



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

TESIS DOCTORAL

FACTORES ASOCIADOS AL FALLO DE IMPLANTACIÓN: FACTOR EMBRIONARIO EN EDAD MATERNA AVANZADA

Autor: Marta Devesa Rodríguez de la Rúa

Bajo la dirección de:

Profesor Joaquim Calaf Alsina

Dr. Buenaventura Coroleu Lletget

Programa de Doctorado: Pediatría, Obstetricia y Ginecología

Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología y Medicina Preventiva.

Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Barcelona, 2015

Joaquim Calaf Alsina, Doctor en Medicina y Cirugía, Profesor Titular del Departamento de Obstetricia y Ginecología de la Universitat Autònoma de Barcelona y Director del Servicio de Obstetricia y Ginecología del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau

y

Buenaventura Coroleu Lletget, Doctor en Medicina y Cirugía, Jefe del Servicio de Medicina de la Reproducción del Departamento de Obstetricia, Ginecología y Medicina de la Reproducción del Hospital Universitario Quirón-Dexeus

en calidad de DIRECTORES,

CERTIFICAN que:

La tesis titulada: **“Factores asociados al fallo de implantación: factor embrionario en edad materna avanzada”** ha sido escrita por Doña Marta Devesa Rodríguez de la Rúa y que ha sido escrita y realizada bajo nuestra dirección y tutela.

Lo firmamos para que conste a los efectos oportunos en Barcelona a 30 de noviembre de 2015.

Prof. Dr. J Calaf

Director de la tesis

Dr. B Coroleu

Director de la tesis

Marta Devesa Rodríguez de la Rúa

Doctorando

Barcelona, a 1 de diciembre del 2015

A mis padres, que me han enseñado el valor del esfuerzo, del trabajo y de la integridad, en la vida y en la profesión. Vuestra capacidad de entrega y lucha son para mí el mejor ejemplo a seguir. Gracias por vuestro apoyo incondicional. Os lo debo todo.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Coroleu, sin ti, sin tus conocimientos y tu experiencia, nada de todo esto hubiera sido posible. Gracias por haber hecho que me enamorara de la Reproducción, por haberme permitido formar parte del Servicio, por haber creído en mí y haberme empujado cuando yo dudaba. Gracias por ser mi maestro.

Al Profesor Calaf, por su tiempo, por sus sabios y expertos consejos y, sobre todo, por haberme apoyado, facilitándome las cosas y transmitiéndome optimismo a lo largo del proceso.

A Rosa Tur, porque sin ti, sin tu sabiduría y tu generosidad, tampoco hubiera sido posible. Gracias por el esfuerzo en silencio y por tus inestimables enseñanzas.

A Nacho Rodríguez, gracias “significativas” por tu tiempo y paciencia, por tus enseñanzas tratando de hacerme entender la estadística.

A Paca Martínez, por tu profundidad de análisis, por tu capacidad de síntesis y por tu estímulo intelectual.

Al Dr. Barri, por su trayectoria, por la ilusión volcada en los proyectos en los que cree y por enseñarme el interés y la pasión por las cosas. Gracias por su apoyo y por ser quien es.

A Anna Veiga, por tus consejos de inestimable valor, por tu estímulo constante.

Al todo el equipo del Servicio de Medicina de la Reproducción, por ayudarme desde el principio y hacerme disfrutar tanto del trabajo.

Al equipo de Biología, por vuestra paciencia y explicaciones de embriología, por dejarme sentir “bióloga” de vez en cuando.

A mis amigos, por vuestro apoyo y por vuestra paciencia. Por vuestra amistad. A todos aquellos que me insistieron en que desarrollara este trabajo.

A mi familia, a los que no están, por todos los valores que inculcaron en nuestra familia, y a los que estáis, por hacer posible que pertenecer a ella sea un orgullo.

A nuestras pacientes, a las que lo lograron y, sobre todo, a las que no tuvieron esa suerte. Gracias por haber confiado en nosotros y por ser el estímulo para avanzar.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	11
1.1. Aspectos generales de la implantación humana	12
1.2. Aspectos generales del fallo de implantación	13
1.2.1. Factores maternos	13
1.2.2. Técnica de transferencia embrionaria	18
1.2.3. Factor embrionario	18
1.3. Retraso de la edad de la maternidad	19
1.3.1. Aspectos generales	19
1.3.2. Factores asociados al retraso de la maternidad	22
1.3.3. Impacto a nivel poblacional e individual	28
1.4. Fisiología del envejecimiento reproductivo	38
1.4.1. Envejecimiento ovárico	38
1.4.2. Envejecimiento reproductivo en el varón	44
1.5. Fertilidad y técnicas de reproducción asistida: conocimientos generales	45
1.6. Situación actual de la reproducción asistida	46
1.6.1. Técnicas de reproducción asistida en Europa y España	46
1.6.2. Técnicas de reproducción asistida en edad materna avanzada y estrategias alternativas	50
2. HIPÓTESIS DE TRABAJO	62
3. OBJETIVOS	64
4. MATERIAL Y MÉTODOS	66

4.1. Bloque 1: Pacientes \geq 38 años que realizan un ciclo de FIV y las criotransferencias derivadas del ciclo de FIV	68
4.1.1. Diseño del estudio	68
4.1.2. Pacientes	68
4.1.3. Variables analizadas	69
4.1.4. Protocolos de tratamiento, punción folicular y transferencia embrionaria	70
4.1.5. Criotransferencias	72
4.1.6. Diagnóstico de embarazo	72
4.1.7. Análisis estadístico	72
4.2. Bloque 2: Pacientes \geq 38 años que realizan un ciclo de FIV con cribado de aneuploidías preimplantacional	73
4.2.1. Diseño del estudio	73
4.2.2. Pacientes	74
4.2.3. Variables analizadas	75
4.2.4. Protocolos de tratamiento, punción folicular y transferencia embrionaria	76
4.2.5. Vitricación / desvitrificación ovocitaria en los ciclos de acumulación	77
4.2.6. Biopsia embrionaria	77
4.2.7. Criotransferencias	78
4.2.8. Diagnóstico de embarazo	78
4.2.9. Análisis estadístico	78
5. RESULTADOS	80
5.1. Bloque 1: Pacientes \geq 38 años que realizan un ciclo de FIV y las criotransferencias derivadas del ciclo de FIV	81
5.1.1. Características basales de las pacientes y tipo de tratamiento realizado	81
5.1.2. Resultados del ciclo de FIV / ICSI en fresco	83

5.1.3. Resultados de los ciclos de criotransferencia	85
5.1.4. Tasas acumuladas de embarazo y nacido vivo por ciclo	87
5.1.5. Tasas acumuladas de embarazo y nacido vivo por paciente	90
5.1.6. Modelo predictivo de tasa acumulada de nacido vivo según edad y número de ovocitos recuperados	91
5.1.7. Estimación de las tasas acumuladas a lo largo del tiempo	92
5.2. Bloque 2: Pacientes \geq 38 años que realizan un ciclo de FIV con cribado de aneuploidías preimplantacional	94
5.2.1. Características basales de las pacientes	94
5.2.2. Resultados de los ciclos de FIV ICSI con cribado de aneuploidías preimplantacional en fresco	96
5.2.3. Resultados de los ciclos de criotransferencia	102
5.2.4. Tasas acumuladas de embarazo y nacido vivo	102
5.2.5. Estrategia de acumulación	103
5.2.6. Estimación de las tasas acumuladas a lo largo del tiempo	105
5.3. Resultados principales de ambas estrategias: FIV estándar vs. cribado de aneuploidías preimplantacional	108
5.3.1. Características de la población estudiada	108
5.3.2. Tasas de transferencia, de implantación, de aborto y de nacido vivo	109
6. DISCUSIÓN	111
6.1. Bloque 1: Pacientes \geq 38 años que realizan un ciclo de FIV y las criotransferencias derivadas del ciclo de FIV	112
6.1.1. Características basales de las pacientes y tipo de tratamiento realizado	113
6.1.2. Ciclo de FIV / ICSI en fresco	114

6.1.3. Ciclos de criotransferencia	115
6.1.4. Tasas acumuladas de embarazo y nacido vivo por ciclo	116
6.1.5. Tasas acumuladas de embarazo y nacido vivo por paciente	117
6.1.6. Modelo predictivo de tasa acumulada de nacido vivo según edad y número de ovocitos recuperados	119
6.1.7. Limitaciones	121
6.2. Bloque 2: Pacientes \geq 38 años que realizan un ciclo de FIV con cribado de aneuploidías preimplantacional	121
6.2.1. Características basales de las pacientes	123
6.2.2. Ciclos de FIV ICSI con cribado de aneuploidías preimplantacional en fresco	124
6.2.3. Ciclos de criotransferencia	127
6.2.4. Tasas acumuladas de embarazo y nacido vivo	127
6.2.5. Estrategia de acumulación de ovocitos	127
6.2.6. Limitaciones	128
6.3. Discusión sobre ambos abordajes en mujeres \geq 38 años	129
7. CONCLUSIONES	132
8. BIBLIOGRAFÍA	134

LISTA DE ABREVIATURAS

aCGH	Arrays comparative genomic hybridization. Arrays para hibridación genómica comparada
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
AMH	Antimullerian Hormone. Hormona antimulleriana
ANOVA	Analysis Of Variance. Análisis de la varianza
ASRM	American Society of Reproductive Medicine. Sociedad Americana de Medicina Reproductiva
CGH	Comparative genomic hybridization. Comparación genómica comparada
DS:	Desviación estándar
DVI	Desvitrificados
EEUU	Estados Unidos
ERA	Endometrial receptivity array
ESHRE	European Society of Human Reproduction and Embryology. Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología
EU	European Union. Unión Europea
FISH	Fluorescent in situ hybridization. Hibridación fluorescente in situ
FIV	Fecundación in vitro
FSH	Follicle stimulation hormone. Hormona foliculoestimulante
GAM	Generalized additive model
G-CSF	Granulocyte colony-stimulating factor. Factor estimulante de colonias de granulocitos
GnRH	Gonadotrophin releasing hormone. Hormona liberadora de gonadotropina
hCG	Human chorionic gonadotrophin. Gonadotropina coriónica humana

HLA	Human leucocyte antigen. Antígenos leucocitarios humanos
hMG	Human menopausal gonadotrophin. Gonadotropina menopáusica humana
IC	Intervalo de confianza
ICSI	Intracytoplasmic sperm injection. Microinyección espermática
INE	Instituto nacional de estadística
KIR's	Killer-cell immunoglobulin-like receptors
LIF	Leucemia inhibitory factor. Factor inhibidor de la leucemia
NS	No significativo
qPCR	Quantitative fluorescent polymerase chain reaction
RFA	Recuento folículos antrales
rFSH	Recombinant follicle stimulation hormone. Hormona folículoestimulante recombinante
rHCG	Recombinant Human Chorionic Gonadotrophin. Gonadotropina coriónica humana recombinante
SEF	Sociedad Española de Fertilidad
SNP	Single nucleotide polymorphism
TAE	Tasa acumulada de embarazo
TANV	Tasa acumulada de nacido vivo
TE	Tasa de embarazo
TNV	Tasa de nacido vivo
TRA	Técnicas de reproducción asistida
TSH	Thyroid stimulation hormone. Hormona estimulante del tiroides

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Aspectos generales de la implantación humana

La implantación embrionaria es el factor limitante más importante de la reproducción humana. Requiere una interacción recíproca entre el blastocisto, que cuenta con su propio programa molecular de crecimiento y diferenciación celular, y el endometrio, órgano dinámico que exhibe un corto periodo de receptividad llamado “ventana de implantación”. Este proceso está gobernado por factores moduladores endocrinos, paracrinos y autocrinos, de origen tanto embrionario como materno (Diedrich et al., 2007).

Durante la primera fase de la implantación, conocida como la “aposición”, el blastocisto entra en contacto con la superficie luminal del endometrio y establece contacto con los pinópodos, protrusiones que aparecen temporalmente en la superficie del endometrio. La aparición de los pinópodos es un fenómeno regulado por el factor de transcripción HOXA-10 y depende de varios factores, tales como el aumento de los niveles plasmáticos de progesterona, el aumento de la expresión del factor inhibidor de la leucemia (LIF) y su receptor, y de la integrina $\alpha V\beta 3$. En la fase de “adhesión”, es fundamental el papel de las glicoproteínas, en concreto de las integrinas (integrina $\alpha V\beta 3$) y las cadherinas (cadherina-E), para que el blastocisto pueda adherirse firmemente a la superficie celular del epitelio endometrial. En la última fase de la implantación, la “invasión”, el blastocisto penetra la capa epitelial e invade el estroma. La rotura de la membrana basal del endometrio pone en contacto a las células del trofoblasto con las células de la decidua y del estroma desencadenándose en la madre una respuesta inmunológica, fundamental para la inmunotolerancia, en la cual participan, entre otros, el sistema de compatibilidad HLA, citocinas producidas por las células T-helper así como las células natural killer uterinas con sus receptores “killer-cell immunoglobulin-like receptors” (KIRs) (Melford et al., 2014).

Dentro de los múltiples factores implicados en la implantación, hay tres que se considera que son cruciales: el factor inhibidor de la leucemia (LIF), interleukina expresada en las células del epitelio endometrial en el momento en el que el embrión expresa su receptor (Dimitriadis et al., 2005); la ciclooxigenasa 2, que se expresa en el endometrio sólo en la presencia de un blastocisto activo y está implicada en la angiogénesis necesaria para la formación de la placenta (Matsumoto et al., 2002), y los genes HOXA-10 y HOXA-11, cuya expresión aumenta dramáticamente durante el periodo de implantación (Melford et al., 2014).

Para que el diálogo entre el blastocisto y el endometrio culmine con éxito, se necesita la interacción de múltiples factores, tratándose de un proceso tan complejo que, en condiciones naturales, la probabilidad de concepción por ciclo es del 25% y sólo el 50% de las concepciones avanzan más allá de la semana 20 de gestación. Esta relativa ineficiencia de la reproducción humana también se observa en los ciclos de Fecundación In Vitro (FIV), en los que sólo el 35% de las transferencias embrionarias con ovocitos propios resultan en nacido vivo (Rabinowitz et al., 2012). En efecto, a pesar de los avances en las técnicas de reproducción asistida (TRA), sigue habiendo parejas con fallos repetidos de implantación.

1.2. Aspectos generales del fallo de implantación

No existe una definición uniforme del fallo de implantación; no obstante, si consideramos las tasas de éxito actuales de la FIV y la media de embriones transferidos en cada ciclo, podríamos entender por fallo de implantación aquella situación en la que no se consigue implantación tras dos ciclos consecutivos de FIV, FIV/ICSI o criotransferencias, en los que el número acumulado de embriones transferidos sea al menos 4 para embriones en su tercer día de desarrollo o 2 para blastocistos, siempre y cuando se trate de embriones de buena calidad y desarrollo evolutivo correcto (Polanski et al., 2014). Cuando sucede, se trata de un problema frustrante para la pareja y supone un reto para clínicos y embriólogos.

El fallo de implantación tras la FIV se ha relacionado con múltiples factores que, en su conjunto, desde un punto de vista clínico, se pueden englobar en factores maternos y factores embrionarios, sin olvidar la importancia de la técnica de transferencia embrionaria en la determinación del éxito de la FIV.

1.2.1 Factores maternos

Dentro de los factores maternos, distinguimos los factores uterinos puramente anatómicos y aquellas patologías, locales o sistémicas, que pueden interferir con la funcionalidad y receptividad endometrial. Además, hay otros factores, tales como la obesidad y la exposición a tóxicos ambientales, que también se han relacionado con la implantación.

Las **malformaciones uterinas congénitas**, entre las que destaca el septo uterino, se han relacionado más con la infertilidad que con la esterilidad pero hay evidencia de que pueden

interferir también con la implantación, tanto por motivos estrictamente anatómicos como por alteración de la vascularización a nivel del septo. En pacientes con fallo de implantación se aconseja la septoplastia (Coughlan et al., 2014).

Los **miomas**, que son el tumor benigno más frecuente de la mujer en edad reproductiva, afectan al 5-10% de las mujeres estériles, siendo el único factor identificable en un 1%-2.4% de ellas (Donnez et al., 2002; Calaf et al., 2013). Su interferencia con la implantación puede explicarse por varios mecanismos, tales como el aumento de la contractilidad uterina, la alteración del perfil de citoquinas y de la vascularización, y favorecer la inflamación endometrial crónica. Hay evidencia sobre el hecho de que los miomas submucosos y los intramurales que distorsionan la cavidad se relacionan con peores tasas de implantación y que la realización de la miomectomía mejora los resultados (Farhi et al., 1995; Pritts et al., 2009). La controversia gira en torno a los miomas intramurales que no distorsionan la cavidad; si bien parece que las mujeres con miomas intramurales pueden tener menores tasas de implantación que aquellas que no los tienen, el beneficio de la miomectomía en estos casos no ha sido demostrado (Sunkara et al., 2010; Coughlan et al., 2014).

Se ha descrito que entre un 16%-26% de pacientes con esterilidad de origen desconocido tienen **pólipos endometriales**. Sin embargo, el efecto de los pólipos endometriales en los resultados de los ciclos de FIV no está claro y algunos estudios sugieren que aquellos de \leq 2 cm parecen tener un impacto muy limitado en los resultados (Hereter et al., 1998; de Sa Rosa e de Silva, 2005).

La presencia de **sinequias uterinas**, que afecta al 8.5% de las pacientes con fallo de implantación, también interfiere con el proceso de implantación y su corrección quirúrgica mejora los resultados (Coughlan et al., 2014).

La **patología inflamatoria e infecciosa endometrial** puede tener también un efecto negativo en la implantación embrionaria. Se cree que el mecanismo por el cual se produce este efecto pudiera estar relacionado con mediadores inflamatorios, como son las citoquinas y agentes quimiotácticos, así como con los propios microorganismos, que pueden provocar la apoptosis de las células del trofoblasto impidiendo la correcta implantación del embrión. Los microorganismos más frecuentemente involucrados son bacterias comunes y el mycoplasma. Se ha visto que en aquellos casos de endometritis en

los que el tratamiento antibiótico es capaz de normalizar el patrón histeroscópico e histológico los resultados tras FIV son mejores (Romero et al., 2004; Cicinelli et al., 2015).

La presencia de un **hidrosalpinx** visible por ecografía reduce el éxito de la FIV a la mitad y está demostrado que la salpingectomía mejora los resultados (Johnson et al., 2010). Los mecanismos por los cuales interfiere con la implantación son varios, pudiendo afectar directamente a los embriones transferidos, a la receptividad endometrial o a ambos. El fluido endometrial, al ser alcalino y contener citoquinas, prostaglandinas y otros compuestos inflamatorios, tiene propiedades embriotóxicas. Además, la receptividad endometrial se reduce al alterarse la expresión de la cascada de las citoquinas, esencial para la implantación. La caída del fluido del hidrosalpinx hacia la cavidad endometrial puede actuar también como un obstáculo mecánico para la implantación (Strandell et al., 2002).

La **adenomiosis**, focal o difusa, es otra entidad que interfiere negativamente en el proceso de la implantación y es posible que su prevalencia en el fallo de implantación esté infraestimada; además, pocas veces es susceptible de tratamiento quirúrgico (Coughlan et al., 2014). La adenomiosis es una de las formas clínicas de una entidad mayor, la endometriosis, que por su carácter inflamatorio también se ha relacionado negativamente con la implantación.

Se ha visto que pacientes con **endometriosis** pueden tener alteraciones en la expresión de genes implicados en la receptividad endometrial. Otro mecanismo por el cual se explica el impacto negativo de la endometriosis en la implantación es la resistencia a la progesterona y la disregulación de los receptores de progesterona observada en pacientes afectas de endometriosis (Macer et al., 2012).

De las patologías previamente descritas, algunas afectan a la implantación por causas puramente anatómicas y mecánicas y otras tienen un impacto directo a nivel del endometrio. Es importante recordar que el endometrio es un órgano dinámico que está sujeto a cambios morfológicos y biológicos a lo largo del ciclo menstrual. Los principales moduladores del desarrollo y de la maduración endometrial a lo largo del ciclo menstrual son los estrógenos y la progesterona. La actividad de ambos dependerá no sólo de los niveles de estrógenos y progesterona sino también de sus receptores, de la velocidad con la que son metabolizados, de la presencia de co-activadores y supresores, así como de otros factores endocrinológicos (Diedrich et al., 2007). Para que la implantación embrionaria ocurra es crucial la presencia de un endometrio funcional y receptivo.

El **endometrio fino persistente**, refractario al tratamiento, contribuye al fallo de implantación y su presencia obliga a descartar patología uterina subyacente, como el útero en T o el síndrome de Asherman. Otros factores relacionados con esta entidad son el antecedente de radioterapia pélvica y el daño endometrial postquirúrgico, o tras un proceso infeccioso. Se han descrito diversas alternativas terapéuticas, como son el uso de elevadas dosis de estrógenos orales, estrógenos vaginales, fármacos vasoactivos, como la aspirina y el sildenafil, la infusión intrauterina de factores de crecimiento, como el G-CSF y, recientemente, la aplicación de la medicina regenerativa. La mayoría de ellos no logran producir más que cambios menores en el grosor endometrial y en las tasas de embarazo (Lebovitz et al., 2014).

Algunos autores sugieren que las pacientes con fallo de implantación se pueden beneficiar de un daño local a nivel del endometrio en el ciclo previo al de la transferencia embrionaria. La respuesta inflamatoria que provocaría el daño endometrial podría potenciar su posterior receptividad, mediado por la elevación de citoquinas proinflamatorias. Si bien hay dos meta-análisis recientes que muestran un efecto beneficioso del daño local a nivel del endometrio en el fallo de implantación (El-Toukhy et al., 2012; Potdar et al., 2012), teniendo en cuenta la heterogeneidad y la metodología de los estudios incluidos en dichos meta-análisis, el beneficio real de esta estrategia ha sido cuestionado por otros autores (Simón et al., 2014).

Un campo de creciente interés en relación a la **receptividad endometrial** es el estudio de su expresión génica durante la ventana de implantación. En la actualidad existe una herramienta genómica denominada Endometrial Receptivity Array (ERA) que permite determinar dicha receptividad personalizada analizando biopsias de endometrio (Ruiz-Alonso et al., 2014). De esta forma, se puede conocer, tanto en ciclo espontáneo como sustituido, si el endometrio de una paciente es pre-receptivo, receptivo o post-receptivo, lo que permitiría personalizar el momento de la transferencia embrionaria.

Otras entidades que han sido relacionadas con el fallo de implantación son la patología tiroidea, las trombofilias y factores inmunológicos.

La **enfermedad tiroidea** es la patología endocrinológica más frecuente en las mujeres en edad reproductiva. Se ha observado que hay entre un 2%-7% de mujeres con hipotiroidismo subclínico. El hipotiroidismo subclínico parece ser aún más frecuente en las mujeres sometidas a un tratamiento de FIV, y se ha visto que en éstas, se relaciona con

menores tasas de implantación y nacido vivo, y mayores tasas de aborto, en comparación con mujeres con dicho diagnóstico que recibieron tratamiento empírico con levotiroxina durante el ciclo de FIV (Scoccia et al., 2012). Se aconseja mantener niveles de TSH < 2.5 mUI/L en mujeres con deseo gestacional y en aquellas que vayan a realizar un ciclo de FIV, pues valores superiores se asocian con peores resultados del ciclo (Baker et al., 2006). Por otra parte, la tiroiditis autoinmune se ha relacionado también con el fallo de implantación (Bellver et al., 2008a).

Las **trombofilias**, heredadas o adquiridas, clásicamente se han relacionado con los abortos de repetición; sin embargo, existe controversia acerca de su asociación con el fallo de implantación. Si bien algunos investigadores encuentran una mayor prevalencia de trombofilias en población con fallo de implantación, en otros estudios no se ha confirmado (Simon et al., 2012; Coughlan et al., 2014).

Diversos estudios relacionan la implantación con el **sistema inmunológico**. La concepción debe ser reconocida como “no propia” para desencadenar un proceso inmunológico que evite el rechazo por el sistema inmune materno. El sistema de compatibilidad HLA tiene un papel en este reconocimiento y se ha visto que parejas que comparten alelos del sistema HLA pueden sufrir abortos de repetición o fallo de implantación (Elram et al., 2005). En este sentido, se ha propuesto inmunoterapia con leucocitos de la pareja, el uso de inmunoglobulinas endovenosas o la infusión de una solución de intralípidos (Elram et al., 2005; Ndukwe, 2011). No obstante, faltan estudios a gran escala al respecto que demuestren el beneficio de estos tratamientos y, por tanto, su uso sigue siendo controvertido.

Otro factor que ha sido relacionado con el fallo de implantación es la **obesidad**. Se ha visto que la elevación del índice de masa corporal se asocia con una reducción en las tasas de implantación, embarazo y nacido vivo (Bellver et al., 2010; Kupka et al., 2011; Luke et al., 2011).

También se ha observado un impacto negativo del **tabaco** en los resultados de la FIV (Waylen et al., 2009). Este impacto negativo se observa tanto en fumadoras como en no fumadoras expuestas a los productos del tabaco. De hecho, en un estudio en el que se valoraba el efecto de la exposición al tabaco en mujeres que realizaban un ciclo de FIV, se objetivó un incremento del 52% en el riesgo de fallo de implantación en las mujeres expuestas al tabaco no fumadoras *vs.* las no expuestas (Benedict et al., 2011).

1.2.2. Técnica de transferencia embrionaria

Antes de tratar el factor ovocitario y embrionario, creemos importante destacar que una transferencia embrionaria dificultosa puede ser responsable de hasta el 30% de los fallos de FIV (Mansour et al., 2002). Por tanto, optimizar la técnica de transferencia embrionaria es crucial en cualquier proceso de FIV pero más, si cabe, en casos de fallo de implantación. En este sentido, diversos estudios han demostrado la superioridad de las transferencias eco-guiadas (Coroleu et al., 2000) en comparación con la técnica clásica sin ecografía. Una revisión de la Cochrane, que incluye 17 estudios que analizan este aspecto, encuentra una odds ratio de 1.31 (95% CI 1.18-1.46) a favor de la transferencia eco-guiada (Brown et al., 2010).

1.2.3. Factor embrionario

A pesar de la importancia del endometrio y de los factores previamente analizados en el proceso de la implantación, el embrión juega un papel clave en la determinación de la eficiencia de la implantación humana. Desafortunadamente, los criterios de selección embrionaria morfológicos muestran una correlación débil con la euploidía y se sabe que embriones morfológicamente de buena calidad pueden presentar alteraciones cromosómicas que interfieren con la implantación y, al contrario, embriones euploides pueden ser clasificados pobremente por su morfología o incluso puede que ni siquiera completen su desarrollo (Ottolini et al., 2012).

La aneuploidía embrionaria es la alteración cromosómica más frecuente en humanos y representa la principal causa de fallo de implantación, abortos y defectos congénitos. La mayoría de las aneuploidías embrionarias derivan de errores en la primera división meiótica materna, y la edad materna es un factor de riesgo para la mayoría de las trisomías, si no de todas (Hassold et al., 2007).

Se estima que al menos el 20% de los ovocitos humanos son aneuploides, cifra que se incrementa dramáticamente con la edad, sobre todo a partir de los 35 años, pudiendo alcanzar el 70% en mujeres de edad avanzada (Hassold et al., 2001). En contrapartida, la incidencia de aneuploidía en los espermatozoides de varones normales fértiles se sitúa en el 3%-4% y su incidencia exclusiva en el componente cromosómico del embrión es del 6.2% (Capalbo et al., 2015).

Se han postulado diversas teorías por las cuales la edad de la mujer incrementa el riesgo de aneuploidías: dotación de ovocitos limitada, hipótesis de “doble golpe”, debilitamiento de la cohesión centromérica y pérdida de cohesinas, y cambios a nivel de los mecanismos reguladores de la división celular y en la expresión génica global. Ninguna de estas teorías es capaz de explicar por sí sola el incremento en la tasa de aneuploidías asociado a la edad materna, por lo que probablemente sea la combinación de varios mecanismos lo que explique este fenómeno (Danylevska et al., 2013).

En cualquier caso, la causa común en la que confluyen estas alteraciones es la edad materna, que de esta manera se impone como un factor trascendental en el éxito o fracaso de la implantación embrionaria.

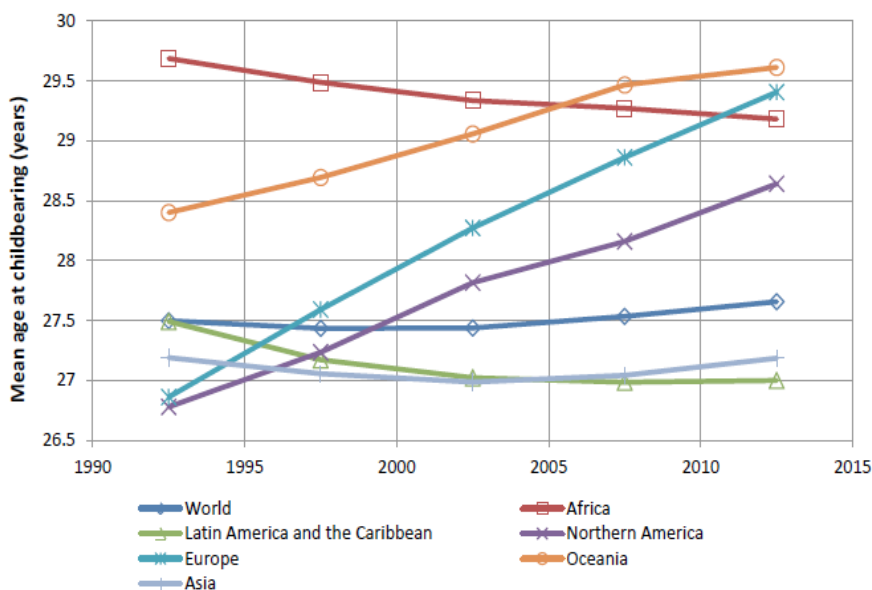
1.3. Retraso de la edad de la maternidad

Teniendo en cuenta la importancia de la edad materna en la competencia del embrión y, por tanto, en el proceso de implantación, se ha considerado de interés exponer a continuación las implicaciones derivadas de un fenómeno creciente, como es el retraso de la edad de la maternidad. Inicialmente, se analizarán los aspectos sociodemográficos implicados en el mismo y las consecuencias que se derivan de él, teniendo en cuenta el proceso fisiológico del envejecimiento reproductivo en la raza humana. Por último, se considerarán las implicaciones que el retraso de la maternidad tiene en cuanto al uso y eficacia de las técnicas de reproducción asistida.

1.3.1. Aspectos generales

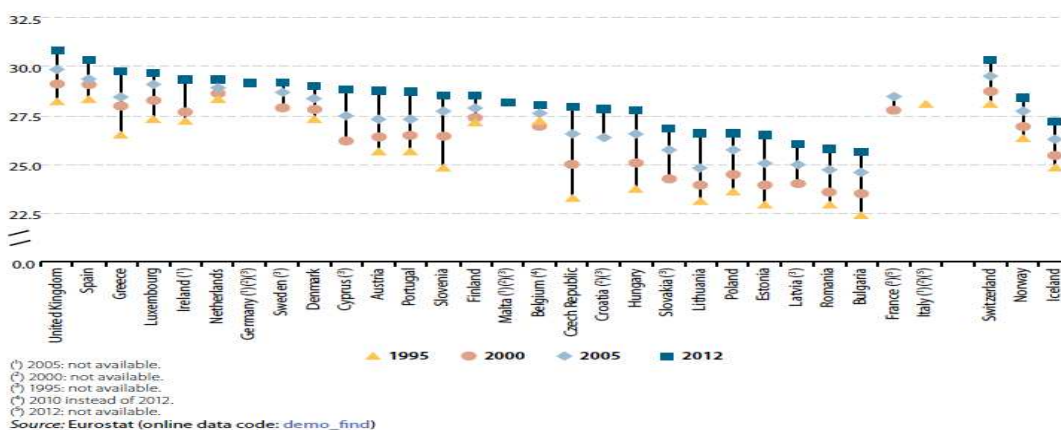
El retraso en la edad del primer hijo es una tendencia tan extendida que ha sido denominada por los demógrafos como “la transición del aplazamiento” (Kohler et al., 2002; Goldstein et al., 2009). Se trata de un fenómeno multifactorial y se ha convertido en una característica frecuente en países de Europa, Norteamérica y partes de Asia (Figuras 1 y 2).

Figura 1. Edad media del primer hijo (años), 1990-1995 a 2010-2015.



Fuente: Population Division of the Department of Economic and Social Affairs of the United Nations Secretariat 2013. United Nations [1]

Figura 2. Edad media de la mujer al nacimiento del primer hijo, 1995, 2000, 2005 y 2012 (años) (Europa)

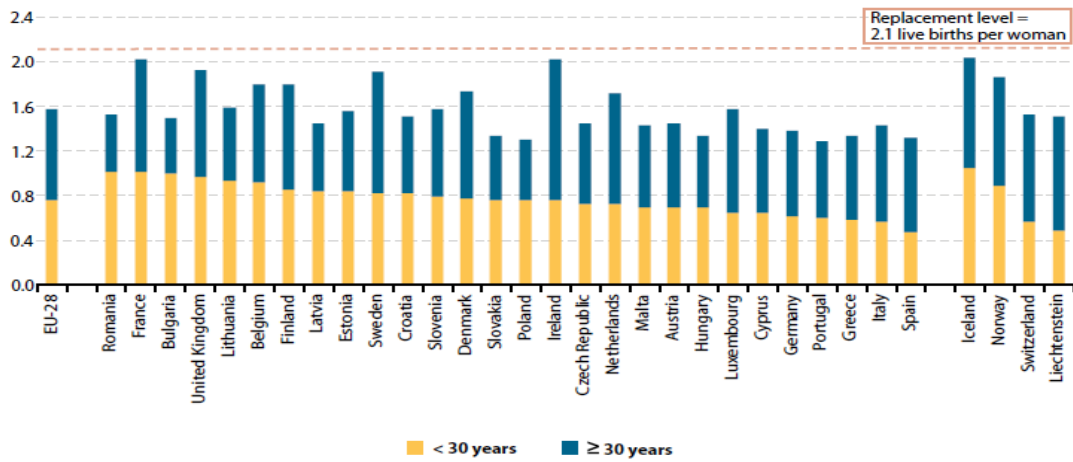


Fuente: Statistics Explained 2015. Eurostat [1]

En Europa, en las dos últimas décadas, la edad media del primer hijo se ha incrementado 2.5 años (United Nations 2013 [1]) y menos del 40% de los nacimientos proceden de madres menores de 30 años. Curiosamente, en Europa, los países del norte y del oeste, con tasas de fertilidad cercanas al nivel de remplazo, se caracterizan por tener edades medias del primer hijo más avanzadas, mientras que en los del centro y del este, las mujeres tienden a dar a luz a edades más jóvenes pero también a tener menos hijos. En los países

del sur, en los que como en los del norte y oeste la edad media del primer hijo es avanzada, sin embargo las tasas de fertilidad son bajas (Figuras 3 y 4) (Eurostat 2015 [1]).

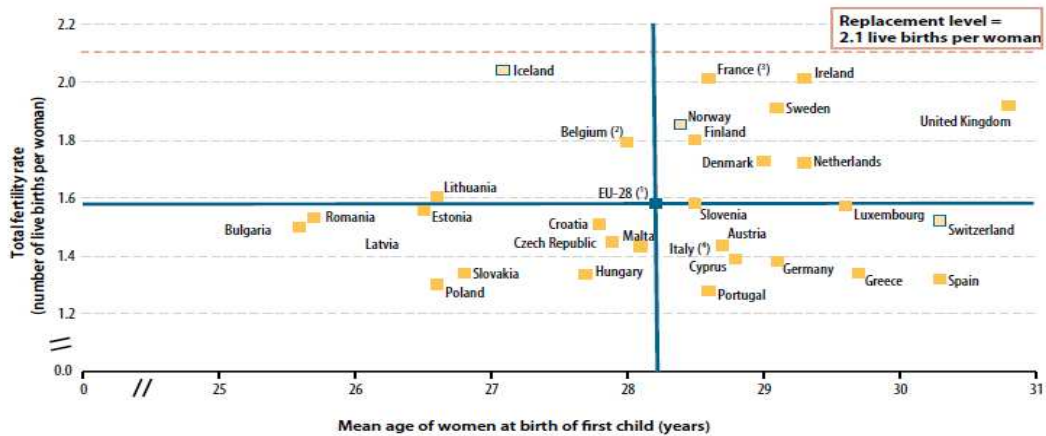
Figura 3. Tasas de fecundidad según la edad materna, 2012



Source: Eurostat (online data code: [demo_frate](#))

Fuente: Statistics Explained 2015. Eurostat [1]

Figura 4. Edad media de la mujer al nacimiento del primer hijo (años) y tasa de fertilidad total, 2012



(¹) Mean age of women at birth of first child: estimate based on simple average of the EU Member States. The blue lines show the intersection for the EU-28 average.

(²) 2010.

(³) 2006.

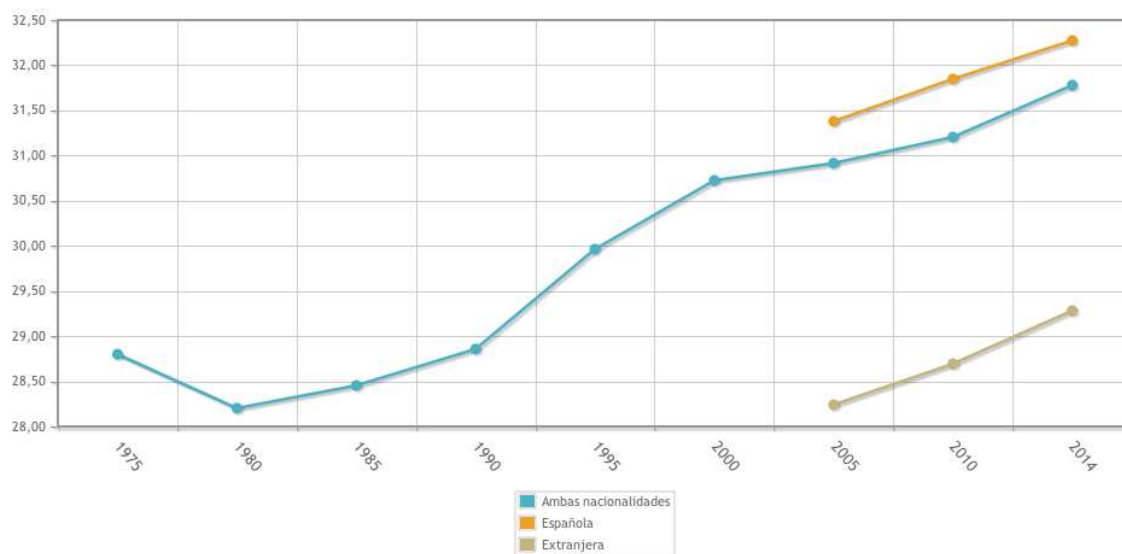
(⁴) 1997.

Source: Eurostat (online data code: [demo_find](#))

Fuente: Statistics Explained 2015. Eurostat [1]

Concretamente en España, en el año 2014, la edad media a la que se tuvo el primer hijo fue de 31.8 años (Figura 5) y, si consideramos sólo a las mujeres españolas, la cifra sube a 32.3 años. Las extranjeras tienen su primer hijo a edades más jóvenes, pero también en ellas se observa una tendencia a retrasar la maternidad (Instituto Nacional Estadística 2015 [1]).

Figura 5. Edad media de la mujer al nacimiento del primer hijo (años) en España, 1975-2014



Fuente: Instituto Nacional de Estadística [2]

1.3.2 Factores asociados al retraso de la maternidad

El retraso de la edad de la maternidad es un fenómeno multifactorial relacionado con la expansión del acceso a la contracepción, el nivel educacional, la incorporación de la mujer al mundo laboral y, más recientemente, con la recesión económica y con cambios culturales, en las normas y valores, así como en las relaciones de pareja.

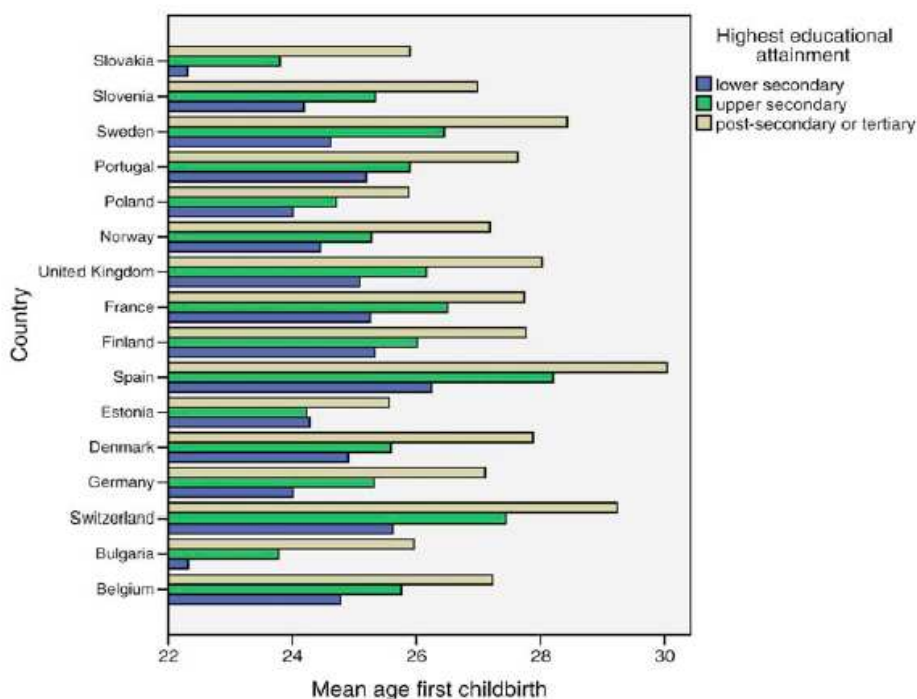
Contracepción

La introducción, a principios de 1960, de contraceptivos orales eficientes y fiables revolucionó la conducta reproductiva en muchas sociedades modernas. Por primera vez en la historia, la sexualidad y la reproducción se desvinculan, y tener hijos deja de ser el destino biológico inevitable para convertirse en una preferencia personal y programable. Los anticonceptivos han dotado a la mujer de una mayor autonomía personal. Al permitirle tener control sobre la maternidad y los tiempos, han favorecido su permanencia en la educación y, en consecuencia, su incorporación al mercado laboral. La revolución de la contracepción oral es uno de los principales factores contribuyentes al retraso de la maternidad.

Nivel educacional e incorporación de la mujer al mercado laboral

En las últimas décadas, en la mayoría de países desarrollados, la educación superior se ha extendido también a las mujeres. La educación se relaciona de forma inversa con la edad de la maternidad, puesto que resulta difícil compaginar ambas tareas simultáneamente (Figura 6) (Mills et al., 2011).

Figura 6. Edad media del primer hijo por nivel de educación, mujeres nacidas 1960- 1969 (Mills et al., 2011)



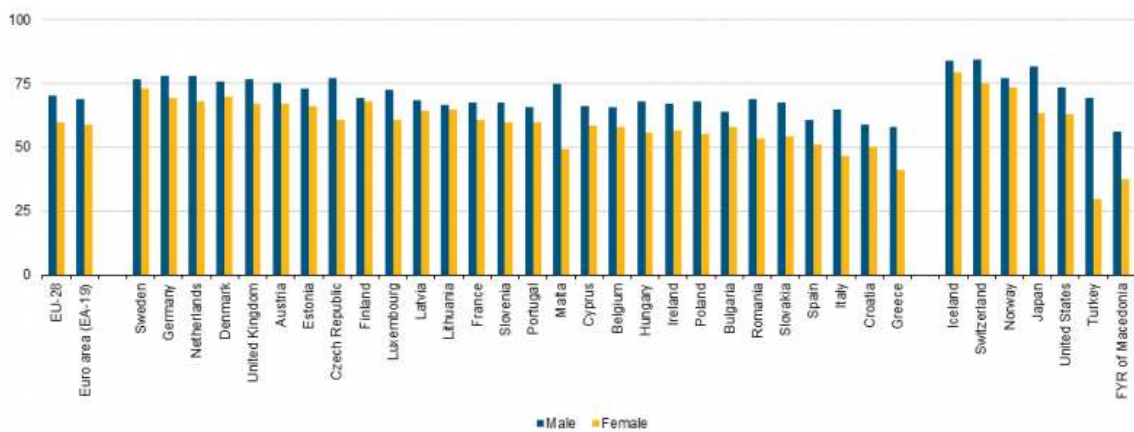
Por otra parte, las mujeres que han estudiado generalmente presentan aspiraciones profesionales mayores y suelen retrasar la maternidad hasta que están bien establecidas en su carrera profesional. Curiosamente, se ha observado que la dificultad para combinar los estudios con la maternidad también depende del tipo de carrera elegida, asociándose las carreras técnicas con mayor retraso en la maternidad (Mc Donald et al., 2009). En un estudio que analiza a 21 países europeos, se vio cómo las mujeres que habían estudiado disciplinas dominadas por hombres son las que más retrasaban la maternidad (van Bavel, 2010).

Tradicionalmente, la participación de la mujer en el mercado laboral se ha relacionado con el retraso de la maternidad por la incompatibilidad entre educar a un hijo y tener un empleo remunerado. En Corea, probablemente el país del mundo donde más horas se trabaja, la

mitad de las mujeres abandonan sus trabajos al tener hijos (United Nations 2014 [2]), lo que lamentablemente supone una pérdida de ingresos económicos, de oportunidades de formación y de capital humano. En Europa, la participación femenina en el mercado laboral en el año 2014 se situó en un 59.6%, 4.1 puntos más alto que en el 2004 pero, aún así, por debajo de la masculina, que fue del 70.1% (Eurostat [2]).

No obstante, hay diferencias entre países, habiendo una participación alta en los Países Nórdicos, Suiza, Francia y Alemania y menos en los del sur, como Italia y Grecia (Figura 7).

Figura 7. Tasas de empleo por sexo, edad 15-64 años, 2014 .

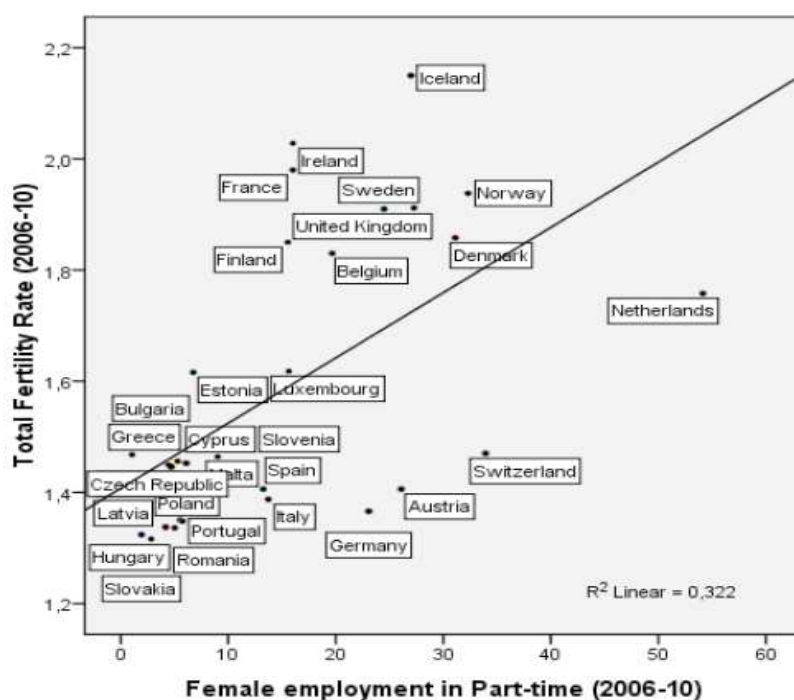


(*) The figure is ranked on the overall employment rate.
Source: Eurostat (online data code: ifsi_emp_a)

Fuente Eurostat [2]

Afortunadamente, datos recientes a nivel europeo muestran un cambio significativo en la asociación tradicional entre la maternidad y el trabajo de la mujer, resultante probablemente de la implementación de medidas que reducen esta incompatibilidad (Sousa et al., 2012). Entre estas medidas se encuentran la creación de empleos a tiempo parcial y una mayor flexibilidad horaria, la ampliación de las bajas por maternidad / paternidad y la instauración de servicios asequibles para el cuidado de los niños, que es considerado uno de los puntos más importantes para la conciliación. En aquellos países en los que el empleo a tiempo parcial es habitual, como Holanda, la tasa de empleo femenino es claramente superior que en aquellos países en los que esta medida es inhabitual (Figura 8).

Figura 8. Fertilidad y empleo a tiempo parcial (2006-2010). (Sousa et al., 2012)



Source: Eurostat

Si bien el empleo a tiempo parcial es el principal responsable de la asociación positiva entre la participación de la mujer en el mundo laboral y la maternidad, esta medida de conciliación puede tener también efectos negativos, sobre todo a nivel del salario y del proyecto de carrera profesional de la mujer. Los economistas argumentan que tener hijos a edades tempranas penaliza el sueldo de la mujer, sobre todo si ésta tiene estudios superiores y una ocupación profesional (Mills et al., 2011).

Se ha visto que la existencia de servicios para el cuidado de los niños hasta los 3 años es un factor crucial en la reincorporación de la mujer al mercado laboral y, por tanto, una medida importante para conciliar trabajo y maternidad (Castles, 2003).

Además de las medidas de conciliación trabajo – familia, es importante considerar que tanto el trabajo como la maternidad se ven afectados por otros factores como el ambiente sociocultural. Se han detectado grandes diferencias en el patrón de maternidad en mujeres procedentes de ambientes socioculturales desfavorables en función de si logran estudiar o no. Se estipula que las mujeres procedentes de ambientes socioculturales desfavorecidos que no logran estudiar, consideran la maternidad una manera de alcanzar sus objetivos personales, mientras que aquellas que sí lo logran limitan su fertilidad y se centran en su

carrera profesional. En contrapartida, se ha descrito que aquellas mujeres que proceden de ambientes favorables y que logran estudiar son más propensas a tener un sentido de su eficacia personal, de la igualdad de género, jefes que se adaptan a sus necesidades familiares y maridos con salarios óptimos, lo que se traduce en que pueden tener hijos sin preocuparse sobre si podrán afrontar el gasto, los cuidados o si perderán el trabajo en el proceso de la maternidad. Esto pone de manifiesto que, incluso equiparando la educación, persisten diferencias en los patrones de fertilidad derivados del origen socioeconómico (Brand et al., 2011).

Recesión económica

Es un hecho constatado que desde el inicio de la recesión económica que afectó a Europa en el año 2008, la tasa global de fecundidad y el número de nacimientos empezaron a bajar.

Una recesión económica puede influir en la fertilidad de varias maneras, si bien sus efectos pueden suavizarse con intervenciones gubernamentales. Aparte del impacto directo de la crisis a nivel individual, la incertidumbre económica que se puede propagar en periodos de apuro puede influir en la fertilidad. Se ha visto que existe una correlación positiva entre el producto interior bruto y el consumo individual efectivo y la tasa global de fecundidad, mientras que la correlación con la tasa de desempleo es negativa (Lanzieri, 2013). En el año 2013, España destinó un 1.4% de su producto interior bruto a prestaciones a la familia, situándose así a la cola de Europa, que destinó de media el 3.3% (Eurostat [3]).

En el año 2014, en España, la tasa de paro en las mujeres se situó en el 24% (Instituto Nacional Estadística [3]). La inestabilidad laboral y los contratos temporales también se relacionan con un retraso de la edad de la maternidad (Mills et al., 2011). Por otra parte, la recesión económica, por lo general, se asocia a una mayor dificultad para el alquiler o la compra de un inmueble, lo que se ha visto que también influye en el retraso de la maternidad (Mulder, 2006).

No obstante, la crisis económica puede tener efectos diferentes en cada país y no puede excluirse que sea vista como una “ventana de oportunidad” para la maternidad; así, en Alemania, la fertilidad de las mujeres en paro aumentó y la de las mujeres trabajadoras disminuyó, mientras que en España sucedió lo contrario: el número de nacimientos desde 2008 en España se ha reducido un 18% (Lanzieri, 2013; Instituto Nacional Estadística [1]).

Cambios culturales, en las normas y en los valores

En las últimas décadas se ha asistido a un cambio en las normas, creencias y en los modelos sociales tradicionales. La formación de una familia con los hijos como eje central ha dejado de ser el objetivo principal para la gente joven y se está tendiendo hacia la individualización (Mills et al., 2011). Emergen deseos de realización y de desarrollo personal que, sin duda, influyen en la toma de decisiones reproductivas. Tener hijos se ha convertido en una decisión programada que la pareja toma en base a sus posibles efectos en su estilo de vida, la relación de pareja y su bienestar económico (Liebfroer, 2005).

Cambios en las relaciones de pareja

En los últimos años se ha asistido también a diversos cambios en las relaciones de pareja. Las parejas se casan menos que antes y más tarde. En España, la edad media del primer matrimonio se ha retrasado tanto para hombres como para mujeres una media de 4 años. En 2013, la edad media para los hombres fue de 34.4 años y para las mujeres de 32.3 años. Además, la tasa de divorcios se ha duplicado en los últimos 10 años (Eurostat [4]).

Otro de los cambios más significativos es el aumento de la proporción de parejas que cohabitan sin casarse. En Europa (EU-28), en el año 2013, el 12.2% de los jóvenes entre 16-29 años vivían en unión consensuada sin base legal. Este hecho se ha relacionado con un retraso de la edad del matrimonio, lo que podría conllevar un retraso en la edad a la cual se tiene el primer hijo (Eurostat [1]; Mills, 2004).

Un estudio llevado a cabo en España encontró asociación entre la cohabitación, el matrimonio y la edad del primer hijo; así, vivir en unión consensuada se relacionó con menor probabilidad para tener hijos en comparación con las parejas casadas (Baizán et al., 2003). No obstante, es posible que esta tendencia esté cambiando, al menos en Europa, puesto que en el año 2011 la proporción de nacimientos procedentes de parejas no casadas fue del 40% (Eurostat [1]).

Desde otra perspectiva, en la actualidad existe una aceptación cultural de la mujer independiente, así como del desvínculo entre “pareja sexual” y “pareja con la que formar una familia”. De hecho, la dificultad para encontrar una pareja con la que formar una familia puede también contribuir al retraso de la maternidad y, más allá, contribuye también a quedarse sin descendencia. Según un estudio europeo llevado a cabo en hombres y mujeres solteros, después de la salud materna, el factor más importante en la toma de decisiones de tener un hijo fue tener una pareja adecuada (Testa, 2007).

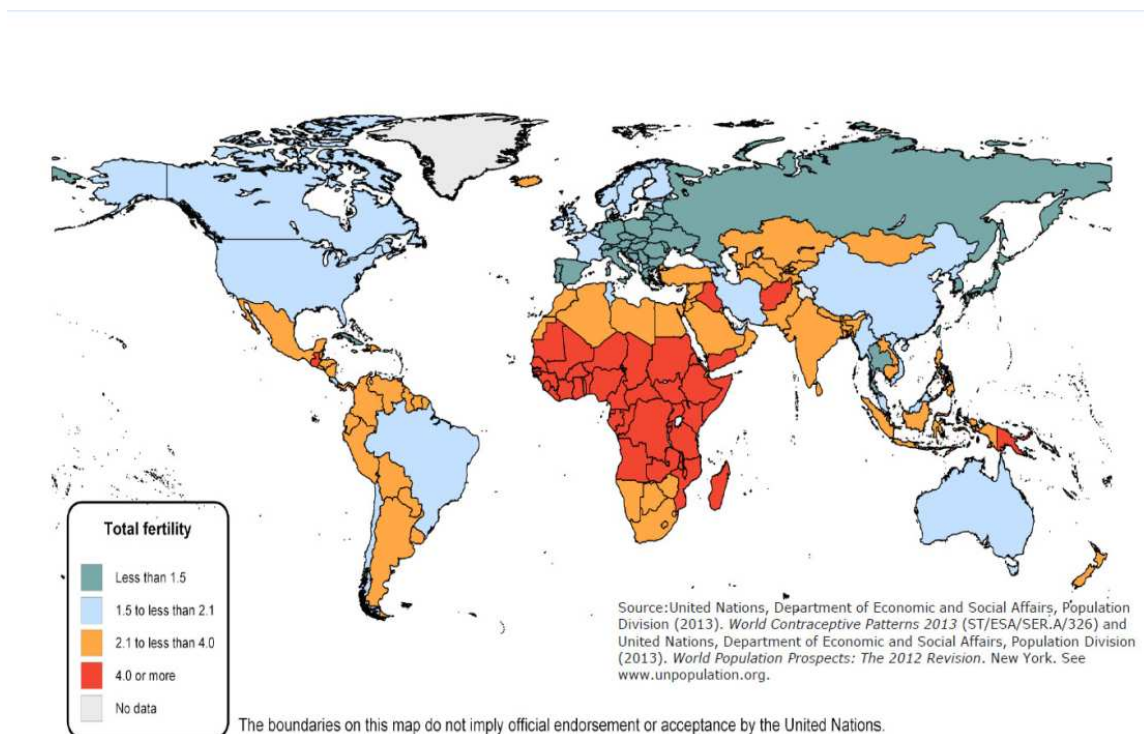
1.3.3. Impacto a nivel poblacional e individual

Tasas de fecundidad globales

El retraso de la edad de la maternidad es uno de los principales factores contribuyentes a que la fertilidad haya descendido a niveles sin precedentes.

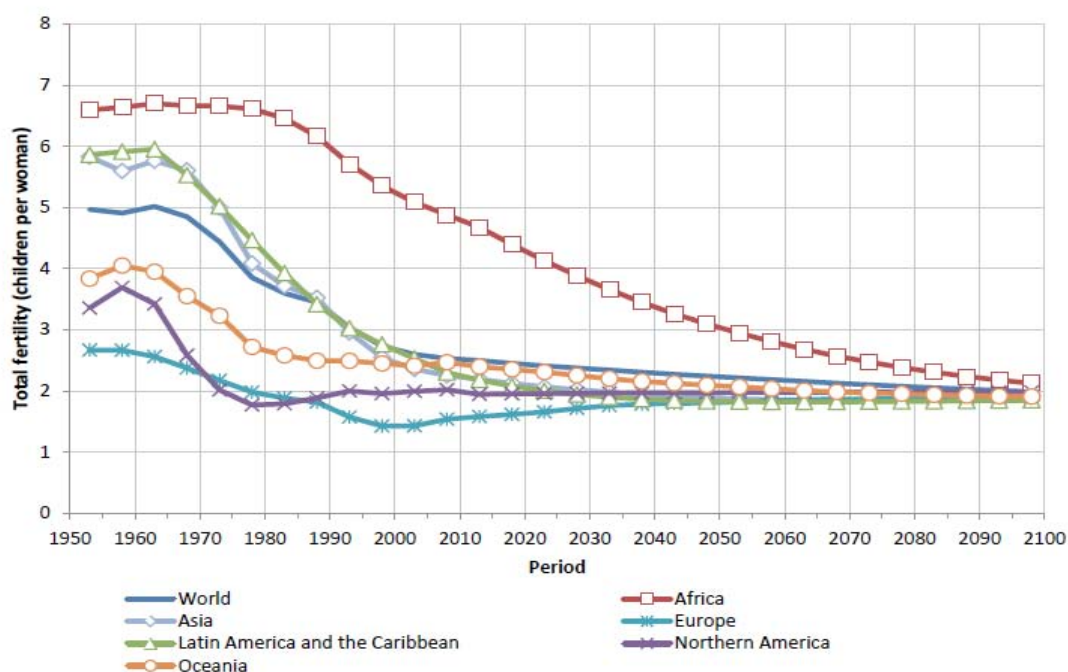
En la actualidad, la tasa global de fecundidad (número de hijos que tendría una mujer si viviera hasta el final de su etapa reproductiva y tuviera hijos de acuerdo con las tasas de fertilidad actuales específicas por edad) se sitúa en 2.5 y se estima que decaerá a 2.0 en el año 2100. No obstante, esta media enmascara la heterogeneidad de los niveles de fecundidad entre diferentes países y regiones, con zonas en África con tasas de fecundidad superiores a 3 y otras en el este asiático con tasas de fertilidad de 1.4 (Figuras 9 y 10) (United Nations 2013 [1]; United Nations 2014 [2]).

Figura 9. Tasa global de fecundidad a nivel mundial 2005-2010



Fuente: United Nations 2013 [3]

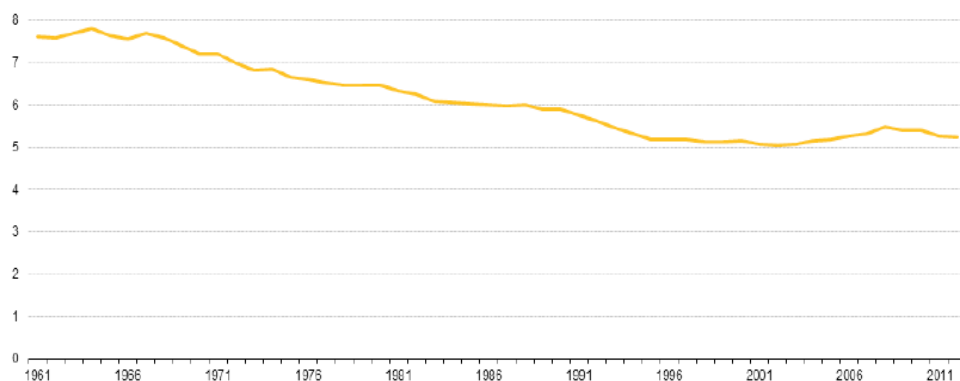
Figura 10. Tasa global de fecundidad 1950-2100



Fuente: Population Division of the Department of Economic and Social Affairs of the United Nations Secretariat (2013). United Nations [1]

En Europa, tras la época del “baby-boom” experimentado entre 1950-1960, la fertilidad comenzó a disminuir progresivamente y, de forma significativa, desde mediados de la década de 1960 (7.6 millones de nacimientos en 1961) hasta principios de la década de los 2000 (5 millones de nacimientos en 2002). Sin embargo, desde entonces hasta finales de esa década, esta tendencia parece invertirse observándose un incremento modesto (5.5 millones de nacimientos en 2008). Este hecho puede estar en parte relacionado con el proceso de “catch-up”, producido por el retraso en la edad de la maternidad: cuando las mujeres retrasan la maternidad, las tasas de fecundidad global tienden a disminuir al principio pero luego muestran una recuperación. Este efecto tuvo un carácter pasajero, pues desde el 2008 se ha experimentado de nuevo una tendencia al descenso, probablemente asociado a la crisis económica que asoló a Europa ese año (Figuras 11 y 12) (Eurostat 2015 [1]).

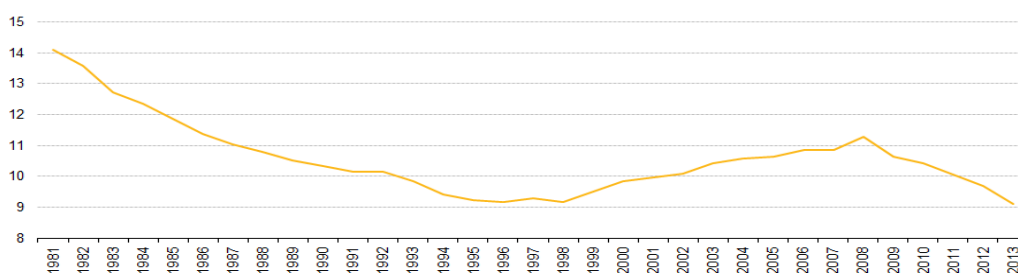
Figura 11. Número de nacimientos, EU-28, 1961-2013 (1) (millón)



(¹) Excluding French overseas departments before 1990. Breaks in series: 2001, 2007 and 2010-12.
Source: Eurostat (online data code: demo_gind)

Fuente Eurostat [5]

Figura 12. Número de nacimientos / mil habitantes España 1981-2013



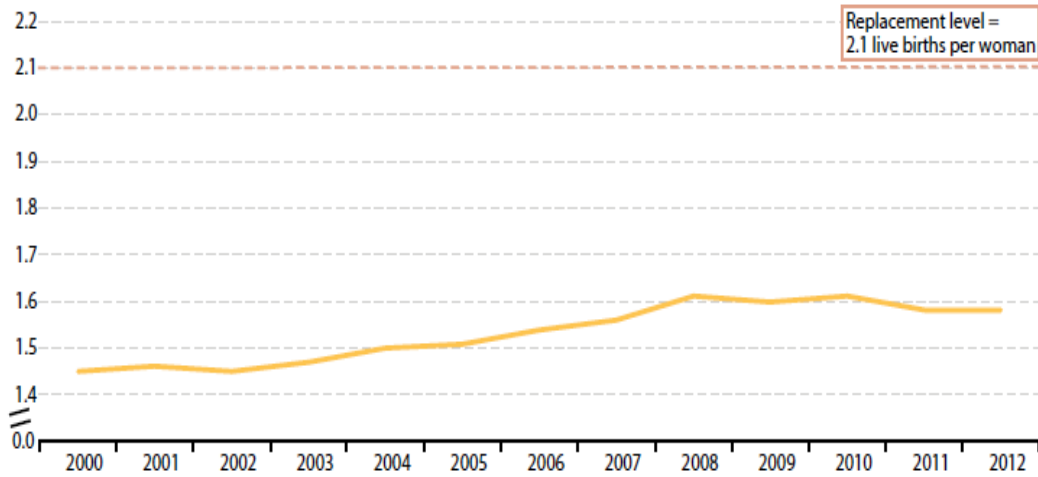
Fuente: Eurostat [4]

En cualquier caso, es un hecho notorio que dos décadas después de que tuviera lugar la Conferencia Internacional sobre Población y Desarrollo, el 48% de la población mundial vive en países cuya fertilidad está por debajo del nivel de remplazo generacional: nivel en el cual una generación reemplaza a la previa, cuyo valor se sitúa en 2.1 hijos por mujer (United Nations 2013 [1]).

En Europa, la tasa de fecundidad ha estado por debajo del nivel de remplazo generacional desde hace décadas: en el año 2002 era de 1.45, alcanzó el nivel pico en 2008 con 1.61, y descendió a 1.58 en 2012. España, país particularmente afectado por la recesión

económica, se sitúa en el extremo inferior, con 1.32 hijos por mujer (1.27 si consideramos sólo a las españolas) (Figuras 13 y 14) (Eurostat 2015 [1]; Instituto Nacional de Estadística [1]).

Figura 13. Tasas de fecundidad, EU-28, 2000-2012

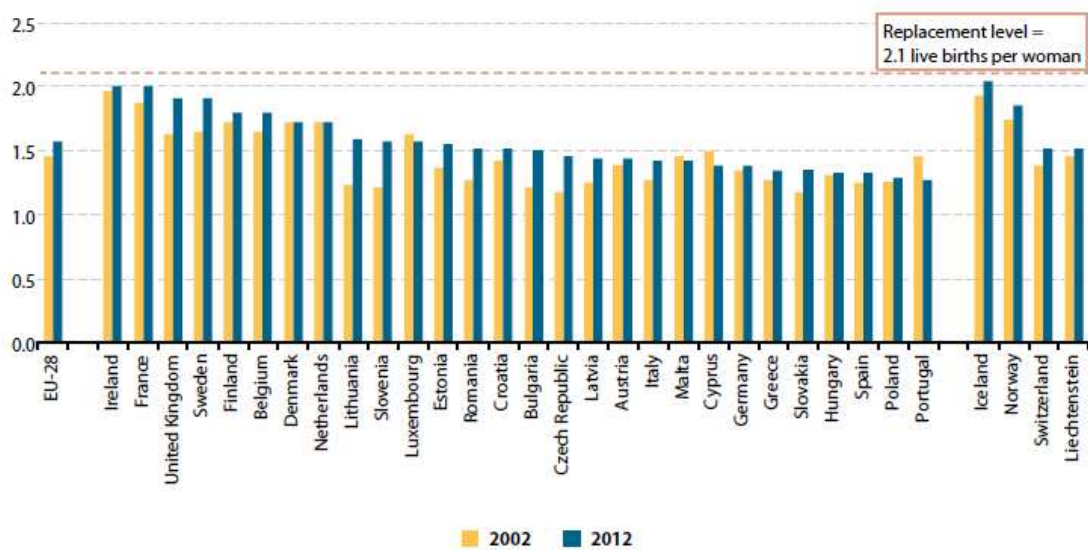


(¹) 2000: EU-27.
 Source: Eurostat (online data code: [demo_find](#))

(²) Demography Report 2010, EC DG for Employment, Social Affairs and Inclusion and Eurostat.

Fuente: Eurostat [1]

Figura 14. Tasas de fecundidad en Europa, 2002 y 2012



Source: Eurostat (online data code: [demo_find](#))

Fuente: Eurostat [1]

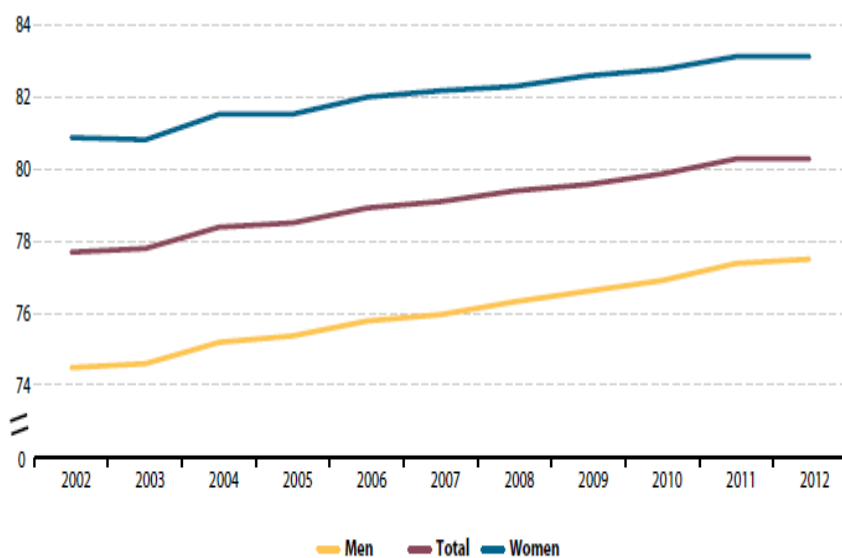
Envejecimiento poblacional

Europa está experimentando un envejecimiento poblacional. En 2013, la edad media de la población europea era de 41.9 años. El envejecimiento poblacional es consecuencia directa de dos factores: una reducción en la proporción de niños y gente joven, resultante de tasas de fertilidad más bajas y del retraso en la edad de la maternidad, y un aumento de la esperanza de vida: más de 2.5 años de incremento entre el 2002-2012 (Figuras 15 y 16) (Eurostat 2015 [1]). En España, en 2014, la esperanza de vida al nacimiento se situó en 83 años: 80.2 años para los hombres y 85.7 para las mujeres (Instituto Nacional de Estadística [1]).

El incremento de la proporción de la población mayor implica una mayor demanda de los sistemas de pensiones y seguridad social. Por otra parte, la proporción de la población activa en EU-28 empezará a caer una vez que la generación del “baby-boom” haya entrado en la jubilación, y es precisamente esta franja poblacional la que contribuye a la financiación de los servicios sociales, las pensiones y la que, en definitiva, empuja el crecimiento económico.

Así pues, el envejecimiento poblacional que amenaza a Europa es en la actualidad uno de los principales retos demográficos con implicaciones políticas, económicas, presupuestarias y sociales.

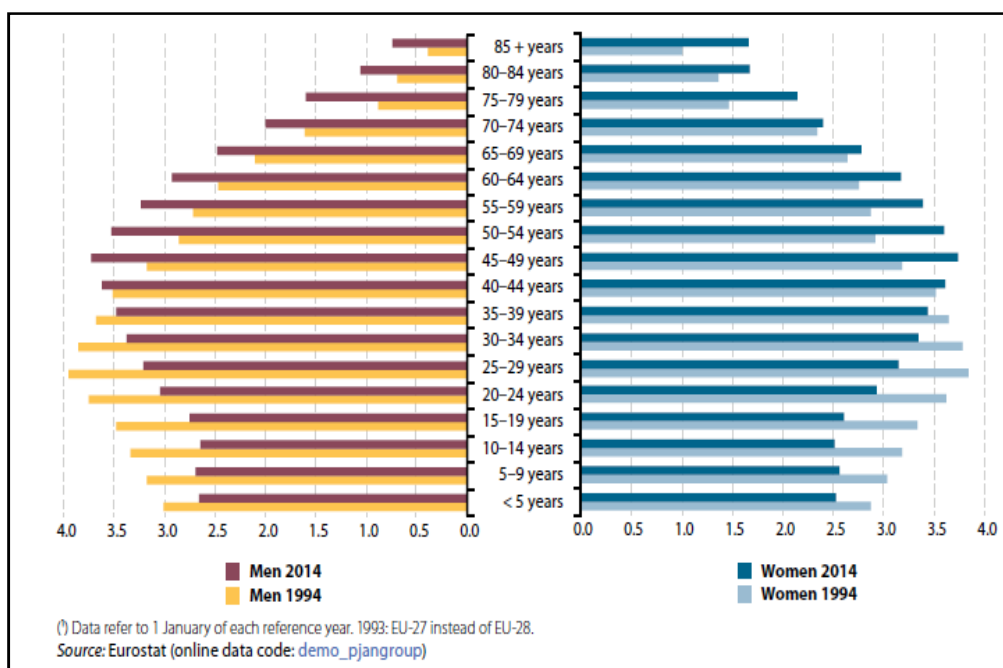
Figura 15. Esperanza de vida al nacimiento, EU-28, 2002-12 (años)



Source: Eurostat (online data code: [demo_mlexpec](#))

Fuente Eurostat 2015 [1]

Figura 16. Estructura poblacional por grupos de edad de 5 años y sexo, 1993 y 2013, EU-28



Fuente Eurostat 2015 [1]

Efectos a nivel de las parejas y los hijos

Si bien la literatura médica advierte sobre los diferentes riesgos de la maternidad tardía, no hay que olvidar que ésta puede tener también aspectos positivos. Por ejemplo, la literatura económica define al retraso de la maternidad como una opción favorable desde el punto de vista estrictamente racional y de maximización de la utilidad, como evidenció un estudio estadounidense que demostró que retrasar la maternidad un año incrementó el sueldo de la mujer un 9% y su experiencia profesional un 6% (Miller, 2011).

Otros rasgos potencialmente beneficiosos asociados a la maternidad tardía son el establecimiento de unas relaciones de pareja más consolidadas con menor riesgo de divorcio, mejor funcionamiento familiar, condiciones económicas más favorables, más experiencia y conocimientos, y un mejor manejo del estrés y de la responsabilidad que implica educar a un hijo (Sobotka, 2010a). Es más, en parejas con historia de esterilidad se ha descrito una mejor práctica de la paternidad derivada de la dificultad para conseguir el embarazo, conocido como efecto “hard-to-achieve-pregnancy” (van Balen, 1998).

En este sentido, la mayoría de trabajos que analizan el impacto del retraso de la maternidad sobre los hijos no encuentran efectos negativos en el desarrollo intelectual y psicológico de

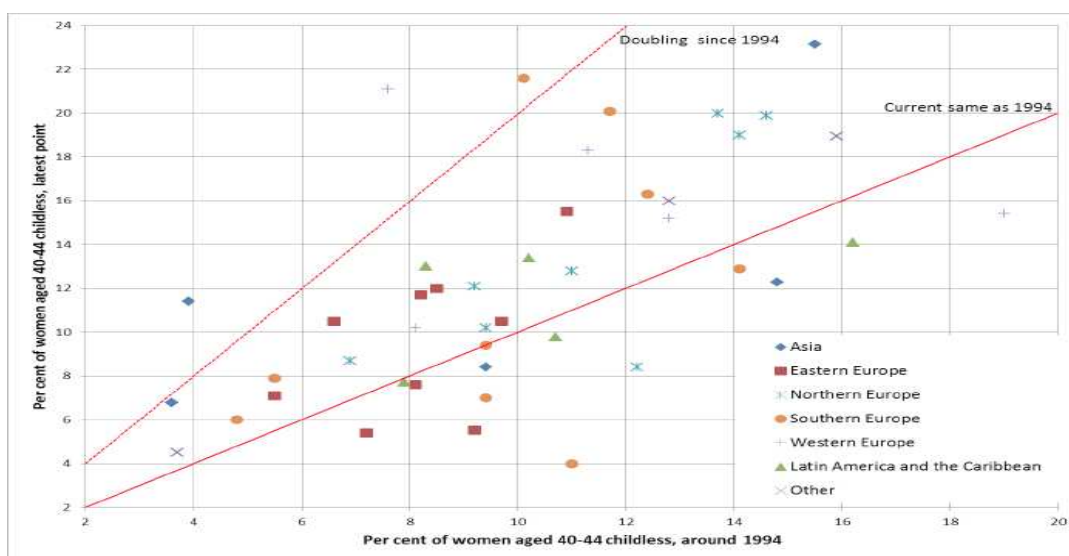
los mismos (Garrison et al., 1997; Boivin et al., 2009); en algunos estudios se encuentran incluso mejores resultados en hijos de padres con edades avanzadas, lo que probablemente se relacione con mejores prácticas de paternidad y funcionamiento familiar (Fergusson et al., 1999; Miller, 2011).

Como contrapartida, si la diferencia generacional entre padres e hijos es considerable, la maternidad tardía puede acarrear dificultades en la comunicación entre padres e hijos y, además, aumenta la probabilidad de que los padres tengan problemas de salud cuando aún tienen que educar a sus hijos (Sobotka, 2010a); es más, si la maternidad se afronta más allá de los 40 años, la probabilidad de fallecer antes de que los hijos alcancen la edad adulta y tengan hijos ellos mismos es muy alta (Schmidt et al., 2012). Así lo evidencia un estudio en el que se analiza la opinión de hijos de entre 11-25 años: la mayoría de ellos prefieren que sus padres tengan menos de 30 años en el momento del nacimiento de los hijos, lo que contrasta claramente con la tendencia actual a retrasar la edad de la maternidad. La razón principal por la cual los hijos desean padres más jóvenes es el miedo a perder prematuramente a los progenitores; además se describen otros motivos como la dificultad para relacionarse y comunicarse con ellos por la diferencia generacional, la pérdida de habilidades físicas en los padres y el riesgo de no tener abuelos (Kokourková et al., 2015).

Finalmente, en relación a la consideración del límite de edad para la maternidad, es importante tener en cuenta no sólo la autonomía de la mujer sino también el bienestar de los hijos. Si se usa el indicador “años de vida sana” (esperanza de vida menos 20 años en la mujer, y menos 15 años en el varón), con las tasas de supervivencia europeas actuales los límites estarían en 62 años para el hombre y 63 años para la mujer (Kokourková et al., 2015). Ajustando aún más los datos, Pennings sugiere que este límite se sitúe en los 50 años (Pennings, 2001).

Aun teniendo en cuenta los cambios en la conducta reproductiva de las últimas décadas, el ideal de familia de dos hijos sigue siendo la norma europea desde 1980, incluso en los países con tasas de fertilidad bajas o muy bajas. A pesar de ello, por ejemplo en España, la proporción de mujeres que se quedan finalmente sin hijos se ha duplicado desde 1994 hasta el momento actual (Figura 17). Existe, pues, una divergencia entre la fertilidad deseada y la finalmente alcanzada, lo que se ha denominado también como “necesidades insatisfechas de descendencia” (United Nations 2014 [2]).

Figura 17. Porcentaje de mujeres de 40-44 años que no tienen descendencia, entre 1994 y último punto disponible, en países con baja tasa de fertilidad

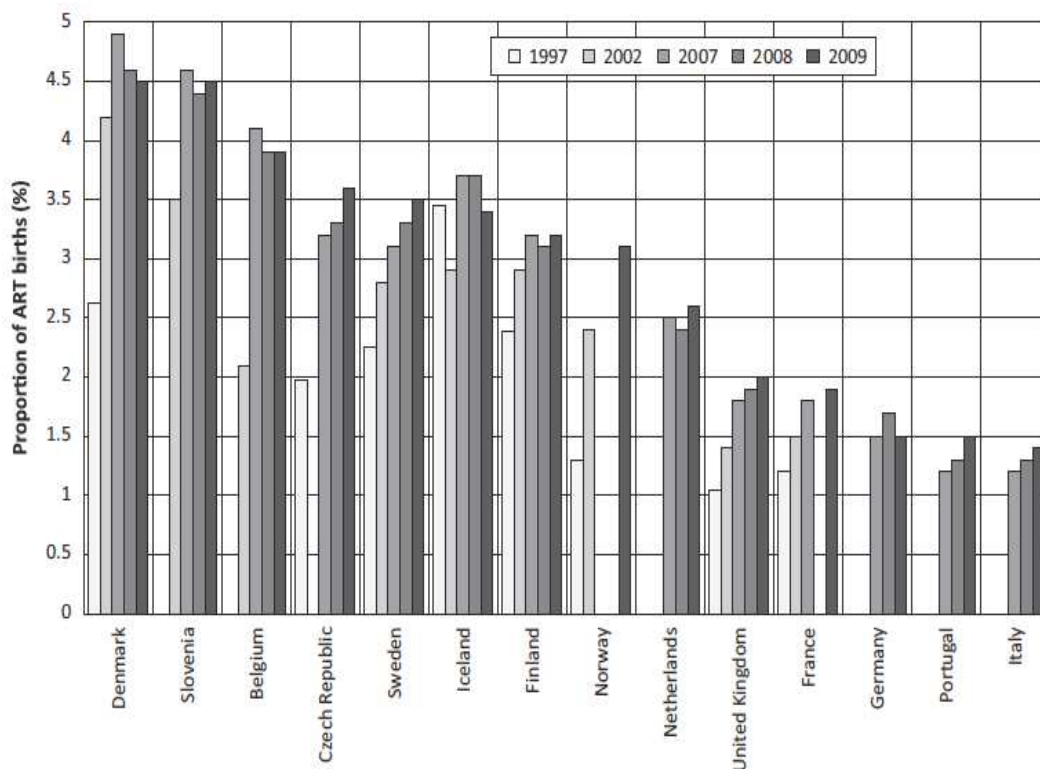


Fuente: United Nations Department of Economic and Social Affairs, Population Division. United Nations [2].

Esta discordancia entre la fertilidad deseada y la finalmente alcanzada, tiene un fuerte impacto personal. La carencia de hijos involuntaria, cuya incidencia ronda el 6%-7% en algunos países de Europa, está considerada por la Organización Mundial de la Salud como una enfermedad con impacto psicológico fuerte (te Velde et al., 2012), asociándose con mayor riesgo de rotura de las relaciones, depresión, ansiedad, sentimiento de culpa, aislamiento, menor nivel de autoestima y un duelo patológico. Estas consecuencias psicológicas son especialmente alarmantes en las mujeres y se encuentran también en parejas sometidas a tratamientos repetidos de FIV infructuosos (Verhaak et al., 2005; Verhaak et al., 2007; Lechner et al., 2007; Lund et al., 2009).

En consecuencia, la demanda para las técnicas de reproducción asistida se ha incrementado. Según el registro de la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (ESHRE), en el año 2010 se realizaron en Europa (cobertura de 31 países) más de medio millón de ciclos de FIV o inseminación artificial y, paralelamente, la proporción de nacimientos procedentes de técnicas de reproducción asistida ha aumentado a lo largo del tiempo, hasta tal punto que, en Dinamarca, en el año 2007, el 5% de los nacimientos procedían de técnicas de reproducción asistida (Figura 18) (Kupka et al., 2014; Kocourkova et al., 2014).

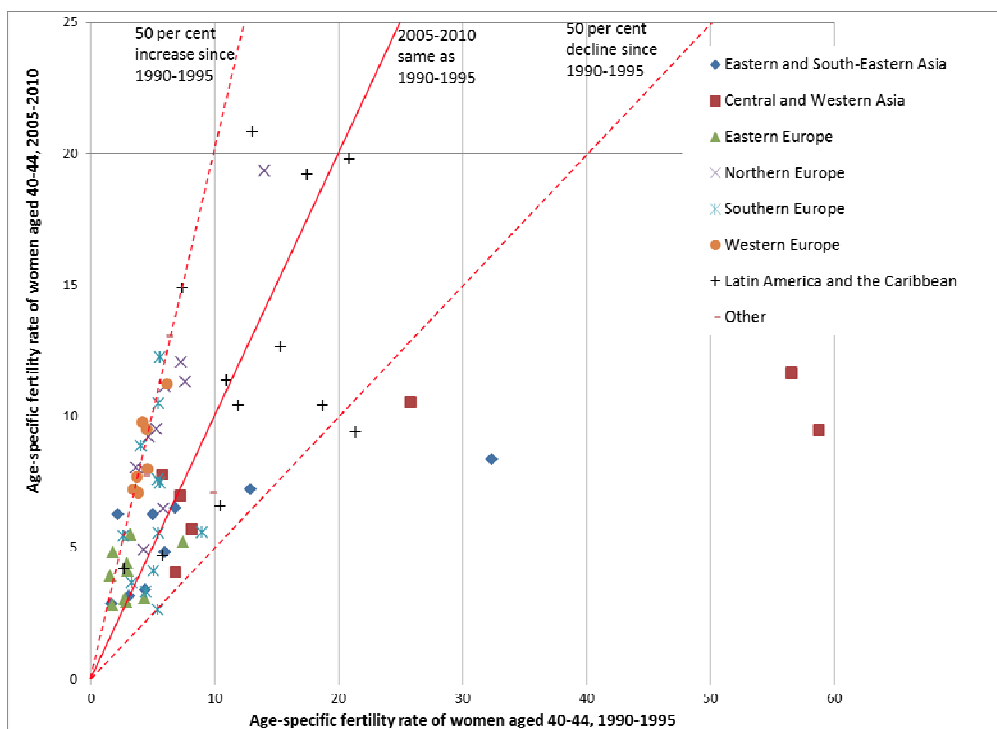
Figura 18. Tendencias en la proporción de nacimientos de técnicas de reproducción asistida, 1997-2009 (Kocourková et al., 2014)



Ello contribuye, sin duda, a que otra de las características de los países con bajas tasas de fecundidad sea el incremento en la proporción de nacimientos procedentes de mujeres en edades reproductivas avanzadas (Figura 19).

En la Unión Europea, la proporción de nacimientos procedentes de madres de 40 años o más incrementó de un 1.6% a finales de la década de 1980 a un 3% en el año 2006 (Sobotka et al., 2010b).

Figura 19. N° de nacimientos /1000 mujeres entre 40-44 años, 1990-1995 y 2005-2010, en países con tasa de fecundidad baja



Fuente: United Nations Department of Economic and Social Affairs, Population Division. United Nations [2]

Se postula que las técnicas de reproducción asistida pueden compensar parcialmente el efecto del retraso de la maternidad en la infertilidad permanente, siempre y cuando todas las parejas candidatas a FIV reciban tres ciclos. Sin embargo, sólo la mitad de las parejas que no logran embarazarse de forma natural buscan ayuda médica y menos de una cuarta parte acaban recibiendo algún tipo de tratamiento especializado (Boivin et al., 2007). Además, la proporción de abandonos del tratamiento es considerable, por lo que, teniendo en cuenta todos estos factores, se asume que el impacto de la FIV para compensar la infertilidad involuntaria derivada del retraso de la maternidad es prácticamente insignificante a nivel poblacional (te Velde et al., 2012). Otro factor a tener en cuenta es que, tal y como sucede de forma natural, los resultados de las técnicas de reproducción asistida dependen principalmente del proceso de envejecimiento reproductivo (sobre todo ovárico), que analizamos a continuación.

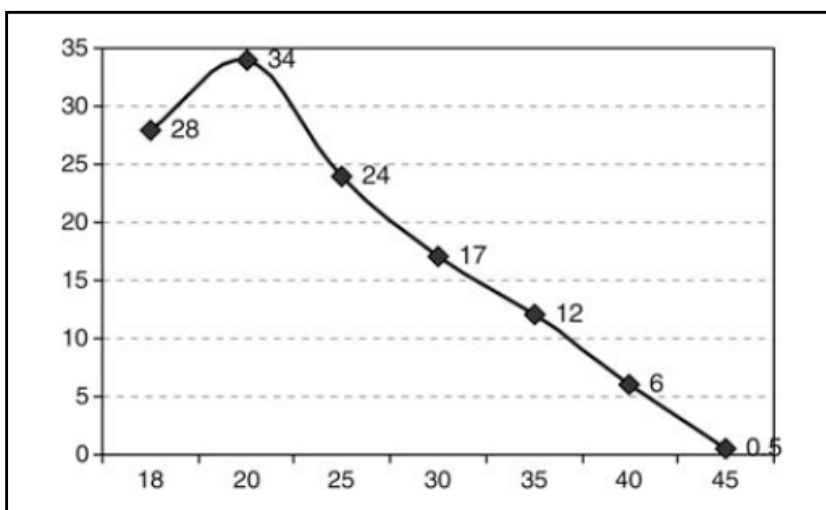
1.4. Fisiología del envejecimiento reproductivo

1.4.1. Envejecimiento ovárico

Con el incremento de la edad cronológica, la fertilidad de la mujer disminuye.

La mejor manera de evaluar la fertilidad de la mujer y su descenso asociado a la edad es analizando las así llamadas “poblaciones de fertilidad natural”, en las que el control de natalidad es inexistente. Un trabajo, que estudia a seis poblaciones de este tipo con una diferencia de 200 años entre la más antigua y la más reciente, pone de manifiesto que el descenso de la fertilidad asociado a la edad sigue un patrón universal. La edad a la que la mujer tiene el último hijo se sitúa en los 40-41 años y la probabilidad de quedarse sin descendencia de forma involuntaria pasa de un 12% a los 35 años a un 90% a los 45 años (Eijkemans et al., 2014). Asimismo, un estudio en 544 parejas Hutteritas (secta cristiana frontalmente opuesta al control de natalidad), pone de manifiesto que la probabilidad de embarazo y nacido vivo mensual descende con la edad, pasando de un 24% en mujeres de 25 años a un 5% a los 40 años (Figura 20)(Larsen et al., 2000).

Figura 20. Probabilidad mensual de concepción y nacido vivo entre mujeres Hutteritas (Larsen et al., 2000)



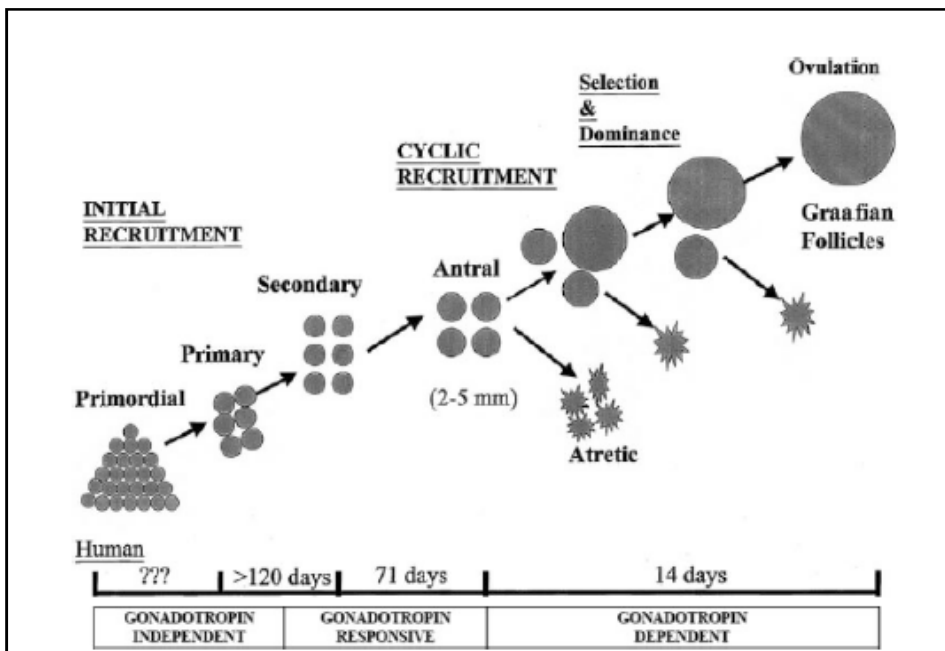
Se entiende por envejecimiento ovárico al descenso gradual de la cantidad y la calidad de los ovocitos presentes en los folículos de la corteza ovárica. Este proceso varía considerablemente de una mujer a otra y los mecanismos que lo regulan están lejos de ser entendidos en su totalidad, si bien se sabe que en este complejo “puzzle” están

involucrados factores endocrinos, paracrin, genéticos y metabólicos (Broekmans et al., 2009).

El ovario humano adquiere su cuota total de ovocitos antes del nacimiento, en la semana 20 de gestación, momento en el que los ovarios contienen entre 6-7 millones de ovocitos. Los ovocitos se encuentran detenidos en la profase de la primera división meiótica hasta justo antes de la ovulación, que es cuando reanudan la meiosis. El proceso de iniciación del crecimiento folicular desde folículo primordial hasta la ovulación lleva entre 4-6 meses y, tanto desde la quiescencia como a lo largo del proceso, la gran mayoría de los folículos sufrirán atresia. De los millones de ovocitos presentes antes del nacimiento sólo unos cientos alcanzan la ovulación (te Velde et al., 2002). El mecanismo por el cual determinados folículos salen de la quiescencia y empiezan a crecer sigue siendo desconocido, si bien estudios en animales sugieren que pueda estar regulado por factores como la AMH, BAX1, BLC2 y el gen del tumor de Wilm's (Durlinger et al., 1999; Perez et al., 1999).

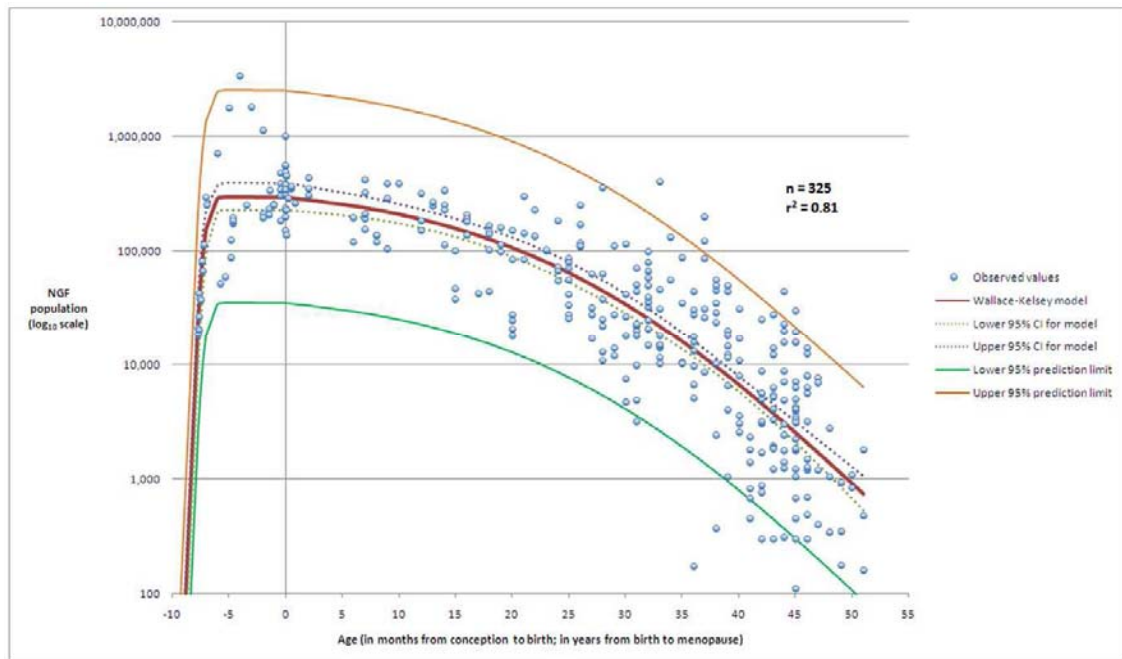
La FSH tiene un papel relevante en rescatar de la atresia a los folículos que alcanzan los 2-5 mm de diámetro, en la selección del folículo dominante, y en mantener su maduración hasta la ovulación, pero su papel en las etapas iniciales es más dudoso (Figura 21).

Figura 21. Representación del reclutamiento folicular inicial y cíclico (Broekmans et al., 2009)



Al nacimiento, sólo quedan 1-2 millones de folículos primordiales y en la menopausia entre 300.000 – 400.000. Cuando la dotación de folículos desciende por debajo de 1000 se entra en menopausia, cuya edad media se sitúa en los 51 años (Figura 22).

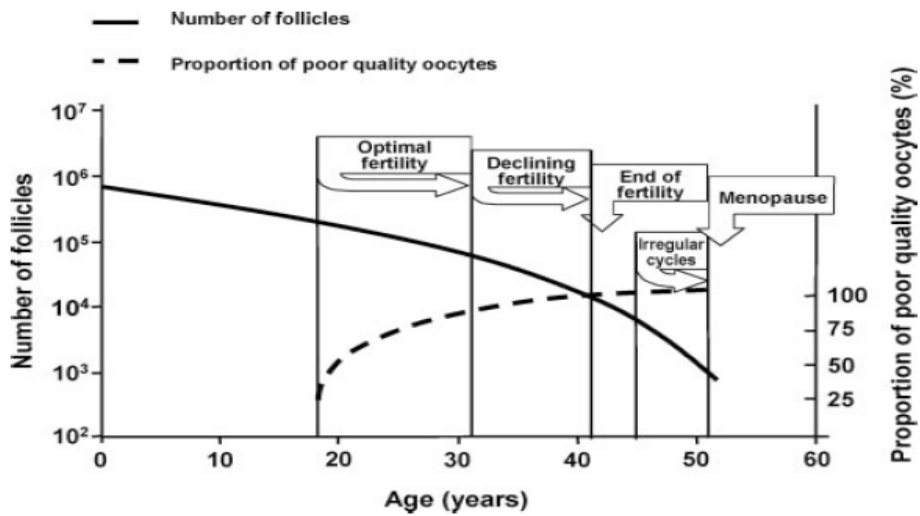
Fig 22. Población de folículos primordiales desde la concepción hasta la menopausia (Wallace et al., 2010)



Estudios clásicos que han analizado ovarios humanos desde el periodo neonatal hasta los 51 años, demostraron que el modelo de pérdida folicular es bi-exponencial. Según sus resultados (Faddy et al., 1992), durante las primeras cuatro décadas de la vida el descenso es estable, pero cuando la población folicular alcanza la cifra crítica de 25.000 folículos, que ocurre a los 37.5 ± 1.2 años, se produce un cambio significativo y, desde entonces hasta la menopausia, el ritmo de pérdida se incrementa en más de dos veces.

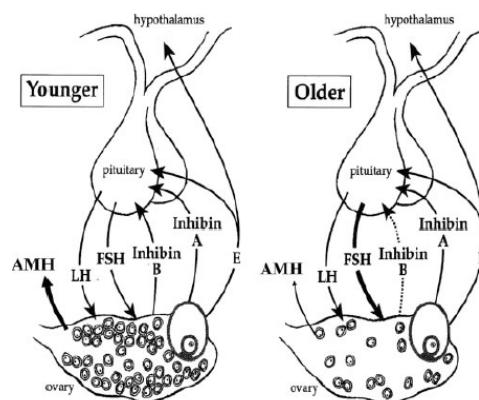
No obstante, estudios más recientes muestran que el descenso es más gradual, sin cambios repentinos en el ritmo de pérdida (Figura 23) (Hansen et al., 2008).

Figura 23. Representación esquemática del número la calidad de los ovocitos en función de la edad (Hansen et al., 2008)



El descenso del número de folículos y del tamaño de la cohorte de folículos antrales asociado a la edad desencadena una serie de cambios endocrinológicos relacionados con la pérdida del “feedback” negativo del ovario sobre el eje hipotálamo-hipofisario. Inicialmente, se produce un descenso de los niveles de AMH y de inhibina B y, en consecuencia, una elevación de la FSH basal. Niveles elevados de FSH aceleran el reclutamiento folicular y la selección de los folículos dominantes, elevando precozmente el estradiol basal, lo que se traduce en un acortamiento de la fase folicular, que es el primer signo clínico del envejecimiento reproductivo. En los estadios finales, disminuyen los niveles de inhibina A y de estradiol (Figura 24) (Broekmans et al., 2009).

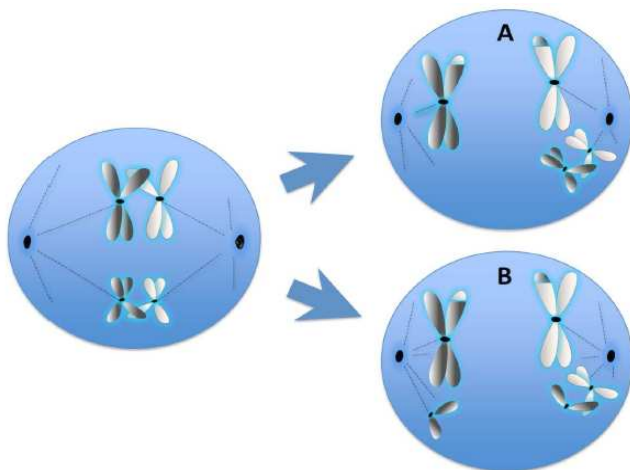
Figura 24. Ilustración esquemática de los cambios en la reserva ovárica con la edad y el efecto en el eje hipotálamo-hipofisario (Broekmans et al., 2009)



En paralelo al descenso cuantitativo, se observa una pérdida de la calidad ovocitaria con la edad, relacionada sobre todo con la competencia genética del ovocito. A mayor edad, mayor riesgo de alteraciones cromosómicas en el ovocito, que se explican tanto por una no disyunción meiótica como por una separación prematura de cromátidas hermanas (Figura 25) (Jones et al., 2008; Ottolini et al., 2012).

La no disyunción meiótica podría deberse a alteraciones en la alineación de los cromosomas, en la formación del huso o a la no formación de los quiasmas, mientras que la separación prematura de las cromátidas hermanas se debe a la pérdida gradual de las cohesinas, que mantienen juntas a las cromátidas. Todos estos hechos están relacionados con la edad, que condiciona un deterioro de una serie de factores celulares que son necesarios para una progresión correcta en la meiosis.

Figura 25. Representación de la no disyunción (A) y la separación prematura de cromátidas hermanas (B) (Ottolini et al., 2012)



Además de las alteraciones del ADN genómico, existen otros mecanismos implicados en el envejecimiento ovárico, tales como alteraciones a nivel del ADN mitocondrial, reducción de la actividad de la telomerasa, el estrés oxidativo y el compromiso en la vascularización perifolicular.

Curiosamente, a pesar de estos cambios profundos en la cantidad y en la calidad ovocitaria, el proceso de envejecimiento ovárico pasa bastante desapercibido para la mujer. En efecto, de los cuatro eventos del envejecimiento reproductivo (subfertilidad, esterilidad, irregularidad menstrual y menopausia), los únicos reconocibles por la mujer son la

irregularidad menstrual y la menopausia. Además, existe una gran variabilidad individual en la edad a la cual ocurren estos eventos y los factores que lo regulan son diversos. Se ha sugerido un posible efecto de factores ambientales y del estilo de vida, pero éstos no explican en su totalidad la variabilidad en la edad de la menopausia.

El hecho de que haya una asociación en la edad de la menopausia entre madres e hijas y entre hermanas sugiere un control genético del proceso. Probablemente se trate de genes que regulan tanto la cuantía de la dotación inicial de folículos primordiales como el ritmo de pérdida folicular. En la Tabla 1 se muestran algunos de los genes candidatos a controlar el proceso del envejecimiento reproductivo (Broekmans et al., 2009).

Tabla 1. Resumen de genes candidatos y estudios de asociación del genoma completo (GWA) para la edad de la menopausia (Broekmans et al., 2009)

Chromosome	Study	Effect on AMP in years (minor allele)	Gene or gene region
Candidate gene			
12q13	Keevenaer <i>et al.</i> , 2007 (305)	-2.6	AMHR2
13q13	Tempfer <i>et al.</i> , 2005 (289)	+1.5	APO-E
	He <i>et al.</i> , 2009 (311)	-1.93	
2p21-22	Hefler <i>et al.</i> , 2005 (298)	-0.8	CYP11B1
	Long <i>et al.</i> , 2006 (331)	-1.0	
	Long <i>et al.</i> , 2006 (331)	+1.2	
	Long <i>et al.</i> , 2006 (331)	+0.7	
	Mitchell <i>et al.</i> , 2008 (332)	+2.6	
6q25	Weel <i>et al.</i> , 1999 (299)	-1.1	ER α
13q34	van Disseldorp <i>et al.</i> , 2008 (108)	+0.8	F VII
1q23	van Asselt <i>et al.</i> , 2003 (290)	-3.1	F V Leiden
	Tempfer <i>et al.</i> , 2005 (305)	-2.4	
5q21-22	Zhang <i>et al.</i> , 2007 (333)	+1.58	HDC
1p13	Mitchell <i>et al.</i> , 2008 (332)	+1.9	HSDB1
GWA studies			
19q13.4	He <i>et al.</i> , 2009 (311)	-0.49	BRSK1, THEM224 and SUV420H2
	Stolk <i>et al.</i> , 2009 (310)	+0.39	
	He <i>et al.</i> , 2009 (311)	-0.47	BRSK1, THEM224 and SUV420H2
	Stolk <i>et al.</i> , 2009 (310)	-0.38	
	He <i>et al.</i> , 2009 (311)	-0.43	BRSK1, THEM224 and SUV420H2
	Stolk <i>et al.</i> , 2009 (310)	-0.43	
	He <i>et al.</i> , 2009 (311)	-0.40	BRSK1, THEM224 and SUV420H2
	Stolk <i>et al.</i> , 2009 (310)	-0.31	
	He <i>et al.</i> , 2009 (311)	+0.36	BRSK1
	He <i>et al.</i> , 2009 (311)	+0.33	HSPBP1, BRSK1
20p12.3	He <i>et al.</i> , 2009 (311)	+1.07	TRMT6, MCM8
	Stolk <i>et al.</i> , 2009 (310)	+0.50	MCM8
5q35.2	He <i>et al.</i> , 2009 (311)	+0.39	UIMC1
	He <i>et al.</i> , 2009 (311)	+0.39	UIMC1
	He <i>et al.</i> , 2009 (311)	+0.39	UIMC1, ZNF346
	He <i>et al.</i> , 2009 (311)	+0.36	HK3, UIMC1
	He <i>et al.</i> , 2009 (311)	-0.30	UNC5A, HK3
13q34	Stolk <i>et al.</i> , 2009 (310)	+0.52	ARHGEF7
6p24.2	He <i>et al.</i> , 2009 (311)	+0.29	GCM2, SYCP2L

1.4.2. Envejecimiento reproductivo en el varón

Los hombres han retrasado la edad de la paternidad en un grado similar al de la mujer, pero, así como la mujer experimenta un descenso de la fertilidad ligado a la edad, en el varón las funciones reproductivas se alteran muy lentamente a lo largo de los años y la producción de andrógenos, la espermatogénesis y la función sexual se mantienen por lo general a lo largo de la vida, con tan solo alguna alteración dependiente de la edad (Sartorius et al., 2010).

La edad paterna avanzada se ha asociado con mayor riesgo en la descendencia de enfermedades autosómicas dominantes raras así como de otros trastornos complejos, como el autismo y la esquizofrenia (Humm et al., 2013).

En relación con el impacto de la edad en los parámetros seminales, la literatura no es concluyente y el único hallazgo consistente es el descenso en el volumen del eyaculado y, en consecuencia, en el recuento espermático y en el número total de espermatozoides móviles (Dain et al., 2011). Además, es difícil saber qué parte se explica por la edad “per se” y qué parte se explica por otros factores también relacionados con la edad y con la calidad seminal, tales como la obesidad, la enfermedad vascular, infecciones y acumulación de toxinas.

La edad paterna también se asocia con un incremento en el riesgo de aneuploidías, alteraciones cromosómicas estructurales y alteraciones del “imprinting” genético, posiblemente relacionado con el elevado número de divisiones mitóticas que experimentan las células germinales masculinas. Teniendo en cuenta que hay trabajos que demuestran que el ovocito dispone de mecanismos de reparación del ADN paterno, es importante tener en cuenta la edad materna, puesto que ovocitos procedentes de mujeres de más edad probablemente tengan menos capacidad de rescate. Así, algunos autores evidencian un impacto negativo en los casos en los que el hombre tiene más de 40 años y la mujer al menos 35 años (Sartorius et al., 2010).

El estudio del impacto de la edad paterna en las probabilidades de concepción natural y tras técnicas de reproducción asistida brinda resultados controvertidos; si bien algunos trabajos no evidencian efecto (Bellver et al., 2008b; Whittcomb et al., 2011), otros sí que encuentran menores tasas de embarazo y nacido vivo con edades paternas avanzadas (de la Rochebrochard et al., 2006; Ferreira et al., 2010).

A pesar del impacto negativo que tiene la edad en la función reproductiva de la mujer y del varón, sobre todo en la primera, existe un gran desconocimiento en la población general al respecto.

1.5. Fertilidad y técnicas de reproducción asistida: conocimientos generales

Si la “transición del aplazamiento” aún no ha llegado a su fin, hay una necesidad sustancial de informar a los profesionales y gestores de la salud, y al público en general, del impacto reproductivo del retraso de la maternidad para que aquellos que deseen ser padres puedan tomar decisiones cualificadas.

Los estudios que analizan los conocimientos sobre la fertilidad en la población general demuestran un desconocimiento general acerca de la relación entre la edad y los riesgos de esterilidad, infertilidad permanente, o incapacidad para lograr el tamaño familiar deseado (Mills et al., 2011). De hecho, con elevada frecuencia se sobrestima tanto la capacidad para tener hijos en edades avanzadas como las tasas de éxito de las técnicas de reproducción asistida:

- *Encuesta realizada a 9.967 estudiantes universitarios de Finlandia de < 35 años (Virtala et al., 2011)*

“Más de la mitad de los hombres y un tercio de las mujeres pensó que el punto de corte a partir del cual la fertilidad desciende significativamente son los 45 años”

- *Encuesta realizada a 3.345 mujeres canadienses sin descendencia de edad comprendida entre 20-50 años (Daniluk et al., 2012)*

“Más del 90% de las mujeres creyeron que las técnicas de reproducción asistida ayudan a la mayoría de las pacientes a tener hijos con gametos propios hasta la menopausia”

- *Cuestionario realizado a 61 familias en las que la mujer da a luz con ≥ 40 años, California, EEUU (Mac Dougall et al., 2013)*

“El 31% de las mujeres esperaba embarazarse sin dificultad a los 40 años. El 23% acusó haber tenido mensajes persistentes sobre la prevención del embarazo desde la adolescencia. El 44% mostró desconcierto al descubrir que desconocían el impacto real de la edad en la

fertilidad. El 46% reconoció que, aún habiendo tenido la información, sus circunstancias vitales no les habrían permitido embarazarse antes”.

- *Cuestionario realizado a 754 estudiantes universitarios chinos (Chan et al., 2015)*

“Más del 90% sobrestiman la edad a la cual la fertilidad disminuye significativamente y las probabilidades de embarazo mensuales. Dos tercios sobrestiman el éxito de las técnicas de reproducción asistida”.

- *Cuestionario realizado a 2.110 hombres y mujeres alemanes entre 18-50 años (Stoebel-Richter et al., 2012)*

“Un tercio de las mujeres respondió que la fertilidad empieza a bajar a partir de los 45 años o en la menopausia; en el caso de los hombres, la edad que estimaron era aún mayor”.

Un hecho llamativo, y a la vez preocupante, es que la población universitaria subestime el impacto de la edad y sobrestime el éxito de las técnicas de reproducción asistida, pues es la población con mayor riesgo de retrasar la maternidad. La prevención de la esterilidad es, si cabe, tan importante como la de los embarazos no deseados, y la educación sexual en las escuelas debería incluir información no sólo acerca de la planificación familiar sino también sobre el descenso de la fertilidad ligado a la edad. La pregunta que emerge entonces es si la adquisición de nociones generales de fertilidad impactaría en los planes reproductivos de las parejas. Hay un estudio que evidencia que la realización de una intervención educativa corta (folleto informativo) aumentó los conocimientos sobre la fertilidad en general y sobre el éxito de las técnicas de reproducción asistida, si bien no hay resultados de seguimiento a largo plazo (Wojcieszek et al., 2013). Un estudio reciente analiza la eficacia de la educación “online” sobre la fertilidad y encuentra que el impacto inmediato es positivo, pero en la mayoría de las veces los cambios no se sostienen en el tiempo (6 meses post-intervención) (Daniluk et al., 2015).

1.6. Situación actual de la reproducción asistida

1.6.1. Técnicas de reproducción asistida en Europa y España

Desde el primer nacimiento tras un ciclo de FIV (Steptoe and Edwards, 1978) hasta la otorgación en el año 2010 del Premio Nobel de Fisiología y Medicina a Robert G. Edwards por el desarrollo de la FIV, las técnicas de reproducción asistida se han convertido en una

práctica clínica de rutina. Se estima que en las últimas cuatro décadas han nacido unos 5 millones de niños con la ayuda de la reproducción asistida (Adamson et al., 2013).

Globalmente, Europa lidera el mundo en técnicas de reproducción asistida. El “European IVF Monitoring Consortium”, de la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (ESHRE), ha recogido datos desde 1997, basándose en información de los registros nacionales (con participación obligatoria o voluntaria). En 2005, año más reciente del cual se tienen datos globales, el 56% de las punciones foliculares se realizaron en Europa (Zeghers et al., 2014). En Europa, en el año 2010, se registran 550206 ciclos de técnicas de reproducción asistida (datos relativos a 31 países). Es interesante destacar que entre los diferentes países de Europa existe una gran variabilidad tanto en el grado de uso de las técnicas de reproducción asistida como en las técnicas específicas utilizadas. Entre los diversos factores que explican las diferencias entre países está el económico. La mayoría de países europeos ofrecen algún tipo de cobertura a través de los sistemas nacionales de salud correspondientes. En Dinamarca, Eslovenia y España, países con alto uso de las técnicas de reproducción asistida, la cobertura es total (en España la cobertura es hasta los 40 años). De hecho, se ha descrito que a mayor asequibilidad, mayor uso (Chambers et al., 2014). Otros factores implicados en estas diferencias entre países tienen que ver con aspectos éticos, morales, religiosos y legales. Como se observa en la Figura 26, que hace referencia al año 2010, los ciclos de FIV/ICSI suponen el grueso de todos los tratamientos en todos los países.

Figura 26. Técnicas de reproducción asistida en diferentes países, 2010 (Präg et al., 2015)

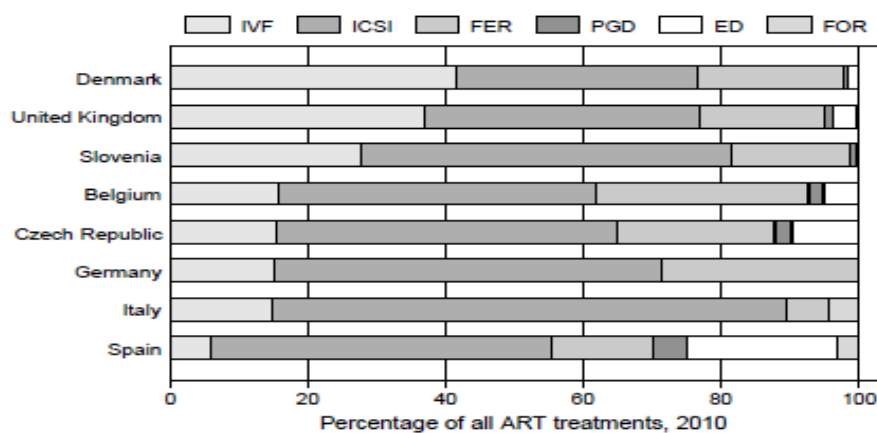


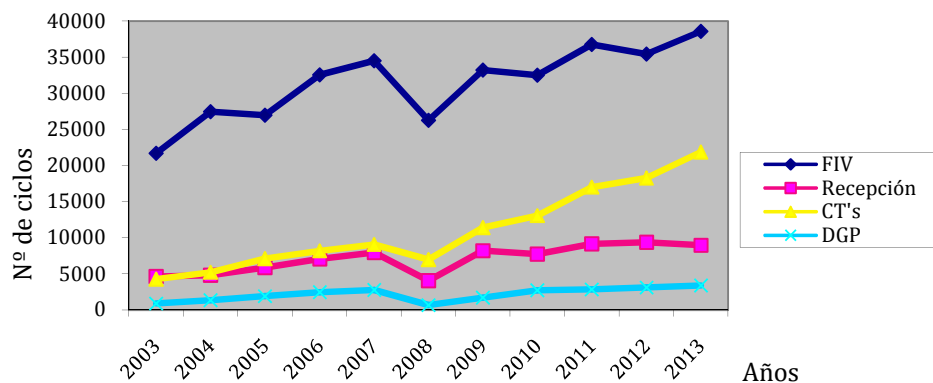
Figure 2: ART treatments in selected countries, 2010

Source: Kupka et al. (2014).

Notes: IVF: in vitro fertilization (cycles), ICSI: intracytoplasmic sperm injection (cycles), FER: frozen embryo replacement (thawings), PGD: preimplantation genetic diagnosis (cycles), ED: egg donation (donations), FOR: frozen oocyte replacement (thawings). *In vitro* maturation (aspirations, 0.0–0.1 per cent per country) not displayed.

En España, en la última década, el uso de las técnicas de reproducción asistida ha incrementado de forma global y para cada técnica en particular (Figura 27).

Figura 27. Evolución de Técnicas de Reproducción Asistida, España 2003-2013



Fuente: Sociedad Española de Fertilidad, Registro. CT's, Criotransferencias, DGP Diagnostico Genetico Preimplantacional

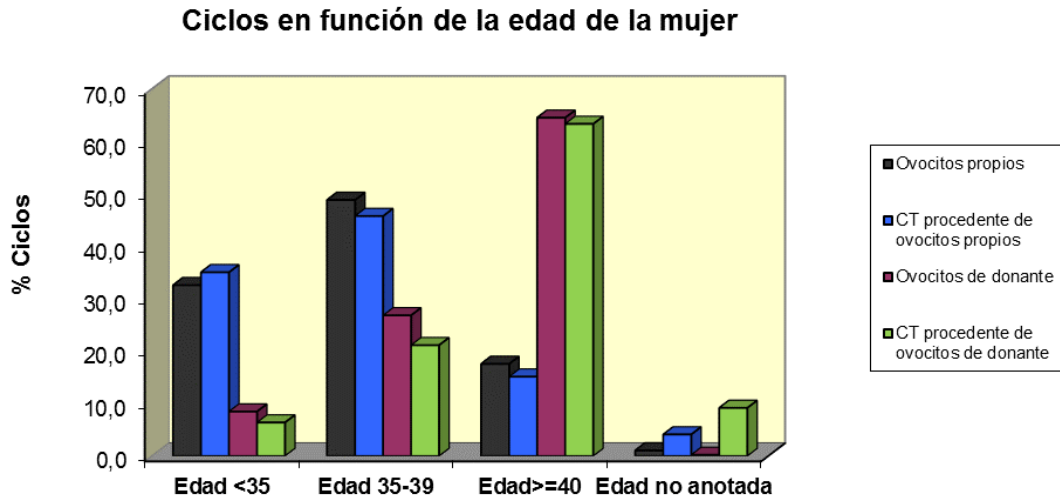
El registro de la Sociedad Española de Fertilidad (SEF), que es voluntario, recoge en el año 2013 un total de 95.318 ciclos realizados, de los que el 40.5% fueron ciclos de FIV/ICSI con ovocitos propios. En la Tabla 2 se detallan los datos por tipo de tratamiento realizado.

Tabla 2. Ciclos de TRA recogidos en España relativos al año 2013 (SEF)

Tipo de ciclo	N (%)
Ciclos para la obtención de ovocitos propios	38591 (40.5)
Ciclos de donación de ovocitos	8320 (8.7)
Ciclos de recepción de ovocitos	9008 (9.5)
Criotransferencias (ovocitos propios)	14255 (15)
Criotransferencias (ovocitos donados)	7611 (8)
Diagnóstico genético preimplantacional	3407 (3.5)
Maduración in Vitro	8 (0.008)
Ciclos para criopreservación de ovocitos	8056 (8.4)
- propios	3203
- donación	4853
Ciclos con ovocitos criopreservados	3779 (4)
- propios	880
- donación	2899
Ciclos de acumulación de ovocitos	1196 (1.2)
Ciclos con donación de embriones	1087 (1.1)

La distribución según la edad y la técnica de reproducción asistida específica utilizada puede verse en la Figura 28.

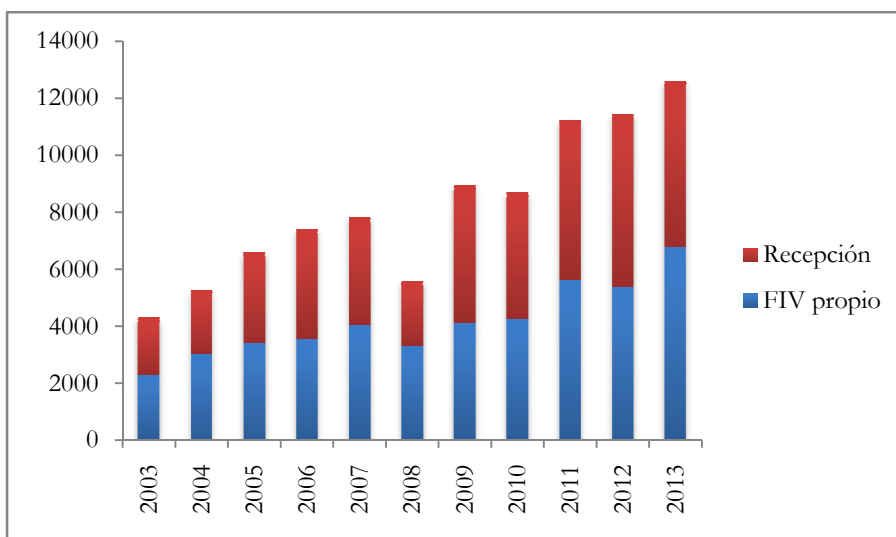
Figura 28. Distribución por edad y tipo de técnica, Sociedad Española de Fertilidad 2013



Fuente: Sociedad Española de Fertilidad, Registro

Considerando la tendencia actual al retraso de la edad de la maternidad, no es de extrañar que en nuestro país, en los últimos 10 años, el número de ciclos de FIV o recepción de ovocitos realizado en mujeres ≥ 40 años se haya triplicado, pasando de 4297 en el año 2003 a 12587 en 2013 (Figura 29).

Figura 29. N° de ciclos de FIV con ovocitos propios o recepción de ovocitos en ≥ 40 años, España 2003-2013

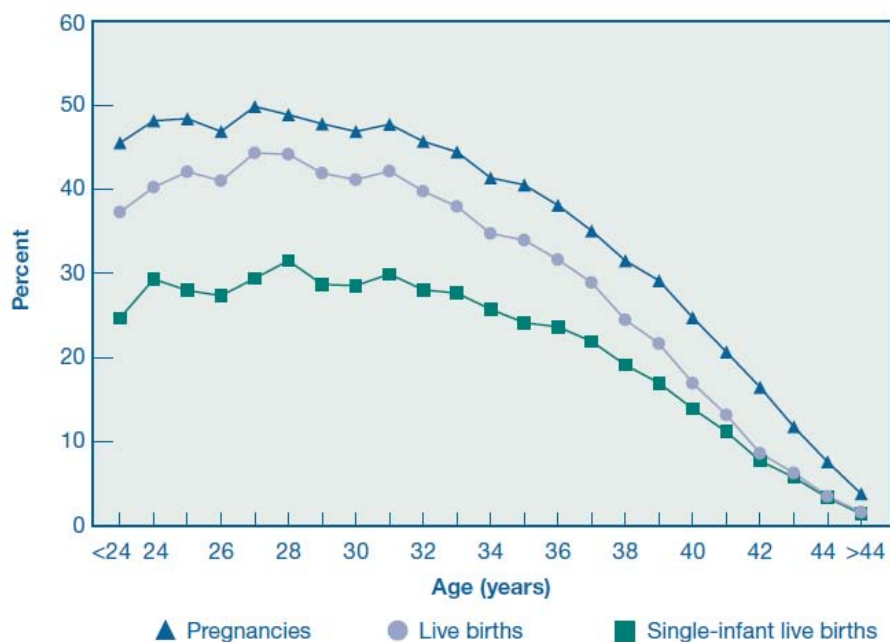


Fuente: Sociedad Española de Fertilidad, Registro

1.6.2. Técnicas de reproducción asistida en edad materna avanzada y estrategias alternativas

El retraso en la edad de la maternidad y la esterilidad asociada a la edad son los principales motivos por los cuales aumenta el uso de las técnicas de reproducción asistida; no obstante, la edad es el factor individual más importante en la determinación del éxito de la FIV, y a estas edades las técnicas de reproducción asistida tienen una eficacia limitada (Figura 30) (Centers for Disease Control and Prevention, 2013).

Figura 30. Porcentaje de ciclos de técnicas de reproducción asistida que resultan en embarazo y nacido vivo por edad, Estados Unidos 2013



Fuente: Centers for Disease Control and Prevention, 2013

Los principales factores limitantes de la edad materna avanzada en el éxito de la FIV son dos: menor respuesta al tratamiento de estimulación ovárica y menores tasas de implantación. Un análisis retrospectivo de 1621 pacientes que realizan un ciclo de FIV pone de manifiesto que la tasa de implantación permanece relativamente constante hasta los 36 años y a partir de ese momento desciende de forma progresiva. Los autores atribuyen este descenso a la pérdida de calidad ovocitaria y al consecuente incremento de la tasa de embriones genéticamente anómalos (Spandorfer et al., 2011). De hecho, se ha visto que la donación de ovocitos procedentes de chicas jóvenes a mujeres de edad avanzada proporciona tasas de embarazo del 50%, que no varían en función de la edad de la receptora (Clua et al., 2010).

En nuestra experiencia, tras analizar 4483 transferencias embrionarias realizadas en los últimos 5 años, el punto de corte a partir del cual la tasa de embarazo disminuye significativamente es 38 años (47.57% en <38 años *vs.* 25.13% en ≥ 38 años) (Figura 31), coincidiendo con el punto a partir del cual se eleva también la tasa de abortos, según datos de “Centers for Disease Control and Prevention” relativos al año 2012 (Figura 32) (Centers for Disease Control and Prevention, 2013).

Figura 31. Tasa de embarazo en función de grupos de edad, Hospital Universitario Quirón-Dexeus

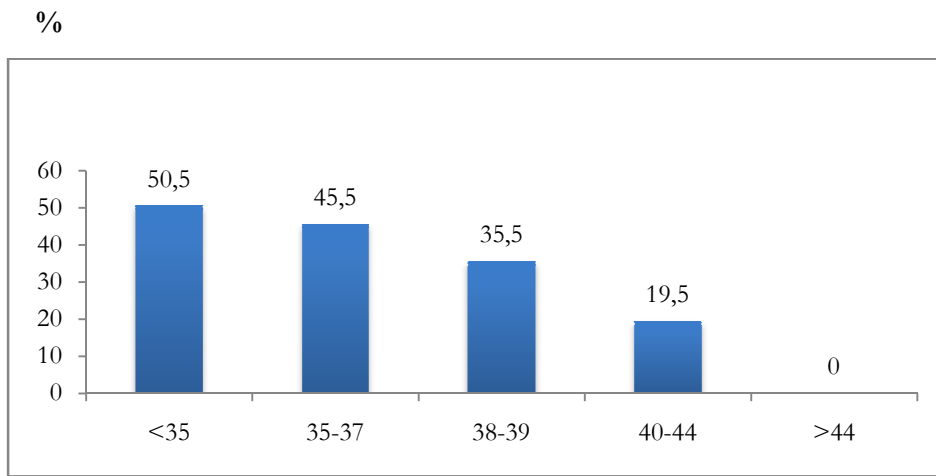
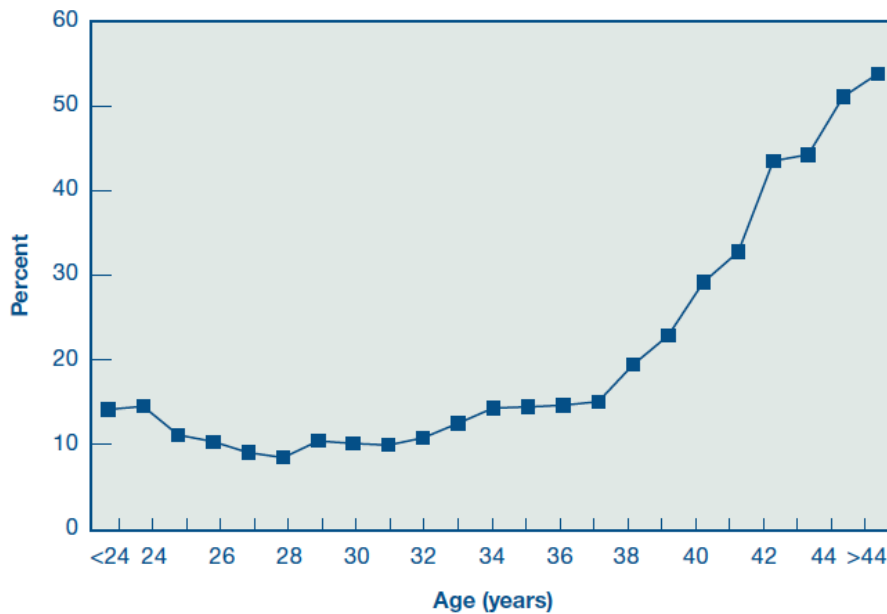


Figura 32. Porcentaje de ciclos de técnicas de reproducción asistida que resultan en aborto, por edad, Estados Unidos 2013



Fuente: Centers for Disease Control and Prevention, 2013

Por otra parte, el número de ciclos realizados en nuestro Centro en mujeres ≥ 38 años está incrementando de forma constante y, en la actualidad, este grupo de pacientes supone ya más de la mitad de nuestro programa de FIV (Figuras 33 y 34).

Figura 33. Edad media de las pacientes que realizan ciclo de FIV, Hospital Universitario Quirón-Dexeus 2003-2013

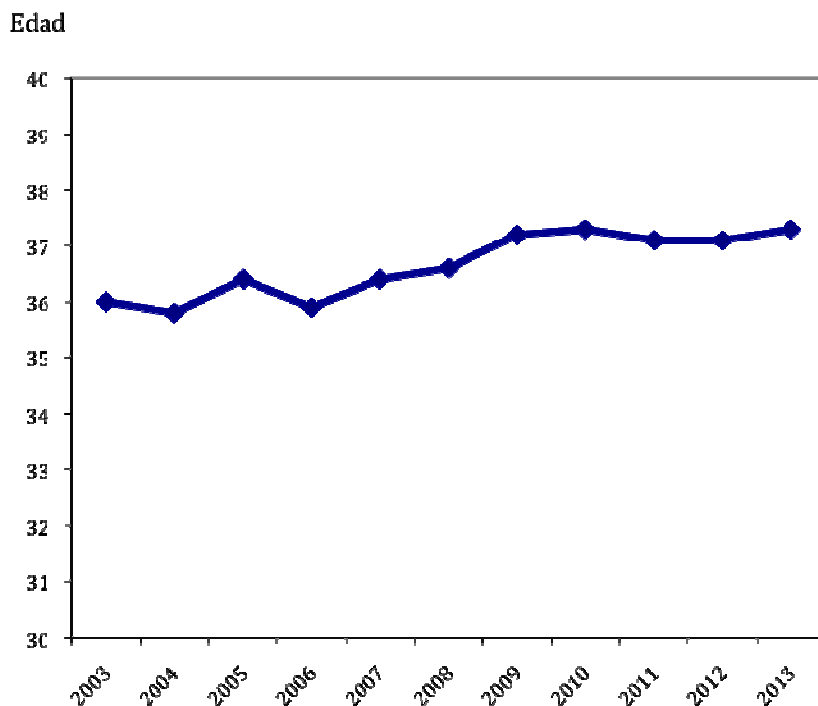
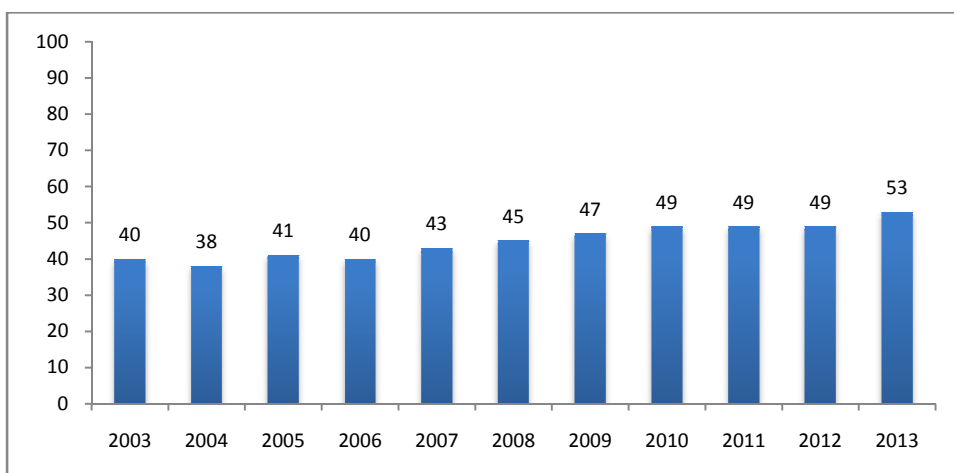


Figura 34. Porcentaje de ciclos en pacientes ≥ 38 años dentro del programa de FIV, Hospital Universitario Quirón-Dexeus 2003-2013



Si bien se han comunicado casos aislados de nacidos vivos a los 45, 46 y 50 tras FIV (Dal Prato et al., 2005; Trolice et al., 2014; Rani et al., 2015), esto es meramente anecdótico y las tasas de nacido vivo en mujeres ≥ 40 años que realizan un ciclo de FIV/ICSI comunicadas en la literatura, en general, no superan el 10% (Klipstein et al., 2005; Serour et al., 2010).

Este escenario, caracterizado por un incremento constante del colectivo de mujeres de edad avanzada que hacen ciclos de FIV y la ineficiencia de las técnicas de reproducción asistida a estas edades, obliga a cuestionarse otras estrategias enfocadas sobre todo a eludir el impacto de la edad, tales como el cribado de aneuploidías preimplantacional, la criopreservación de ovocitos a edades tempranas, o la recepción de ovocitos.

Cribado de aneuploidías preimplantacional

Como ya se mencionó previamente, la aneuploidía es el tipo más frecuente de alteración cromosómica y la causa principal del fallo de implantación (Vialard et al., 2011). Se ha descrito que la mayoría de las aneuploidías son de origen materno y ocurren preferentemente durante la primera división meiótica (Hassold et al., 2001).

Desafortunadamente, los criterios morfológicos de selección embrionaria a lo largo de todos los estadios del desarrollo tienen una correlación débil con la euploidía, si bien la correlación es mayor en estadio de blastocisto que en los estadios de división previos (Munne, 2006). Una proporción relevante de embriones aneuploides pueden ser morfológicamente óptimos y, al contrario, embriones euploides pueden tener peor calidad morfológica o ni siquiera llegar a desarrollarse (Alfarawati et al., 2011).

Teniendo en cuenta lo anterior y el incremento de las aneuploidías del ovocito observado con la edad, el cribado de aneuploidías preimplantacional se plantea como una estrategia atractiva para mujeres de edad reproductiva avanzada que se someten a un ciclo de FIV; es más, se ha descrito que, si se dispone de embriones euploides para transferir, el efecto de la edad queda mitigado (Harton et al., 2013). No obstante, la literatura arroja datos controvertidos sobre la eficacia real de esta estrategia en edad reproductiva avanzada. Los principales motivos por los cuales los resultados son contradictorios son la heterogeneidad entre los estudios en relación a la técnica utilizada (FISH *vs.* el estudio completo de los 24 cromosomas) y el momento de la biopsia (día 3 *vs.* blastocisto).

Los primeros estudios aleatorizados que evaluaron la eficacia del cribado de aneuploidías preimplantacional no encontraron beneficio en las tasas de implantación ni embarazo (Staessen et al., 2004; Schoolcraft et al., 2009). Es más, en algún trabajo se evidenció un impacto negativo de la biopsia (Mastenbroek et al., 2007; Hardarson et al., 2008). En estos trabajos la biopsia se realizaba en día 3 del desarrollo embrionario y la técnica utilizada era el FISH, que analiza entre 9-12 cromosomas. Los estudios que analizan la eficacia del cribado de aneuploidías preimplantacional en edad materna avanzada, realizando el estudio completo de los 24 cromosomas, ponen de manifiesto mejorías en la tasa de implantación en el grupo estudio *vs.* grupo control; no obstante, se trata de estudios observacionales (Lee et al., 2015).

Un factor importante a tener en cuenta al considerar esta estrategia en edad avanzada es que en este subgrupo de pacientes se necesitan más ovocitos para poder tener un embrión euploide y, a menudo, estas pacientes presentan respuestas insuficientes a la estimulación ovárica. Una alternativa podría ser acumular ovocitos o embriones en varios ciclos de estimulación, si bien falta evidencia concluyente al respecto y se desconoce el rendimiento de la vitrificación de ovocitos en edades maternas avanzadas.

Teniendo en cuenta el avance que ha supuesto la vitrificación para la criopreservación embrionaria, otro interrogante que surge es si el beneficio en las tasas de implantación y nacido vivo observado en el ciclo índice cuando se hace el cribado de aneuploidías preimplantacional con estudio completo de los 24 cromosomas, se mantendría al considerar tasas acumuladas de nacido vivo incluyendo el ciclo fresco y las criotransferencias sin realizar el análisis cromosómico.

A día de hoy, el potencial verdadero del diagnóstico / cribado genético preimplantacional se debe valorar con la biopsia de blastocisto y el estudio completo de los 24 cromosomas, que se puede realizar con diferentes plataformas genéticas, tales como SNP (Single Nucleotide Polymorphism), aCGH (array Comparative Genomic Hybridization) y qPCR (quantitative fluorescent Polymerase Chain Reaction). En el momento actual, aCGH es la plataforma de elección para el cribado de aneuploidías en la mayoría de los laboratorios, si bien tiene como principales limitaciones que no da información acerca de la ploidía y no determina el origen del error (Ottolini et al., 2012).

En Europa, más de la mitad de los ciclos de diagnóstico genético preimplantacional se realizan para cribado de aneuploidías (Ly et al., 2011), habiéndose realizado en el año 2010 3551 ciclos de este tipo (Moutou et al., 2014).

En España, en los últimos 10 años se ha triplicado el número de ciclos de diagnóstico / cribado genético preimplantacional y la edad materna avanzada ha pasado de suponer el 21% de las indicaciones en el año 2003 al 41% en el 2013 (Sociedad Española de Fertilidad, Registro).

Preservación no médica / electiva de ovocitos

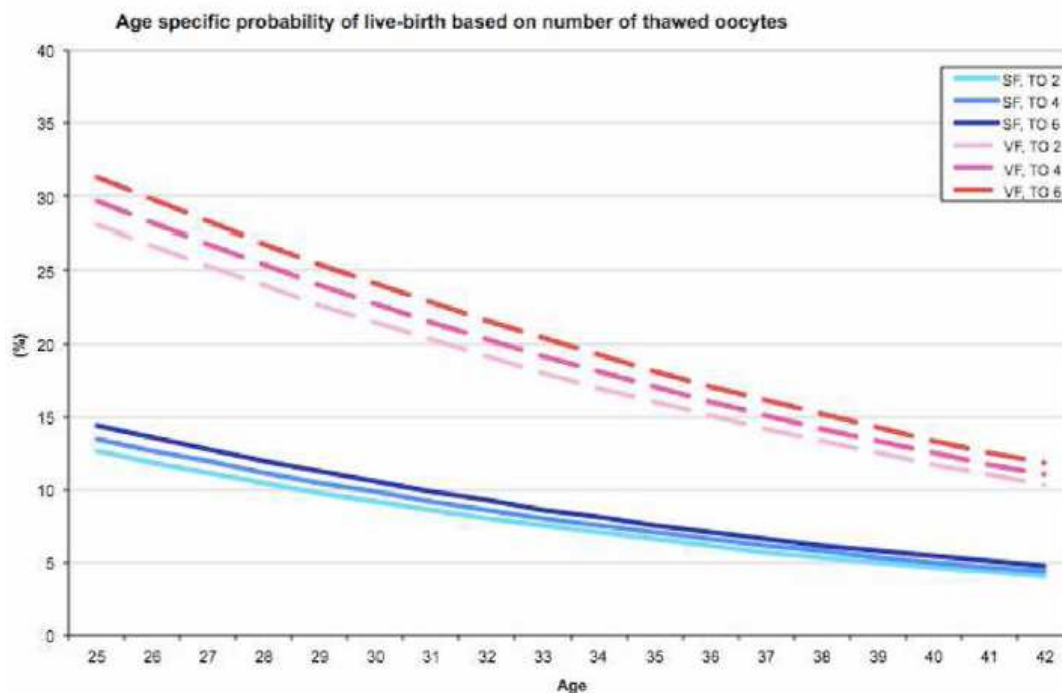
Gracias a la vitrificación, posiblemente una de las estrategias que las técnicas de reproducción asistida pueden ofrecer a las mujeres que desean posponer la maternidad sea la criopreservación de ovocitos a edades jóvenes.

La vitrificación es un método de congelación ultrarrápido que se caracteriza por usar una elevada concentración de crioprotectores y, a diferencia de la congelación lenta, elimina la formación de cristales de hielo, que es la principal agresión de la congelación al ovocito (Lockwood et al., 2011).

El análisis de 4 ensayos clínicos aleatorizados en los que se comparan resultados entre ovocitos frescos y desvitrificados pone de manifiesto tasas de supervivencia a la desvitrificación entre el 90%-97%, y tasas de fecundación, implantación y embarazo similares a los ciclos con ovocitos en fresco. No obstante, la mayoría de los datos de estos 4 estudios proceden de donantes de ovocitos jóvenes por lo que no son generalizables (Practice Committees of American Society for Reproductive Medicine, 2013).

Tal y como sucede en fresco, los resultados de la vitrificación de ovocitos dependen sobre todo de la edad a la cual se vitrificaron y por ello es muy importante que, a la hora de asesorar a las pacientes sobre la eficacia de esta estrategia, se den los resultados estratificados por edad. En la Figura 35 se pueden ver las tasas de nacido vivo por edad en función del método de congelación (lenta o vitrificación) y el número de ovocitos descongelados, según un meta-análisis con datos de pacientes individuales que incluye sólo población estéril (Cil et al., 2013).

Figura 35. Probabilidad de nacido vivo específica por edad según número de ovocitos descongelados (Cil et al., 2013)



Desde el año 2013, la Sociedad Americana de Medicina Reproductiva (ASRM) deja de considerar la criopreservación de ovocitos como una estrategia experimental (Practice Committees of American Society for Reproductive Medicine, 2013) y la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (ESHRE) recomienda que es una estrategia que debería estar disponible para la prevención de la esterilidad asociada a la edad (Dondorp et al., 2012). No obstante, ambas sociedades insisten en que, en relación a la vitrificación de ovocitos por motivo no médico, se debe realizar seguimiento a largo plazo con respecto a la eficacia, seguridad y costes.

Según el principio ético de autonomía, la mujer tiene derecho a decidir si quiere tener hijos, cuándo, con quién y cuántos. La vitrificación de ovocitos a edades jóvenes, al igual que lo hicieron en su momento los anticonceptivos orales, dota a la mujer de una autonomía reproductiva y le permitiría, en el mejor escenario, superar el vacío que se establece entre la edad óptima para reproducirse desde el punto de vista ginecológico y la edad óptima para hacerlo desde el punto de vista socioeconómico (Mertes et al., 2011).

Las consideraciones éticas de beneficencia y no maleficencia de la criopreservación no médica de ovocitos deben realizarse bajo el mismo prisma que para la FIV con ovocitos

propios, o los ciclos de donación de ovocitos que se realizan en parejas cuyo único factor de esterilidad es la edad avanzada. La optimización de los protocolos de estimulación, con la introducción de los agonistas de la GnRH para la descarga ovulatoria, ha permitido que el síndrome de hiperestimulación ovárica sea un evento prácticamente evitable en su totalidad (Devroey et al., 2011). Por otra parte, la tasa de complicaciones post-punción folicular es extremadamente baja (Vercammen et al., 2011). Estos riesgos son los mismos que los de la FIV convencional y que los que asumen las donantes de ovocitos y, en estos casos, se consideran aceptables. De hecho, es posible que, a la larga, la expansión de la criopreservación no médica de ovocitos reduzca las necesidades de donaciones de ovocitos en el futuro, estrategia para la cual muchas mujeres no están emocionalmente preparadas pues, en general, se prefiere mantener un vínculo genético con la descendencia (García-Velasco et al., 2013). En efecto, la criopreservación de ovocitos propios podría considerarse como una autodonación de ovocitos.

La salud neonatal es otra de las consideraciones esenciales. A pesar de que falta seguimiento a largo plazo, los datos hasta el momento son tranquilizadores sin haberse observado mayores tasas de malformaciones congénitas en nacimientos procedentes de ovocitos desvitrificados (Chian et al., 2008; Noyes et al., 2009).

Otro aspecto a considerar son los riesgos obstétricos y las implicaciones para los hijos de tener padres mayores. La valoración de la existencia de patologías concomitantes es vital para considerar los riesgos de la gestación en edades avanzadas. En relación al bienestar de los niños, no se consideraría irresponsable una paternidad tardía mientras al menos uno de los progenitores pudiera mantenerse con salud suficiente para cumplir con su rol de padre hasta que el niño fuese adulto (Dondorp et al., 2012).

Es evidente que las mejores opciones de tener un hijo pasan porque sea un embarazo natural y a una edad joven y es importante explicar, a la hora de asesorar a las mujeres sobre esta estrategia, que se trata de una medida preventiva y no es garantía de éxito. La recomendación es realizar el proceso antes de los 35 años, si bien hasta los 38 años podría individualizarse según la reserva ovárica (Dondorp et al., 2012). Se estima que el máximo beneficio se obtiene cuando la criopreservación se realiza antes de los 35 años y los ovocitos criopreservados se utilizan pasados los 40 años. Como es de esperar, el coste-beneficio aumenta cuanto más tarde se usen los ovocitos (Mertes et al., 2011; van Loendersloot et al., 2011).

Las mujeres interesadas en criopreservar sus ovocitos deben estar informadas acerca de los riesgos, costes, eficacia estratificada por edad, posibilidades posteriores en caso de no querer hacer uso propio, así como del límite de edad para utilizarlos, que se establece en 50 años, igual que para la recepción de ovocitos (Dondorp et al., 2012).

En una encuesta realizada a mujeres que han realizado criopreservación de sus ovocitos se evidencia que sólo un tercio de las mismas había tratado de este tema con su ginecólogo. La mayoría hubiera preferido hacerlo a una edad más temprana. La falta de una pareja adecuada fue el motivo para diferir la maternidad en el 88% de los casos. Sólo el 6% habían utilizado sus ovocitos en el momento del estudio y el 59% entendía esta estrategia como un plan alternativo (Hodes-Wertz et al., 2013).

En nuestro Centro, la criopreservación de ovocitos electiva supone en la actualidad la mitad del programa de Preservación de la Fertilidad y ha experimentado un incremento del 170% en los últimos dos años. Hasta el momento actual, hemos realizado 178 ciclos a 144 pacientes, el 20.1% de las pacientes realizan más de un ciclo de estimulación. La edad media de nuestras pacientes es de 38 años, es decir, acuden tarde, y el 80% lo realizó por no disponer de pareja adecuada, coincidiendo con lo publicado en la literatura (Mertes et al., 2010; García-Velasco et al., 2013). En nuestra casuística, llama la atención la tasa de baja respuesta al tratamiento de estimulación (20% de ciclos con <5 ovocitos recuperados); aún así, de media se vitrifican 10 ovocitos maduros por paciente. Sólo 11 pacientes han requerido utilizar su material criopreservado, de éstas se han embarazado 5 que han dado lugar a 4 nacidos vivos.

Es preciso un mayor tiempo de seguimiento para conocer la eficacia real de esta estrategia, pero es importante considerar que la edad en el momento de la vitrificación es el factor determinante más importante del éxito posterior y, por tanto, las pacientes interesadas en adoptar esta medida deberían realizar la criopreservación a edades más tempranas.

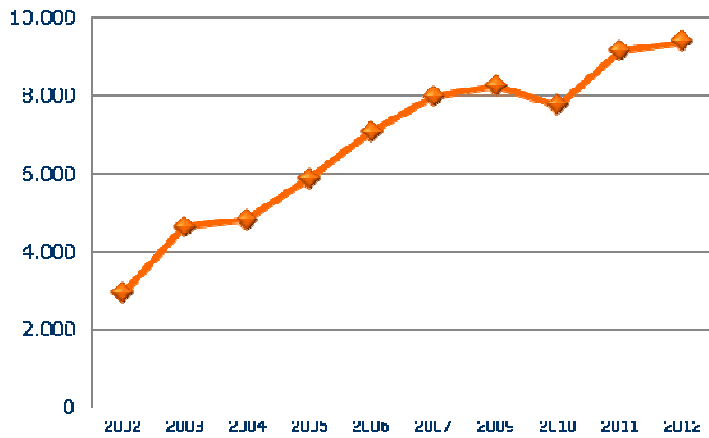
Recepción de ovocitos

La donación de ovocitos es uno de los procedimientos, dentro las técnicas de reproducción asistida, que más ha aumentado como consecuencia del retraso de la edad de la maternidad. En España, el número de ciclos de donación y recepción de ovocitos se ha duplicado en la

última década, pasando, en lo que a ciclos de recepción se refiere, de 4625 ciclos en el año 2003 a 9008 ciclos en 2013 (Sociedad Española de Fertilidad, Registro) (Figura 36).

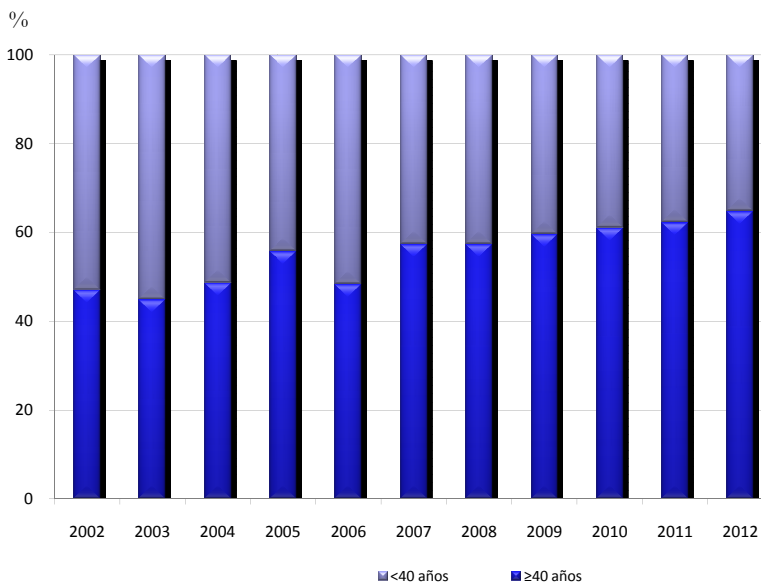
Sus indicaciones han ido cambiando a lo largo de los años pues, si bien inicialmente su principal indicación era el fallo ovárico precoz, actualmente lo es la edad materna avanzada (Sociedad Española de Fertilidad, Registro; Centers for Disease Control and Prevention, 2013) (Figuras 37 y 38).

Figura 36. Número de ciclos de donación de ovocitos, España 2002-2012



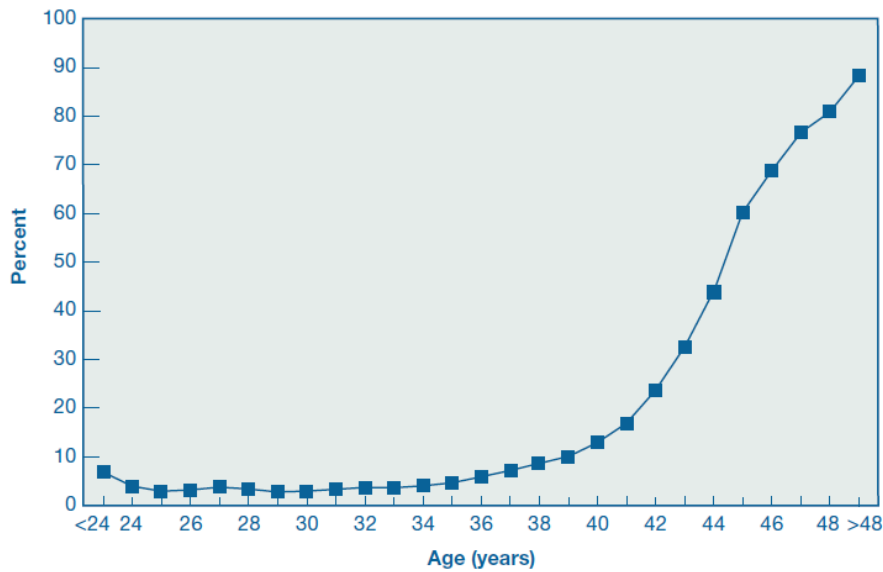
Fuente: Sociedad Española de Fertilidad, Registro

Figura 37. Edad media de las receptoras de ovocitos, España 2002 - 2012



Fuente: Sociedad Española de Fertilidad, Registro

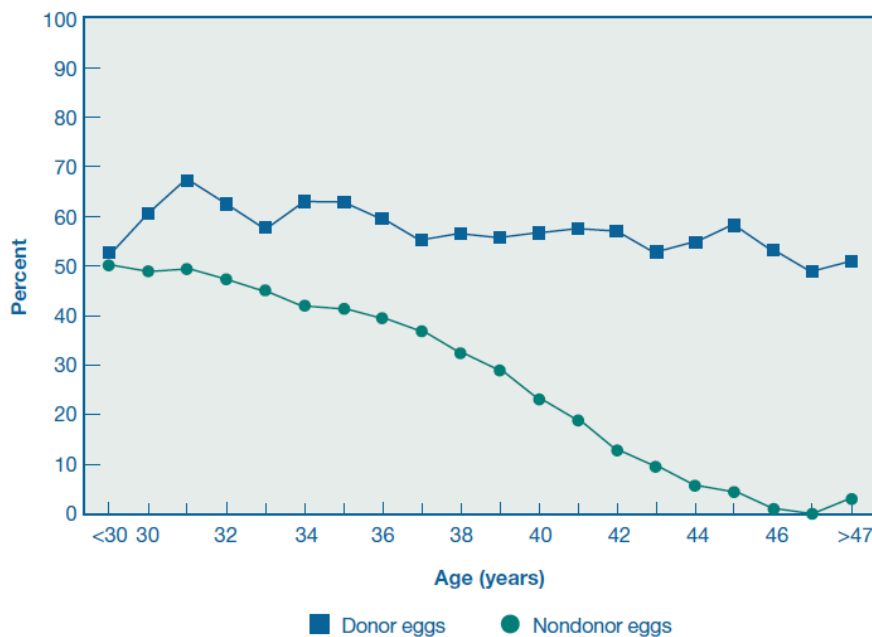
Figura 38. Porcentaje de ciclos de donación de ovocitos, según edad de la receptora, Estados Unidos 2013



Fuente: Centers for Disease Control and Prevention, 2013

Debido a sus resultados, la donación de ovocitos se presenta como una de las principales alternativas para incrementar el éxito de las técnicas de reproducción asistida en mujeres de edad avanzada (Centers for Disease Control and Prevention, 2013) (Figura 39).

Figura 39. Tasa de nacido vivo por transferencia según procedencia de los ovocitos, en función de la edad de la mujer, Estados Unidos 2013



Fuente: Centers for Disease Control and Prevention, 2013

Se ha descrito que las elevadas tasas de éxito observadas en el programa de donación / recepción de ovocitos son independientes de la edad de la receptora y de su pareja (Clua et al., 2010); no obstante, algunos autores encuentran menores tasas de embarazo en las receptoras de 45 años o más (Toner et al., 2002).

Teniendo en cuenta que poder compartir el material genético propio con la descendencia es la opción preferida por las parejas, hay que considerar que la recepción de gametos puede tener una serie de implicaciones psicosociales considerables, sobre todo en relación a la revelación de la información a los hijos. Aunque revelar la información no es una opción fácil, la recomendación general es hacerlo; entre otras cosas, se ha visto que tener guardado un secreto en la familia puede asociarse a elevados niveles de ansiedad en los padres que podría repercutir en los hijos (Blake et al., 2014).

Algunos autores consideran la donación de ovocitos como un fracaso de los profesionales en su intento de ayudar a las mujeres de edad avanzada a tener hijos con ovocitos propios. Desde el punto de vista de la paciente, la realidad es que la mayoría de ellas no están emocionalmente preparadas para hacer un ciclo de donación y, a menudo, se tienen que convencer primero de que han agotado todas las opciones con sus ovocitos y por ello, insisten en realizar más ciclos. Es importante poder ofrecer estas opciones, puesto que si las pacientes son forzadas prematuramente al programa de ovodonación, pueden cuestionarse esta decisión el resto de su vida (Gleicher et al., 2014).

En lo expuesto anteriormente, hemos pretendido hacer un análisis general del fallo de implantación, centrándonos finalmente en el factor embrionario y, concretamente, en el impacto de la edad materna. El retraso de la edad de la maternidad tiene implicaciones sociales, demográficas y económicas, y es el principal responsable del incremento del uso de las técnicas de reproducción asistida, sobre todo en mujeres de edad avanzada. Mientras esta tendencia no vire, las Unidades de Reproducción Asistida están destinadas a tratar a un creciente número de mujeres en edad reproductiva avanzada y, por tanto, es de crucial importancia poder asesorar, con datos objetivos y de forma individualizada, acerca de las tasas de nacido vivo en este grupo de edad, y evaluar qué estrategias alternativas, al margen de la donación de ovocitos, podrían amortiguar el impacto de la edad.

2. HIPÓTESIS DE TRABAJO

Se sabe que el retraso de la maternidad es el principal responsable del incremento del uso de las técnicas de reproducción asistida y que las Unidades de Reproducción Asistida están observando un envejecimiento de sus pacientes. En base a ello, nos hemos planteado las siguientes hipótesis de trabajo:

1. Es posible identificar parámetros que permitan discriminar aquellas parejas en las que puede ser eficiente realizar un ciclo de FIV con gametos propios de aquellas en las que debemos plantear recurrir directamente a ovocitos donados.
2. Si la aneuploidía es la principal causa del fallo de implantación, el cribado de aneuploidías preimplantacional, con las nuevas tecnologías de estudio completo de los 24 cromosomas, debería mejorar los resultados por transferencia en mujeres de edad reproductiva avanzada.

3. OBJETIVOS

Esta Tesis tiene como objetivos principales:

- Desarrollar un modelo predictivo de tasa acumulada de nacido vivo según la edad y el número de ovocitos recuperados, con el fin de poder ofrecer a cada paciente un asesoramiento individualizado basado en datos objetivos.
- Evaluar en mujeres ≥ 38 años el impacto de la edad en las tasas de implantación y las tasas acumuladas de embarazo y nacido vivo, considerando el ciclo en fresco y las criotransferencias derivadas del mismo.
- Analizar, en mujeres ≥ 38 años, el beneficio que aporta el cribado de aneuploidías preimplantacional, en relación a las tasas de implantación, embarazo y nacido vivo, por ciclo y por transferencia, para cada subgrupo de edad.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

Los diferentes estudios que forman parte de esta Tesis han sido aprobados por la “Cátedra de Investigación en Obstetricia y Ginecología” y el Comité de Ética interno.

El trabajo se ha realizado en su totalidad en el Servicio de Medicina de la Reproducción del Departamento de Obstetricia, Ginecología y Medicina de la Reproducción del Hospital Universitario Quirón – Dexeus Barcelona, centro privado adscrito a la Universitat Autònoma de Barcelona.

Se incluyen 2 bloques de pacientes, cada uno relativo a cada estrategia objetivo de estudio de esta Tesis.

Bloque 1: FIV estándar

Pacientes ≥ 38 años que realizan un ciclo de FIV y las criotransferencias derivadas del ciclo de FIV.

Bloque 2: FIV con cribado de aneuploidías preimplantacional

Pacientes ≥ 38 años que realizan un ciclo de FIV con cribado de aneuploidías mediante acGH.

4.1. BLOQUE 1: PACIENTES \geq 38 AÑOS QUE REALIZAN UN CICLO DE FIV Y LAS CRIOTRANSFERENCIAS DERIVADAS DEL CICLO DE FIV.

4.1.1 Diseño del estudio

Se realiza un análisis retrospectivo de 6348 ciclos de FIV realizados en 4570 mujeres entre los años 2000 – 2013. Asimismo, se analizan 1522 ciclos de criotransferencia resultantes de la criopreservación de embriones excedentes de los ciclos en fresco.

4.1.2 Pacientes

Se incluyen todos los ciclos de FIV/ICSI en los que la paciente tenía 38 años o más en el momento del tratamiento. Se excluyen los ciclos de donación de ovocitos, diagnóstico genético preimplantacional o aquellos en los que la transferencia embrionaria tuviera que ser diferida por algún motivo.

Distinguimos cuatro grupos de edad:

- Grupo 1 (G1): 38-39 años
- Grupo 2 (G2): 40-41 años
- Grupo 3 (G3): 42-43 años
- Grupo 4 (G4): \geq 44 años

A las pacientes se les realizó un estudio hormonal basal con determinación de FSH y recuento de folículos antrales entre el 3^{er} y el 5^o día del ciclo menstrual en los tres meses previos al ciclo de FIV. La determinación de los niveles de hormona antimulleriana no formaba parte del estudio básico de esterilidad durante los años del estudio así que, en relación a este parámetro, se muestran sólo los valores relativos a los casos en los que se disponía de esta información. Aunque algunas pacientes realizaron más de un ciclo, cada uno de ellos se analiza de forma individual y para el periodo etario correspondiente.

4.1.3. Variables analizadas

a) Ciclo en fresco

Para cada grupo de edad, se analizaron los siguientes parámetros en el ciclo en fresco:

- Tasa de cancelación
- Número de ovocitos recuperados
- Número de ovocitos metafase II recuperados
- Tasa de fecundación
- Número de embriones evolutivos
- Calidad embrionaria
- Tasa de transferencia embrionaria
- Número de embriones transferidos por transferencia
- Tasa de congelación
- Número de embriones congelados por ciclo
- Tasa de implantación
- Tasa de embarazo por ciclo, punción y transferencia embrionaria
- Tasa de aborto
- Tasa de nacido vivo por ciclo y por transferencia

b) Criotransferencias

En relación a los ciclos de criotransferencia, se determinan los siguientes parámetros para cada grupo de edad:

- Tasa de supervivencia embrionaria a la descongelación
- Número de embriones transferidos
- Tasa de implantación
- Tasa de embarazo por ciclo de descongelación

- Tasa de aborto
- Tasa de nacido vivo por ciclo de descongelación

c) Tasas acumuladas de embarazo, de nacido vivo y modelo predictivo de tasa acumulada de nacido vivo según edad y número de ovocitos recuperados

Para cada grupo de edad, las tasas acumuladas de embarazo y nacido vivo por ciclo, se calcularon añadiendo los embarazos y nacidos vivos conseguidos en las criotransferencias a los obtenidos en el ciclo en fresco.

Se calculan además las tasas acumuladas de embarazo y nacido vivo por paciente, considerando la edad que tenía la paciente en el momento de realizar el primer ciclo de FIV.

Se elabora un modelo predictivo de tasa acumulada de nacido vivo en función de la edad y el número de ovocitos recuperados.

d) Estimación de las tasas acumuladas a lo largo del tiempo

Para cada grupo de edad, se calcula, por ciclo iniciado, la tasa acumulada de embarazo y de embarazo que da lugar a nacido vivo a lo largo del tiempo. Para ello, se realiza un subanálisis de los ciclos realizados en los últimos 3 años del estudio, puesto que del resto no ha sido posible recoger con precisión toda la información requerida. Se considera tiempo cero al correspondiente a la primera punción folicular.

4.1.4 Protocolos de tratamiento, punción folicular y transferencia embrionaria

El protocolo de estimulación para los ciclos de FIV / ICSI se eligió en función de la edad, factor de esterilidad, niveles basales de FSH y respuesta ovárica en ciclos previos. La supresión hipofisaria se realizó con un protocolo largo de agonistas de la GnRH (acetato

de leuprolide) administrado en mitad de la fase lútea del ciclo precedente o con antagonistas de la GnRH (ganirelix, cetrorelix) en protocolo flexible (cuando el folículo dominante alcanza 14 mm de diámetro). En el protocolo de antagonistas, las pacientes recibieron pretratamiento con anticonceptivos hormonales combinados durante 15-17 días en el ciclo previo. Todas las pacientes se estimularon con gonadotropinas recombinantes y/o urinarias (rFSH / hMG). La descarga ovulatoria se realizó con hCG recombinante (rhCG) cuando se detectó en la ecografía la presencia de al menos 3 folículos > 18mm de diámetro.

La punción folicular se realizó a las 36 horas de la descarga ovulatoria. La técnica de inseminación (convencional, ICSI o combinada) se eligió según parámetros seminales y/o el factor de esterilidad.

La calidad embrionaria se evaluó según el número y la similitud de los blastómeros, el porcentaje de fragmentación y la presencia o no de multinucleación. Según nuestro sistema de “score” embrionario, embriones calificados con “score” ≥ 8 en una escala del 1 al 10, se consideran embriones de óptima calidad (Clua et al., 2010).

La transferencia embrionaria se realizó bajo control ecográfico a los 2 ó 3 días de la punción folicular (Coroleu et al., 2010). Los embriones excedentes se criopreservaron mayoritariamente en el día 3 post-punción folicular, la criopreservación se llevó a cabo con el método de congelación lenta hasta mediados del año 2012 (Solé et al., 2011) y con vitrificación desde entonces en adelante (Cobo et al., 2012b). Los blastocistos se criopreservaron mediante vitrificación (Cobo et al., 2012b).

Para el apoyo de fase lútea, se administró progesterona por vía vaginal (200 mg/8 hrs) desde el día después a la punción folicular hasta beta hCG negativa en sangre o la sexta semana de gestación.

4.1.5. Criotransferencias

Para las criotransferencias, la preparación endometrial se realizó con terapia hormonal sustitutiva (estrógenos orales y progesterona micronizada vía vaginal) tras supresión hipofisaria con Triptorelina Depot 3.75 mg, según protocolos ya descritos previamente (Martínez et al., 2011). Una vez realizada la descongelación embrionaria, se transfieren los embriones evolutivos tras cultivo “overnight” en el caso de tratarse de embriones congelados en día 3; en el caso de tratarse de criotransferencia de blastocistos, la desvitricación embrionaria se realizó el mismo día de la transferencia.

4.1.6. Diagnóstico de embarazo

El embarazo se diagnosticó con beta-hCG en plasma a los 14 días de la punción folicular o de iniciar la progesterona vaginal en los ciclos de criotransferencia y se confirmó con latido cardiaco fetal en la ecografía a la sexta semana de gestación, considerándose tan sólo estos últimos para la evaluación de los resultados.

4.1.7. Análisis estadístico

Las variables continuas se expresan como medias \pm DS, mientras que las variables categóricas se expresan como número y porcentaje.

La asociación entre las variables categóricas y la variable edad, se analizó utilizando el test Chi². Las variables continuas se compararon con el test de ANOVA.

Para relacionar la tasa acumulada de nacido vivo con el número de ovocitos recuperados y el grupo de edad, se usó el modelo de regresión “suavizado” GAM (Generalized Additive Model) (Hastie et al., 1990) ajustado con el software R (R Development Core Team, 2008). Los resultados se muestran gráficamente.

Para estimar la tasa acumulada de embarazo y de nacido vivo y realizar las comparaciones entre los grupos de edad se aplicó el análisis de supervivencia de Kaplan-Meier y el test de LogRank (Mantel-Cox). El tiempo hasta conseguir embarazo se considera como el transcurrido entre la fecha de la punción inicial y la fecha de la transferencia donde se conseguía un embarazo. Si el embarazo se conseguía en la punción inicial, el tiempo se consideró como cero. Los casos donde no se alcanzó embarazo o nacido vivo fueron censurados a fecha del análisis estadístico.

Todos los test fueron bilaterales con un nivel de significación del 5%. Para el análisis estadístico se utilizó el software IBM® SPSS® Statistics 21.0.

4.2. BLOQUE 2: PACIENTES DE ≥ 38 AÑOS QUE REALIZAN UN CICLO DE FIV CON CRIBADO DE ANEUPLOIDÍAS PREIMPLANTACIONAL

4.2.1. Diseño del estudio

Se realiza un análisis retrospectivo de 142 ciclos de FIV con cribado de aneuploidías, realizados entre los años 2011-2014, y de 5 ciclos de criotransferencia resultantes del ciclo en fresco.

Distinguimos 2 modalidades dentro de los ciclos de cribado de aneuploidías:

(1) Una única estimulación ovárica: si la recuperación inicial fue de al menos 10 ovocitos metafase II

(2) Más de una estimulación ovárica: si la recuperación inicial fue menor a 10 ovocitos metafase II; en este caso se vitrifican los ovocitos con el objetivo de acumularlos y se realiza la desvitrificación en el momento en el que la suma de los ovocitos frescos maduros y los vitrificados alcanza 10.

4.2.2. Pacientes

Se incluyen todos los ciclos de FIV con cribado de aneuploidías preimplantacional con aCGH en los que la paciente tuviera ≥ 38 años en el momento del tratamiento. Se excluyen los ciclos de donación de ovocitos. Se excluyen los ciclos de diagnóstico genético preimplantacional y los ciclos de cribado de aneuploidías en los que la técnica utilizada fue FISH.

Distinguimos cuatro grupos de edad:

- Grupo 1 (G1): 38-39 años
- Grupo 2 (G2): 40-41 años
- Grupo 3 (G3): 42-43 años
- Grupo 4 (G4): ≥ 44 años

A las pacientes se les realizó un estudio de reserva ovárica en los tres meses previos a la realización del tratamiento con determinación de FSH y recuento de folículos antrales entre el 3º-5º día del ciclo menstrual. La hormona antimulleriana no formaba parte del estudio básico de rutina durante el periodo analizado, así que en relación a este parámetro se aportan sólo los datos disponibles.

4.2.3. Variables analizadas

a) Ciclo en fresco

Para cada grupo de edad, se analizaron los siguientes parámetros:

- Proporción de pacientes que realizan acumulación y número medio de ciclos de estimulación realizados
- Tasa de supervivencia ovocitaria a la desvitrificación
- Número de ovocitos metafase II inseminados
- Tasa de fecundación (global y desglosado en función del origen de los ovocitos)
- Tasa de evolución embrionaria (global y desglosado en función del origen de los ovocitos, calculada a partir de los ovocitos inseminados)
- Número de embriones evolutivos biopsiados
- Número de embriones euploides, aneuploides y sin diagnóstico por ciclo
- Tasa de euploidía (global y desglosado en función del origen de los ovocitos)
- Tasa de transferencia embrionaria
- Número de embriones transferidos por transferencia
- Tasa de implantación
- Tasa de embarazo por ciclo y por transferencia embrionaria
- Tasa de aborto
- Tasa de nacido vivo por ciclo y por transferencia embrionaria
- Tasa de congelación
- Número de embriones congelados por ciclo

b) Criotransferencias

Debido al reducido tamaño muestral, los resultados de las criotransferencias se refieren de forma individual y puramente descriptiva.

c) Tasas acumuladas de embarazo y de nacido vivo

Las tasas acumuladas de embarazo y nacido vivo se calcularon añadiendo los embarazos y nacidos vivos conseguidos en las criotransferencias a los obtenidos en el ciclo en fresco.

d) Estimación de las tasas acumuladas a lo largo del tiempo

Para cada grupo de edad, se calcula, por ciclo iniciado, la tasa acumulada de embarazo y de embarazo que da lugar a nacido vivo a lo largo del tiempo. Se considera tiempo cero al correspondiente a la primera punción folicular.

4.2.4. Protocolos de tratamiento, punción folicular y transferencia embrionaria

El protocolo de estimulación para los ciclos de FIV / ICSI se eligió en función de la edad, factor de esterilidad, niveles basales de FSH y respuesta ovárica en ciclos previos. La supresión hipofisaria se realizó con antagonistas de la GnRH (ganirelix, cetorelix) en protocolo flexible (cuando el folículo dominante alcanza 14 mm de diámetro). Las pacientes realizaron pretratamiento con anticonceptivos hormonales combinados durante 15-17 días en el ciclo previo. Todas las pacientes se estimularon con gonadotropinas recombinantes y/o urinarias (rFSH / hMG). La descarga ovulatoria se realizó con hCG recombinante (rhCG) cuando se detectó en la ecografía la presencia de al menos 3 folículos > 18mm de diámetro.

La punción folicular se realizó a las 36 horas de la descarga ovulatoria. Si la recuperación ovocitaria fue de al menos 10 ovocitos metafase II, se procedió a inseminar mediante ICSI en todos los casos. En el caso de no disponer de al menos 10 ovocitos metafase II tras la

punción folicular, se procedió a vitrificar los ovocitos maduros para realizar otro/s ciclo/s de estimulación ovárica, que se programó de igual forma que el primero.

En el ciclo en el cual el número total de ovocitos metafase II fue ≥ 10 , considerando los frescos más los vitrificados, se procede a la desvitrificación. La inseminación se realizó siempre con ICSI.

En el caso de disponer de embriones euploides y morfológicamente aptos, se realizó la transferencia de embrionaria bajo control ecográfico a los 5 días de la punción folicular (Coroleu et al., 2000). Los embriones excedentes se criopreservaron con el método de vitrificación (Parriego et al., 2007).

Para el apoyo de fase lútea, se administró progesterona por vía vaginal (200 mg/8 hrs) desde el día después a la punción folicular hasta beta-hCG negativa en sangre o la semana sexta de gestación.

4.2.5. Vitrificación / desvitrificación ovocitaria en los ciclos de acumulación

La vitrificación se realizó inmediatamente tras la denudación, a las 38 horas de la administración de rhCG. El método de vitrificación utilizado fue el descrito por Kuwayama (Kuwayama et al., 2005). A las 2-3 horas de la desvitrificación, se realizó al inseminación de los ovocitos mediante ICSI (Solé et al., 2013).

4.2.6. Biopsia embrionaria

Se consideraron aptos para biopsia aquellos embriones con ≥ 5 células y $< 30\%$ fragmentación a las 62-68 horas. Para la perforación de la zona pelúcida se utilizó tecnología láser y se aspiró una única blastómera por embrión. Las muestras biopsiadas se procesaron para realizar el análisis genético según la metodología descrita previamente por

otros autores (Fiorentino et al., 2011). La amplificación del genoma, el procesamiento y la interpretación de los resultados del aCGH se realizaron según las instrucciones de la casa comercial (Sureplex and 24Sure V3, Illumina).

4.2.7. Criotransferencias

Para las criotransferencias, la preparación endometrial se realizó con terapia hormonal sustitutiva (estrógenos orales y progesterona micronizada vía vaginal) tras supresión hipofisaria con Triptorelina Depot 3.75 mg, según protocolos ya descritos previamente (Martínez et al., 2011). Una vez realizada la descongelación embrionaria, se transfieren los embriones evolutivos ese mismo día.

4.2.8. Diagnóstico de embarazo

El embarazo se diagnosticó con beta-hCG en plasma a los 14 días de la punción folicular o de iniciar la progesterona vaginal en los ciclos de criotransferencia y se confirmó con latido cardiaco fetal en la ecografía a la sexta semana de gestación, considerándose tan sólo estos últimos para la evaluación de los resultados.

4.2.9. Análisis estadístico

Las variables continuas se expresan como medias \pm DS, mientras que las variables categóricas se expresan como número y porcentaje.

La asociación entre las variables categóricas y la variable edad, se analizó utilizando el test Chi^2 . Las variables continuas se compararon con el test de ANOVA.

Para estimar la tasa acumulada de embarazo y de nacido vivo y realizar las comparaciones entre los grupos de edad se aplicó el análisis de supervivencia de Kaplan-Meier y el test de LogRank (Mantel-Cox). El tiempo hasta conseguir embarazo se considera como el

transcurrido entre la fecha de la punción inicial y la fecha de la transferencia donde se conseguía un embarazo. Si el embarazo se conseguía en la punción inicial el tiempo se consideró como cero. Los casos donde no se alcanzó embarazo o nacido vivo fueron censurados a fecha del análisis estadístico.

Todos los test fueron bilaterales con un nivel de significación del 5%. Para el análisis estadístico se ha utilizado el software IBM® SPSS® Statistics 21.0.

5. RESULTADOS

5.1. BLOQUE 1: PACIENTES ≥ 38 AÑOS QUE REALIZAN UN CICLO DE FIV Y LAS CRIOTRANSFERENCIAS DERIVADAS DEL CICLO DE FIV.

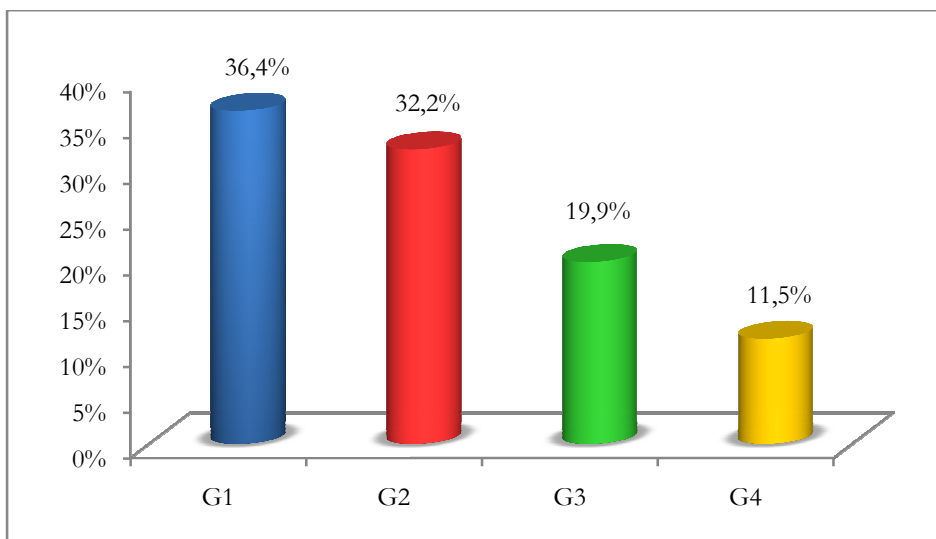
Se analizan un total de 6348 ciclos de FIV / ICSI realizados a 4570 mujeres ≥ 38 años. El 71% de las pacientes (3249) hicieron un único ciclo. Hay 1321 pacientes que realizan más de un ciclo (984 pacientes realizan 2 ciclos, 249 pacientes realizan 3 ciclos, 68 pacientes realizan 4 ciclos, 11 pacientes realizan 5 ciclos, 6 pacientes realizan 6 ciclos y 3 pacientes realizan 7 ciclos). Así mismo, se analizan un total de 1522 ciclos de descongelación embrionaria resultantes de los ciclos en fresco.

5.1.1. Características basales de las pacientes y tipo de tratamiento realizado

La distribución de ciclos (Figura 40) y pacientes por grupos de edad fue:

- G1 (38-39 años): 2312 ciclos (1875 pacientes)
- G2 (40-41 años): 2047 ciclos (1380 pacientes)
- G3 (42-43 años): 1264 ciclos (833 pacientes)
- G4 (≥ 44 años): 725 ciclos (482 pacientes)

Figura 40. Distribución de ciclos por grupos de edad



En la Tabla 3 se muestran las características basales de las pacientes en función de cada grupo de edad, así como el protocolo de estimulación realizado. Por definición, hay diferencias estadísticamente significativas en la edad media de las pacientes a lo largo de los cuatro grupos. Los parámetros de reserva ovárica (FSH basal, recuento de folículos

antrales y hormona antimulleriana) también muestran diferencias estadísticamente significativas, observándose un incremento de la FSH basal y un descenso del recuento de folículos antrales y de los niveles de hormona antimulleriana según aumenta la edad.

Tabla 3. Características basales y protocolo de tratamiento realizado

	G1	G2	G3	G4	p
Nº de pacientes	1875	1380	833	482	
Edad (media ± DS)	38.5±0.5	40.4±0.5	42.4±0.5	45±1.3	<0.001
FSH (UI/ml) (media ± DS)	9±7.5	9.4±6.9	11.8±7.4	10.3±5.9	<0.001
RFA (media ± DS)	9.2±4.8	8.2±4.6	7.1±4	5.8±3.4	<0.001
AMH (ng/ml) (media ± DS) ^a	1.5±2	1.4±2	1.1±2	0.8±1.6	0.017
Factor de esterilidad (%)					<0.001
Femenino	36.8	39.7	42.1	51.4	
Masculino	29	25.3	22.2	14.9	
Mixto	11.4	10.8	11.2	10.5	
Desconocido	22.8	24.2	24.5	23.2	
Protocolo de tratamiento (%)					<0.001
Agonistas GnRH	66.4	63.1	62.8	62.3	
Antagonistas GnRH	29.7	33.4	33.1	30.3	
Otros	3.9	3.5	4.1	7.4	

RFA: recuento de folículos antrales

AMH: hormona antimulleriana, ^avalores correspondientes a 908 casos

En relación al factor de esterilidad, observamos cómo las esterilidades de origen mixto o desconocido se mantienen estables a lo largo de los grupos; sin embargo, el factor masculino disminuye según aumenta la edad, mientras que con el femenino sucede lo contrario. También se observan diferencias estadísticamente significativas a lo largo de los grupos en el protocolo de estimulación utilizado.

5.1.2. Resultados del ciclo de FIV / ICSI en fresco

Los resultados de la estimulación del ciclo en fresco se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Resultados de la estimulación de los ciclos de FIV / ICSI

	G1 (n=2312)	G2 (n=2047)	G3 (n=1264)	G4 (n=725)	P
Tasa de cancelación (%)	13.1	12.9	18.5	23.4	<0.001
Nº de ovocitos recuperados (media ± DS)	7.6±6.5	6.8±5.9	5.3±5.1	3.9±4.4	<0.001
Nº de MII recuperados (media ± DS)	6±5.4	5.3±5	4.1±4.3	3.1±3.8	<0.001
Método de inseminación (%)					<0.001
FIV	25.6	29.5	37.7	43.3	
ICSI	67	65.5	58.1	52.9	
Combinado	7.4	5	4.2	3.8	
Tasa de fecundación (%) (95% IC)	69.7 (68.6-70.8)	69.8 (68.7-70.9)	67.8 (66.2-69.3)	67.4 (65-69.9)	NS
Nº embriones disponibles (media ± DS)	3.7±2.5	3.5±2.4	3.1±1.9	2.6±1.7	<0.001
Calidad embrionaria (media ± DS)	6.2±2.3	6.2±2.2	6±2.1	5.9±2.3	NS
Tasa de transfer (%)	79.1	77.8	67.6	63.6	<0.001
Nº embriones transferidos/ transfer (media ± DS)	2.1±0.7	2.2±0.7	2.2±0.8	2±0.8	<0.001
Tasa de congelación (%)	36.3	29.6	20.1	12.3	<0.001
Nº embriones congelados/ ciclo (media ± DS)	1.2±2.3	1±2.1	0.5±1.4	0.3±1.2	<0.001

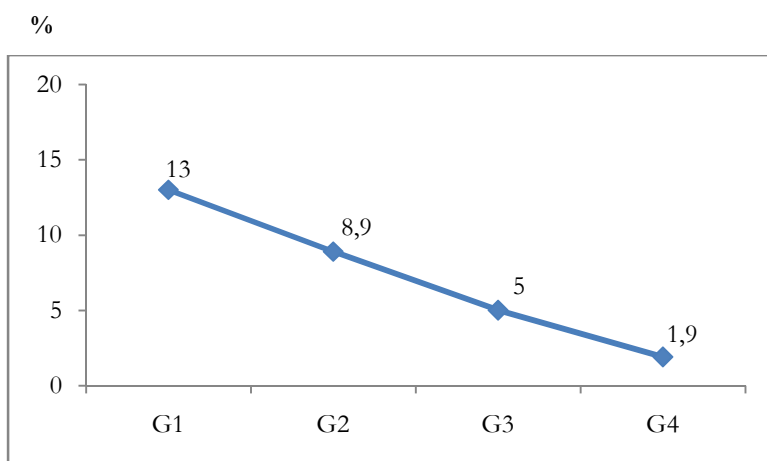
La **tasa de cancelación** global fue del 15.3% y aumentó significativamente con la edad, pasando de un 13.1% en el G1 a un 23.4% en el G4.

El incremento de la edad se asoció a un menor número de ovocitos recuperados y menor número de embriones disponibles ($p < 0.001$), por lo que la **probabilidad de llegar a transferencia** también disminuyó de forma significativa; aún así, el 63.6% de los ciclos en el G4 llegan a transferencia. El número de embriones transferidos, la probabilidad de criopreservar embriones excedentes y el número de embriones congelados, descendieron de manera significativa con el incremento de la edad ($p < 0.001$).

La **tasa de fecundación** global fue del 69.3% (95% IC 68.6-69.9) y, si analizamos por grupos de edad, no se observan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos; tampoco obtuvimos diferencias estadísticamente significativas en relación a la calidad embrionaria que, sobre un score cuya máxima puntuación es 10, fue del 6.2 en el G1 al 5.9 en el G4.

La **tasa de implantación** en fresco disminuyó significativamente con el incremento de la edad (Figura 41).

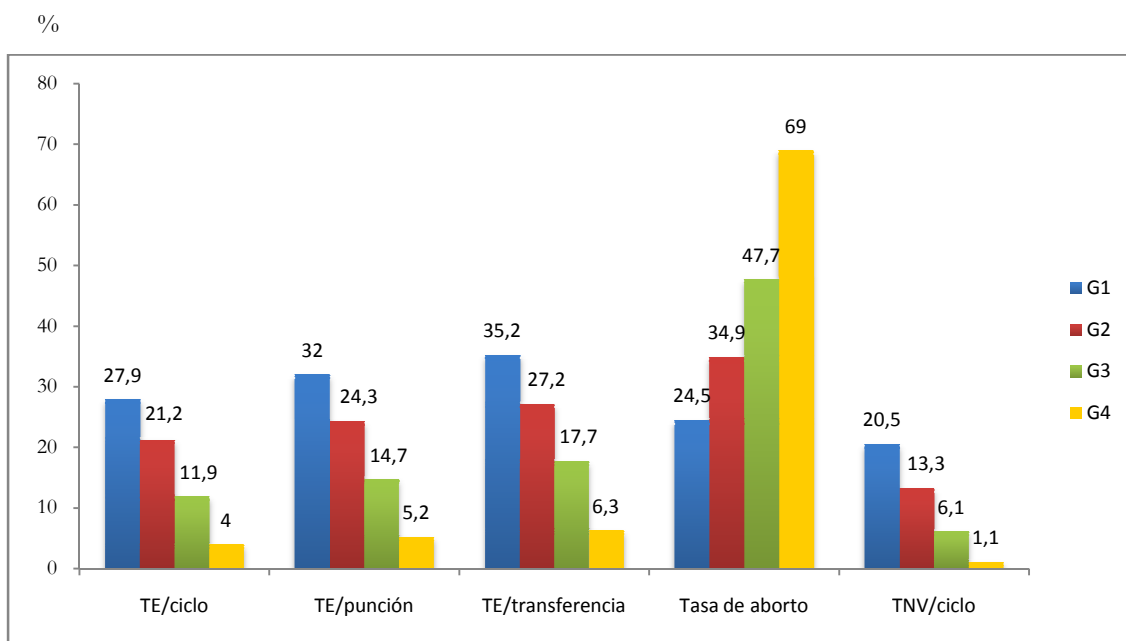
Figura 41. Tasas de implantación por grupos de edad



	G1	G2	G3	G4	Global
Tasa implantación (%)	13	8.9	5	1.9	9.1
(95% IC)	(11.8-14.2)	(7.8-9.9)	(4-6)	(1-2.7)	(8.5-9.7)

La edad tiene un impacto negativo significativo en las **tasas de embarazo, aborto y nacido vivo** ($p < 0.001$) (Figura 42). La tasa de embarazo por ciclo iniciado pasó del 27.9% en el G1 al 4% en el G4. La tasa de aborto global fue del 31.9% y subió de un 24.5% en el G1 a un 69% en el G4. El ciclo de FIV / ICSI en fresco ofrece unas tasas de nacido vivo del 20.5% en el G1, 13.3% en G2, 6.1% en G3 y 1.1% en G4 (Figura 39).

Figura 42. Tasa de embarazo (TE) por ciclo, punción y transferencia; tasas de aborto; tasa de nacido vivo (TNV)



La tasa de nacido vivo por transferencia embrionaria fue del 25.9% en el G1, 17% en el G2, 9% en el G3 y 1.7% en el G4 ($p < 0.001$).

5.1.3. Resultados de los ciclos de criotransferencia

Del total de los 6348 ciclos de FIV / ICSI analizados, en el 28.2% de ellos se obtienen embriones excedentes para su criopreservación. Se realizaron un total de 1522 ciclos de descongelación embrionaria, en 168 de ellos (11%) no se llegó a realizar transferencia.

La distribución de los grupos de edad en los ciclos de criotransferencia se muestra en la Figura 43 y en la Tabla 5. La tasa global de **supervivencia a la descongelación embrionaria** fue del 75% (95% IC 73.4-76.6). No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes grupos de edad ni en la supervivencia a la descongelación embrionaria ni en el número de embriones transferidos.

Figura 43. Distribución de los grupos de edad en los ciclos de criotransferencia realizados

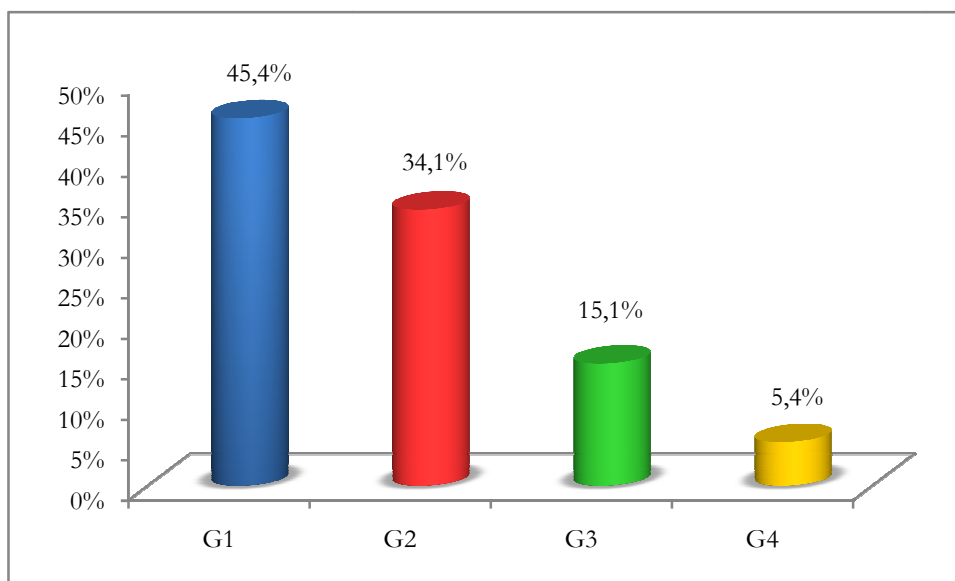
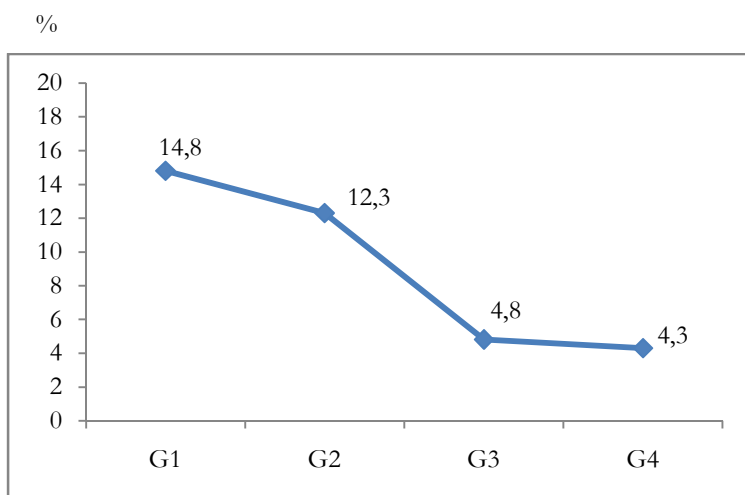


Tabla 5. Ciclos de criotransferencias

	G1	G2	G3	G4	p
Nº ciclos de descongelación	691	519	230	82	
Supervivencia a descongelación (%)	75.5	74.5	73.4	79.4	NS
(95% IC)	(73.2-77.7)	(71.8-77.3)	(68.6-78.2)	(72.2-86.7)	
Nº de ciclos con transfer	619	464	200	71	
Nº de embriones transferidos / transfer (media ± DS)	1.9±0.7	1.9±0.7	1.8±0.7	1.9±0.7	NS

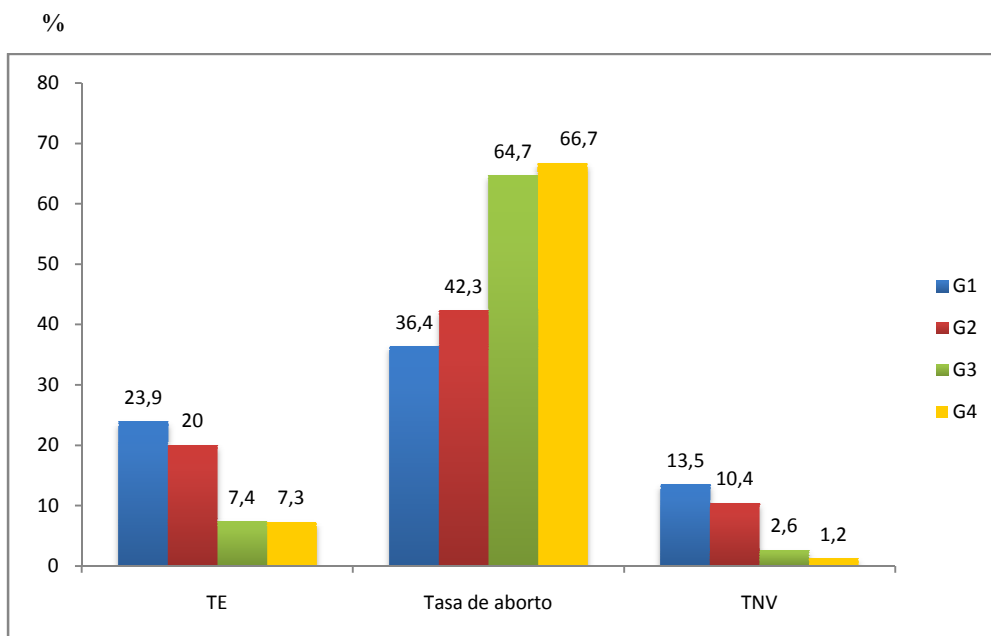
La **tasa de implantación embrionaria** disminuyó con el incremento de edad, siendo ésta significativamente más baja a partir de los 42 años (Figura 44). A pesar de no haber diferencias significativas en el número de embriones transferidos, observamos una reducción significativa de las **tasas de embarazo y de nacido vivo** asociado a la edad, pasando esta última de un 13.5% en el G1 a un 1.2% en el G4 ($p < 0.001$). Las **tasas de aborto** aumentaron con el incremento de edad, pero las diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p = 0.068$), siendo la tasa global del 40.8% (Figura 45).

Figura 44. Tasa de implantación en ciclos de criotransferencia



	G1	G2	G3	G4	Global
Tasa implantación (%) (95% IC)	14.8 (12.7-16.9)	12.3 (10-14.5)	4.8 (2.6-7.1)	4.3 (0.9-7.7)	12 (10.7-13.3)

Figura 45. Tasas de embarazo (TE), de aborto y de nacido vivo (TNV) por ciclo de descongelación

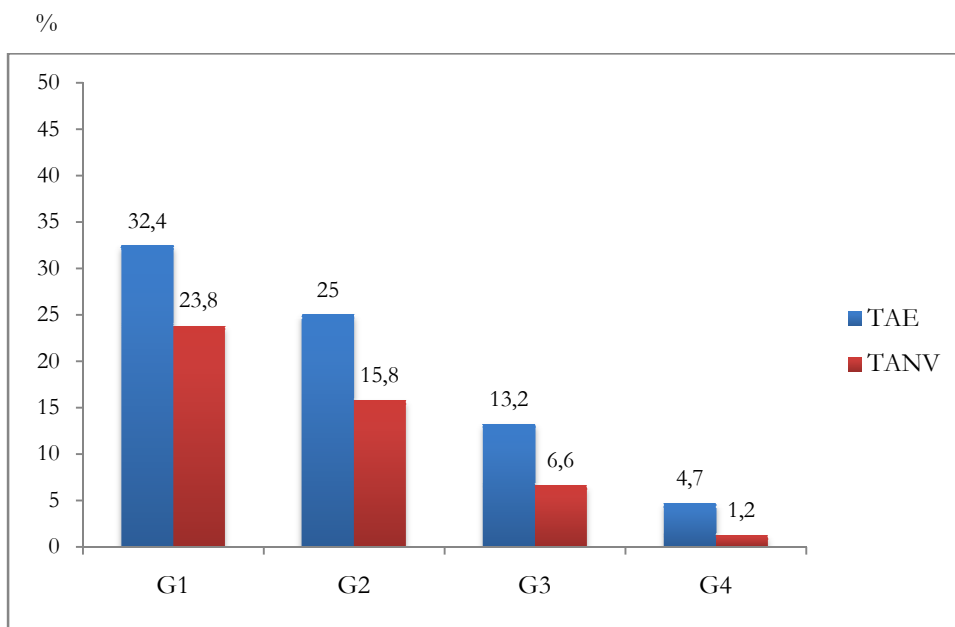


5.1.4. Tasas acumuladas de embarazo y nacido vivo por ciclo

Si consideramos las tasas acumuladas de embarazo y nacido vivo resultantes del ciclo en fresco y las criotransferencias que se derivan del mismo, se observa un descenso

significativo según aumenta la edad ($p < 0.001$), siendo clínicamente relevante entre los 41 y 42 años (tasa acumulada de nacido vivo del 15.8% en G2 y del 6.6% en G3). A partir de los 44 años la tasa acumulada de nacido vivo es del 1.2% (Figura 46).

Figura 46. Tasas acumuladas de embarazo (TAE) y de nacido vivo (TANV) por grupos de edad

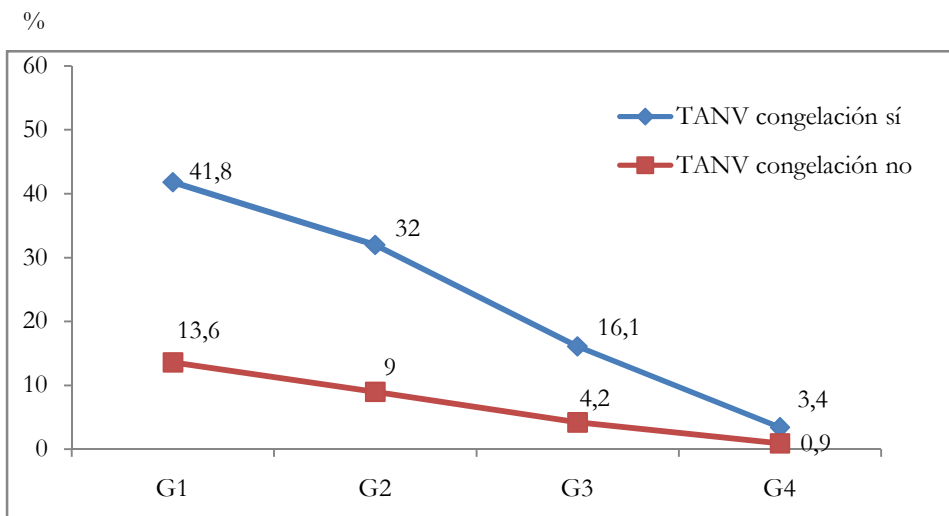
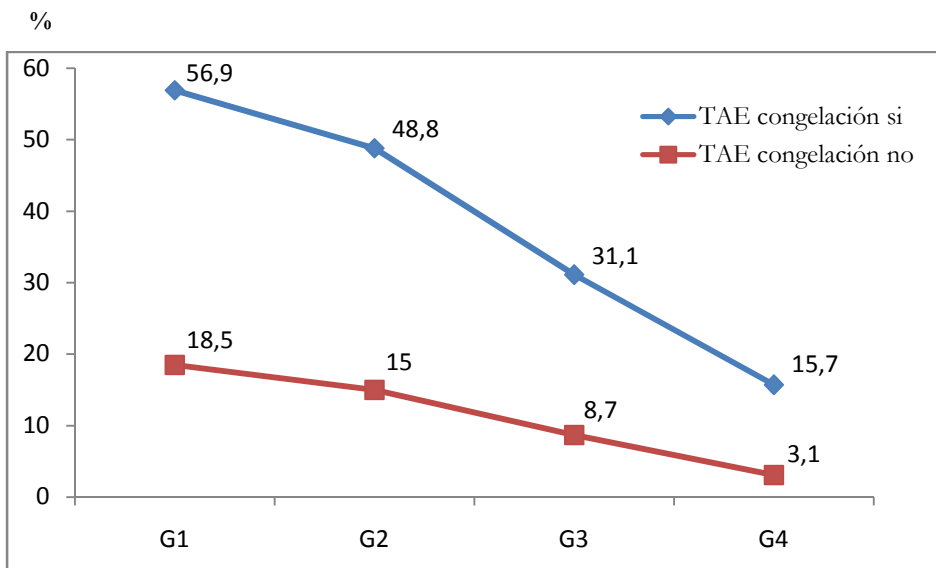


A lo largo de los 13 años analizados, en el grupo ≥ 44 años, ha habido 34 embarazos que han dado lugar a 9 nacidos vivos; de éstos, 8 proceden de los ciclos en fresco y 1 de una criotransferencia y se reparten de la siguiente manera por edades:

- 5 procedentes de mujeres de 44 años
- 1 procedente de una mujer de 45 años
- 1 procedente de una mujer de 46 años
- 2 procedentes de mujeres de 47 años.

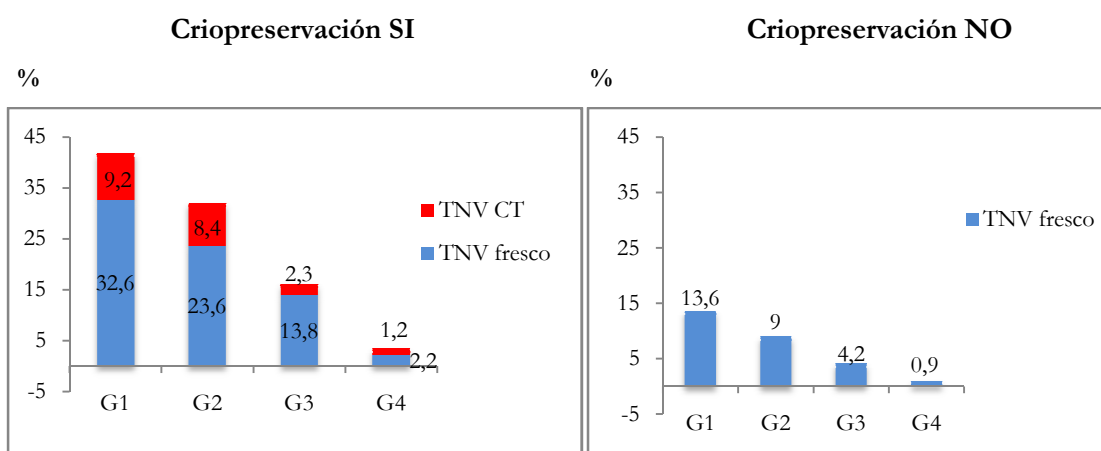
Con el objetivo de conocer el beneficio real de la criopreservación embrionaria en este colectivo de mujeres de edad reproductiva avanzada, se realizó un subanálisis de las tasas acumuladas de embarazo y nacido vivo en función de si se había podido criopreservar embriones excedentes o no (Figura 47). Cuando la criopreservación fue posible, las tasas acumuladas de embarazo fueron significativamente superiores para todos los grupos de edad ($p < 0.001$); para las tasas acumuladas de nacido vivo, se alcanza significación estadística en los grupos G1, G2 y G3.

Figura 47. Tasas acumuladas de embarazo (TAE) y de nacido vivo (TANV) en función de si hay congelación



No obstante, el principal beneficio de la congelación embrionaria no procede de las criotransferencias en sí mismas, sino que radica en un incremento de las tasas de nacido vivo de los ciclos en fresco, tal y como pone de manifiesto la Figura 48 ($p < 0.001$ para todos los grupos excepto G4).

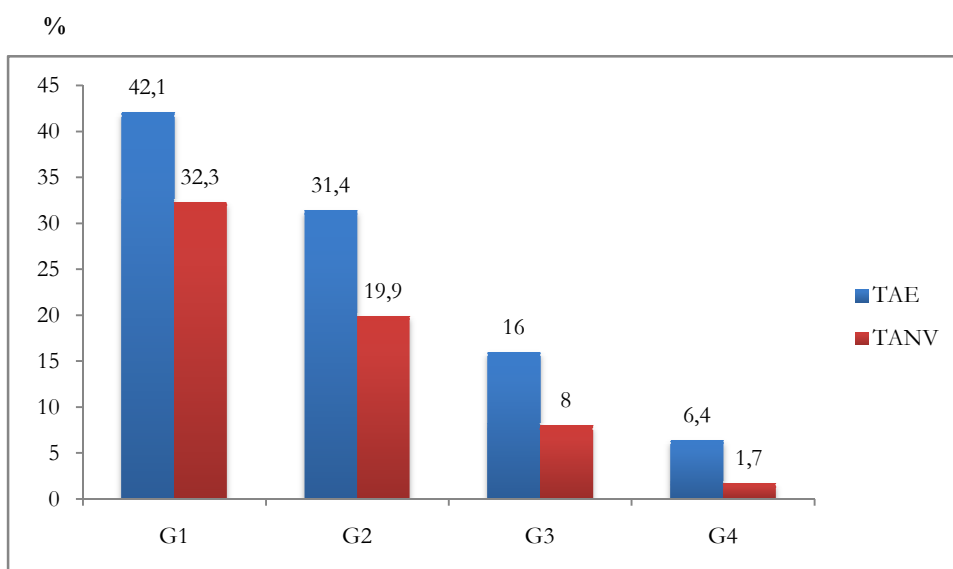
Figura 48. Tasas acumuladas de nacido vivo (TNV) desglosadas (fresco + criotransferencia [CT]) en casos de criopreservación y tasas de nacido vivo cuando no hay criopreservación



5.1.5. Tasas acumuladas de embarazo y nacido vivo por paciente

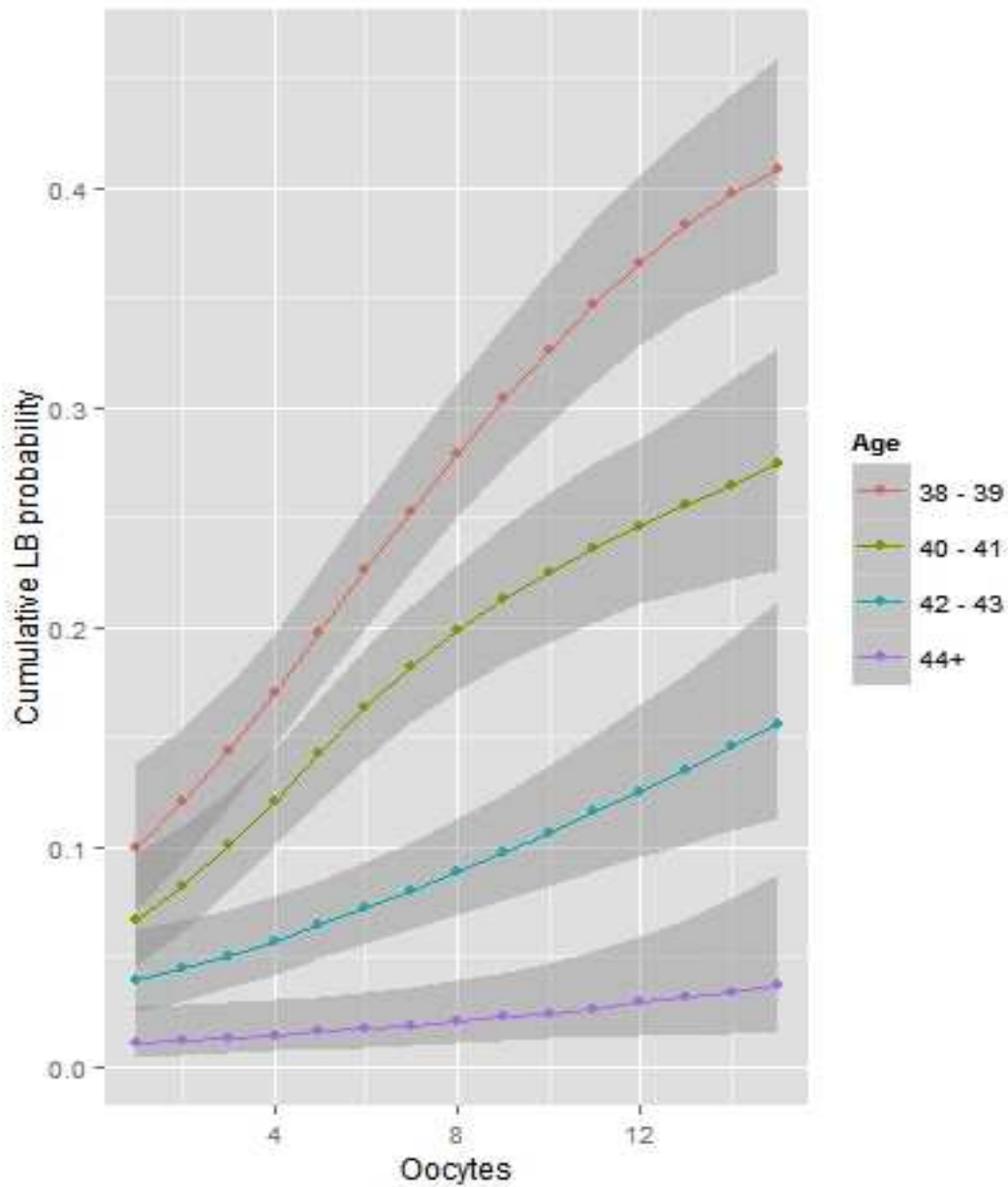
Teniendo en cuenta que hay 1321 pacientes que realizan más de un ciclo, hemos querido calcular así mismo las tasas acumuladas por paciente, tanto de embarazo como de nacido vivo (Figura 49). Las tasas acumuladas de nacido vivo por paciente pasan de ser un 32.3% en el G1 a un 1.7% en el G4.

Figura 49. Tasas acumuladas de embarazo (TAE) y de nacido vivo (TANV) por paciente



5.1.6. Modelo predictivo de tasa acumulada de nacido vivo según edad y número de ovocitos recuperados

Figura 50. Modelo predictivo de tasa acumulada de nacido vivo según edad y N° de ovocitos recuperados



N° de ovocitos	4	8	12
38-39 años	16%	27%	36%
40-41 años	12%	19%	24%
42-43 años	5%	8%	12%
≥44 años	1%	2%	2%

El modelo predictivo de tasa acumulada de nacido vivo según la edad y el número de ovocitos recuperados pone de manifiesto que, a mayor número de ovocitos recuperados, mayor es la probabilidad de nacido vivo (estadísticamente significativo para todos los grupos). Es más, se encuentran diferencias estadísticamente significativas (las áreas no superpuestas de sombra entre dos grupos indican diferencias significativas) entre los distintos grupos de edad para un determinado número de ovocitos recuperados. Como ejemplo, 12 ovocitos recuperados proporcionarían una tasa acumulada de nacido vivo del 36% en una mujer de 38-39 años y del 2% en una de 44 o más. De hecho, en este grupo de edad, independientemente del número de ovocitos recuperados, no se alcanzaría nunca una tasa acumulada de nacido vivo del 3% (Figura 50).

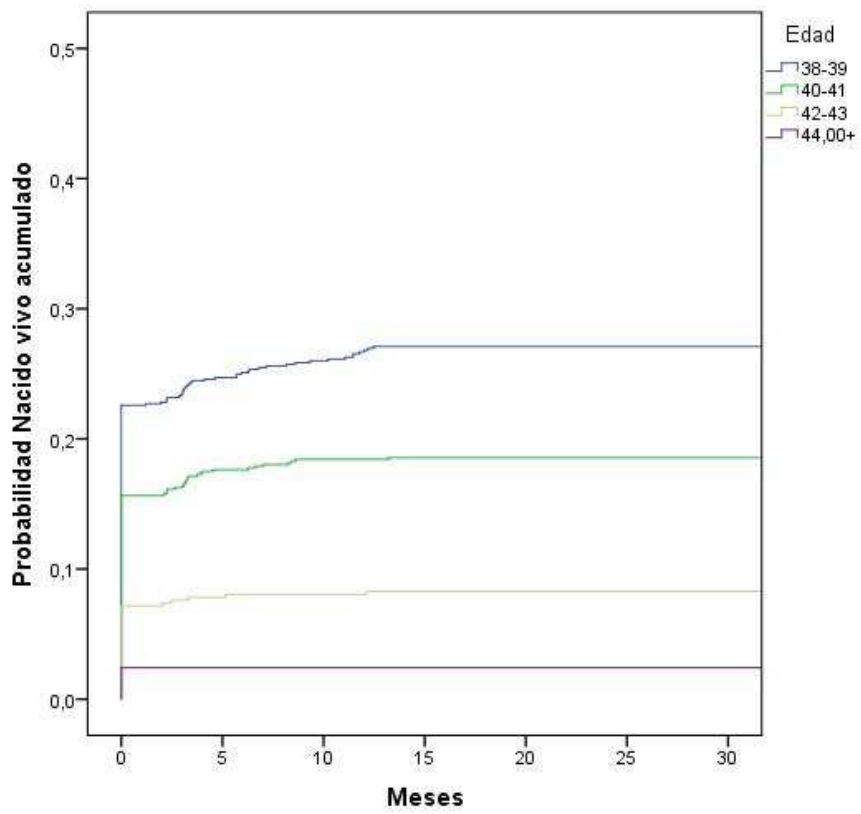
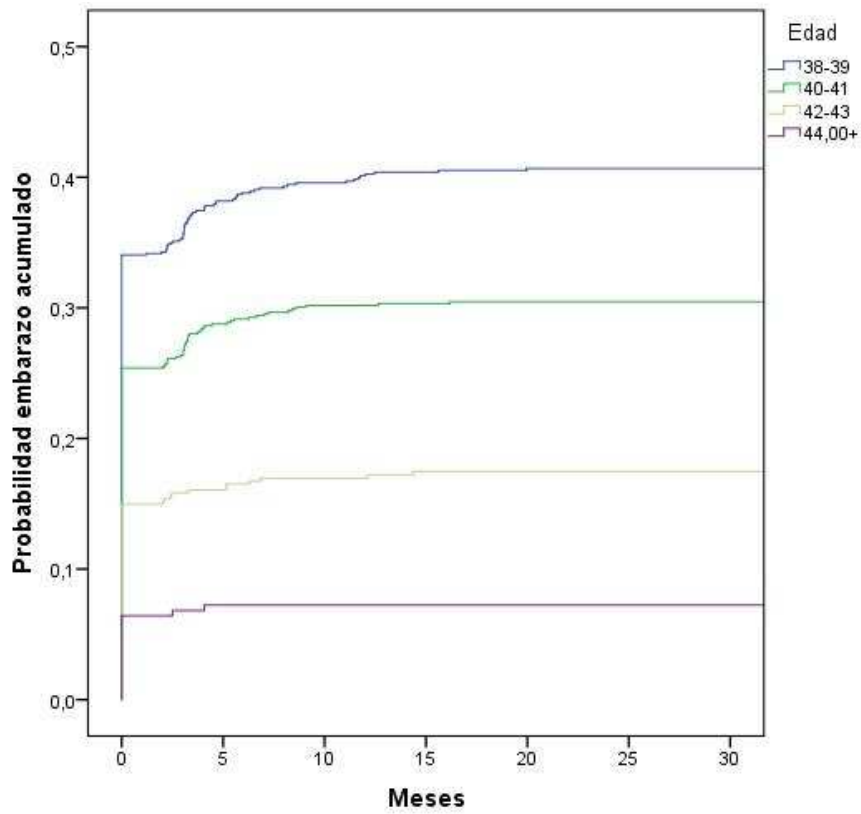
5.1.7. Estimación de las tasas acumuladas a lo largo del tiempo

Se analizan 2462 ciclos de FIV/ICSI realizados en los últimos 3 años del periodo de estudio. Por ciclo iniciado, a los 6 meses se obtiene una tasa acumulada de embarazo que da lugar a nacido vivo del 25.1% en el G1, 17.6% en el G2, 8% en el G3 y 2.4% en el G4. Las diferencias observadas en las tasas acumuladas a lo largo del tiempo entre los diferentes grupos son estadísticamente significativas ($p < 0.001$) (Tabla 6 y Figura 51).

Tabla 6. Tasas acumuladas de embarazo (TAE) y de embarazo que da lugar a nacido vivo (TAE → NV) en el tiempo

	6 meses	12 meses	18 meses
G1			
- TAE	38.8%	40.2%	40.5%
- TAE → NV	25.1%	26.8%	27.1%
G2			
- TAE	29.1%	30.2%	30.5%
- TAE → NV	17.6%	18.4%	18.4%
G3			
- TAE	16.5%	17%	17.5%
- TAE → NV	8%	8%	8.3%
G4			
- TAE	7.2%	7.2%	7.2%
- TAE → NV	2.4%	2.4%	2.4%

Figura 51. Tasas acumuladas de embarazo y de embarazo que da lugar a nacido vivo en el tiempo



Según aumenta la edad, la ganancia de embarazos y nacidos vivos en el tiempo es menor. De hecho, el momento a partir del cual ya no se obtienen más embarazos es 20 meses en el G1, 16 meses en el G2, 14 meses en el G3 y 4 meses en el G4.

5.2. BLOQUE 2: PACIENTES DE ≥ 38 AÑOS QUE REALIZAN UN CICLO DE FIV CON CRIBADO DE ANEUPLOIDÍAS PREIMPLANTACIONAL

Se analizan un total de 142 ciclos de FIV con cribado de aneuploidías en mujeres de ≥ 38 años, de éstos el 33.1% fueron tras una única estimulación, mientras que el 66.9% precisaron más de un ciclo de estimulación para lograr disponer de al menos 10 ovocitos metafase II.

Los resultados de los ciclos de FIV con cribado de aneuploidías se expondrán inicialmente de forma global, incluyendo, dentro de cada grupo de edad, tanto los casos en los que el análisis se hizo directo tras una única estimulación ovárica como aquellos en los que fue preciso realizar más de una estimulación para acumular ovocitos.

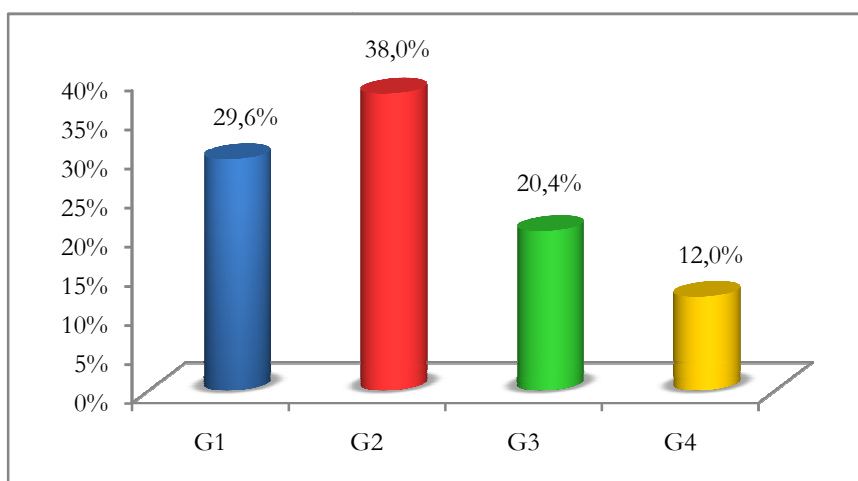
Al final de este bloque, se expondrán los resultados relativos a las principales variables analizadas desglosados en función de si se hizo acumulación o no, con el objetivo de ilustrar el aporte adicional de la estrategia de acumulación de ovocitos.

5.2.1. Características basales de las pacientes

Los 142 ciclos se distribuyen de la siguiente forma (Figura 52):

- G1 (38-39 años): 42 ciclos
- G2 (40-41 años): 54 ciclos
- G3 (42-43 años): 29 ciclos
- G4 (≥ 44 años): 17 ciclos

Figura 52. Distribución de ciclos por grupos de edad



En la Tabla 7 se muestran las características basales de las pacientes en función de cada grupo de edad así como el tipo de ciclo llevado a cabo (una única estimulación o más de una estimulación). La estrategia de acumulación se tuvo que realizar en más de la mitad de las ocasiones para cualquier grupo de edad y su frecuencia aumentó con el incremento de edad.

Tabla 7. Características basales y tipo de ciclo realizado (único / acumulación)

	G1 (n=42)	G2 (n=54)	G3 (n=29)	G4 (n=17)	P
Edad (media ± DS)	39±0.5	40.9±0.5	42.7±0.5	45±0.9	<0.001
FSH (UI/ml) (media ± DS)	7.4±2.4	6.8±1.5	6.9±1.6	6.2±1.9	NS
RFA (media ± DS)	13.1±5.5	12.9±4.9	12.8±5.2	10.2±4.3	NS
AMH (ng/ml) (media ± DS) ^a	2.5±1.9	1.8±1	1.9±1.4	1.3±0.7	NS
Tipo de ciclo (%):					
- único	38.1	31.5	34.5	23.6	
- acumulación	61.9	68.5	65.5	76.4	

RFA: recuento de folículos antrales

AMH: hormona antimulleriana, ^avalores correspondientes a 97 casos

5.2.2. Resultados de los ciclos de FIV ICSI con cribado de aneuploidías preimplantacional en fresco

A continuación se describen los resultados globales de los ciclos de FIV con cribado de aneuploidías, considerando dentro de cada grupo de edad tanto los casos de una única estimulación como los casos de acumulación.

La media de ciclos realizados fue de 1.8 a 2, sin haber diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

Tampoco se observan diferencias estadísticamente significativas en relación al número medio de ovocitos inseminados (que está por encima de 10 en todos los grupos de edad), a las tasas de fecundación y a la media de embriones biopsiados (Tabla 8).

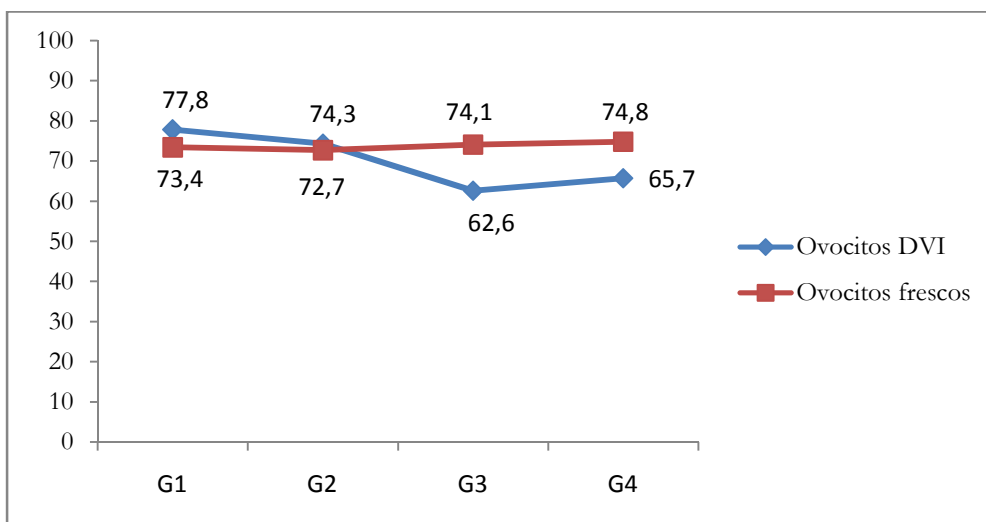
Tabla 8. Resultados de la estimulación de los ciclos de FIV con cribado de aneuploidías

	G1 (n=42)	G2 (n=54)	G3 (n=29)	G4 (n=17)	P
Nº de ciclos (media ± DS)	1.8±0.8	1.8±0.6	1.9±0.8	2±0.7	NS
Nº de MII inseminados (media ± DS)					
- totales	13.3±3.8	13.2±4.8	11.9±4	11.4±3.9	NS
- frescos	9.5±3.3	9.3±4.3	8±3.6	7.4±3.7	
- DVI	3.8±3.4	3.9±3.6	3.9±3.8	4±3	
Tasa de fecundación (%) (95% IC)	74.7 (70.6-78.8)	73.2 (69.3-77.1)	70.3 (65.1-75.5)	71.6 (64.8-78.5)	NS
Nº embriones biopsiados (media ± DS)					
- totales	8.5±3.3	8±3.5	7.1±2.3	7.2±2.4	NS
- de ovocitos frescos	6.3±3	6.3±3.4	5.3±2.1	5.6±2.9	
- de ovocitos DVI	2.5±2.7	2.2±2.4	1.7±1.9	2.1±1.8	

DVI: desvitrificados

Las **tasas de fecundación**, como se ha visto en la Tabla 8, no difirieron de forma significativa entre los grupos de edad (Tabla 8). Tampoco se observaron diferencias significativas en función de la procedencia de los ovocitos, ni en global considerando todos los grupos de edad, ni al analizarlo por subgrupos de edad (Figura 53).

Figura 53. Tasa de fecundación en función de procedencia de los ovocitos, para cada grupo de edad

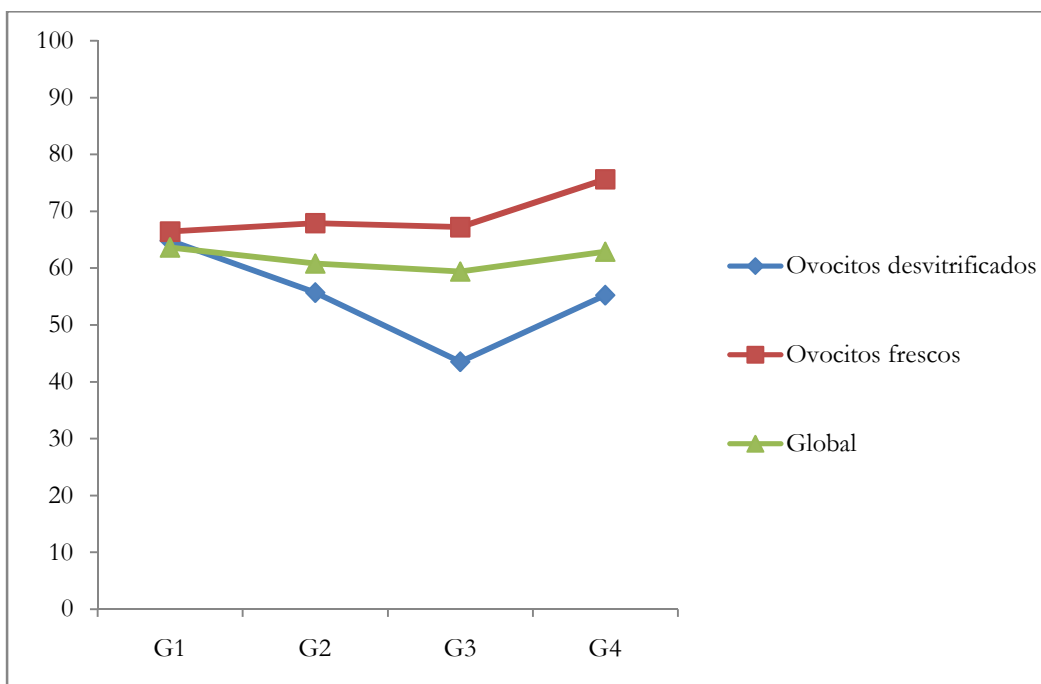


DVI: desvitrificados

Tasa de fecundación (%)	G1	G2	G3	G4	Global grupos
Frescos (95% IC)	73.4 (68.3-78.6)	72.7 (68.5-76.9)	74.1 (69.1-79.2)	74.8 (65.6-84.1)	73.4 (70.8-76)
Desvitrificados (95% IC)	77.8 (69.8-85.8)	74.3 (67.4-81.2)	62.6 (52.4-72.8)	65.7 (55.8-75.5)	71.9 (67.6-76.1)

En relación a la **tasa de evolución embrionaria** (calculada a partir de los ovocitos inseminados), no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los 4 grupos. En global, considerando todos los grupos de edad, la tasa de evolución embrionaria fue significativamente más baja con los ovocitos desvitrificados que con los frescos. El análisis por subgrupos de edad sólo pone de manifiesto diferencias estadísticamente significativas en el G3 (Figura 54).

Figura 54. Tasa de evolución embrionaria para cada grupo de edad, global y desglosada en función de procedencia de los ovocitos



Tasa evolución embrionaria (%)	G1	G2	G3	G4	Global grupos
Global ovocitos (95% IC)	63.6 (56.8-70.5)	60.8 (55.6-65.9)	59.4 (54.7-64.1)	62.9 (56.1-69.7)	61.6 (58.5-64.7)
Proceden de ovocitos frescos (95% IC)	66.4 (57.2-75.6)	67.9 (63.1-72.8)	67.2 (60.1-74.4)	75.6 (56.8-94.4)	68.1 (64.1-72.1)
Proceden de ovocitos DVI (95% IC)	64.8 (52.5-77.2)	55.6 (44.7-66.6)	43.5 (35-51.9)	55.2 (41.3-69.2)	55.7 (49.7-61.7)

DVI: desvitrificados

Con respecto a los **resultados del cribado de aneuploidías preimplantacional**, el número de embriones euploides, aneuploides y sin diagnóstico por cada grupo de edad y en función de la procedencia de los ovocitos se describen en la Tabla 9. Se biopsian un total de 1120 embriones.

Tabla 9. Euploidía embrionaria y embriones sin diagnóstico por grupos de edad y procedencia de los ovocitos

	G1 (n=42)	G2 (n=54)	G3 (n=29)	G4 (n=17)	P
Nº total de embriones biopsiados	357	435	206	122	
Nº de embriones euploides (media ± DS)					
- totales	1.6±1.6	0.8±1	0.6±0.8	0.1±0.3	<0.001
- proceden de ovocitos frescos	1.2±1.2	0.6±0.9	0.6±0.8	0.1±0.3	
- proceden de ovocitos DVI	0.4±0.7	0.2±0.5	0.0±0.1	0.0±0.0	
Nº de embriones aneuploides (media ± DS)					
- totales	6.4±3.5	6.7±3.1	5.8±2	7.1±2.6	NS
- proceden de ovocitos frescos	4.6±2.6	5±3	4.3±1.9	5±2.7	
- proceden de ovocitos DVI	1.8±2.2	1.7±1.9	1.5±1.7	2±1.7	
Nº de embriones sin diagnóstico (media ± DS)					
- totales	0.7±0.8	0.9±1	0.6±0.8	0.5±0.7	NS
- proceden de ovocitos frescos	0.5±0.7	0.6±0.8	0.4±0.7	0.4±0.7	
- proceden de ovocitos DVI	0.2±0.6	0.3±0.6	0.2±0.4	0.1±0.3	

DVI: desvitrificados

Para los grupos G1 y G2, con una media de 8 embriones biopsiados, se obtiene una media de embriones euploides entre 1.6 y 0.8 respectivamente, mientras que para los grupos G3 y G4, que tenían biopsiados de media 7 embriones, la media de embriones euploides fue de 0.6 y 0.1 respectivamente.

La tasa de euploidía global fue del 12.3%. Se observa una disminución asociada a la edad, pasando de un 19.3% en el G1 a un 1.6% en el G4, siendo el descenso estadísticamente significativo a partir de los 44 años. No hay diferencias significativas en la tasa de euploidía en función de la procedencia de los ovocitos, si bien al analizar por subgrupos de edad, en el G3 es significativamente menor con ovocitos desvitrificados (Tabla 10). La tasa de embriones sin diagnóstico global fue del 9.6 (IC 95% 7.8-11.4).

Tabla 10. Tasa de euploidía embrionaria, global y según procedencia de los ovocitos

Tasa euploidía embrionaria (%)	G1	G2	G3	G4	Global grupos
Global ovocitos (95% IC)	19.3 (14.1-24.6)	10.8 (7.2-14.4)	9.7 (5.5-14)	1.6 (0-3.9)	12.3 (9.8-14.8)
Procedencia de ovocitos frescos (95% IC)	18.9 (13-24.7)	10 (6.1-13.8)	12.2 (6.6-17.7)	2.1 (0-5)	12.2 (9.6-14.9)
Procedencia de ovocitos DVI (95% IC)	18.1 (10.2-26)	10.9 (5-16.8)	2 (0-6.1)	0 (0-0)	10.6 (6.9-14.3)

DVI: desvitrificados

La **probabilidad de llegar a transferencia** embrionaria global fue del 50% y disminuyó de forma significativa con el incremento de edad (Tabla 11).

Tabla 11. Transferencia y congelación embrionaria ciclos de FIV con cribado de aneuploidías

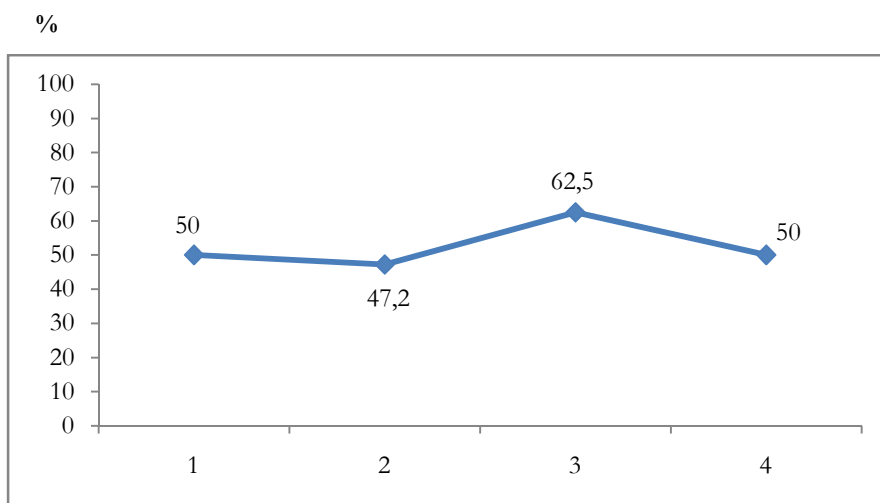
	G1 (n=42)	G2 (n=54)	G3 (n=29)	G4 (n=17)	P
Tasa de transferencia (%)	71.4	50	41.4	11.8	<0.001
Nº de embriones transferidos / transfer (media ± DS)					
- totales	1.4±0.5	1.3±0.4	1.3±0.4	1±0	NS
- proceden de ovocitos frescos	1.1±0.7	1±0.7	1.1±0.5	1±0	
- proceden de ovocitos DVI	0.3±0.6	0.3±0.5	0.2±0.3	0±0	
Tasa de congelación (%)	16.7	13	10.3	0	NS
Nº de embriones vitrificados / ciclo (media ± DS)					
- totales	0.3±0.7	0.2±0.5	0.2±0.7	0±0	NS
- proceden de ovocitos frescos	0.2±0.5	0.2±0.5	0.2±0.7	0±0	
- proceden de ovocitos DVI	0.1±0.4	0±0.1	0±0.1	0±0	

DVI: desvitrificados

No se observan diferencias estadísticamente significativas en el número de embriones transferidos. La tasa de congelación global fue del 12% sin llegar a detectarse diferencias estadísticamente significativas entre los grupos; tampoco se detectan en el número de embriones criopreservados.

La **tasa de implantación** global fue del 51% (95% IC 39.2-62.8) y no difirió de forma significativa entre los diferentes grupos de edad (Figura 55).

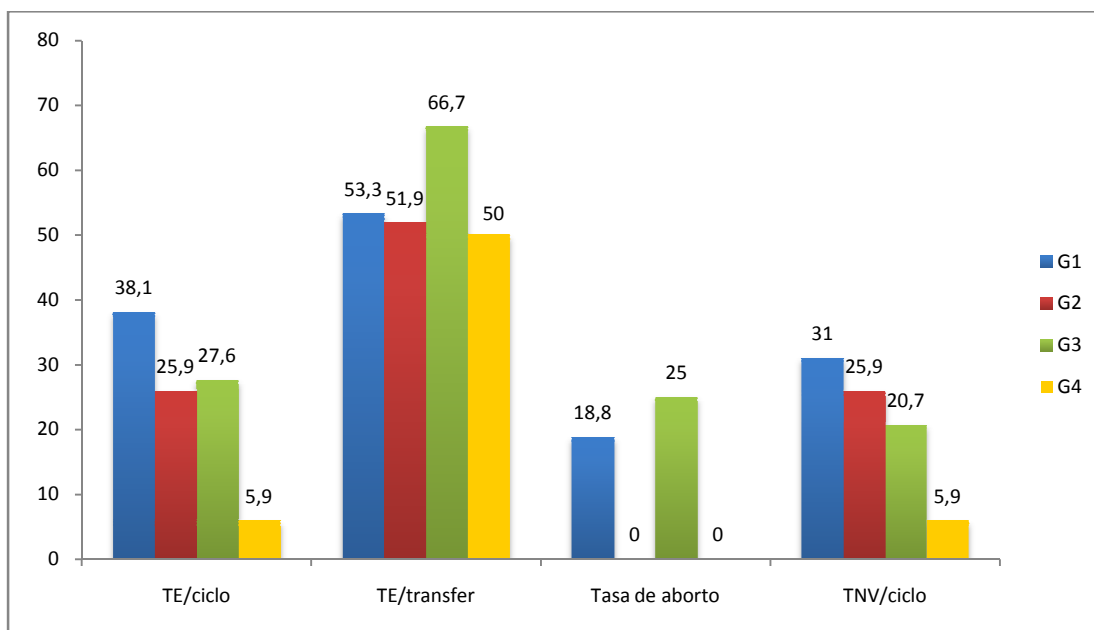
Figura 55. Tasa de implantación en FIV con cribado de aneuploidías preimplantacional



	G1	G2	G3	G4
Tasa implantación (%)	50	47.2	62.5	50
(95% IC)	(31.1-68.9)	(28.4-66.1)	(27.7-97.3)	(0-68.3)

Las **tasas de embarazo por ciclo** disminuyeron con la edad de forma significativa, pasando de un 38.1% en el G1 a un 5.9% en el G4 ($p=0.024$). No obstante, las **tasas de embarazo por transferencia** se mantienen estables a lo largo de los cuatro grupos de edad, con valores entre el 50 y el 66.7%. Las **tasas de aborto** no difirieron de forma significativa entre los 4 grupos de edad y se encontraron entre el 18.8% y el 25% (tasa global del 12.8%). Las tasas de nacido vivo por ciclo iniciado fueron del 31% en el G1, 25.9% en el G2, 20.7% en el G3 y 5.9% en el G4, siendo las diferencias entre los grupos estadísticamente significativas ($p=0.045$) (Figura 56).

Figura 56. Tasas de embarazo (TE) por ciclo, por transferencia y tasa de nacido vivo (TNV) en ciclo de FIV con cribado de aneuploidías



Las tasas de nacido vivo por transferencia embrionaria no difirieron de forma significativa, siendo del 43.3% en el G1, 51.8% en el G2 y 50% en los grupos 3 y 4.

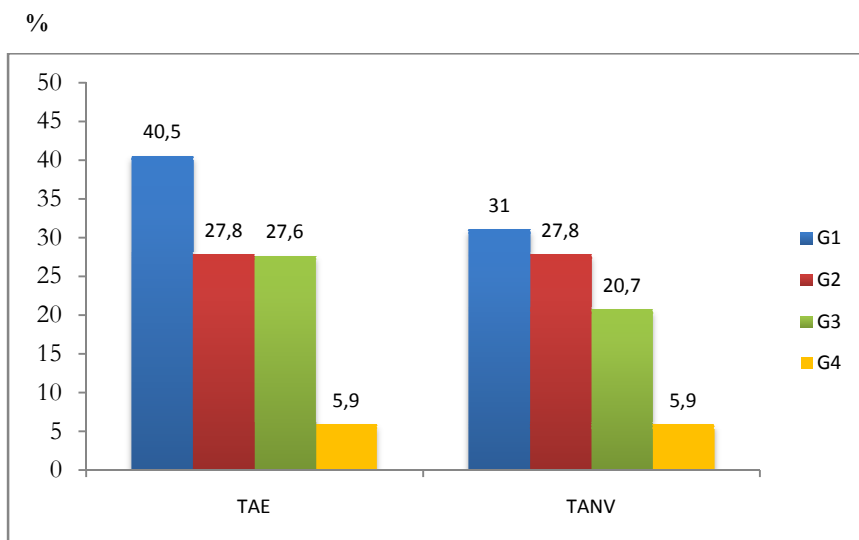
5.2.3. Resultados de los ciclos de criotransferencia

Se han realizado 5 ciclos de criotransferencia, que han dado lugar a 2 embarazos adicionales y 1 nacido vivo.

5.2.4. Tasas acumuladas de embarazo y nacido vivo

Las tasas acumuladas (transferencia en fresco + criotransferencias) de embarazo y nacido vivo se muestran en la Figura 57. Se observa un descenso significativo asociado al incremento de edad para ambos parámetros. El cribado de aneuploidías preimplantacional ofrece una tasa acumulada de embarazo del 40.5% en el G1, que desciende al 5.9% en el G4 ($p=0.014$); en relación a la tasa acumulada de nacido vivo, ésta fue del 31% en el G1 y desciende 5.9% en el G4 ($p=0.044$).

Figura 57. Tasas acumuladas de embarazo (TAE) y de nacido (TANV) tras ciclo de FIV con cribado de aneuploidías preimplantacional



5.2.5. Estrategia de acumulación

Con el objetivo de aportar datos en relación al posible beneficio de la acumulación de ovocitos en los ciclos con cribado de aneuploidías, a continuación se ofrecen, para cada grupo de edad, los resultados relativos a las principales variables analizadas, desglosados en función de si se hizo acumulación o no (Tabla 12).

En la Tabla 13 se muestran datos exclusivamente relativos a los ovocitos vitrificados y desvitrificados en los casos de acumulación, con el objetivo de conocer el rendimiento real de los ovocitos acumulados. Se desvitrifican un total de 701 ovocitos. La tasa de supervivencia a la desvitrificación global fue del 79.6% (95% IC 75.5-83.7) y disminuyó con la edad, pero las diferencias entre los grupos no fueron significativas; aún así, en el G4 sobreviven un 75% de los ovocitos desvitrificados. La estrategia de acumulación permitió biopsiar de media entre 4 (G1) y 2.6 (G3) embriones adicionales a los obtenidos en el ciclo en fresco.

Tabla 12. Resultados de la estimulación de los ciclos de FIV con cribado de aneuploidías en función de si se acumula (Ac.) o no (No Ac.)

	G1 (n=42)		G2 (n=54)		G3 (n=29)		G4 (n=17)	
	Ac. (n=26)	No Ac. (n=16)	Ac. (n=37)	No Ac. (n=17)	Ac. (n=19)	No Ac. (n=10)	Ac. (n=13)	No Ac. (n=4)
Nº ciclos realizados^a	2.3±0.6	1±0.2	2.1±0.4	1±0.2	2.4±0.6	1±0	2.3±0.5	1±0
Nº ovocitos inseminados^a	14.5±4	11.4±2.4	14±5	11.6±4	12.9±4.5	10.1±2.1	11.2±4.3	12±2.5
Nº embriones biopsiados^a	9.2±3.6	7.2±2.3	7.9±3.7	8.2±2.9	7.5±2.5	6.2±1.7	7.2±2.4	7±2.9
Tasa transfer^b	73.1	68.8	56.8	35.3	47.4	30	7.7	25
TAE^b	50	25	29.7	23.5	26.3	30	0	25
TANV^b	38.5	18.8	29.7	23.5	15.8	30	0	25

^a datos expresados en media ± DS; ^b datos expresados en %; TAE: tasa acumulada de embarazo; TANV: tasa acumulada nacido vivo

Tabla 13. Resultados ciclos de acumulación: ovocitos desvitrificados

	G1 (n=26)	G2 (n=37)	G3 (n=19)	G4 (n=13)	P
Nº de ovocitos DVI / ciclo (media ± DS)	7.5±2.5	7.3±2.9	7.6±3.1	6.8±2.1	NS
Tasa supervivencia a la DVI (%) 95% IC	82.7 (75.8-89.5)	79 (71.8-86.1)	79.3 (70.8-87.8)	75.3 (59.3-91.3)	NS
Nº de ovocitos DVI inseminados (media ± DS)	6.2±2.1	5.7±2.9	6±3	5.1±2.3	NS
Nº embriones biopsiados (media ± DS)	4±2.5	3.2±2.2	2.6±1.8	2.8±1.5	NS

5.2.6. Estimación de las tasas acumuladas a lo largo del tiempo

Se analizan los 142 ciclos de FIV con cribado de aneuploidías preimplantacional. Por ciclo iniciado, a los 6 meses se obtiene una tasa acumulada de embarazo que da lugar a nacido vivo del 31% en el G1, 27.8% en el G2, 20.7% en el G3 y 5.9% en el G4 (Tabla 14 y Figura 58).

Las diferencias observadas en las tasas acumuladas a lo largo del tiempo entre los diferentes grupos son estadísticamente significativas ($p=0.014$).

Según aumenta la edad, la ganancia de embarazos y nacidos vivos en el tiempo es menor. De hecho, el momento a partir del cual ya no se obtienen más embarazos es 9 meses en el G1, 6 meses en el G2 y para los grupos 3 y 4 desde el tiempo del primer transfer.

Tabla 14. Tasas acumuladas de embarazo (TAE) y de embarazo que da lugar a nacido vivo (TAE → NV) en el tiempo

	6 meses	12 meses	18 meses
G1			
- TAE	38.1%	40.5%	40.5%
- TAE → NV	31%	31%	31%
G2			
- TAE	27.8%	27.8%	27.8%
- TAE → NV	27.8%	27.8%	27.8%
G3			
- TAE	27.6%	27.6%	27.6%
- TAE → NV	20.7%	20.7%	20.7%
G4			
- TAE	5.9%	5.9%	5.9%
- TAE → NV	5.9%	5.9%	5.9%

Figura 58. Tasas acumuladas de embarazo y de embarazo que da lugar a nacido vivo en el tiempo

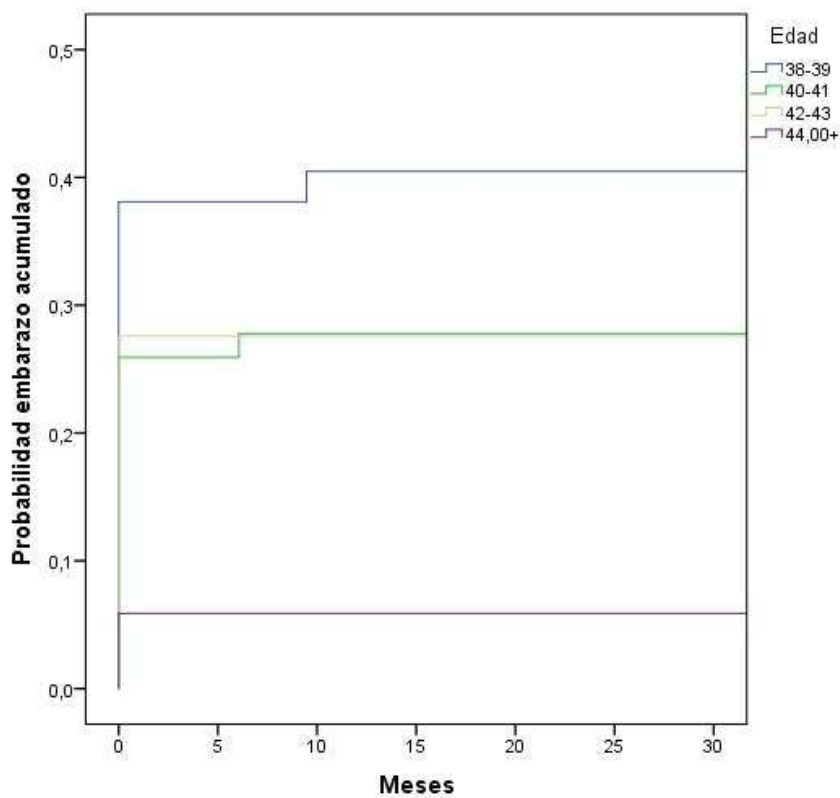
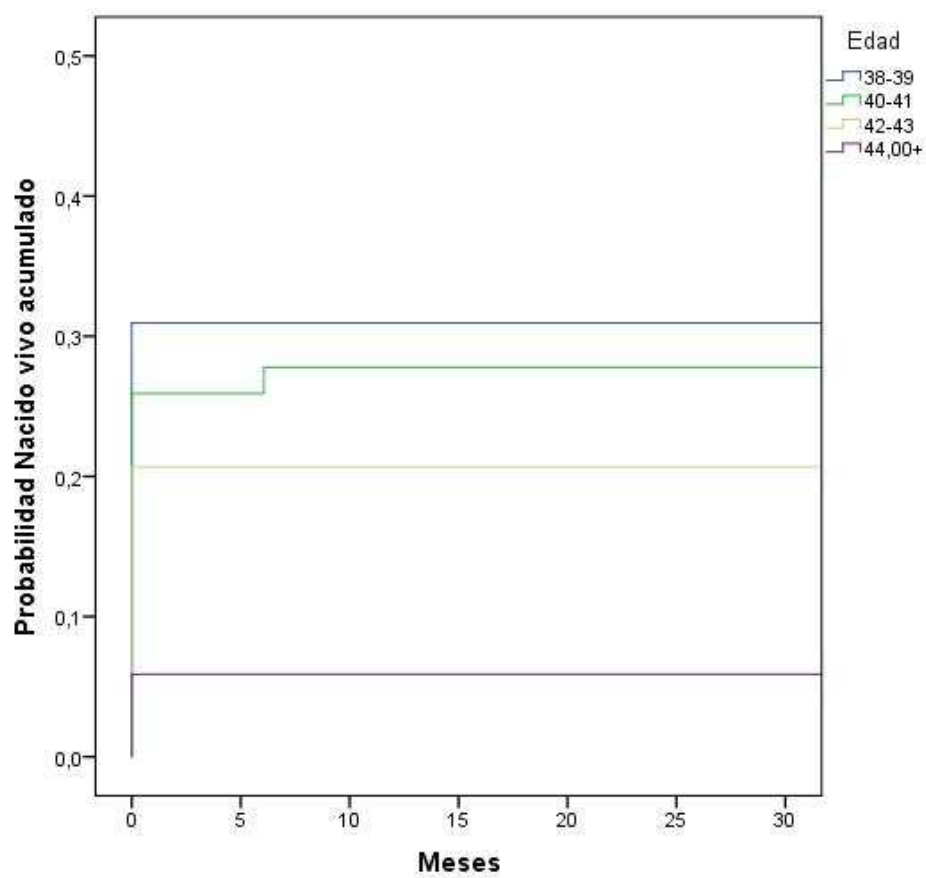


Figura 58. Tasas acumuladas de embarazo y de embarazo que da lugar a nacido vivo en el tiempo (continuación)



5.3. RESULTADOS PRINCIPALES DE AMBAS ESTRATEGIAS: FIV ESTÁNDAR VS. CRIBADO DE ANEUPLOIDÍAS PREIMPLANTACIONAL

Se muestran de forma descriptiva y gráfica, los principales resultados presentados con anterioridad para cada estrategia (Figuras 59-64 y Tablas 15 y 16).

5.3.1. Características de la población estudiada

Figura 59. Media de edad para cada grupo de edad

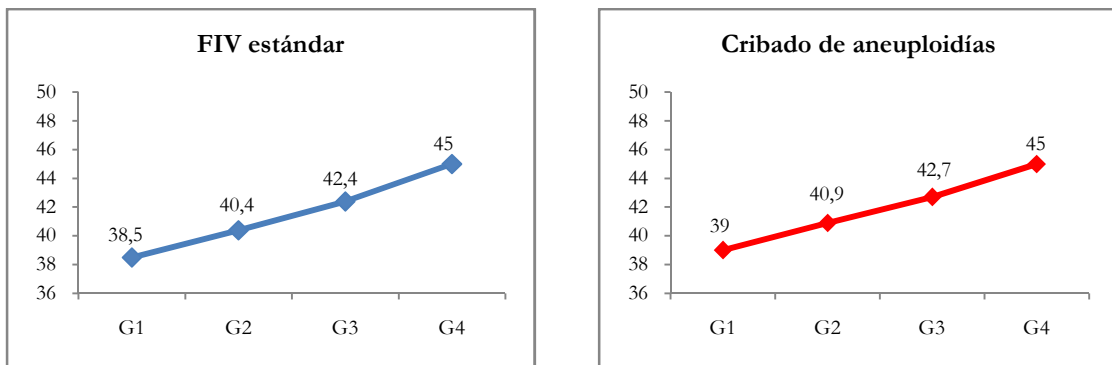


Figura 60. Media de recuento de folículos antrales para cada grupo de edad

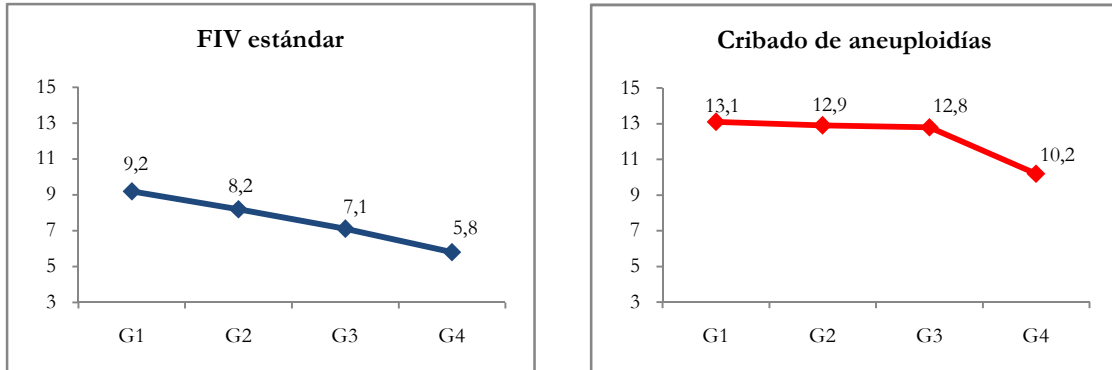
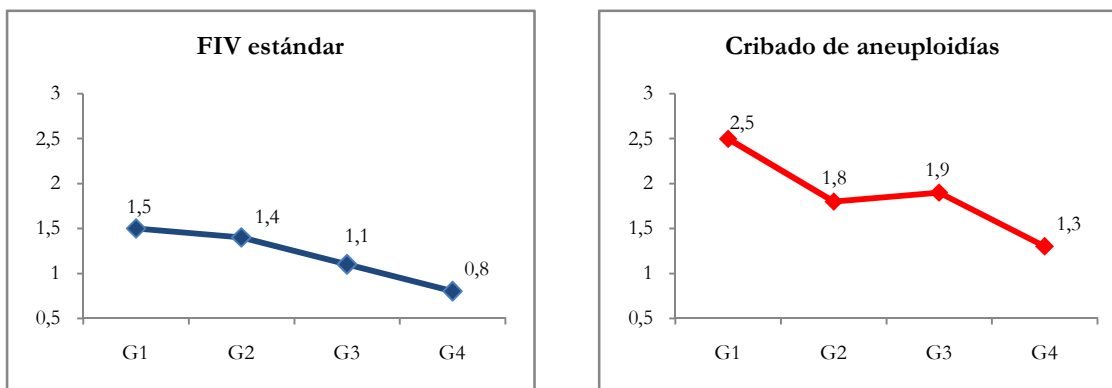


Figura 61. Media de hormona antimulleriana (ng/ml) para cada grupo de edad



5.3.2. Tasas de transferencia, de implantación, de aborto y de nacido vivo

Figura 62. Tasa de transferencia embrionaria por grupos de edad

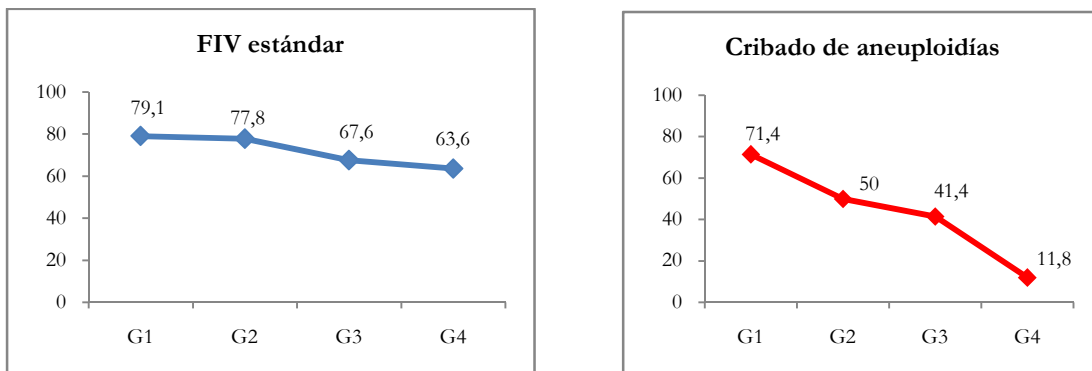


Figura 63. Tasa de implantación embrionaria por grupos de edad

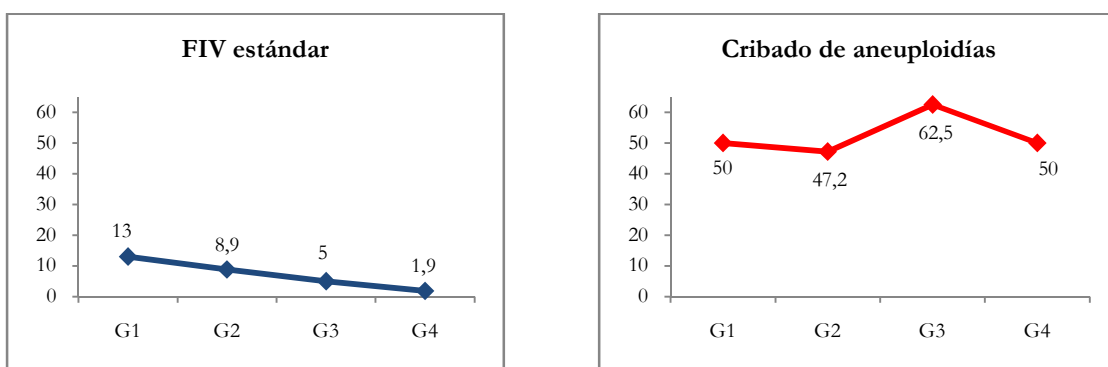
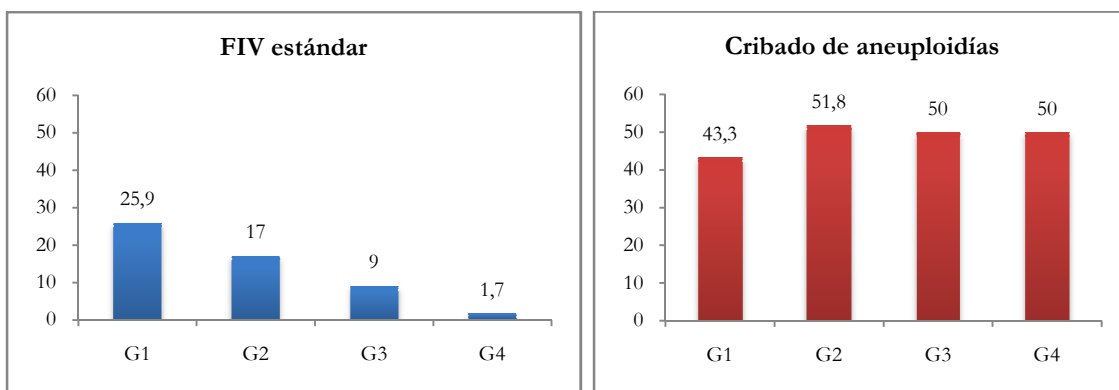


Tabla 15. Tasa de nacido vivo en fresco (por ciclo) y acumulada por grupos de edad

	G1	G2	G3	G4
Tasa de nacido vivo FIV estándar (%)				
- fresco	20.5	13.3	6.1	1.1
- acumulada	23.8	15.8	6.6	1.2
Tasa de nacido vivo FIV con cribado de aneuploidías (%)				
- fresco	31	25.9	20.7	5.9
- acumulada	31	27.8	20.7	5.9

Figura 64. Tasa de nacido vivo por transferencia embrionaria, según grupo de edad



Nota: los resultados relativos al grupo de cribado de aneuploidías deben ser interpretados con precaución debido al tamaño muestral

Tabla 16. Tasas globales de implantación, aborto y nacido vivo en cada estrategia

	FIV estándar (n=6348)	Cribado de aneuploidías (n=142)
Tasa de implantación fresco (%) (95% IC)	9.1 (8.5-9.7)	51 (39.2-62.8)
Tasa aborto fresco(%)	31.9	12.8
Tasa nacido vivo (%)		
- fresco	13.1	23.9
- acumulada	15.2	24.6

6. DISCUSIÓN

La conducta reproductiva ha cambiado en los últimos años, con una tendencia clara al retraso de la edad de la maternidad; no obstante, los límites de la biología en relación al potencial reproductivo no han evolucionado de la misma manera y, por tanto, las mujeres se enfrentan cada vez más al problema de la esterilidad asociada a la edad.

El retraso de la edad de la maternidad unido al descenso de la fertilidad ligado a la edad conlleva un riesgo de quedarse sin descendencia, con el impacto psicológico que esto implica, y un incremento del uso de las técnicas de reproducción asistida.

Las unidades de reproducción asistida están experimentando un incremento de la edad media de las pacientes, por tanto, es crucial conocer la eficacia de las diferentes estrategias terapéuticas en estas edades.

La donación de ovocitos se erige como la alternativa de elección para mejorar los resultados de las técnicas de reproducción asistida en mujeres de edad avanzada; sin embargo, muchas mujeres no están emocionalmente preparadas para perder el vínculo genético con su descendencia y esta opción es inaceptable o se plantea como último recurso tras haber intentado al menos un ciclo de FIV con ovocitos propios.

6.1. BLOQUE 1: PACIENTES \geq 38 AÑOS QUE REALIZAN UN CICLO DE FIV Y LAS CRIOTRANSFERENCIAS DERIVADAS DEL CICLO DE FIV

En la primera parte de esta Tesis se analiza el impacto de la edad en las tasas de implantación así como en las tasas acumuladas de nacido vivo y se elabora un modelo predictivo de tasa acumulada de nacido vivo en función de la edad y del número de ovocitos recuperados, con el objetivo de ofrecer a cada paciente un asesoramiento individualizado sobre su pronóstico.

La mayoría de los trabajos que analizan el éxito de las técnicas de reproducción asistida en mujeres de edad avanzada ponen como punto de corte los 40 años o incluso más (Ciray, 2006; van Disseldorp, 2007; Tsafrir et al., 2007; Hourvitz, 2009; Serour et al., 2010; Cetinkaya et al., 2013; De Brucker et al., 2013; Cabry et al., 2014). Basándonos en datos propios no publicados, nuestro punto de corte para considerar edad reproductiva avanzada son los 38 años, lo que coincide con lo establecido por Gleicher y colaboradores (Gleicher

et al., 2007), y con el punto de corte a partir del cual la depleción folicular se vuelve exponencial (Faddy et al., 1992). Por otra parte, los trabajos que como el nuestro proporcionan tasas acumuladas de nacido vivo, por lo general se focalizan en las tasas acumuladas tras varios ciclos de estimulación ovárica y no todos consideran las criotransferencias (Klipstein et al., 2005; van Disseldorp et al., 2007; Stern et al., 2009; Malizia et al., 2009; De Brucker et al., 2013; Cetinkaya et al., 2013). Nuestro trabajo centra sus resultados en el rendimiento de un único ciclo de estimulación ovárica a una edad determinada, considerando tanto la transferencia en fresco como las criotransferencias que se derivan del ciclo en fresco; no obstante, al final se proporcionan también las tasas acumuladas de nacido vivo no por ciclo sino por paciente.

6.1.1. Características basales de las pacientes y tipo de tratamiento realizado

Si bien el grueso de pacientes se concentra en los grupos 1 y 2, es importante señalar que se analizan 1264 ciclos en el G3 y 725 ciclos en el G4, que son tamaños muestrales extensos en comparación con trabajos similares que, como éste, han sido llevados a cabo en un único centro (Klipstein et al., 2005; Cetinkaya et al., 2013).

Como era de esperar, los parámetros de reserva ovárica empeoran de forma significativa con el incremento de la edad. En relación al factor de esterilidad, se observan diferencias estadísticamente significativas a lo largo de los grupos, habiendo más “factor femenino” en los grupos de más edad; esto probablemente se deba a que esterilidades cuyo único factor es la edad avanzada se incluyan bajo el epígrafe “factor femenino”. Aún así, se ha descrito que en mujeres de edad avanzada, la historia previa de la paciente, incluyendo el factor de esterilidad y/o embarazos o partos previos, no afecta a las probabilidades de embarazo tras la FIV (Tsafrir et al., 2007).

En relación a los protocolos de estimulación, no puede descartarse la interacción del cambio de política de tratamiento a lo largo de los años. El uso de antagonistas de la GnRH ha ido incrementando a lo largo de los últimos años desplazando al protocolo largo o corto de agonistas de la GnRH; según el Registro de la Sociedad Española de Fertilidad, el uso de antagonistas de la GnRH ha pasado de ser un 21% en el año 2002 a un 37% en el 2008, último año en el que se desglosan los ciclos por el tipo de supresión hipofisaria (Sociedad Española de Fertilidad 2002 y 2008). En el momento actual, en nuestro Centro, el 90% de los ciclos se programan con antagonistas de la GnRH. No obstante, es poco

probable que el protocolo de estimulación (agonistas de la GnRH o antagonistas de la GnRH) tenga un efecto significativo en las tasas de nacido vivo (Kolibianakis et al., 2006; Pu et al., 2011; Sunkara et al., 2014).

6.1.2. Ciclo de FIV / ICSI en fresco

La mayoría de los resultados de la estimulación ovárica empeoran significativamente con el incremento de edad. La **tasa de cancelación** fue del 13.1% (G1) al 23.4% (G4), habiéndose descrito tasas de cancelación a partir de los 40 años del 15% y 16.6% (Cabry et al., 2014; Tsafrir et al., 2007). Las **tasas de fecundación** se mantuvieron estables a lo largo de los 4 grupos, lo que coincide con lo publicado por otros autores en mujeres de edad avanzada (Ciray et al., 2006). Sorprendentemente, no se observan diferencias significativas en relación a la **calidad embrionaria**. No obstante, se sabe que en día 3 del desarrollo embrionario puede haber anomalías cromosómicas incluso en embriones con morfología óptima, indicando que la aneuploidía embrionaria tiene poco efecto en el aspecto morfológico de los embriones en dicho estadio evolutivo (Fragouli et al., 2014).

Según nuestros resultados, queda demostrado que la edad tiene un impacto significativo en las **tasas de implantación**, observándose una caída aproximada de 4 puntos entre cada grupo de edad. Spandorfer refiere un descenso lineal de las tasas de implantación a partir de los 36 años y sus resultados se mantienen incluso cuando se analizan sólo los casos de esterilidad por factor masculino (Spandorfer et al., 2000).

Las **tasas de embarazo** por ciclo iniciado, por punción y por transferencia embrionaria disminuyen significativamente con el aumento de la edad, mientras que la **tasa de aborto** incrementa con la edad y es prácticamente del 70% a partir de los 44 años, lo que conduce a obtener una **tasa de nacido vivo** en este grupo de edad del 1.1%. Otros autores publican tasas de aborto del 75% a los 44 años (Serour et al., 2010) y del 72.2% a los 45 años (Spandorfer et al., 2007).

Los resultados relativos a la tasa de nacido vivo en fresco coinciden con lo publicado por la Human Fertilization and Embryology Authority para el año 2009 (Human Fertilization and Embryology Authority, 2010) y son similares también a los publicados por otros autores, si bien éstos aportan los resultados estratificando para cada año de edad (Tsafrir et al., 2007; Klipstein et al., 2005; Serour et al., 2010).

6.1.3. Ciclos de criotransferencia

Como es de esperar, la probabilidad de congelar embriones excedentes disminuyó de forma significativa con el incremento de edad. Aún así, en el G4 se congelan embriones excedentes en el 12.3% de los ciclos. Las **tasas de congelación embrionaria** obtenidas en nuestro estudio (28.2%) son más elevadas que las publicadas en la literatura en general, donde se comunican tasas de congelación a partir de los 40 años del 5.7% (2705 ciclos en fresco) (Klipstein et al., 2005) y del 5.2% (2386 ciclos en fresco) (Serour et al., 2010), y del 0% a partir de los 43 años (118 ciclos en fresco) (Cetinkaya et al., 2013). La mayoría de embriones congelados en este bloque corresponden a embriones en su día 3 de evolución y nuestro criterio para congelar embriones en día 3 es que los embriones tengan al menos 6 blastómeras y menos del 25% de fragmentación.

La **tasa de supervivencia a la descongelación** no difirió de forma significativa entre los grupos. La mayor parte de los embriones se criopreservaron con el método de congelación lenta pues era el proceder habitual hasta la mitad de 2012. Es cierto que hoy en día con la vitrificación, podríamos esperar un incremento en las tasas de supervivencia a la desvitrificación y esto podría mejorar el rendimiento de los ciclos de criotransferencia pero, aún así, es poco probable que el impacto a nivel global fuese significativo (Wang et al., 2012).

Igual que sucede en fresco, la edad tiene un impacto negativo en las **tasas de implantación, embarazo y nacido vivo**. Si comparamos las tasas de implantación en fresco *vs.* criotransferencias se observa que, globalmente, son significativamente más altas en los ciclos de criotransferencia; al analizar por subgrupos de edad, las diferencias son significativas sólo en el grupo de 40-41 años. Uno de los posibles factores que pueden explicar este hallazgo es la reducción de la receptividad endometrial observada en los ciclos bajo hiperestimulación ovárica controlada (Evans et al., 2014). Aún así, este hallazgo tendrá poco impacto puesto que, como se verá más adelante, el beneficio del criotransfer en sí mismo es limitado, quizás porque la **tasa de abortos** también tiende a ser más alta en los ciclos de criotransferencia, siendo así en todos los grupos de edad excepto en el G4. En este grupo, que es del de menor tamaño muestral, la tasa de aborto en fresco y tras la transferencia de embriones congelados se mantiene estable. En líneas generales, se describen tasas de aborto a partir de los 39 años tras transferencia de embriones criopreservados con el método de congelación lenta del 44.4% (Solé et al., 2011), mientras

que a partir de los 40 años, la tasa de aborto en fresco es del 34%, según datos del Registro de la Sociedad Española de Fertilidad del año 2013 (Sociedad Española de Fertilidad).

6.1.4. Tasas acumuladas de embarazo y nacido vivo por ciclo

Las tasas acumuladas de embarazo y nacido vivo disminuyen de forma significativa con el incremento de la edad. Se obtienen unas tasas acumuladas de nacido vivo del 23.8% en G1, 15.8% en G2, 6.6% en G3 y del 1.2% en el G4.

Según Gleicher, en algunos centros de reproducción asistida se informa a las pacientes de forma sistemática que las tasas de nacido vivo a partir de los 40-42 años son del 1%-2% (Gleicher et al., 2014). Nuestros datos permiten analizar el rendimiento de una única estimulación ovárica, diferenciando aquellos casos de pronóstico aceptable (G1 y G2), de los de pronóstico bajo aunque aún médicamente razonable (G3), de los de pronóstico muy bajo (G4).

Dentro de los estudios que analizan las tasas acumuladas de nacido vivo en mujeres de edad avanzada, sólo algunos consideran los ciclos de criotransferencia en sus análisis. En el trabajo de Malizia y colaboradores se incluyen las criotransferencias como evento único independiente en el cálculo de la tasa acumulada de nacido vivo, por lo que no es posible calcular el rendimiento de un ciclo de estimulación ovárica con sus criotransferencias; además, en este estudio, a partir de los 40 años, las pacientes quedan englobadas en el mismo grupo de edad (Malizia et al., 2009). En el trabajo de Stern, que también considera las criotransferencias, se subdivide por grupos de edad a partir de los 40 años y se obtienen tasas de nacido vivo por ciclo similares a las encontradas en nuestro estudio (Stern et al., 2009). No obstante, de ninguno de los dos trabajos se desprende el beneficio adicional que aportan las criotransferencias en mujeres de edad reproductiva avanzada.

En nuestra serie, las tasas acumuladas de embarazo y nacido vivo son superiores cuando fue posible la criopreservación embrionaria, en concordancia con lo descrito por otros autores (Klipstein et al., 2005). Sin embargo, Klipstein y colaboradores describen en su población de estudio una tasa de congelación del 5.7%, lo que es llamativamente más bajo a lo encontrado en nuestros resultados (28.2%), y por tanto no incluyen las criotransferencias en sus análisis. En nuestra casuística, los casos en los que la congelación embrionaria fue posible, tienen una tasa acumulada de nacido vivo 3-4 veces superior a cuando no hubo

congelación (estadísticamente significativo para todos los grupos de edad excepto G4, probablemente debido al reducido tamaño muestral). No obstante, es importante señalar que el beneficio real de la criopreservación no reside en los ciclos de criotransferencia en sí mismos si no más bien en el incremento del rendimiento del ciclo en fresco, sugiriendo que, al haber más embriones disponibles, la selección embrionaria en fresco es mejor y en consecuencia los resultados también. Así pues, el beneficio extra de la congelación en sí misma es limitado, sobre todo en los grupos G3 y G4, donde las criotransferencias sólo contribuyen en las tasas acumuladas de nacido vivo con un 2.3% y un 1.2% respectivamente.

A pesar de las bajas opciones de éxito observadas a partir de los 44 años, a lo largo de los 12 años del estudio, en este grupo de edad hubo 9 nacidos vivos, de los cuales todos menos uno procedían del ciclo en fresco. La edad máxima a la cual obtuvimos un nacido vivo fue a los 47 años, siendo nuestro límite de edad para cualquier técnica de reproducción asistida los 50 años.

En la literatura se han publicado casos aislados de nacidos vivos tras FIV a los 46 años (Dal Prato et al., 2005; Trolice et al., 2014) y uno muy recientemente a los 50 años (Rani et al., 2015). Según el Comité de Ética de la Sociedad Americana de Medicina Reproductiva (ASRM), con la tasa acumulada de nacido vivo obtenida en el G4 en nuestro estudio, estas pacientes se clasificarían como de “muy mal pronóstico” (probabilidad de nacido vivo muy bajas pero no inexistentes: >1 a $\leq 5\%$), y su recomendación en estos casos sería proceder con técnicas de reproducción asistida siempre y cuando se estime que el beneficio fisiológico y psicológico compense los riesgos (The Ethics Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2012).

6.1.5. Tasa acumulada de embarazo y nacido vivo por paciente

El concepto de tasa acumulada de embarazo y nacido vivo por paciente y no por ciclo es realmente atractivo. Diversos trabajos analizan esta variable argumentando que para la paciente que realiza más de un ciclo la estimación del éxito es más precisa (Tabla 17).

Algunas publicaciones notifican tasas acumuladas de nacido vivo a los 40 años del 28% (Klipstein et al., 2005) y entre los 41-43 años del 17% (Van Disseldorp et al., 2007).

Tabla 17. Estudios que analizan tasa acumulada de nacido vivo (TANV) en edad avanzada

Autor (año publicación)	Edad pacientes (años)	Nº de ciclos	Ciclos / pte	TANV (%)
Klipstein (2005)	≥ 40	2705 (solo fresco)	2.3	28.4 – 0 (40 – 46 años)
Van Disseldorp (2007)	41-43 (normoreserva)	125 (solo fresco)	1-3	17 (tras 3 ciclos)
Stern (2009)	Todas las edades	27906 (fresco + CT)	1.9	8.5 (≥ 43 años)
Malizia (2009)	Todas las edades	12248 (fresco + CT)	2.3	42 (optimista) 23 (pesimista) (≥ 40 años)
De Brucker (2013)	≥ 40	431 (solo fresco)	1.8	16.7
Cetinkaya (2013)	≥ 43	168 (solo fresco)	1-4	9.1

Sin embargo, es importante tener en cuenta que las tasas de discontinuación del tratamiento están estrechamente relacionadas con la edad y la probabilidad de éxito del proceso, incluso cuando los ciclos están reembolsados. Se describen tasas acumuladas de discontinuación del 80% a partir de los 40 años, siendo la mitad de los abandonos tras el primer ciclo de FIV (Soullier et al., 2011). Por este motivo, los datos presentados en la primera parte de este bloque se focalizan en el rendimiento que ofrece un único ciclo de estimulación ovárica a una mujer de una edad determinada, considerando el ciclo en fresco y las criotransferencias derivadas del mismo. No obstante, teniendo en cuenta que en nuestra serie el 29% de las pacientes realizan más de un ciclo, aportamos también los datos relativos a la tasa acumulada de embarazo y nacido vivo por paciente.

Nuestros resultados ponen de manifiesto, una vez más, el impacto negativo de la edad en las tasas acumuladas de nacido vivo por paciente, y muestran cómo, al comparar las tasas acumuladas por paciente con el rendimiento por ciclo iniciado, las diferencias son menores según aumenta la edad. Este hecho se explica probablemente porque en estos grupos de edad se repite menos y porque la eficacia de los ciclos, aunque se realicen más estimulaciones ováricas, es muy limitada. No obstante, estos resultados pueden estar sesgados al no estar considerándose únicamente primeros ciclos (que generalmente son los de mayor tasa de éxito) y al no estar teniendo en cuenta las pérdidas posteriores. Nuestros hallazgos concuerdan con los de otros autores, que también encuentran que a partir de los 43 años las diferencias entre la tasa por ciclo iniciado y la acumulada por paciente son pequeñas (Klipstein et al., 2005). En otros trabajos, los resultados son más optimistas y se describen tasas acumuladas de nacido vivo tras 3 ciclos de estimulación ovárica a partir de los 43 años del 8.5% (Stern et al., 2010) y del 9.1% en >43 años, estableciendo pues en 45 años el punto de corte a partir del cual habría que pasar directamente a donación de ovocitos (Cetinkaya et al., 2013).

6.1.6. Modelo predictivo de tasa acumulada de nacido vivo según edad y número de ovocitos recuperados

En líneas generales, existe una fuerte asociación entre el número de ovocitos recuperados y la probabilidad de nacido vivo. Algunos autores encuentran mejores resultados a partir de 4 ovocitos recuperados en las mujeres de 40-41 años, si bien esta diferencia se minimiza en edades más avanzadas (Tsafrir et al., 2007). Otros trabajos establecen el punto de corte en 6 ovocitos (Ciray et al., 2006; Spandorfer et al., 2007; Cabry et al., 2014).

Sunkara encuentra que las mejores opciones de obtener un nacido vivo se alcanzan cuando se recuperan alrededor de 15 ovocitos (Sunkara et al., 2011). El modelo de predicción de nacido vivo que elaboran estos autores incluye un gran número de ciclos de FIV (400135 ciclos), pero no tiene en cuenta los ciclos de criotransferencia embrionaria y, además, a partir de los 40 años las pacientes se incluyen en el mismo grupo, cuando a estas edades incrementos pequeños de edad pueden suponer diferencias considerables en los resultados.

El modelo elaborado en nuestro estudio permite predecir, para cada grupo de edad, la tasa acumulada de nacido vivo (considerando el ciclo en fresco y las criotransferencias) en función del número de ovocitos recuperados. De esta forma, para alcanzar un 20% de tasa acumulada de nacido vivo se necesitarían al menos 5 ovocitos en G1 y 8 ovocitos en G2. Este 20% de tasa acumulada de nacido vivo no se alcanzaría a partir de los 42 años, independientemente del número de ovocitos recuperados. En este grupo, se necesitarían al menos 4 ovocitos para obtener una tasa acumulada de nacido vivo del 5%. En relación al G4, incluso asumiendo que se recuperan como mínimo 15 ovocitos, las tasas acumuladas de nacido vivo no llegarían al 3% y, por tanto, en estos casos deberíamos desaconsejar el uso de técnicas de reproducción asistida con gametos propios. Para el resto de grupos, el asesoramiento se hará en función de la edad y la respuesta ovárica esperada, siendo ésta crítica en el G3, puesto que si la respuesta es < 4 ovocitos recuperados la tasa acumulada de nacido vivo no alcanza el 5%.

El modelo predictivo de tasa acumulada de nacido vivo en función de la edad y la respuesta ovárica esperada es, pues, una herramienta útil para asesorar con datos objetivos y de forma individualizada sobre el pronóstico real; sin embargo, es evidente que siguiendo el principio de autonomía la decisión final queda diferida a las preferencias de los pacientes.

Por otra parte, el modelo está elaborado con el número de ovocitos recuperados que, ciertamente, es un dato del que no se dispone a priori. En este sentido, cobran importancia el recuento de folículos antrales y la hormona antimulleriana, puesto que han demostrado ser los marcadores de reserva ovárica con mejor capacidad predictiva de la respuesta al tratamiento de estimulación (La Marca et al., 2014). Una de las limitaciones de este bloque es no disponer de los resultados de los marcadores de reserva ovárica de todos los casos; a pesar de ello, se observa cómo éstos empeoran de forma significativa con el incremento de la edad. Tanto el recuento de folículos antrales como la hormona antimulleriana son útiles para individualizar el tratamiento de cada paciente que, sin duda, es el camino a seguir en FIV para maximizar las opciones de éxito y minimizar los riesgos y molestias a cada paciente en particular. Cabría plantearse si además de esta utilidad, la capacidad predictiva de respuesta de ambos parámetros nos permitirá elaborar un modelo de predicción similar al presentado, pero partiendo de esta información, que está disponible antes de iniciar la estimulación, en lugar de partir del número de ovocitos recuperados.

6.1.7. Limitaciones

A pesar de que se trata de un tamaño muestral extenso y que el trabajo se ha realizado en un único centro, no se descarta la existencia de sesgos derivados de la naturaleza retrospectiva del estudio. Asimismo, dado el extenso periodo de estudio en este bloque, hay heterogeneidad en los protocolos de estimulación utilizados a lo largo del tiempo y en el día y método de criopreservación. Otra limitación es no disponer de todos los datos de reserva ovárica de la globalidad de la muestra.

6.2. BLOQUE 2: PACIENTES DE ≥ 38 AÑOS QUE REALIZAN UN CICLO DE FIV CON CRIBADO DE ANEUPLOIDÍAS PREIMPLANTACIONAL

Teniendo en cuenta que el principal motivo de las bajas tasas de implantación y nacido vivo observado en mujeres de edad avanzada es la aneuploidía embrionaria, se comentan a continuación los resultados obtenidos tras la aplicación de la FIV con cribado de aneuploidías en este colectivo de edad.

El periodo de análisis es diferente al del primer bloque y, por tanto, las poblaciones también lo son, si bien se incluyen pacientes a partir de los 38 años y se clasifican en los mismos grupos de edad. Somos conscientes de que la metodología apropiada para poder comparar las dos estrategias es realizar un estudio aleatorizado, pero esta comparación no era el objetivo principal de esta Tesis.

Los resultados relativos a este bloque se presentan a modo descriptivo con la intención de evaluar un tema hasta ahora controvertido, como es el beneficio que el cribado de aneuploidías preimplantacional aporta en mujeres de edad reproductiva avanzada. Diversos estudios no sólo no evidenciaron un beneficio del mismo, sino que algunos incluso encontraron que esta estrategia mermaba los resultados, si bien la técnica utilizada en estos estudios era el FISH (Lee et al., 2015).

El principal motivo por el cual los periodos de análisis entre los bloques 1 y 2 no son los mismos es que en nuestro Centro se hace cribado de aneuploidías preimplantacional con estudio completo de los 24 cromosomas desde el año 2010; con anterioridad, se utilizaba la técnica FISH. No hemos querido incluir los casos de FISH puesto que esta técnica sólo

incluía en su análisis el estudio de 9-12 cromosomas y es bien sabido que en estadios precoces del embrión la aneuploidía puede afectar a todos los cromosomas. De hecho, ha sido demostrado que por aCGH se detectan un 42% más de anomalías y un 13% más de embriones aneuploides que con el método de FISH estándar de 12 cromosomas (Gutierrez-Mateo et al., 2010).

Se ha visto que el mejor momento para hacer la biopsia es aquel en el que la muestra es lo más representativa posible del componente cromosómico del embrión, es decir, el estadio de blastocisto. La biopsia de blastocisto fue posible con la llegada de nuevas tecnologías de diagnóstico genético diferentes al FISH estándar, que además permitieron analizar la totalidad de los cromosomas. Se han descrito tasas de implantación tras diagnóstico genético preimplantacional significativamente superiores tras la biopsia de blastocisto que tras la biopsia en día 3 (Harton et al., 2013). En contrapartida, la biopsia de blastocisto implica, en la mayoría de las ocasiones, tener que diferir la transferencia hasta que se disponga de los resultados, con las molestias que esto pueda causar a las pacientes, y tener que congelar los embriones; por tanto, es preciso disponer de métodos de congelación eficientes.

En el año 2011, la ESHRE empieza a recomendar virar desde la biopsia de día 3 hacia la biopsia en estadio de blastocisto (Harton et al., 2011). En nuestro Centro se están realizando biopsias de blastocisto desde enero del 2015; hasta entonces, el proceder habitual era realizar biopsia en día 3 del desarrollo embrionario y transferencia de blastocistos en el mismo ciclo.

Con el fin de presentar una muestra lo más homogénea posible, los datos aquí presentados corresponden sólo a embriones biopsiados en su tercer día de desarrollo, asumiendo las limitaciones que esto pueda tener (mayor riesgo de mosaicismo y, potencialmente, mayor impacto en la evolución embrionaria posterior) (Capalbo et al., 2015). No obstante, es importante señalar que para realizar la biopsia, en este estudio se aspiró una única blastómera y no dos, y algunos estudios encuentran que tras la biopsia de una única blastómera la tasa de blastulación es similar a no realizar biopsia, mientras que cuando se aspiran dos blastómeras esta tasa es significativamente más baja (De Vos et al., 2009).

Se ha visto que los factores más importantes en la determinación del éxito de un ciclo de diagnóstico genético preimplantacional son la edad y el número de ovocitos recuperados. El número de ovocitos recuperados contribuye de forma significativa e independiente al

resultado acumulado del proceso con una Odds Ratio de 1.02 (Verpoest et al., 2009). No existe un consenso acerca del punto de partida ideal, en cuanto a número de ovocitos se refiere, en los ciclos de diagnóstico genético preimplantacional. Algunos estudios encuentran que por debajo de 8-9 ovocitos se observa una reducción significativa de los resultados (Vandervoost et al., 1998; Tur-Kaspa et al., 2007; Gleicher et al., 2008).

Según un análisis de nuestros datos, que no han sido publicados, si tenemos en cuenta la tasa de fecundación y evolución embrionaria, para poder biopsiar al menos 5 embriones se necesita disponer de al menos 9.3 ovocitos metafase II. Por dicho motivo, nuestro proceder habitual, si la recuperación inicial es inferior a 10 ovocitos metafase II, es vitrificar los ovocitos para acumularlos con los de un siguiente ciclo. De hecho, la estrategia de acumular ovocitos ya ha sido descrita para pacientes con baja respuesta en FIV clásico, observándose una tasa de embarazo por paciente del 36.4% en aquellas que acumulan y del 23.7% en las que no, diferencia estadísticamente significativa (Cobo et al., 2012).

En el diagnóstico genético preimplantacional, esta estrategia ha sido analizada por Milán y colaboradores en mujeres que hacían cribado de aneuploidías por edad avanzada mediante técnica de FISH (Milán et al., 2010); otros autores la describen a propósito de un caso (Chung et al., 2012; Mondadori et al., 2012) o con una serie de 13 casos (Chatziparasidou et al., 2014).

6.2.1. Características basales de las pacientes

Si bien la distribución de la muestra por grupos de edad es similar a la observada en el bloque 1, con el grueso de ciclos entre los grupos 1 y 2, en este bloque predomina el G2, indicando que es sobre todo a partir de los 40 años cuando se empieza a pensar en el cribado de aneuploidías como estrategia alternativa al FIV estándar.

A diferencia de lo que sucede en el primer bloque, no se observan diferencias significativas de los parámetros de reserva ovárica entre los grupos de edad; sin embargo, el tamaño muestral es pequeño dentro de cada grupo. No obstante, lo que sí que se desprende de los datos de reserva ovárica de las pacientes sometidas a FIV con cribado de aneuploidías preimplantacional, es que esta estrategia se plantea a mujeres de edad reproductiva avanzada pero con una reserva ovárica correcta. De hecho, en nuestra población, las mujeres de ≥ 38 años con valores de hormona antimulleriana <1.05 ng/ml tienen una

probabilidad del 95.7% de tener <10 ovocitos maduros recuperados tras una única estimulación ovárica.

En nuestra serie, en el 66.9% de los casos hubo que hacer más de una estimulación con el objetivo de disponer de al menos 10 ovocitos metafase II; la probabilidad de tener que acumular incrementó con la edad.

6.2.2. Ciclos de FIV ICSI con cribado de aneuploidías preimplantacional en fresco

En nuestra población sometida a FIV con cribado de aneuploidías, con una **media de ciclos** realizados entre 1.8 y 2, se logra alcanzar el mínimo de 10 ovocitos metafase II para inseminar, que es nuestra recomendación para continuar con el procedimiento en todos los grupos de edad.

Igual que sucede en fresco, no se observan diferencias significativas en las **tasas de fecundación** a lo largo de los cuatro grupos etarios; tampoco si diferenciamos entre ovocitos frescos y desvitrificados, si bien parece que a partir de los 42 años las diferencias según la procedencia del ovocito se hacen más notables.

Según nuestros resultados, las **tasas de evolución embrionaria** no difirieron de forma significativa entre los 4 grupos de edad. Si consideramos este parámetro en función de la procedencia de los ovocitos, en global (todas las edades), la tasa de evolución embrionaria fue significativamente más alta con los ovocitos frescos que con los desvitrificados. Sin embargo, si analizamos por subgrupos de edad, sólo se observan diferencias estadísticamente significativas en el G3. En el resto de grupos las diferencias no alcanzan significación estadística. Es posible que los tamaños muestrales reducidos de cada subgrupo estén afectando a nuestros resultados. En un estudio llevado a cabo en donantes de ovocitos, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en la tasa de evolución embrionaria a día 3 entre ovocitos frescos y desvitrificados, procedentes de la misma cohorte folicular (Solé et al., 2013). Si consideramos la tasa de blastulación, algunos autores encuentran tasas significativamente menores con ovocitos vitrificados que con frescos (Forman et al., 2012; Goldman et al., 2013). No obstante, se trata de un tema controvertido pues otros autores, en donantes de ovocitos, no encuentran diferencias significativas en la tasa de formación de blastocistos entre ovocitos frescos y vitrificados (Cobo et al., 2008; Nagy et al., 2009).

Teniendo en cuenta que no hay diferencias significativas entre los diferentes grupos de edad en relación al número de ovocitos inseminados, la tasa de fecundación y de evolución embrionaria hasta día 3, tampoco las hubo en la media de embriones biopsiados (8.5 embriones en G1 y 7.1 en G4).

La **tasa de euploidía** disminuyó con el incremento de edad, pasando de un 19.3% en el G1 a un 1.6% en el G4. Se objetiva un descenso en la tasa de euploidía clínicamente relevante pero no estadísticamente significativo entre el G1 y el G2; a partir del G4 el descenso es significativo. Otros autores, describen tasas de euploidía tras biopsia en día 3 y análisis con aCGH del 26.3% a los 38-40 años, del 14.2% entre los 41-42 años y del 7.4% en mayores de 42 años (Harton et al., 2013). La tasa de euploidía global (todas las edades) no difirió de forma significativa en función de la procedencia de los ovocitos. De nuevo, si hacemos este análisis por subgrupos de edad, sólo encontramos diferencias significativas en el G3 a favor de los ovocitos frescos; de hecho, en este grupo la tasa de euploidía en los ovocitos en fresco probablemente sea más alta de lo esperado para la edad, mientras que con los desvitrificados sucede lo contrario, y probablemente por eso las diferencias sean significativas. Resultará interesante confirmar este resultado con mayor tamaño muestral. La ausencia de diferencias significativas observadas para el resto de grupos está en concordancia con lo descrito por Forman (Forman et al., 2012).

En este estudio la tasa de euploidía se analizó solamente en función de los grupos de edad. Otros autores han intentado buscar asociación también con el número de ovocitos recuperados observando que la tasa de aneuploidía permanece constante independientemente del número de ovocitos recuperados (Milán et al., 2010).

A pesar de que en este estudio se hizo biopsia de una única blastómera en día 3 del desarrollo embrionario, la tasa observada de embriones sin diagnóstico fue del 9.6%, que está en línea con la tasa publicada en la literatura (Moutou et al., 2014).

La **probabilidad de llegar a transferencia** disminuyó de forma significativa con el incremento de edad. Hasta los 41 años, al menos la mitad de los ciclos llegan a transferencia embrionaria, a los 42-43 años llegan un 41.4%, y a partir de los 44 años cabe destacar que sólo el 11.8% de los ciclos llegan a transferencia, y ello a pesar de que en este grupo de edad, en el 76.4% de las ocasiones se realiza más de un ciclo de estimulación. Es posible que en el grupo de 42-43 años, con un ciclo más de estimulación ovárica, se lograra

alcanzar tasas de transfer cercanas al 50%, pero con los resultados obtenidos en este estudio, teniendo en cuenta las limitaciones del tamaño muestral, parece quedar claro que a partir de los 44 años habría que hacer tantos ciclos de estimulación para obtener un embrión euploide y llegar a transferencia que el beneficio de esta estrategia queda cuestionado.

Una vez superada la barrera de llegar a transferencia, las **tasas de implantación** se mantienen estables a lo largo de los 4 grupos y lo mismo sucede con las tasas de embarazo por transferencia embrionaria. Si bien se ha descrito que la biopsia en D3 reduce las tasas de implantación, incluso comparando con controles no biopsiados (Scott et al., 2013), las obtenidas en este estudio en los ciclos de cribado de aneuploidías preimplantacional se encuentran entre el 50% y el 62.5%, siendo la tasa global del 51%. En un trabajo similar al nuestro pero con menor tamaño muestral (n=25 ciclos), se describen tasas de implantación del 48.6% en mujeres ≥ 38 años tras biopsia en día 3 y análisis por CGH (Keltz et al., 2013). En contrapartida, en un estudio aleatorizado en mujeres de ≥ 37 años en el que se biopsian los embriones en día 3 y se analizan mediante técnica de FISH, no se observan diferencias significativas entre el grupo estudio y el control (17.1% *vs.* 11.5%) (Staessen et al., 2004). Schoolcraft, haciendo análisis de los 24 cromosomas con biopsia de trofooctodermo, encuentra tasas de implantación cercanas al 70% en mujeres mayores de 35 años (Schoolcraft et al., 2010). Esta diferencia de resultados entre los distintos estudios pone de manifiesto, por una parte, la relevancia de analizar los 24 cromosomas y, por otra, el beneficio de la biopsia de trofooctodermo.

Si bien las **tasas de embarazo por ciclo** disminuyen con el incremento de edad (38.1% en G1 y 5.9% en G4), si analizamos este parámetro en términos de **transferencia**, de nuevo, los resultados se mantienen estables a lo largo de los 4 grupos de edad (entre un 50% y un 66.7%), quedando pues mitigado el efecto de la edad, tal y como refieren otros autores (Harton et al., 2013; Schoolcraft et al., 2013).

De los embarazos obtenidos en los ciclos de FIV con cribado de aneuploidías preimplantacional, hubo 5 pérdidas gestacionales, de las que 2 fueron embarazos extrauterinos y 3 fueron abortos de primer trimestre; desafortunadamente, no se dispone del estudio del cariotipo de las vellosidades coriales pero tenemos constancia de que uno se relacionó con un cuadro de sepsis. En global, la tasa de aborto fue del 12.8%, similar a los

datos aportados por otros autores en edad avanzada, que encuentran una tasa de aborto del 7.1% (Harton et al., 2013) o del 13.3% (Keltz et al., 2013).

Las **tasas de nacido vivo por ciclo** disminuyeron con el incremento de edad, pasando de un 31% en el G1, al 25.9% en G2, 20.7% en G3 y 5.9% en G4. Será importante analizar si los grupos 2 y 3 siguen manteniendo resultados tan similares con mayor tamaño muestral.

6.2.3. Ciclos de criotransferencia

Se han realizado sólo 5 ciclos de criotransferencia, que han dado lugar a 2 embarazos y 1 nacido vivo. La pérdida gestacional fue un caso de transferencia de embriones que se criopreservaron sin diagnóstico.

6.2.4. Tasas acumuladas de embarazo y nacido vivo

La tasa acumulada de nacido vivo tras el cribado de aneuploidías preimplantacional es del 31% en G1, 27.8% en G2, 20.7% en G3 y 5.9% en G4. Teniendo en cuenta que el periodo analizado en este bloque es más reciente, es posible que las tasas acumuladas aún no sean valorables al completo. No obstante, este dato, en esta estrategia, cobra menos importancia puesto que uno de los principales beneficios de la misma debería ser acelerar el tiempo hasta nacido vivo aumentando la eficacia de la primera transferencia embrionaria.

6.2.5. Estrategia de acumulación de ovocitos

Si bien el tamaño muestral es pequeño, nuestros datos ponen de manifiesto que la vitrificación de ovocitos para acumular es una estrategia eficaz en casos con respuesta ovárica insuficiente para realizar un cribado de aneuploidías preimplantacional.

Las **tasas de supervivencia ovocitaria a la desvitrificación** disminuyeron según aumentó la edad, pero las diferencias no fueron estadísticamente significativas, pasando de ser un 82.7% en el G1 a un 75% en el G4. Cabe mencionar que en este último grupo el intervalo de confianza fue amplio, muy probablemente relacionado con el reducido tamaño muestral. Si bien se ha descrito que, tal y como sucede en fresco, la edad tiene un impacto negativo en las tasas de éxito también con los ovocitos vitrificados (Goldman et al., 2013), no se han encontrado datos a cerca del impacto de la edad en la supervivencia a la

desvitrificación de los ovocitos. En líneas generales, se publican tasas de supervivencia entre el 82% (pacientes con edad media de 33 años) (Goldman et al., 2013) y 85.6% (donantes de ovocitos) (Solé et al., 2013).

La acumulación de ovocitos permite convertir a las pacientes con respuestas inicialmente insuficientes en normo-respondedoras; tal es así que, con una media de 2.3 ciclos de estimulación en los casos de acumulación, se equipara no sólo el número de ovocitos inseminados si no también el de embriones disponibles para biopsiar, en todos los grupos de edad. De hecho, si nos fijamos exclusivamente en los ovocitos desvitrificados, se observa cómo la vitrificación de ovocitos permite disponer de 4 embriones adicionales para biopsiar en el G1, 3.2 en el G2, 2.6 en el G3 y 2.8 en el G4. En el G3, que es el grupo en el cual la tasa de evolución embrionaria fue significativamente menor con ovocitos vitrificados, el rendimiento de la acumulación fue menor a lo esperado. Resultará de interés conocer si estos resultados se mantienen con mayor tamaño muestral.

6.2.6. Limitaciones

Este bloque tiene dos principales limitaciones, además de la derivada de su naturaleza retrospectiva.

La primera es el pequeño tamaño muestral, sobre todo al haber querido mantener los grupos de edad del primer bloque, pero consideramos que era importante hacerlo así para no perder la coherencia con el primer bloque y poder analizar el impacto de la edad de forma más precisa. Esta circunstancia, sin duda, implica precaución a la hora de interpretar los resultados de todo este bloque. A excepción del trabajo de Milán, que cuenta con un tamaño muestral considerablemente superior (1117 ciclos) pero, en contrapartida, la técnica utilizada era el FISH (Milán et al., 2010), la mayoría de los trabajos que van en la misma línea que el presentado se caracterizan por tener tamaños muestrales similares al nuestro o ligeramente superiores (Staessen et al., 2004; Schoolcraft et al., 2009; Harton et al., 2013; Keltz et al., 2013).

La otra limitación es que se comunican resultados referentes a biopsias en día 3 y, como se mencionó con anterioridad, esto se asocia a un mayor riesgo de mosaicismos y diagnósticos erróneos, así como a menores tasas de implantación, que cuando se realiza biopsia de trofoectodermo (Capalbo et al., 2015). Este mayor riesgo de falsos positivos, observado

con biopsias de una única blastómera en día 3 del desarrollo embrionario, podría interferir negativamente en los resultados observados en este segundo bloque. En el momento actual estamos a la espera de analizar nuestra experiencia con las biopsias en estadio de blastocisto, que se están realizando desde inicio del año 2015.

A pesar de que en la actualidad el cribado de aneuploidías preimplantacional debe concebirse como biopsia de trofoectodermo con el estudio completo de los 24 cromosomas, según algún autor, no se deben despreciar los resultados aportados en los estudios de biopsia en día 3, puesto que con el estudio completo de los 24 cromosomas la tasa de concordancia de los resultados de día 3 y blastocisto que obtuvieron para un embrión dado fue del 94.2% (Keltz et al., 2013).

6.3. DISCUSIÓN SOBRE AMBOS ABORDAJES EN MUJERES DE ≥ 38 AÑOS

Tal y como se ha dicho con anterioridad, el tipo de estudio realizado no permite comparar ambas estrategias (FIV estándar *v.* FIV con cribado de aneuploidías preimplantacional) correctamente pues se trata de poblaciones diferentes y periodos de estudio diferentes.

Además, en el grupo de cribado de aneuploidías, casi en el 70% de los casos se ha realizado más de un ciclo de estimulación ovárica, mientras que en FIV estándar estamos analizando el rendimiento de una única estimulación ovárica. No obstante, de los resultados obtenidos en ambos bloques se desprenden una serie de reflexiones que se comentan a continuación.

Si bien las medias de edad dentro de cada grupo fueron similares en ambos bloques, los datos de reserva ovárica para cada grupo de edad en el bloque del cribado de aneuploidías son más favorables que en el de FIV estándar, poniendo de manifiesto que probablemente esta estrategia se ofrezca sólo en aquellos casos de edad avanzada con pronóstico de respuesta favorable.

La tasa de transfer fue menor en el bloque de cribado de aneuploidías preimplantacional, para todos los grupos de edad. Si bien estas diferencias se deben principalmente a la selección cromosómica, no podemos descartar la influencia de los diferentes momentos de la transferencia embrionaria entre ambos bloques (día 2 ó 3 en FIV estándar *v.* día 5 en

FIV con cribado de aneuploidías). La reducción de la tasa de transferencia fue de aproximadamente un 25% en G2 y G3, y de un 50% en G4. En G1 la reducción fue menor puesto que la tasa de transferencia embrionaria en el grupo del cribado fue elevada, lo que probablemente se explique porque el número de embriones disponibles para biopsiar en este grupo compense la tasa de aneuploidía concreta del mismo. Esto contrasta con lo publicado en un estudio donde se evidencia que, a partir de los 40 años, el cribado de aneuploidías preimplantacional no reduce significativamente la tasa de transfer (Milán et al., 2010); no obstante, en dicho estudio el tipo de análisis utilizado era el FISH y probablemente la discrepancia entre nuestros resultados y los de dicho trabajo se deba a este factor. En este sentido, cabe mencionar que en un trabajo donde se analiza el impacto en la selección embrionaria que tiene el hacer el cribado de aneuploidías en blastocisto comparándolo con los criterios morfológicos tradicionales, se observó que el 22% de los embriones seleccionados por morfología para transferir en día 5 eran aneuploides, lo que se elevó hasta el 31% para las mujeres de ≥ 35 años (Forman et al., 2013).

Asimismo, mientras que el cribado de aneuploidías ofrece unas tasas de implantación estables a lo largo de los 4 grupos de edad, de aproximadamente un 50%, con el FIV estándar éstas no superan el 15% en el mejor de los casos y disminuyen de forma significativa con el incremento de edad. Este hallazgo concuerda con lo publicado en una revisión sistemática reciente que concluye que el embrión que ha sido cribado tiene un potencial de implantación mayor que el que no lo ha sido (Lee et al., 2015).

En relación a las tasas acumuladas de nacido vivo, se observa, para todos los grupos de edad, que éstas son más altas cuando se hace el cribado de aneuploidías preimplantacional que en el FIV estándar, siendo las diferencias menos notables en el G4, probablemente porque se necesitarían más ciclos de estimulación ovárica para poder llegar a transferencia y entonces notar las diferencias. De todas formas, para hacer un análisis justo de ambas estrategias, deberíamos de incluir sólo aquellos casos de cribado de aneuploidías con una única estimulación ovárica; en nuestro estudio, estos casos son tan reducidos que los resultados podrían llevar a confusión. Teóricamente, la tasa acumulada de nacido vivo por ciclo iniciado, ante igualdad de condiciones, debería de ser la misma en ambas estrategias (Capalbo et al., 2015). De hecho, si nos fijamos dentro del primer bloque (FIV estándar), exclusivamente en los casos en los que fue posible la congelación embrionaria, queda cuestionada la utilidad del cribado de aneuploidías (sobre todo para G1 y G2).

No obstante, el cribado de aneuploidías, al reducir el número de transferencias, disminuye los intentos fallidos de implantación o productos de gestación con aneuploidías, lo que contribuye a disminuir la ansiedad de los pacientes, la sensación de fracaso y la tasa de abandono del tratamiento. Sin olvidar las limitaciones del presente trabajo para establecer comparaciones, la tasa de aborto global en FIV estándar fue del 31.8%, mientras que tras el cribado de aneuploidías se redujo al 12.8%. El impacto emocional del tiempo hasta nacido vivo es otro factor a considerar. Según nuestros resultados, incluyendo también los casos en los que se realiza más de un ciclo de estimulación ovárica y considerando la primera punción como tiempo cero, a los 6 meses, la tasa acumulada de embarazo que da lugar a nacido vivo es mayor para todos los grupos de edad en el grupo que hace cribado de aneuploidías preimplantacional. Las diferencias son menos notables en los grupos extremos (G1 y G4); de hecho, en G1, a los 18 meses las tasas acumuladas son similares entre ambos abordajes.

De lo anteriormente expuesto se puede deducir que, si se llega a transferencia, el beneficio del cribado de aneuploidías preimplantacional es evidente, puesto que las tasas de nacido vivo son superiores a cuando se realiza el ciclo de FIV estándar y, además, se mantienen estables independientemente de la edad. Es en este punto clave, en la probabilidad de llegar a transferencia, donde cobra importancia la acumulación de ovocitos en pacientes con respuesta inicialmente insuficiente. Cabe destacar que, para que la acumulación de ovocitos mantenga sus ventajas, hay tres aspectos básicos a considerar: en primer lugar, como ya se ha mencionado, la correcta selección de las pacientes en cuanto a su reserva ovárica; en segundo lugar, aunque no ha sido objeto de análisis en esta Tesis, la optimización de la programación de los ciclos de estimulación para minimizar el tiempo total hasta transferencia y, por último, tener a disposición un laboratorio de criobiología que proporcione buenas tasas de supervivencia a la desvitrificación ovocitaria en todos los grupos de edad, para minimizar la pérdida de ovocitos en este proceso.

7. CONCLUSIONES

1. Se han identificado parámetros, edad y número de ovocitos recuperados, con los que se ha desarrollado un modelo predictivo de tasa acumulada de nacido vivo. El modelo predictivo permite individualizar el pronóstico y asesorar a las pacientes con datos objetivos:

- a partir de los 44 años, la tasa acumulada de nacido vivo, independientemente de la respuesta ovárica, no alcanza el 3% y, por tanto, la recomendación sería el uso de ovocitos donados.

- para el resto de franjas etáreas, el asesoramiento se hará en función de la edad y la respuesta ovárica esperada.

2. El cribado de aneuploidías preimplantacional en mujeres ≥ 38 años con reserva ovárica favorable, aumenta la tasa de implantación, disminuye la tasa de abortos y aumenta la tasa de nacido vivo por transferencia embrionaria. La tasa de transferencia a partir de los 44 años no alcanza el 13%, por lo que el principal beneficio en este grupo de edad se limita a la prevención de fallos de implantación y de abortos.

8. BIBLIOGRAFIA

A

Adamson, G. D., Tabangin, M., Macaluso, M., & de Mouzon, J. The Number of Babies Born Globally after Treatment with the Assisted Reproductive Technologies (ART). *Fertil Steril*. 2013;100(3):S42.

Alfarawati S, Fragouli E, Colls P, Stevens J, Gutierrez-Mateo C, Schoolcraft W.B, et al. The relationship between blastocyst morphology, chromosomal abnormality, and embryo gender. *Fertil Steril*. 2011;95(2):520-4.

B

Baizán P, Aassve A, Billari FC. Cohabitation, marriage, and first birth: the interrelationship of family formation events in Spain. *Eur J Popul*. 2003;19(2):147-69.

Baker VL, Rone HM, Pasta DJ, Nelson HP, Gvakharia M, Adamson GD. Correlation of thyroid stimulating hormone (TSH) level with pregnancy outcome in women undergoing in vitro fertilization. *Am J Obstet Gynecol*. 2006;194(6):1668–74.

Bellver J, Soares SR, Alvarez C, Muñoz E, Ramirez A, Rubio C et al. The role of thrombophilia and thyroid autoimmunity in unexplained infertility, implantation failure and recurrent spontaneous abortion. *Hum Reprod*. 2008a; 23(2):278-84.

Bellver J, Garrido N, Remohi J, Pellicer A, Meseguer M. Influence of paternal age on assisted reproduction outcome. *Reprod Biomed Online*. 2008b;17(5):595-604.

Bellver J, Ayllon Y, Ferrando M, Melo M, Goyri E, Pellicer A, Remohi J, Meseguer M. Female obesity impairs in vitro fertilization outcome without affecting embryo quality. *Fertil Steril*. 2010;93(2):447–54.

Benedict MD, Missmer SA, Vahratian A, Berry KF, Vitonis AF, Cramer DW, et al. Secondhand tobacco smoke exposure is associated with increased risk of failed implantation and reduced IVF success. *Hum Reprod*. 2011;26(9):2525–31.

Blake L, Jadvá V, Golombok S. Parent psychological adjustment, donor conception and disclosure: a follow-up over 10 years. *Hum Reprod.* 2014; 29(11):2487-96.

Bohlmann MK. Effects and effectiveness of heparin in assisted reproduction. *J Reprod Immunol.* 2011;90(1):82–90.

Boivin J, Bunting L, Collins JA, Nygren KG. International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. *Hum Reprod.* 2007;22(6):1506-12.

Boivin J, Riceb F, Haya D, Harold G, Lewis A, van den Bree M, et al. Associations between maternal older age, family environment and parent and child wellbeing in families using assisted reproductive techniques to conceive. *Soc Sci Med.* 2009;68(11):1948-55.

Brand JE, Davis D. The impact of colleague education on fertility: evidence for heterogenous effects. *Demography.* 2011;48(3):863-87.

Broekmans FJ, Soules MR, Fauser BC. Ovarian Aging: Mechanisms and Clinical Consequences. *Endocrine Reviews.* 2009;30(5):465-93.

Brown J, Buckingham K, Abou-Setta AM, Buckett W. Ultrasound versus 'clinical touch' for catheter guidance during embryo transfer in women. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010;20(1):CD006107.

C

Cabry R, Merviel P, Hazout A, Belloc S, Dalleac A, Copin H et al. Management of infertility in women over 40. *Maturitas.* 2014;78:17-21.

Calaf J, Arqué M, Porta O, D'Angelo E. El mioma como problema clínico. *Med Clín (Barc).* 2013;141(1):1-6.

Capalbo A, Poggiana C, Patassini C, Checchele A, Scepi E, Cimadomo D et al. Preimplantation genetic screening: definition, role in IVF, evolution and future perspectives. *Current Trends in Clinical Embryology.* 2015;2(2):56-64.

Castles F. The world turned upside down: below replacement fertility, changing preferences and family-friendly public policy in 21 OECD countries. *J Euro Soc Pol.* 2003;13(3):209-27.

Centers for Disease Control and Prevention, American Society for Reproductive Medicine, Society for Assisted Reproductive Technology. 2013 Assisted Reproductive Technology National Summary Report. Atlanta (GA): US Dept of Health and Human Services 2015. [consultado por última vez en noviembre 2015]. Disponible en: http://www.cdc.gov/art/pdf/2013-report/art_2013_national_summary_report.pdf

Cetinkaya MB, Siano LJ, Benadiva C, Sakkas D, Patrizio P. Reproductive outcome of women 43 years and beyond undergoing ART treatment with their own oocytes in two Connecticut university programs. *J Assist Reprod Genet.* 2013;30:673-8.

Chambers, G M, Hoang VP, Sullivan EA, Chapman MG, Ishihara O, Zegers-Hochschild F et al. The Impact of Consumer Affordability on Access to Assisted Reproductive Technologies and Embryo Transfer Practices. An International Analysis. *Fertil Steril.* 2014;101(1):191-8.

Chan CHY, Chan THY, Peterson BD, Lampic C, Tam MYJ. Intentions and attitudes towards parenthood and fertility awareness among Chinese university students in Hong Kong: a comparison with Western samples. *Hum Reprod.* 2015;30(2):364-72.

Chatziparasidou A, Nijs M, Moisisidou M, Chara O, Ioakeimidou C, Pappas C et al. Accumulation of oocytes and/or embryos by vitrification: a new strategy for managing poor responder patients undergoing pre implantation diagnosis. *F1000Research.* 2014, 2:240.

Chian R, Huang J, Tan S, Lucena E, Saa A, Rojas A, et al. Obstetric and perinatal outcome in 200 infants conceived from vitrified oocytes. *Reprod BioMed Online.* 2008;16(5):608-10.

Chung JT, Son WY, Zhang XY, Ao A, Tan SL, Holzer H. Normal birth following PGD for reciprocal translocation after serial vitrification of oocytes from a poor responder: a case report. *Reprod Biomed Online.* 2012; 25(5): 521–6.

Cicinelli E, Matteo M, Tinelli R, Lepera A, Alfonso R, Indraccolo U et al. Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate

after antibiotic therapy. *Hum Reprod.* 2015;30(2):320-30.

Cil AP, Bang H, Oktay K. Age-specific probability of live-birth with oocyte cryopreservation: An individual patient data metaanalysis. *Fertil Steril.* 2013;100(2):492–9.

Ciray HN, Ulug U, Tosun S, Erden HF, Bahceci M. Outcome of 1114 ICSI and embryo transfer cycles of women 40 years of age and over. *Reprod Biomed Online.* 2006;13(4):516-22.

Clua E, Tur R, Coroleu B, Boada M, Barri PN, Veiga A. Analysis of factors associated with multiple pregnancy in an oocyte donation programme. *Reprod Biomed Online.* 2010;21(5):694-9.

Cobo A, Kuwayama M, Perez S, Ruiz A, Pellicer A, Remohi J. Comparison of conomitant outcome achieved with fresh and cryopreserved donor oocytes vitrified by the Cryotop method. *Fertil Steril.* 2008;89:1657-64.

Cobo A, Garrido N, Crespo J, José R, Pellicer A. Accumulation of oocytes: a new strategy for managing low-responder patients. *Reprod Biomed Online.* 2012a;24(4):424-32.

Cobo A, de los Santos MJ, Castelló D, Gámiz P, Campos P, Remohí J. Outcomes of vitrified early cleavage-stage and blastocyst-stage embryos in a cryopreservation program: evaluation of 3150 warming cycles. *Fertil Steril.* 2012b;98(5):1138-46.

Coroleu B, Carreras O, Veiga A, Martell A, Martínez F, Belil I et al. Embryo transfer under ultrasound guidance improves pregnancy rates after in-vitro fertilization. *Hum Reprod.* 2000; 15(3):616–20.

Coughlan C, Ledger W, Wang Q, Liu F, Demiroglu A, Gurgan T et al. Recurrent implantation failure: definition and Management. *Reprod Biomed Online.* 2014;28(1):14-38.

D

Dain L, Auslander R, Dirnfeld M. The effect of paternal age on assisted reproduction outcome. *Fertil Steril.* 2011;95(1):1–8.

Dal Prato L, Borini A, Cattoli M, Preti MS, Serrao L, Flamigni C. Live birth after IVF in a 46-year-old woman. *Reprod Biomed Online*. 2005;11(4):452-4.

Daniluk JC, Koert E, Cheung A. Childless women's knowledge of fertility and assisted human reproduction: identifying the gaps. *Fertil Steril*. 2012;97(2):420-6.

Daniluk JC, Koert E. Fertility awareness online: the efficacy of a fertility education website in increasing knowledge and changing fertility beliefs. *Hum Reprod*. 2015;30(2):353-63.

Danylevska A, Sebestova J. Causes and consequences of maternal age-related aneuploidy in oocytes: a review. *Veterinarni Medicina*. 2013;58(2):65-72.

De Brucker M, Tournaye H, Haentjens P, Verheyen G, Collins J, Camus M. Assisted reproduction counselling in women aged 40 and above: a cohort study. *J Assist Reprod Genet*. 2013;30:1431-8.

de La Rochebrochard E, de Mouzon J, Thépot F, Thonneau P. Fathers over 40 and increased failure to conceive: the lessons of in vitro fertilization in France. *Fertil Steril*. 2006;85(5):1420-4.

de Sá Rosa e de Silva AC, Rosa e Silva JC, Candido dos Reis FJ, Nogueira AA, Ferriani RA. Routine office hysteroscopy in the investigation of infertile couples before assisted reproduction. *J Reprod Med*. 2005;50(7):501-6.

De Vos A, Staessen C, De Rycke M, Verpoest W, Haentjens P, Devroey P et al. Impact of cleavage-stage embryo biopsy in view of PGD on human blastocys implantation: a prospective cohort of single embryo transfers. *Hum Reprod*. 2009;24(12):2988-96.

Devroey P, Polyzos NP, Blockeel C. An OHSS-free clinic by segmentation of IVF treatment. *Hum Reprod*. 2011;26(10):2593-7.

Diedrich K, Fauser JM, Devroey P, Griesinger G. The role of the endometrium and embryo in human implantation. *Hum Reprod Update*. 2007;13(4):365-77.

Dimitriadis E, White CA, Jones RL, Salamonsen LA. Cytokines, chemokines and growth factors in endometrium related to implantation. *Hum Reprod Update*. 2005;11(6):613-30.

Dondorp W, de Wert G, Pennings G, Shenfield F, Devroey P, Tarlatzis B et al. ESHRE Task Force on Ethics. Oocyte cryopreservation for age-related fertility loss. *Hum Reprod*.

2012;27(5):1231–7.

Donnez J, Jadoul P. What are the implications of myomas on fertility? A need for a debate? Hum Reprod. 2002;17(6):1424-30.

Durlinger AL, Kramer P, Karels B, de Jong FH, Uilenbroek JT, Grootegoed JA, et al. Control of primordial follicle recruitment by anti-Müllerian hormone in the mouse ovary. Endocrinology. 1999;140(12):5789-96.

E

Eijkemans MJC, van Poppel F, Habbema DF, Smith KR, Leridon H, te Velde EG. Too old to have children? Lessons from natural fertility populations. Hum Reprod. 2014;29(6):1304-12.

Elram T, Simon A, Israel S, Revel A, Shveiky D, Laufer N. Treatment of recurrent IVF failure and human leukocyte antigen similarity by intravenous immunoglobulin. Reprod Biomed Online. 2005;11(6):745–9.

Eurostat [1]. Eurostat Statistical books 2015. Statistics explained. Being young in Europe today [consultado por última vez en mayo 2015]. Disponible en: http://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Being_young_in_Europe_today

Eurostat [2]. http://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Employment_statistics [consultado por última vez en mayo 2015].

Eurostat [3]. Eurostat newsrelease. General government in the EU. 2015 [consultado en noviembre 2015]. Disponible en: <http://ec.europa.eu/eurostat/documents/2995521/6899478/2-07072015-AP-EN.pdf/797f4af9-c37f-4631-8211-5dd0b32feb31>

Eurostat [4]. http://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Marriages_and_births_in_Spain/es [consultado por última vez en junio 2015].

Eurostat [5]. http://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Fertility_statistics [consultado por última vez en junio 2015].

Evans J, Hannan NJ, Edgell TA, Vollenhoven BJ, Lutjen PJ, Osianlis T et al. Fresh versus frozen embryo transfer: backing clinical decisions with scientific and clinical evidence. *Hum Reprod Update*. 2014;20(6):808-21.

F

Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A, Richardson SJ, Nelson JF. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. *Hum Reprod*. 1992;7(10):1342-6.

Farhi J, Ashkenazi J, Feldberg D, Dicker D, Orvieto R, Ben Rafael Z. Effect of uterine leiomyomata on the results of in-vitro fertilization treatment. *Hum Reprod*. 1995;10(10):2576.

Fergusson DM, Woodward LJ. Maternal age and educational and psychological outcomes in early adulthood. *J Child Psychol Psychiatry*. 1999;40(3):479-89.

Ferreira RC, Braga DP, Bonetti TC, Pasqualotto FF, Iaconelli A Jr, Borges E Jr. Negative influence of paternal age on clinical intracytoplasmic sperm injection cycle outcomes in oligozoospermic patients. *Fertil Steril*. 2010;93(6):1870-4.

Fiorentino F, Capalbo A, Bono S, Spizzichino L, Biricik A, Baldi M et al. Sequential comprehensive chromosome analysis on polar bodies, blastomeres and trophoblast: insights into female meiotic errors and chromosomal segregation in the preimplantation window of embryo development. *Hum Reprod*. 2013;28(2):509-18.

Forman E, Li X, Ferry K, Scott K, Treff N, Scott R. Oocyte vitrification does not increase the risk of embryonic aneuploidy or diminish the implantation potential of blastocysts created after intracytoplasmic sperm injection: a novel, paired randomized controlled trial using DNA fingerprinting. *Fertil Steril*. 2012;98(3):644-9.

Forman EJ, Upham KM, Cheng M, Zhao T, Hong KH, Treff NR et al. Comprehensive chromosome screening alters traditional morphology-based embryo selection: a prospective study of 100 consecutive cycles of planned fresh euploid blastocyst transfer. *Fertil Steril*. 2013;100(3):718-24.

Fragouli E, Alfarawati S, Spath K, Wells D. Morphological and cytogenetic assessment of cleavage and blastocyst stage embryos. *Mol Hum Reprod*. 2014; 20(2):117-26.

G

Garcia-Velasco JA, Domingo J, Cobo A, Martínez M, Carmona L, Pellicer A. Five years' experience using oocyte vitrification to preserve fertility for medical and nonmedical indications. *Fertil Steril*. 2013;99(7):1994-9.

Garrison ME, Blalock LB, Zarski JJ, Merritt PB. Delayed parenthood: An exploratory study of family functioning. *Fam Relations*. 1997;46(3):281-90.

Gleicher N, Weghofer A, Barad D. Too old for IVF: are we discriminating against older women?. *J Assist Reprod Genet*. 2007;24(2):639-44.

Gleicher N, Weghofer A, Barad D. Preimplantation genetic screening: “established” and ready for prime time? *Fertil Steril*. 2008;89(4):780-8.

Gleicher N, Vidali A, Barad DH. Successful treatment of unresponsive thin endometrium. *Fertil Steril*. 2011;95(6):2123.e13-7.

Gleicher N, Kushnir VA, Weghofer A, Barad DH. The “graying” of infertility services: an impending revolution nobody is ready for. *Reprod Biol Endocrinol*. 2014;12:63-75.

Goldman KN, Noyes NL, Knopman JM, McCaffrey C, Grifo JA. Oocyte efficiency: does live birth rate differ when analyzing cryopreserved and fresh oocytes on a per-oocyte basis?. *Fertil Steril*. 2013;100(3):713-7.

Goldstein JR, Sobotka T, Jasilioniene A. The end of lowest-low fertility? *Popul Dev Rev*. 2009;35(4):663-700.

Gutiérrez-Mateo C, Colls P, Sánchez-García J, Escudero T, Prates R, Ketterson K, et al. Validation of microarray comparative genomic hybridation for comprehensive chromosome analysis of embryos. *Fertil Steril*. 2010;95(3):953-8.

H

Hansen KR, Knowlton NS, Thyer AC, Charleston JS, Soules MR, Klein NA. A new model of reproductive aging: the decline in ovarian non-growing follicle number from birth to menopause. *Hum Reprod.* 2008;23(3):699–708.

Hardarson T, Hanson C, Lundin K, Hillensjö T, Nilsson L, Stevic J, et al. Preimplantation genetic screening in women of advanced maternal age caused a decrease in clinical pregnancy rate: a randomized controlled trial. *Hum Reprod.* 2008;23(12):2806–12.

Harton GL, Magli MC, Lundin K, Montag M, Lemmen J, Harper JC; European Society for Human Reproduction and Embryology (ESHRE) PGD Consortium/Embryology Special Interest Group. ESHRE PGD consortium/embryology special interest group-best practice guidelines for polar body and embryo biopsy for preimplantation genetic diagnosis/screening (PGD/PGS). *Hum Reprod.* 2011;26(1):41-6.

Harton GL, Munné S, Surrey M, Grifo J, Kaplan B, McCulloh DH et al. Diminished effect of maternal age on implantation after preimplantation genetic diagnosis with array comparative genomic hybridization. *Fertil Steril.* 2013;100(6):1695-703.

Hassold TJ, Hunt P. To ERR (meiotically) is human: The genesis of human aneuploidy. *Nature Rev Genet.* 2001;2(4):280-91.

Hassold T, Hall H, Hunt P. The origin of human aneuploidy: where we have been, where we are going. *Hum Mol Genet.* 2007;16(2):203-8.

Hastie T, Tibshirani R. 1990. *Generalized Additive Models*, Chapman and Hall. Koster MPH, Wortelboer EJ, Stoutenbeek P, Visser GHA, Schielen PCIJ. 2010.

Hereter L, Carreras O, Pascual MA. Repercusión de la presencia de pólipos endometriales en un ciclo de FIV. *Prog Obstet Ginecol.* 1998;41:5–7.

Hodes-Wertz B, Druckenmiller S, Smith M, Noyes N. What do reproductive-age women who undergo oocyte cryopreservation think about the process as a means to preserve fertility?. *Fertil Steril.* 2013;100(5):1343-9.

Hourvitz A, Machtinger R, Maman E, Baum M, Dor J, Levron J. Assisted reproduction in women over 40 years of age: how old is too old?. *Reprod Biomed Online*. 2009;19(4):599-603.

Human Fertilization and Embryology Authority. Fertility treatment in 2010: trends and figures. London: HFEA; 2010. Disponible en www.hfea.gov.uk/docs/2011-11-16_-_Annual_Register_Figures_Report_final.pdf

Humm KC, Sakkas D. Role of increased male age in IVF and egg donation: is sperm DNA fragmentation responsible? *Fertil Steril*. 2013;99(1):30-6.

I

Instituto Nacional Estadística [1]. Instituto Nacional Estadística (INE). Notas de Prensa, 22 junio 2015 [consultado por última vez en septiembre 2015]. Disponible en: www.ine.es/prensa/np915.pdf

Instituto Nacional Estadística [2]. http://www.ine.es/prensa/mnp_prensa.htm [consultado por última vez en septiembre 2015].

Instituto Nacional Estadística [3]. <http://www.ine.es/daco/daco42/daco4211/epa0215.pdf> [consultado por última vez septiembre 2015].

J

Johnson N, van Voorst S, Sowter MC, Strandell A, Mol BW. Surgical treatment for tubal disease in women due to undergo in vitro fertilisation. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010;(1):CD002125.

Jones KT. Meiosis in oocytes: predisposition to aneuploidy and its increased incidence with age. *Hum Reprod Update*. 2008;14(2):143-58.

K

Keltz MD, Vega M, Sirota I, Lederman M, Moshier EL, Gonzales E et al. Preimplantation Genetic Screening (PGS) with Comparative Genomic Hybridization (CGH) following day 3 single cell blastomere biopsy markedly improves IVF outcomes while lowering multiple pregnancies and miscarriages. *J Assist Reprod Genet.* 2013;30:1333-9.

Klipstein S, Regan M, Ryley DA, Goldman MB, Alper MM, Reindollar RH. One last chance for pregnancy: a review of 2,705 in vitro fertilization cycles initiated in women age 40 years and above. *Fertil Steril.* 2005;84(2):435-45.

Kocourková J, Brucin B, Kučera T. Demographic relevancy of increased use of assisted reproduction in European countries. *Reproductive Health.* 2014;11:37.

Kocourková J, Konečná H, Burcin B, Kučera T. How old is too old? A contribution to the discussion on age limits for assisted reproduction technique access, *Reprod BioMed Online.* 2015;30(5):482-92.

Kohler H-P, Billari FC, Ortega JA. The emergence of lowest-low fertility in Europe during the 1990's. *Popul Dev Rev.* 2002;28(4):641–80.

Kolibianakis EM, Collins J, Tarlatzis BC, Devroey P, Diedrich K, Griesinger G. Among patients treated for IVF with gonadotrophins and GnRH analogues, is the probability of live birth dependent on the type of analogue used? A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2006;12(6):651-71.

Kupka MS, Gnoth C, Buehler K, Dahncke W, Kruessel JS. Impact of female and male obesity on IVF/ICSI: results of 700,000 ART cycles in Germany. *Gynecol Endocrinol.* 2011;27(3):144–9.

Kupka MS, Ferraretti AP, de Mouzon J, Erb K, D'Hooghe T, Castilla JA et al. Assisted reproductive technology in Europe, 2010: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod.* 2014;29(10):2099-113.

Kuwayama M, Vajta G, Kato O, Leibo SP. Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. *Reprod Biomed Online.* 2005;11(3):300–8.

L

La Marca A, Sunkara SK. Individualization of controlled ovarian stimulation in IVF using ovarian reserve markers: from theory to practice. *Hum Reprod Update*. 2014;20(1):124-40.

Lanzieri G. Towards a 'baby recession' in Europe? Differential fertility trends during the economic crisis. *Eurostat Statistics in focus* 2013;13. Disponible en: <http://www.thefamilywatch.org/doc/doc-0399-es.pdf>

Larsen U, Yan S. The age pattern of fecundability: an analysis of French Canadian and Hutterite birth histories. *Soc Biol*. 2000;47(1-2):34–50.

Lebovitz O, Orvieto R. Treating patients with “thin” endometrium – an ongoing challenge. *Gynecol Endocrinol*. 2014;30(6):409-14.

Lechner L, Bolman C, van Dalen A. Definite involuntary childlessness: associations between coping, social support and psychological distress. *Hum Reprod*. 2007;22(1):288-94.

Lee E, Illingworth P, Wilton L, Chambers GM. The clinical effectiveness of preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy in all 24 chromosomes (PGD-A): systematic review. *Hum Reprod*. 2015;30(2):473–83.

Liefbroer AC. The impact of perceived costs and rewards of childbearing on entry into parenthood: evidence from a panel study. *Eur J Popul*. 2005;21(4):367-91.

Lockwood GM. Social egg freezing: the prospect of reproductive ‘immortality’ or a dangerous delusion? *Reprod Biomed Online*. 2011;23(3):334-40.

Luke B, Brown MB, Stern JE, Missmer SA, Fujimoto VY, Leach R. Female obesity adversely affects assisted reproductive technology (ART) pregnancy and live birth rates. *Hum Reprod*. 2011;26(1):245–52.

Lund R, Sejbaek CS, Christensen U, Schmidt L. The impact of social relations on the incidence of severe depressive symptoms among infertile women and men. *Hum Reprod*. 2009;24:2810-20.

Ly KD, Agarwal A, Nagy ZP. Preimplantation Genetic Screening: does it help or hinder IVF treatment and what is the role of the embryo? *J Assist Reprod Genet.* 2011;28(9):833-49.

M

Mac Dougall K, Beyene Y, Nachtigall RD. Age shock: misperceptions of the impact of age on fertility before and after IVF in women who conceived after age 40. *Hum Reprod.* 2013;28(2):350-56.

Macer ML; Taylor HS. Endometriosis and infertility: a review of the pathogenesis and treatment of endometriosis-associated infertility. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2012;39(4):535-49.

Malizia BA, Hacker MR, Penzias AS. Cumulative Live-Birth Rates after In Vitro Fertilization. *N Engl J Med.* 2009;360:236-43.

Mansour RT, Aboulghar MA. Optimizing the embryo transfer technique. *Hum Reprod.* 2002;17(5):1149-53.

Martínez F, Latre L, Clua E, Rodríguez I, Coroleu B. Replacing GnRH agonists with GnRH antagonists in oocyte recipient cycle did not adversely affect the pregnancy rates. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2011;159:355-8.

Mastenbroek S, Twisk M, van Echten-Arends J, Sikkema-Raddatz B, Korevaar JC, Verhoeve HR, et al. In vitro fertilization with preimplantation genetic screening. *N Engl J Med.* 2007;357(1):9-17.

Matsumoto H, Ma WG, Daikoku T, Zhao Z, Paria BC, Das SK et al. Cyclooxygenase-2 differentially directs uterine angiogenesis during implantation in mice. *J Biol Chem.* 2002;277(32):29260-7.

McDonald P, Kippen R. Adelaide: Government of South Australia. Fertility in South Australia: an overview of trends and socio-economic differences (2009). Report to the Department of Trade and Economic Development.

Melford SE, Taylor AH, Konje JC. Of mice and (wo)men: factors influencing successful implantation including endocannabinoids. *Hum Reprod Update*. 2014;20(3):415-28.

Mertes H, Pennings G. Social egg freezing: for better, not for worse. *Reprod Biomed Online*. 2011;23(7):824-9.

Mertes H, Pennings G. Elective oocyte cryopreservation: who should pay? *Hum Reprod*. 2012;27(1):9-13.

Milán M, Cobo A, Rodrigo L, Mateu E, Mercader A, Buendía P et al. Redefining advanced maternal age as an indication for preimplantation genetic screening. *Reprod Biomed Online*. 2010;21:649-57.

Miller AR. The effect of motherhood timing on career path. *J Popul Econ*. 2011;24(3):1071-100.

Mills M, Rindfuss RR, McDonald P, te Velde E. ESHRE Reproduction and Society Task Force. Why do people postpone parenthood? Reasons and social policy incentives. *Hum Reprod Update*. 2011;17(6):848-60.

Mills M. Stability and change: the structuration of partnership histories in Canada, the Netherlands and the Russian Federation. *Eur J Popul*. 2004;20(2):141-75.

Mondadori AG, Ducatelli ME, Mincman J, Gallo A, Coco F et al. PGD by aCGH and QF-PCR in a couple with recurring aneuploidies. *JBRA Assist Reprod*. 2012;16(5):290-300.

Moutou C, Goossens V, Coonen E, de Rycke M, Kokkali G, Renwick P et al. ESHRE PGD Consortium data collection XII: cycles from January to December 2009 with pregnancy follow-up to October 2010. *Hum Reprod*. 2014;29(5):880–903.

Mulder CH. Home-ownership and family formation. *J Hous Built Environ*. 2006;21(3):281-98.

Munne S. Chromosome abnormalities and their relationship to morphology and development of human embryos. *Reprod Biomed Online*. 2006;12(2):234-53.

N

Ndukwe G. Recurrent embryo implantation failure after in vitro fertilisation: improved outcome following intralipid infusion in women with elevated T Helper 1 response. *Hum Fertil. (Camb)* 2011;14(2):21–2.

Noyes N, Porcu E, Borini A. Over 900 oocyte cryopreservation babies born with no apparent increase in congenital anomalies. *Reprod Biomed Online*. 2009;18(6):769-76.

O

Ottolini CS, Griffin DK, Thornhill AR. The Role of Aneuploidy Screening in Human Preimplantation Embryos, *Aneuploidy in Health and Disease*. Dr Zuzana Storchova (Ed.), InTech, 2012 [consultado por última vez en septiembre 2015]. Disponible en: <http://www.intechopen.com/books/aneuploidy-in-health-and-disease/the-role-of-aneuploidy-screening-in-human-preimplantation-embryos>

P

Parriego M, Solé M, Aurell R, Barri PN, Veiga A. Birth after transfer of frozen-thawed vitrified biopsied blastocysts. *J Assist Genet*. 2007;24(4):147-9.

Pennings G., Distributive Justice in the Allocation of Donor Oocytes. *J Assist Reprod Genet*. 2001;18(2):56–63.

Perez GI, Robles R, Knudson CM, Flaws JA, Korsmeyer SJ, Tilly JL. Prolongation of ovarian lifespan into advanced chronological age by BAX-deficiency. *Nature Genet*. 1999;21(2):200-3.

Polanski LT, Baumgarten MN, Quenby S, Brosens J, Campbell BK, Raine-Fenning NJ. What exactly do we mean by ‘recurrent implantation failure’? A systematic review and opinion. *Reprod Biomed Online*. 2014;28(4):409-23.

Practice Committees of American Society for Reproductive Medicine; Society for Assisted Reproductive Technology. Mature oocyte cryopreservation: a guideline. *Fertil Steril*. 2013;99(1):37-43.

Präg P, Mills M. Assisted reproductive technology in Europe. Usage and regulation in the context of cross-border reproductive care. *Families and societies*. 2015s [consultado por última vez septiembre 2015]. Disponible en: <http://www.familiesandsocieties.eu/wp-content/uploads/2015/09/WP43PragMills2015.pdf>

Pritts EA, Parker WH, Olive DL. Fibroids and infertility: an updated systematic review of the evidence. *Fertil Steril*. 2009;91(4):1215-23.

Pu D, Wu J, Liu J. Comparisons of GnRH antagonist versus GnRH agonist protocol in poor ovarian responders undergoing IVF. *Hum Reprod Update*. 2011;26(10):2742-9.

Q

Qublan H, Amarin Z, Dabbas M, Farraj AE, Beni-Merei Z, Al-Akash H, et al. Low-molecular-weight heparin in the treatment of recurrent IVF-ET failure and thrombophilia: a prospective randomized placebo-controlled trial. *Hum Fertil. (Camb)* 2008;11(4):246–53.

R

R Development Core Team (2008). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>

Rabinowitz M, Ryan A, Gemelos G, Hill M, Baner J, Cinnioglu C, et al. Origins and rates of aneuploidy in human blastomeres. *Fertil Steril*. 2012;97(2):395-401.

Rani G, Goswami S, Chattopadhyay R, Ghosh S, Chakravarty B, Ganesh A. Live birth in a 50-year-old woman following in vitro fertilization–embryo transfer with autologous oocytes: a rare case report. *Fertil Steril*. 2015;103(2):414-6.

Romero R, Espinoza J, Mazor M. Can endometrial infection/inflammation explain implantation failure, spontaneous abortion, and preterm birth after in vitro fertilization? *Fertil Steril*. 2004; 82(4):799-804.

Ruiz-Alonso M, Blesa D, Díaz-Gimeno P, Gómez E, Fernández-Sánchez M, Carranza F et al. The endometrial receptivity array for diagnosis and personalized embryo transfer as a treatment for patients with repeated implantation failure. *Fertil Steril*. 2013;100(3):818–24.

S

Sartorius GA, Nieschlag E. Paternal age and reproduction. *Hum Reprod Update*. 2010;16(1):65–79.

Schmidt L, Sobotka T, Bentzen JC, Nyboe Andersen A, on behalf of the ESHRE Reproduction and Society Task Force. *Hum Reprod Update*. 2012;18(1):29-43.

Schoolcraft WB, Katz-Jaffe MG, Stevens J, Rawlins M, Munne S. Preimplantation aneuploidy testing for infertile patients of advanced maternal age: a randomized prospective trial. *Fertil Steril*. 2009;92(1):157-62.

Schoolcraft WB, Fragouli E, Stevens J, Munne S, Katz-Jaffe MG, Wells D. Clinical application of comprehensive chromosomal screening at the blastocyst stage. *Fertil Steril*. 2010;94(5):1700-6.

Schoolcraft WB, Katz-Jaffe MC. Comprehensive chromosome screening of trophoectoderm with vitrification facilitates elective single-embryo transfer for infertile women with advanced maternal age. *Fertil Steril*. 2013;100(3):615-9.

Scoccia B, Demir H, Kang Y, Fierro MA, Winston NJ. In Vitro Fertilization Pregnancy Rates in Levothyroxine-Treated Women With Hypothyroidism Compared to Women Without Thyroid Dysfunction Disorders. *Thyroid*. 2012; 22(6):631-6.

Scott RT Jr, Upham KM, Forman EJ, Zhao T, Treff NR. Cleavage-stage biopsy significantly impairs human embryonic implantation potential while blastocyst biopsy does not: A randomized and paired clinical trial. *Fertil Steril*. 2013;100(3):624-30.

Serour G, Mansour R, Serour A, Aboulghar M, Amin Y, Kamal O. Analysis of 2,386 consecutive cycles of in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection using autologous oocytes in women aged 40 years and above. *Fertil Steril*. 2010; 94(5):1707-12.

Simon A, Laufer N. Assessment and treatment of repeated implantation failure (RIF). *J Assist Reprod Genet*. 2012;29(11):1227-39.

Simón C, Bellver J. Scratching beneath 'The Scratching Case': systematic review and meta-analyses, the back door for evidence-based medicine. *Hum Reprod*. 2014;29(8):1618-21.

Simur A, Ozdemir S, Acar H, Colakoğlu MC, Görkemli H, Balci O, et al. Repeated in vitro fertilization failure and its relation with thrombophilia. *Gynecol Obstet Invest*. 2009;67(2):109–12.

Sobotka T. Shifting Parenthood to Advanced Reproductive Ages: Trends, Causes and Consequences. En: J.C. Tremmel (ed.), *A Young Generation Under Pressure?* Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2010a; pp:129-54.

Sobotka T, Billari FC, Kohler H-P. *The Return of Late Childbearing in Developed Countries: Causes, Trends and Implications*. Vienna: Vienna Institute of Demography, 2010b.

Sociedad Española de Fertilidad. Registro SEF. <https://www.registrosef.com> [consultado por última vez octubre 2015].

Solé M, Santaló J, Rodríguez I, Boada M, Coroleu B, Barri PN et al. Correlation between embryological factors and pregnancy rate: development of an embryo score in a cryopreservation programme. *J Assist Reprod Genet*. 2011;28(2):129-36.

Solé M, Santaló J, Boada M, Clua E, Rodríguez I, Martínez F et al. How does vitrification affect oocyte viability in oocyte donation cycles? A prospective study to compare outcomes achieved with fresh versus vitrified sibling oocytes. *Hum Reprod*. 2013;28(8):2087-92.

Soullier N, Bouyer J, Pouly J-L, Guibert J, Rochebrochard E. Effect of the woman's age on discontinuation of IVF treatment. *Reprod Biomed Online*. 2011;22(5):496– 500.

Sousa C, Tiago de Oliveira I, Rocha ML, Cabrita M. Fertility, Full-time and Part-time Female Employment in Europe. CIES e-Working Paper N.º 125/2012.

Spandorfer SD, Chung PH, Kligman I, Liu HC, Davis OK, Rosenwaks Z. An Analysis of the Effect of Age on Implantation Rates. *J Assist Reprod Genet.* 2000;17(6):303-6.

Spandorfer SD, Bendikson K, Dragisic K, Schattman G, Davis OK, Rosenwaks Z. Outcome of in vitro fertilization in women 45 years and older who use autologous oocytes. *Fertil Steril.* 2007;87(1):74-6.

Staessen C, Platteau P, Van Assche E, Michiels A, Tournaye H, Camus M et al. Comparison of blastocyst transfer with or without preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy screening in couples with advanced maternal age: a prospective randomized controlled trial. *Hum Reprod.* 2004;19(12):2849-58.

Stephoe PC, Edwards RG Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet.* 1978;312(8085):366.

Stern JE, Brown MB, Luke B, Wantman E, Lederman A, Missmer SA et al. Calculating cumulative live-birth rates from linked cycles of assisted reproductive technology (ART): data from the Massachusetts SART CORS. *Fertil Steril.* 2010;9(4):1334-40.

Stoebel-Richter Y, Geue K, Borkenhagen A, Braehler E, Weidner K. What Do You Know about Reproductive Medicine? – Results of a German Representative Survey. *PLoS ONE.* 2012;7(12):1-8.

Strandell A, Lindhard A. Why does hydrosalpinx reduce fertility? The importance of hydrosalpinx fluid. *Hum Reprod.* 2002;17(5):1141-5.

Sunkara SK, Khairy M, El-Toukhy T, Khalaf Y, Coomarasamy A. The effect of intramural fibroids without uterine cavity involvement on the outcome of IVF treatment: a systematic review and metaanalysis. *Hum Reprod.* 2010;25(2):418-29.

Sunkara SK, Rittenberg V, Raine-Fenning N, Bhattacharya S, Zamora J, Coomarasamy A. Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment cycles. *Hum Reprod.* 2011;26(7):1768-74.

Sunkara SK, Coomarasamy A, Faris RF, Braude P, Khalaf Y. Long gonadotropin-releasing agonist versus short agonist versus antagonist regimens in poor responders undergoing in vitro fertilization: a randomized controlled trial. *Fertil Steril.* 2014;101(1):147-53.

T

te Velde E, Pearson P. The variability of female reproductive ageing. *Hum Reprod Update*. 2002;8(2):141-54.

te Velde E, Habbema D, Leridon H, Eijkemans M. The effect of postponement of first motherhood on permanent involuntary childlessness and total fertility rate in six European countries since the 1970s. *Hum Reprod*. 2012;27(4):1179-83.

Testa MR. Childbearing preferences and family issues in Europe: evidence from the Eurobarometer 2006 survey. *Vienna Yearb Popul Res*. 2007:357-79.

The Ethics Committee of the American Society for Reproductive Medicine (ASRM). Fertility treatment when the prognosis is very poor or futile: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2012;98(1):e6-e9.

Toner JP, Grainger DA, Frazier LM. Clinical outcomes among recipients of donated eggs: an analysis of the U.S. national experience, 1996–1998. *Fertil Steril*. 2002;78(5):1038-45.

Tsafir A, Simon A, Revel A, Reubinoff B, Lewin A, Laufer N. Retrospective analysis of 1217 IVF cycles in women aged 40 years and older. *Reprod Biomed Online*. 2007;14(3):348-55.

Trolice MP. Live birth from a 46-year-old using fresh autologous oocytes through in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2014;102(1):96-8.

Tur-Kaspa I, Bernal A, Tkachenko N, Pawlowska J, Rechitsky S, Verlinsky T. To PGD or not to PGD: is there a magic number of oocytes to start with? *Fertil Steril*. 2007;88:S231-2.

U

United Nations [1]. United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division (2013). *Fertility Levels and Trends as Assessed in the 2012. Revision of World Population Prospects (United Nations Publications)* [consultado por última vez en octubre 2015]. Disponible en:

http://www.un.org/en/development/desa/population/publications/pdf/fertility/Fertility-levels-and-trends_WPP2012.pdf

United Nations [2]. United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division (2014). World Fertility Report 2013: Fertility at the Extremes [consultado por última vez en mayo 2015]. Disponible en: <http://www.un.org/en/development/desa/population/publications/pdf/fertility/worldFertilityReport2013.pdf>

United Nations [3]. United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division (2013). World Population Prospects: The 2012 Revision. [consultado por última vez mayo 2015]. Disponible en : www.unpopulation.org

V

van Balen, F. Development of IVF children. *Dev. Rev.*1998;18(1):30–46.

van Bavel J. Choice of study discipline and the postponement of motherhood in Europe: the impact of expected earnings, gender composition and family attitudes. *Demography.* 2010;47(2):439–58.

van Disseldorp J, Eijkemans MJC, Klikert ER, te Velde ER, Fauser BC, Broekmans FJM. Cumulative live birth rates following IVF in 41-to 43-year-old women presenting with favourable ovarian reserve characteristics. *Reprod Biomed Online.* 2007;14(4):455-63.

van Loendersloot LL, Moolenaar LM, Mol BWJ, Repping S, van der Veen F, Goddijn M. Expanding reproductive lifespan: a cost-effectiveness study on oocyte freezing. *Hum Reprod.* 2011;26(11):3054–60.

Vandervorst M, Liebaers I, Sermon K, Staessen K, De Vos A, Van de Velde H et al. Successful preimplantation genetic diagnosis is related to the number of available cumulus-oocyte complexes. *Hum Reprod.* 1998;13(11):3169-76.

Vercammen L, Stoop D, De Vos M, Polyzos NP, Nekkebroeck J, Devroey P. Oocyte donation does not affect future reproductive outcome, a follow-up study. *Hum Reprod.* 2011;26(7):262.

Verhaak CM, Smeenk JMJ, van Minnen A, Kremer JAM, Kraaijmaat FW. A longitudinal, prospective study on emotional adjustment before, during and after consecutive fertility treatment cycles. *Hum Reprod.* 2005;20(8):2253–60.

Verhaak CM, Smeenk JMJ, Nahuis MJ, Kremer JAM, Braat DDM. Long-term psychological adjustment to IVF/ICSI treatment in women. *Hum Reprod.* 2007;22(1):305–8.

Verkauf BS. Incidence, symptoms, and signs of endometriosis in fertile and infertile women. *J Fla Med Assoc* 1987; 74(9):671-5

Verpoest W, Haentjens P, de Rycke M, Staessen C, Sermon K, Bonduelle M et al. Cumulative reproductive outcome after preimplantation genetic diagnosis: a report on 1498 couples. *Hum Reprod.* 2009;24(11):2951–9.

Vialard F, Boitrelle F, Molina-Gomes D, Selva J. Predisposition to aneuploidy in the oocyte. *Cytogenet Genome Res.* 2011;133(2-4):127-35.

Virtala A, Vilks S, Huttunen T, Kunttu K. Childbearing, the desire to have children, and awareness about the impact of age on female fertility among Finnish university students. *Eur J Contracept Reprod Health Care.* 2011;16(2):108-15.

W

Wallace WHB, Kelsey TW. Human Ovarian Reserve from Conception to the Menopause. *PLoS ONE.* 2010;5(1): e8772. doi:10.1371/journal.pone.0008772.

Wang XL, Zhang X, Qin YQ, Hao DY, Shi HR. Outcomes of day 3 embryo transfer with vitrification using Cryoleaf: a 3-year follow-up study. *J Assist Reprod Genet.* 2012;29(9):883-9.

Waylen AL, Metwally M, Jones GL, Wilkinson AJ, Ledger WL. Effects of cigarette smoking upon clinical outcomes of assisted reproduction: a meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2009;15(1):31–44.

Whitcomb BW, Turzanski-Fortner R, Richter KS, Kipersztok S, Stillman RJ, LevyMJ, et al. Contribution of male age to outcomes in assisted reproductive technologies. *Fertil Steril.* 2011;95(1):147–51.

Wojcieszek AM, Thompson R. Conceiving of change: a brief intervention increases young adults' knowledge of fertility and the effectiveness of in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2013;100(2):523-9.

Z

Zegers-Hochschild F, Mansour R, Ishihara O, Adamson GD, de Mouzon J, Nygren K G, Sullivan EA. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology: world report on assisted reproductive technology, 2005. *Fertil Steril.* 2014;101(2):366-78.