de mórula era igual o diferente de si se utilizaba un embrión en fase de blastocisto. Los resultados mostraron que se obtenían más partos con los embriones en estado de blastocisto (32,0% frente a 21,6% en el de mórula), que era el objetivo que se habían propuesto (resultados que no extrañan si recordamos que durante la fase de mórula se está realizando la desmetilación y multiplicación celular acelerada, con lo que cualquier alteración podría tener consecuencias más graves). Sin embargo, esos autores ofrecen una tabla con todos los datos, por lo que podemos saber también que, sobre un total de 351 mujeres a las que se les transfirió uno de esos embriones, en 132 (37,61%) se produjo un embarazo (41,7%, en los transferidos en estado de blastocisto y 33,5% entre los de mórula), pero sólo en 94 el embarazo llegó al parto, aunque no se especifica si todos los recién nacidos estaban sanos. Dicho de otra forma, de un total de 351 mujeres a las que mediante una FIV o una ICSI se les implantó un solo embrión, 257 (73,22%) o no consiguieron embarazo, o éste no llegó al parto. Y, aunque posiblemente esa cifra sea similar a la tasa de embarazos naturales, la diferencia radica en que estas 257 mujeres tuvieron que pasar por el estrés del tratamiento, el riesgo potencial del mismo para ellas, la incomodidad, el tiempo dedicado, el coste económico, y la frustración de la esperanza no alcanzada. Y esto es algo que marca una importante diferencia y que debe ser tenido en cuenta. Sin embargo, esto no significa que el hecho de que se produjera un parto sólo en 94 madres no sea un éxito. Se trata de evaluar correctamente los datos, porque, desde el punto de vista del análisis, no se puede olvidar que esas madres forman parte de la muestra total estudiada y, por tanto, que el resultado más probable de ese estudio es que no se consiga un hijo. Pero, además, porque es el único modo de ofrecer una información completa y correcta a las parejas que desean seguir un tratamiento con TRA, que deben conocer todos los posibles resultados del mismo y sus distintas probabilidades. Al principio de este párrafo decía que me había sorprendido la interpretación de los resultados, y la razón de la sorpresa se basa en que cualquier trabajo epidemiológico en el que no se incluyera el total de la muestra utilizada en la evaluación de los resultados obtenidos, sería considerado inaceptable. Lo que reafirma mi anterior comentario de que esto se deba a las dificultades inherentes a la evaluación de los estudios epidemiológicos.

A la vista de todos los aspectos comentados, y teniendo presente la enorme complejidad de los procesos biológicos que controlan la formación de los gametos, la fecundación y los inicios del desarrollo embrio-fetal, junto con la discordancia de resultados en algunos estudios bien diseñados, creo que las alteraciones observadas en los niños nacidos mediante una TRA, no se pueden atribuir a una sola causa, sino a un conjunto de causas y circunstancias que es específico para cada caso.

Esa consideración implica que, cuando decidimos que

los defectos observados en ciertos recién nacidos serían consecuencia de un efecto de las TRA (“teratogénico”), en realidad, lo que estamos asumiendo es que esos efectos estarían producidos esencialmente (no únicamente) por las TRA utilizadas. Es decir, entendiendo que en el resultado influye la tecnología utilizada, pero en relación con las características intrínsecas de cada pareja y las causas de su infertilidad (lo que explica que no se observe el mismo efecto en todas las parejas tratadas en el mismo lugar y por los mismos procedimientos). En otros casos, sin embargo, se puede considerar que se debe, fundamentalmente, a causas genéticas relacionadas con la infertilidad, cuyo riesgo sobrepasaría al de la técnica, incluso haciéndola ineficaz en algunas parejas. Por ejemplo, la existencia de microdeleciones cromosómicas^{61,66-68} en alguno de los miembros de las parejas con abortos de repetición que, dependiendo del tipo de alteración cromosómica (y el/los cromosomas implicados), pueden llegar a tener un hijo (tanto sano como con defectos congénitos) en forma espontánea, o no llegar nunca a tenerlo sin la utilización de TRA, e incluso no llegar a tenerlo ni con estas técnicas. Por todo esto, el estudio de infertilidad debe incluir el análisis de citogenética de alta resolución y molecular y, cuando exista grave oligospermia o azoospermia, se deberían descartar microdeleciones del cromosoma Y mediante técnicas de genética molecular adecuadas⁶¹⁻⁶⁸. Estos estudios son muy importantes, no sólo para evaluar el procedimiento técnico a seguir, sino qué gametos deberían utilizarse.

En este mismo año se ha publicado un trabajo⁷⁰ basado en una revisión de la literatura, con el objetivo de establecer unas guías de actuación basadas en los resultados obtenidos, en los diferentes trabajos. Las guías se resumen en cerca de 20 recomendaciones sobre los pasos a seguir en cada una de las parejas con problemas de fertilidad. Considero que dichas recomendaciones están bien estructuradas y que pueden ser de gran utilidad práctica para los interesados en este tema.

En definitiva, y teniendo en cuenta los conocimientos actuales sobre los procesos del desarrollo y su control genético, creo que no se deben despreciar los potenciales riesgos que se han comentado en relación a defectos congénitos observados en los nacimientos resultantes de una TRA, sobre todo, porque tienen plausibilidad biológica. Esto no quiere decir que se esté sugiriendo no utilizar estas técnicas. Al contrario, existe un consenso general sobre el beneficio y la esperanza que ha supuesto, y supone la posibilidad de utilizar TRA para las parejas que desean tener un hijo y no pueden. Pero eso no significa que no se tengan que realizar estudios bien diseñados e interpretados, no sólo para estar seguros de que las diferentes TRA no implican riesgos altos, sino para corregir los problemas que se puedan ir detectando y, sobre todo, para informar a las parejas teniendo presentes los conocimientos más actuales, tanto de todos los aspectos que se saben como de los que no se saben. Además, y como para cualquier otro procedimiento médico, antes

de aplicar una TRA, hay que evaluar siempre el binomio beneficio/riesgo en cada caso, y muy especialmente, en parejas que no tengan claros problemas de infertilidad (no se ajusten a los protocolos establecidos para el diagnóstico de infertilidad). En este aspecto, concuerdo con Mitchell⁷¹ quien considera que si una pareja tiene un problema de fertilidad que sólo pudiera solucionarse con una TRA, los riesgos para los defectos comentados, sin excluir las pérdidas embrionarias y los abortos, se pueden considerar aceptables, pero deberían evaluarse como riesgos muy altos, si el problema de fertilidad no es claro o no existe.

Por último, sólo añadir que dada la gran proporción de nacimientos que se producen mediante TRA y, sobre todo, su incremento progresivo, los pediatras deben conocer los problemas relacionados con las mismas. Esto implica saber que ante un recién nacido, o un niño que durante sus primeros años de desarrollo presenta algún problema de crecimiento en cualquier sentido, obesidad y anomalías oculares, entre otros, uno de los aspectos que se deben incluir en la evaluación de los posibles diagnósticos y sus causas, es saber si su nacimiento se produjo mediante una técnica de reproducción asistida y, en su caso, tratar de descartar problemas del “imprinting”.

Bibliografía:

- 1.- Ericson A, Kallen B. Congenital malformations in infants born after IVF: a population-based study. *Hum Reprod.* 2001; 16: 504-9.
- 2.- Hansen M, Kurinczuk JJ, Bower C, Webb S. The risk of major birth defects after intracytoplasmic sperm injection and in vitro fertilization. *N Engl J Med.* 2000; 346: 725-30.
- 3.- Schieve LA, Meikle SF, Ferre C, Peterson HB, Jeng G, Wilcox LS. Low and very low birth weight in infants conceived with use of assisted reproductive technology. *N Engl J Med.* 2002; 346: 731-7.
- 4.- Maher ER, Afnan M, Barratt CL. Epigenetic risks related to assisted reproductive technologies: epigenetics, imprinting, ART and icebergs? *Hum Reprod.* 2003; 18: 2508-11.
- 5.- Green NS. Risks of birth defects and other adverse outcomes associated with assisted reproductive technology. *Pediatrics.* 2004; 114: 256-9.
- 6.- Hansen M, Bower C, Milne E, de Klerk N, Kurinczuk JJ. Assisted reproductive technologies and the risk of birth defects--a systematic review. *Hum Reprod.* 2005; 20: 328-38.
- 7.- Maher ER. Imprinting and assisted reproductive technology. *Hum Mol Genet.* 2005; 14: Spec No 1: R133-8.
- 8.- Pinborg A, Loft A, Andersen A. Neonatal outcome in a Danish national cohort of 8602 children born after in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection: the role of twin pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2004; 83:1071-8.
- 9.- Klemetti R, Gissler M, Sevón T, Koivurova S, Ritvanen A, Hemminki E. Children born after assisted fertilization have an increased rate of major congenital anomalies. *Fertil Steril.* 2005; 84:1 300-7.
- 10.- Olivennes F. Do children born after assisted reproductive technology have a higher incidence of birth defects? *Fertil Steril.* 2005; 84: 1325-6.
- 11.- Olson CK, Keppler-Noreuil KM, Romitti PA, Budelier WT,

- Ryan G, Sparks AE, et al. In vitro fertilization is associated with an increase in major birth defects. *Fertil Steril*. 2005; 84: 1308-15.
- 12.- Merlob P, Sapir O, Sulkes J, Fisch B. The prevalence of major congenital malformations during two periods of time, 1986-1994 and 1995-2002 in newborns conceived by assisted reproduction technology. *Eur J Med Genet*. 2005; 48: 5-11.
- 13.- Shiota K, Yamada S. Assisted reproductive technologies and birth defects. *Congenit Anom (Kyoto)*. 2005; 45: 39-43.
- 14.- Van Voorhis BJ. Outcomes from assisted reproductive technology. *Obstet Gynecol* 2006; 107: 183-200.
- 15.- Rajesh H, Yap HA, Wu YJ. Pregnancy outcomes from in-vitro fertilisation and intracytoplasmic sperm injection: a comparison. *Singapore Med J*. 2006; 47: 309-14.
- 16.- Zhu JL, Basso O, Obel C, Bille C, Olsen J. Infertility, infertility treatment, and congenital malformations: Danish national birth cohort. *BMJ*. 2006; 333: 679-81.
- 17.- Park SM, Mathur R, Smith GC. Congenital anomalies after treatment for infertility. *BMJ*. 2006; 333: 665-6.
- 18.- Rimm AA, Katayama AC, Diaz M, Katayama KP. A meta-analysis of controlled studies comparing major malformation rates in IVF and ICSI infants with naturally conceived children. *J Assist Reprod Genet*. 2004; 21: 437-43.
- 19.- Olivennes F, Rufat P, Andre B, Pourade A, Quiros MC, Frydman R. The increased risk of complication observed in singleton pregnancies resulting from in-vitro fertilization (IVF) does not seem to be related to the IVF method itself. *Hum Reprod*. 1993; 8: 1297-300.
- 20.- Schuffner A, Centa L, Reggiani C, Costa S. Acral and renal malformations following ICSI. *Arch Androl*. 2006; 52: 145-8.
- 21.- Midrio P, Dalle Nogare C, Di Gianantonio E, Clementi M. Are congenital anorectal malformations more frequent in newborns conceived with assisted reproductive techniques? *Reprod Toxicol*. 2006; 22: 576-7.
- 22.- Anteby I, Cohen E, Anteby E, BenEzra D. Ocular manifestations in children born after in vitro fertilization. *Arch Ophthalmol*. 2001; 119: 1525-9.
- 23.- Wikstrand MH, Stromland K, Flodin S, Bergh C, Wennerholm UB, Hellstrom A. Ophthalmological findings in children born after intracytoplasmic sperm injection. *Acta Ophthalmol Scand*. 2006; 84: 177-81.
- 24.- Cox GF, Burger J, Lip V, Mau UA, Sperling K, Wu BL, et al. Intracytoplasmic sperm injection may increase the risk of imprinting defects. *Am J Hum Genet*. 2002; 71: 162-4.
- 25.- Orstavik KH, Eiklid K, van der Hagen CB, Spetalen S, Kierulf K, Skjeldal O, et al. Another case of imprinting defect in a girl with Angelman syndrome who was conceived by intracytoplasmic semen injection. *Am J Hum Genet*. 2003; 72 :218-9.
- 26.- Ludwig M, Katalinic A, Gross S, Sutcliffe A, Varon R, Horsthemke B. Increased prevalence of imprinting defects in patients with Angelman syndrome born to subfertile couples. *J Med Genet*. 2005; 42: 289-91.
- 27.- DeBaun MR, Niemitz EL, Feinberg AP. Association of in vitro fertilization with Beckwith-Wiedemann syndrome and epigenetic alterations of LIT1 and H19. *Am J Hum Genet*. 2003; 72: 156-60.
- 28.- Gicquel C, Gaston V, Mandelbaum J, Siffroi JP, Flahault A, Le Bouc Y. In vitro fertilization may increase the risk of Beckwith-Wiedemann syndrome related to the abnormal imprinting of the KCN10T gene. *Am J Hum Genet*. 2003; 72: 1338-41.
- 29.- Maher ER, Brueton LA, Bowdin SC, Luharia A, Cooper W, Cole TR, et al. Beckwith-Wiedemann syndrome and assisted reproduction technology (ART). *J Med Genet*. 2003; 40: 62-4. Erratum in: *J Med Genet*. 2003; 40: 304.
- 30.- Halliday J, Oke K, Breheny S, Algar E, J Amor D. Beckwith-Wiedemann syndrome and IVF: a case-control study. *Am J Hum Genet*. 2004; 75: 526-8.
- 31.- Chang AS, Moley KH, Wangler M, Feinberg AP, Debaun MR. Association between Beckwith-Wiedemann syndrome and assisted reproductive technology: a case series of 19 patients. *Fertil Steril*. 2005; 83: 349-54.
- 32.- Shuman C, Smith AC, Steele L, Ray PN, Clericuzio C, Zackai E, et al. Constitutional UPD for chromosome 11p15 in individuals with isolated hemihyperplasia is associated with high tumor risk and occurs following assisted reproductive technologies. *Am J Med Genet A*. 2006; 140: 1497-503.
- 33.- Rossignol S, Steunou V, Chalas C, Kerjean A, Rigolet M, Viegas-Pequignot E, et al. The epigenetic imprinting defect of Beckwith-Wiedemann patients born following assisted reproductive technology is not restricted to the 11P15 region. *J Med Genet*. 2006 Jul 6 (pre-publicación).
- 34.- Engel JR, Smallwood A, Harper A, Higgins MJ, Oshimura M, Reik W, et al. Epigenotype-phenotype correlations in Beckwith-Wiedemann syndrome. *J Med Genet*. 2000; 37: 921-6.
- 35.- Cruysberg JR, Moll AC, Imhof SM. Bilateral sporadic retinoblastoma in a child born after in vitro fertilization. *Arch Ophthalmol*. 2002; 120: 1773.
- 36.- Moll AC, Imhof SM, Cruysberg JR, Schouten-van Meeteren AY, Boers M, van Leeuwen FE. Incidence of retinoblastoma in children born after in-vitro fertilisation. *Lancet*. 2003; 361 :309-10.
- 37.- Lee I, Finger PT, Grifo JA, Rausen AR, Rebarber A, Barad DH. Retinoblastoma in a child conceived by in vitro fertilisation. *Br J Ophthalmol*. 2004; 88: 1098-9.
- 38.- Bradbury BD, Jick H. In vitro fertilization and childhood retinoblastoma. *Br J Clin Pharmacol*. 2004; 58: 209-11.
- 39.- BenEzra D. In vitro fertilization and childhood retinoblastoma. *Br J Clin Pharmacol*. 2005; 59: 724.
- 40.- Svensson J, Bjornstahl A, Ivarsson SA. Increased risk of Silver-Russell syndrome after in vitro fertilization? *Acta Paediatr*. 2005; 94: 1163-5.
- 41.- Balaguer A, Gonzalez de Dios J. Más defectos congénitos en nacidos de parejas infértiles especialmente tras técnicas de reproducción asistida. *Evid Pediatr*. 2006; 2: 70.
- 42.- Khosla S, Dean W, Reik W, Feil R. Culture of preimplantation embryos and its long-term effects on gene expression and phenotype. *Hum Reprod Update*. 2001; 7: 419-27.
- 43.- Khosla S, Dean W, Brown D, Reik W, Feil R. Culture of preimplantation mouse embryos affects fetal development and the expression of imprinted genes. *Biol Reprod*. 2001; 64: 918-26.
- 44.- Young LE, Sinclair KD, Wilmut I. Large offspring syndrome in cattle and sheep. *Rev Reprod*. 1998; 3: 155-63.
- 45.- Doherty AS, Mann MR, Tremblay KD, Bartolomei MS, Schultz RM. Differential effects of culture on imprinted H19 expression in the preimplantation mouse embryo. *Biol Reprod*. 2000; 62: 1526-35.
- 46.- Gosden RG. Oogenesis as a foundation for embryogenesis. *Mol Cell Endocrinol*. 2002; 186: 149-53.
- 47.- Obata Y, Kono T. Maternal primary imprinting is established at a specific time for each gene throughout oocyte growth. *J Biol Chem*. 2002; 277: 5285-9.
- 48.- Constancia M, Pickard B, Kelsey G, Reik W. Imprinting

mechanisms. *Genome Res.* 1998; 8: 881-900.

49.- Li E, Beard C, Jaenisch R. Role for DNA methylation in genomic imprinting. *Nature.* 1993; 366: 362-5.

50.- Lucifero D, Mann MR, Bartolomei MS, Trasler JM. Gene-specific timing and epigenetic memory in oocyte imprinting. *Hum Mol Genet.* 2004; 13: 839-49.

51.- Davis TL, Yang GJ, McCarrey JR, Bartolomei MS. The H19 methylation imprint is erased and re-established differentially on the parental alleles during male germ cell development. *Hum Mol Genet.* 2000; 9: 2885-94.

52.- Santos F, Dean W. Epigenetic reprogramming during early development in mammals. *Reproduction.* 2004; 127: 643-51.

53.- Seki Y, Hayashi K, Itoh K, Mizugaki M, Saitou M, Matsui Y. Extensive and orderly reprogramming of genome-wide chromatin modifications associated with specification and early development of germ cells in mice. *Dev Biol.* 2005; 278: 440-58.

54.- Dean W, Lucifero D, Santos F. DNA methylation in mammalian development and disease. *Birth Defects Res C Embryo Today.* 2005; 75: 98-111.

55.- Arnaud P, Feil R. Epigenetic deregulation of genome imprinting in human disorders and followed assisted reproduction. *Birth Def Res C Embryo Today.* 2005; 75: 81-97.

56.- Lucifero D, Chaillet JR, Trasler JM. Potential significance of genomic imprinting defects for reproduction and assisted reproductive technology. *Hum Reprod Update.* 2004; 10: 3-18.

57.- Jacob S, Moley KH. Gametes and embryo epigenetic reprogramming affect developmental outcome: implication for assisted reproductive technologies. *Pediatr Res.* 2005; 58: 437-46.

58.- Edirisinghe WR, Murch A, Junk S, Yovich JL. Cytogenetic abnormalities of unfertilized oocytes generated from in-vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection: a double-blind study. *Hum Reprod.* 1997; 12: 2784-91.

59.- Voullaire L, Wilton L, McBain J, Callaghan T, Williamson R. Chromosome abnormalities identified by comparative genomic hybridization in embryos from women with repeated implantation failure. *Mol Hum Reprod.* 2002; 8: 1035-41.

60.- Allen C, Reardon W. Assisted reproduction technology and defects of genomic imprinting. *BJOG.* 2005; 112: 1589-94.

61.- Isidoro-García M, Gonzalez-Sarmiento R, Cordero M, Garcia-Macias C, Corrales-Hernandez JJ, Miralles-García JM. Estudio de las regiones AZF del cromosoma Y en varones con infertilidad idiopática. Comparación de dos métodos de diagnóstico molecular. *Med Clin (Barc).* 2005; 125: 731-3.

62.- Racowsky C. Effect of forskolin on the spontaneous maturation and cyclic AMP content of hamster oocyte-cumulus complexes. *J Exp Zool.* 1985; 234: 87-96.

63.- Niemitz EL, Feinberg AP. Epigenetics and assisted reproductive technology: a call for investigation. *Am J Hum Genet.* 2004; 74: 599-609.

64.- Sato A, Otsu E, Negishi H, Utsunomiya T, Arima T. Aberrant DNA methylation of imprinted loci in superovulated oocytes. *Hum Reprod.* 2006 Aug 21. (avance de publicación)

65.- Papanikolaou EG, Camus M, Kolibianakis EM, Van Landuyt L, Van Steirteghem A, Devroey P. In vitro fertilization with single blastocyst-stage versus single cleavage-stage embryos. *N Engl J Med.* 2006; 354: 1139-46.

66.- Shimokawa O, Harada N, Miyake N, Satoh K, Mizuguchi T, Niikawa N, et al. Array comparative genomic hybridization analysis in first-trimester spontaneous abortions with 'normal'

karyotypes. *Am J Med Genet A.* 2006; 140: 1931-5.

67.- Ludwig M, Katalinic A. Pregnancy course and health of children born after ICSI depending on parameters of male factor infertility. *Hum Reprod.* 2003; 18: 351-7.

68.- Martínez-Frías ML. Esterilidad masculina y microdeleciones del cromosoma Y. *Med Clin (Barc).* 2005; 125: 736-9.

69.- Lee SH, Ahn SY, Lee KW, Kwack K, Jun HS, Cha KY. Intracytoplasmic sperm injection may lead to vertical transmission, expansion, and de novo occurrence of Y-chromosome microdeletions in male fetuses. *Fertil Steril.* 2006; 85: 1512-5.

70.- Allen VM, Wilson RD, Cheung A. Pregnancy outcomes after assisted reproductive technology. *J Obstet Gynaecol Can.* 2006; 28: 220-50.

71.- Mitchell AA. Infertility treatment-More risks and challenges. *N Engl J Med.* 2002; 346: 769-770.

DNA methylation of imprinted loci in superovulated oocytes. *Hum Reprod.* 2006 Aug 21. (avance de publicación)

65.- Papanikolaou EG, Camus M, Kolibianakis EM, Van Landuyt L, Van Steirteghem A, Devroey P. In vitro fertilization with single blastocyst-stage versus single cleavage-stage embryos. *N Engl J Med.* 2006; 354: 1139-46.

66.- Shimokawa O, Harada N, Miyake N, Satoh K, Mizuguchi T, Niikawa N, et al. Array comparative genomic hybridization analysis in first-trimester spontaneous abortions with 'normal' karyotypes. *Am J Med Genet A.* 2006; 140: 1931-5.

67.- Ludwig M, Katalinic A. Pregnancy course and health of children born after ICSI depending on parameters of male factor infertility. *Hum Reprod.* 2003; 18: 351-7.

68.- Martínez-Frías ML. Esterilidad masculina y microdeleciones del cromosoma Y. *Med Clin (Barc).* 2005; 125: 736-9.

69.- Lee SH, Ahn SY, Lee KW, Kwack K, Jun HS, Cha KY. Intracytoplasmic sperm injection may lead to vertical transmission, expansion, and de novo occurrence of Y-chromosome microdeletions in male fetuses. *Fertil Steril.* 2006; 85: 1512-5.

70.- Allen VM, Wilson RD, Cheung A. Pregnancy outcomes after assisted reproductive technology. *J Obstet Gynaecol Can.* 2006; 28: 220-50.

71.- Mitchell AA. Infertility treatment-More risks and challenges. *N Engl J Med.* 2002; 346: 769-770.

