

ORIGINAL

Riesgo de malformaciones mayores y menores en niños concebidos por técnicas de reproducción asistida (FIV/ICSI): estudio prospectivo de cohorte controlado



María José Sánchez Soler^{a,*}, Vanesa López-González^a,
María Juliana Ballesta-Martínez^a, Jorge Gálvez-Pradillo^b, María Nicolás-Arno^c,
Emilio Gómez-Sánchez^d, Virginia Pérez-Fernández^e y Encarna Guillén Navarro^a

^a Genética Médica, Servicio de Pediatría, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. IMIB-Arrixaca, Murcia, España

^b Unidad de Reproducción, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia, España

^c Medicina Reproductiva-Ivi Murcia, Murcia, España

^d Tahe Fertilidad, Murcia, España

^e Departamento de Pediatría, Universidad de Murcia, IMIB, Murcia, España

Recibido el 7 de mayo de 2021; aceptado el 14 de junio de 2021

Disponible en Internet el 25 de julio de 2021

PALABRAS CLAVE

Técnicas de reproducción asistida;
Malformaciones congénitas;
Dismorfia facial;
Fecundación *in vitro*;
Lesiones pigmentarias;
Malformación capilar

Resumen

Introducción: En torno al 0,2-6,1% de los recién nacidos en los países desarrollados han sido concebidos por técnicas de reproducción asistida (TRA). Se han descrito tasas más altas de malformaciones congénitas (MC) mayores y menores en esta población, pero los múltiples posibles factores de confusión asociados hacen difícil establecer una relación de causalidad directa con estos procedimientos y conocer los factores específicos implicados.

Material y método: Se realizó un estudio prospectivo de cohorte controlado con el objetivo de determinar el riesgo de MC en niños-TRA. Se recogieron los datos específicos de la TRA de una cohorte de gestaciones clínicas de mujeres tratadas en la Unidad de Reproducción de un hospital público de tercer nivel durante dos años; 231 de 267 (87%) niños nacidos de dichas gestaciones-TRA participaron en el estudio y fueron valorados por un pediatra con formación en Genética Clínica y Dismorfología a los 12-20 y a los 26-40 meses de edad. De forma simultánea se seleccionó una cohorte de niños concebidos de forma natural (CN), de acuerdo con los criterios: siguiente recién nacido al caso del mismo grupo de edad materna, edad gestacional y tipo de gestación (única o múltiple); 230 niños CN fueron seleccionados y 208 (90%) participaron en el estudio.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: mj.sanchezsoler@gmail.com (M.J. Sánchez Soler).

Resultados: Se detectaron MC mayores en el 7,8% de casos y en el 7,2% de controles, sin existir diferencias estadísticamente significativas entre ellos. Sí se identificaron diferencias en algunas malformaciones menores como las malformaciones capilares y lesiones pigmentarias, más frecuentes en el grupo TRA. Además, se identificó de forma inesperada un patrón craneofacial recurrente en el grupo TRA.

Conclusiones: A pesar de las altas tasas de MC mayores, no se detectaron diferencias significativas entre grupos, pero sí entre algunas anomalías menores, lo que sugiere que las TRA tienen un impacto leve sobre el desarrollo embrionario. El fenotipo facial identificado no ha sido descrito previamente, así como el mayor riesgo de lesiones pigmentarias y malformaciones capilares. Son necesarios más estudios que corroboren estas asociaciones.

© 2021 Asociación Española de Pediatría. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

KEYWORDS

Assisted reproductive technology;
Congenital malformations;
Dysmorphic facial features;
In vitro fertilization;
Pigmentary lesions;
Capillary malformations

Risk of mayor and minor birth defects in children conceived by assisted reproductive technology (IVF/ICSI): A prospective controlled cohort study

Abstract

Introduction: About 0.2–6.1% of newborns in the developed world have been conceived by assisted reproductive techniques (ART). Higher rate of major and minor malformations have been described in this population, but the multiple possible confounders associated, make it difficult to establish a direct causal relationship, and the specific factors involved.

Material and methods: To determine the risk of these malformations in our population, a collaborative prospective controlled cohort study was designed. We collected the specific ART-data related to the clinical gestation of women treated in a period of 2 years in the Reproduction Unit from a Spanish public tertiary-level hospital. 231 out of 267 newborns of these gestation (88%) were exhaustively assessed by a Clinical Geneticist expertise in Dysmorphology at 12–20 and 26–40 months of age. At the same time a controlled group of children naturally conceived (NC) was selected according to the following criteria: the next NC newborn belonging to the same group of maternal and gestational age, and type of gestation (single or multiple). 230 controls were chosen and 208 participated in the study (90%).

Results: Major malformations were presented in 7.8% of the ART-children and 7.2% of the controls, without founding statistically differences between groups. However, differences were found in the risk of some minor malformations such as capillary malformations and pigmentary lesions, higher in the ART-group. A recurrent pattern of craneofacial anomalies was also unexpectedly detected.

Conclusions: In spite of the high rate of major congenital malformations detected, there were no differences between groups. Thus, our results suggest that ART may affect the normal embryonic development but in a milder way than other confounding factors do. The facial phenotype identified has not previously, either the higher risk of capillary malformations and pigmentary lesions. More studies are needed to confirm this association.

© 2021 Asociación Española de Pediatría. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introduction

Las técnicas de reproducción asistida (TRA) llevan más de 40 años utilizándose. Desde entonces se estima que, en los países europeos, entre el 0,2-6,1% de niños han sido concebidos gracias a ellas¹. La posible relación entre su uso y la aparición de malformaciones congénitas (MC) ha sido ampliamente estudiada. La prevalencia de estos defectos se estima en 2-3% en población general, cifra que se mantiene estable a lo largo de los últimos años (https://eu-rd-platform.jrc.ec.europa.eu/eurocat_en²). Aunque la mayoría de los autores describen tasas

superiores de MC en población-TRA³⁻⁷, los datos siguen siendo contradictorios al desaparecer dichas diferencias en otros trabajos en los que se ajustan los resultados por factores como la edad materna y otros asociados a las técnicas^{8,9}. No obstante, el último metaanálisis y revisión sistemática¹⁰ sí describe un riesgo mayor de MC para niños nacidos de gestaciones únicas-TRA (RR 1,41, IC 95%, 1,30-1,52), aunque éste no se identifica en el grupo de gestaciones múltiples (GM) (RR 1,18, IC 95% 0,98-1,42).

En cuanto a las anomalías menores, son menos los estudios realizados. No obstante, se ha descrito el uso de TRA como factor de riesgo de hemangioma infantil¹¹, y en hijos

de parejas subfértiles y sometidas a TRA se han descrito altas tasas de anomalías menores, clínicamente irrelevantes de acuerdo con la clasificación de Merks et al.¹². Entre el 50 y el 54% presentó este tipo de anomalías¹³, siendo las más frecuentes el hemangioma infantil (2-5%), hernia inguinal y umbilical (1-3%), hipospadias (1-2%) y criptorquidia (1-2%).

Múltiples autores han intentado también determinar si existen diferencias entre fecundación *in vitro* (FIV) o inyección intracitoplasmática espermática (ICSI), y otros factores específicos de la TRA, pero los datos son poco concluyentes. Algunos autores describen tasas más altas de MC en ICSI¹⁴⁻¹⁶, otros describen mayor riesgo asociado a FIV¹⁷, mientras que los más recientes no detectan diferencias^{18,19}. Tampoco hay evidencia clara de mayor riesgo de MC tras transferencia de embrión congelado (TEC)²⁰, aunque son necesarios más estudios.

Por lo anterior, el principal objetivo de nuestro trabajo fue analizar si existe o no mayor riesgo de MC mayores y menores en una cohorte de niños españoles de hasta tres años de edad concebidos por TRA, independientemente de la edad materna, gemelaridad, prematuridad y otros posibles factores de confusión.

Además, se realizó un análisis de los posibles factores específicos de la TRA implicados en las malformaciones detectadas.

Material y métodos

Se diseñó un estudio observacional prospectivo de cohorte controlado. El trabajo fue aceptado por el Comité de Ética del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca (HCUVA). Para participar en el estudio fue necesaria la firma del consentimiento informado realizado de acuerdo con lo establecido en la Declaración de Helsinki.

Selección de cohorte de gestaciones clínicas conseguidas gracias a TRA

En primer lugar se realizó la selección de una cohorte de gestaciones clínicas (evidencia de latido cardíaco en semana 7-8 de gestación) de mujeres tratadas de mayo de 2012 a mayo de 2014 mediante FIV, ICSI o diagnóstico genético preimplantatorio (DGP), en la Unidad de Reproducción del HCUVA, un hospital terciario de gestión pública, que mantiene concierto con cinco clínicas privadas. Durante el periodo de estudio hubo 243 gestaciones clínicas. Hubo 26 abortos y tres muertes intrauterinas. La selección de participantes se encuentra en la [figura 1](#).

En esta fase se realizó la recogida de los siguientes datos:

- Epidemiológicos: origen, edad de la pareja al inicio del tratamiento y antecedentes familiares y personales, índice de masa corporal de la madre, tiempo de esterilidad y causas de la misma.
- Específicos del tratamiento: tipo de TRA, tipo de estimulación ovárica y frenado recibido, presencia o no de complicaciones, número de ovocitos recuperados y fecundados, calidad embrionaria, día de transferencia embrionaria, criopreservación, etc.

Selección de cohorte de recién nacidos de la cohorte de gestaciones clínicas seleccionada

En una segunda fase se contactó telefónicamente con las parejas en las que la gestación fue evolutiva (214) y se les ofreció participar en el estudio. Se les informó acerca de los objetivos y de la intención de realizar dos evaluaciones de salud hasta los tres años de edad de sus hijos. Todos aquellos que desearon participar fueron citados y evaluados por un facultativo especialista en Pediatría con formación específica en Genética Clínica y Dismorfología.

Selección de controles apareados

De forma simultánea fue evaluado un grupo control que se seleccionó atendiendo a los siguientes criterios:

Recién nacido concebido de forma natural (CN) siguiente al caso, del mismo grupo de:

- Edad materna (≤ 30 ; 31-34; 35-39 años).
- Edad gestacional: ≤ 30 , 31-36, ≥ 37 semanas de gestación (SG).
- Tipo de gestación (única o múltiple).

Del grupo control (230 controles) fueron excluidas aquellas familias que, aunque manifestaron desear participar tras el primer contacto telefónico:

- No acudieron a la cita programada en dos ocasiones.
- Niños citados como controles que realmente fueron concebidos por algún tipo de TRA (inseminación artificial, fecundación *in vitro*, etc.).
- Manifestaron posteriormente su deseo de abandonar el seguimiento.

Evaluación clínica y seguimiento de casos y controles

En esta fase se llevaron a cabo las evaluaciones clínicas: una a los 12-20 meses y la segunda a los 26-40 meses, desde septiembre de 2014 a junio 2017.

Durante las evaluaciones se recogieron datos relacionados con la gestación, el parto y el periodo neonatal ([fig. 2](#)) y se realizó una evaluación física completa incluyendo una exploración morfológica exhaustiva. Las malformaciones mayores se clasificaron de acuerdo a CIE-10 (https://www.mscbs.gob.es/estadEstudios/estadisticas/normalizacion/CIE10/Clasif_Inter_Enfer_CIE_10_rev_3_ed.diag.pdf²¹) y las menores a la clasificación de Merks et al.¹².

Análisis de datos

De acuerdo con los objetivos del estudio el análisis de los datos se llevó a cabo en dos fases:

En una primera fase se analizaron las posibles diferencias entre MC mayores y menores, a los 26-40 meses de edad en niños-TRA (casos) y niños-CN (controles), así como otras características generales que podrían interferir en la interpretación de los resultados (patología perinatal, consumo de tóxicos, etc.). En segundo lugar, se analizó la cohorte

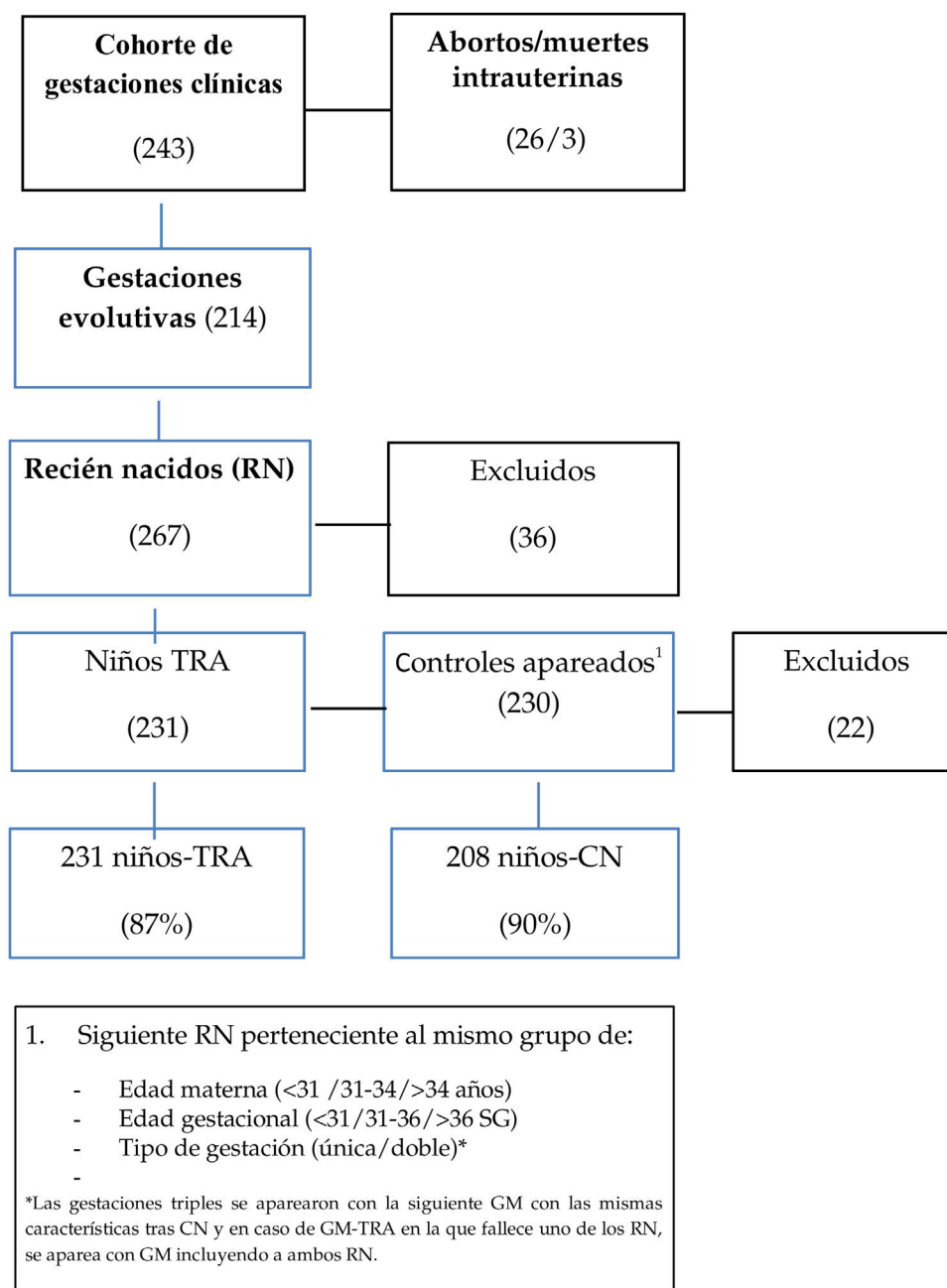


Figura 1 Selección de participantes.

de casos y los datos específicos de la TRA con el objetivo de detectar posibles factores implicados en la aparición de malformaciones congénitas.

Las variables estudiadas como posibles factores relacionados con la TRA asociados, fueron las sigüientes: presencia de < 4% de espermatozoides normales (criterio Kruger), causas de esterilidad, niveles basales de FSH y estradiol, toma de ácido fólico preconcepcional, tipo de TRA: FIV, ICSI, transferencia de embrión congelado (TEC) o diagnóstico genético preimplantatorio, día de transferencia embrionaria, número de embriones transferidos, protocolo de estimulación ovárica y frenado, antecedente de síndrome de hiperestimulación ovárica (estradiol > 3.000 pg/mL y hallazgos ecográficos compatibles), n° medio de ovocitos

recuperados, fecundados y embriones evolutivos, calidad embrionaria según la clasificación ASEBIR.

Para el estudio de asociación entre variables cualitativas se utilizó la prueba de la χ^2 y el test exacto de Fisher para tablas 2x2. Para la comparación de variables cuantitativas entre dos grupos se utilizó la prueba *t* Student o *U* de Mann-Whitney según la distribución de la variable fuera normal o no, respectivamente. Para la comparación de variables cuantitativas entre más de dos grupos se utilizó el test de ANOVA o Kruskal-Wallis según la distribución de la variable fuera normal o no, respectivamente.

Además, se realizó un análisis multivariante utilizando una regresión logística multivariante si la variable dependiente era dicotómica, regresión multinomial si la variable

GESTACIÓN

Tipo de gestación: única, gemelar o triple

Reducción embrionaria: SI/NO _____

Muerte fetal intraútero (después de 20 semanas de gestación) SI/NO _____

Causa: cromosomopatía, patología materna, alteraciones ecográficas (malformaciones), desconocida _____

Patología gestacional: SI/NO

- Fiebre Infecciones, hipertensión arterial, preeclampsia, HELLP
- Rotura prematura de membranas, amenaza de parto prematuro, diabetes gestacional
- Otras _____

Hábitos tóxicos: Madre: SI/NO Padre: SI/NO

Cantidad y frecuencia (veces/semana)

- Alcohol, tabaco, drogas ilegales

Retirada del consumo de tóxicos:

- Durante la búsqueda del embarazo (meses) _____
- Al diagnóstico (semanas de gestación) o posteriormente

Fármacos durante el embarazo SI/NO, (dosis y frecuencia): _____

Exposición a factores físicos SI/NO (frecuencia) _____

Anomalías ecográficas: SI/NO _____

PARTO Y PERIODO NEONATAL

Sexo (M/F) _____ Semanas de gestación _____ Tipo de parto: _____

Peso al nacimiento (p) _____ Longitud (p) _____ PC (p) _____ Apgar _____

Pequeño o grande para edad gestacional (PEG o GEG) SI/NO _____

Malformación congénita SI/NO: especificar _____

Patología médica/quirúrgica neonatal SI/NO: especificar _____

Cribado metabólico _____ OEA _____ PEATC _____

Ingreso en Neonatología y/o U. Cuidados Intensivos Neonatales SI/NO _____

Ingreso en UCIN SI/NO _____

Enfermedad crónica _____

Tratamiento _____

Muerte en periodo neonatal SI/NO _____

Figura 2 Recogida de datos prenatales.

dependiente era politómica y regresión lineal multivariante si la variable dependiente era cuantitativa con distribución normal. En los casos necesarios se han utilizado técnicas de normalización. Se han tenido en cuenta como covariables aquellas variables que se asociaron significativamente en el análisis univariante previo.

En todos los contrastes de hipótesis se usa un nivel de significación estadística de $p < 0,05$. Para la realización del análisis estadístico de los datos se utilizó el programa estadístico StataCorp. 2017. *Stata Statistical Software: Release 15*. College Station, TX: StataCorp LLC.

Tabla 1 Estudio comparativo entre casos y controles: características generales

	Casos	Controles	p
Sexo (niñas)	55,8%	40%	p = 0,001
EM media	33,41	33,42	p = 0,400
GM	23,5%	24%	p = 0,350
GM monocoriales	11%	31%	p = 0,017
Prematuridad	24,6%	23,5%	p = 0,780
Edad gestacional media (SG)	37,7	37,8	p = 0,690
Tabaco	13,8%	17,8%	p = 0,258
Hábitos tóxicos	16%	19%	p = 0,300
TTP >1 año	94%	7,9%	p < 0,001
Toma de AFPC	65%	42%	p < 0,001
AF de MC mayor*	7,35	11%	p = 0,245
AF de enfermedad genética	2,6%	2,4%	p = 0,897

EM: edad materna; GM: gestaciones múltiples; EG: edad gestacional; SG: semanas de gestación; TTP tiempo hasta conseguir gestación; AFPC: ácido fólico preconcepcional; AF: antecedentes familiares; MC: malformaciones congénitas.

Por último, dado el hallazgo incidental de un patrón craneofacial recurrente en la cohorte de niños-TRA durante las evaluaciones, se utilizó el programa de reconocimiento facial diseñado por el equipo de Face2gene (<http://suite.face2gene.com>²²) y en colaboración con ellos se realizó el análisis de tres grupos de pacientes: 50 controles caucásicos de la misma edad, 34 niños con síndrome alcohólico fetal y 20 niños-TRA. El objetivo era determinar si el programa, que convierte la foto del paciente en descriptores faciales matemáticos, constituyendo una malla facial²³, era capaz de diferenciar los tres fenotipos.

Resultados

Características generales de las poblaciones a estudio

La **tabla 1** muestra cómo las dos poblaciones a estudio eran homogéneas en tasas de gemelaridad, prematuridad y edad materna media, entre otras variables estudiadas. No obstante, el análisis comparativo detectó algunas diferencias estadísticamente significativas. Hubo más gestantes-TRA que tomaron ácido fólico preconcepcional (AFPC) y que tardaron más de un año en concebir, más niñas en el grupo-TRA y un porcentaje mayor de gestaciones múltiples monocoriales en el grupo control.

Descripción de los casos y controles

Malformaciones congénitas en el grupo de niños-TRA

El 7,8% presentó alguna MC mayor, siendo las más frecuentes las cardiopatías (52%, 10/19): estenosis valvular pulmonar intervenida¹, válvula aórtica bicúspide¹, insuficiencia mitral¹, comunicación interauricular (CIA)⁶ y comunicación interventricular (CIV)³. El 21% fueron malformaciones del sistema nervioso central (SNC) (4/19): hidrocefalia y ventrículos laterales dismórficos¹, agenesia de cuerpo calloso³, atrofia cortical y de vermis¹, el 21% genitourinarias (4/19): hidronefrosis, criptorquidia, hipospadias, riñón en herradura, y hubo un caso con hernia epigástrica y otro con ptosis congénita.

En cuanto a las malformaciones menores, el 53% las presentó, siendo las más frecuentes (33% 77/231) las lesiones pigmentarias (LP). De ellas, el 83% fueron manchas café con leche (MCL) y el 17% lesiones hiperpigmentadas difusas y/o manchas hipocromas. El 10,4% presentó MCL múltiples (dos o más), el 22,4% anomalías vasculares (AV): malformación capilar (20,6%), hemangioma infantil (4,7%) y hubo un caso con malformación venosa en mano derecha. El resto de las anomalías detectadas fueron las siguientes: hernia umbilical (6%), anomalías genitourinarias (4,3%) (fimosiis, hidrocele, pielectasia), mamila supernumeraria (3,4%), estrabismo (3%) y obstrucción del lacrimal (1,7%).

Hubo un caso con anomalías congénitas múltiples y retraso psicomotor de etiología no filiada.

Malformaciones congénitas en el grupo de niños-CN

El 7,2% presentó alguna MC mayor aparentemente aislada, siendo también las cardiopatías el tipo más frecuente (60%, 9/15): estenosis valvular pulmonar³, CIA¹ y CIV⁶, tetralogía de Fallot¹, el 33% presentó anomalías genitourinarias (5/15): hipospadias⁴, agenesia renal³. Hubo un caso con craneosinostosis coronal que precisó cirugía y una malformación adenomatoidea quística.

En cuanto malformaciones menores, el 52,6% presentó alguna de ellas, siendo también las más frecuentes las LP (42,20%). De ellas el 67% fueron MCL. El 1% presentó MCL múltiples³, 15% anomalías vasculares (15%, 31): malformación capilar (12,6%), hemangioma infantil (3,4%, siete) y no hubo ningún caso con otro tipo de AV. Otras malformaciones: hernia umbilical (5,8%, 12), mamila supernumeraria (4,3%, 9), anomalías genitourinarias (3,8%, 8): fimosiis⁵, hidrocele³, doble sistema excretor³ y el 2,8% estrabismo.

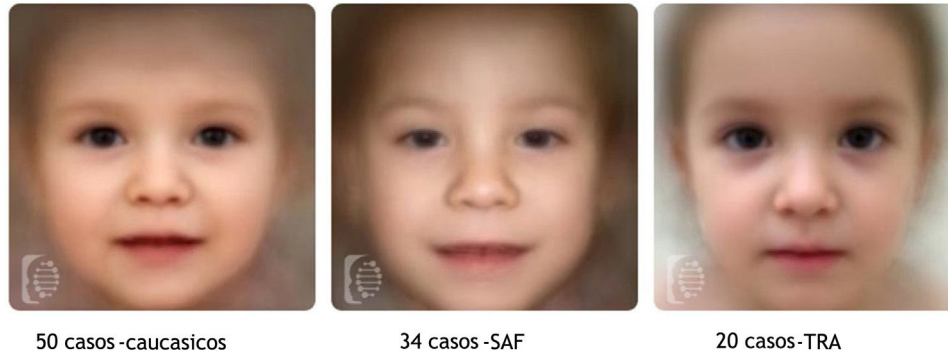
Estudio comparativo caso-control

No se detectaron diferencias entre grupos en MC mayores ni menores en su conjunto (**tabla 2**). En cuanto a las anomalías menores, sí hubo mayor frecuencia en el grupo TRA de malformación capilar a los tres años de edad, así como de LP. Estas diferencias se mantuvieron tras realizar la regresión logística que incluyó posibles factores de confusión como la

Tabla 2 Análisis caso-control: MC mayores y menores

	Casos	Controles	χ^2
MC mayores	7,8%	7,2%	$p = 0,829$
MC menores	53%	52%	$p = 0,902$
AV	22%	15%	$p = 0,057$
Malformaciones capilares	20%	12,6%	$p = 0,031$
hemangioma	4,76%	3,4%	$p = 0,474$
LP	33,3%	20%	$p = 0,003$

MC: malformaciones congénitas; AV: anomalías vasculares; LP: lesiones pigmentarlas.

**Figura 3** Patrón craneofacial en controles, niños con síndrome alcohólico fetal (SAF) y niños-TRA.

gemelaridad, prematuridad, edad materna, sexo, consumo de tabaco durante la gestación, antecedente de preclampsia y toma o no de ácido fólico preconcepcional. LP: OR 1,92, IC 95% 1,23-3,08 $p = 0,004$), malformaciones capilares: OR 1,72, IC 95% 1,00-2,97 $p = 0,050$)

La regresión logística no detectó asociación entre MC mayores y ser caso o control, pero sí entre estas y sexo masculino (RRR 2,86 1,27-6,46 $p = 0,011$) y gemelaridad (RRR 2,31 1,00-5,35 $p = 0,050$), independientemente de la EM, prematuridad, consumo de tabaco, toma de AFPC y antecedente de preclampsia.

Por otro lado, se detectó un patrón craneofacial recurrente en el 68% de la población TRA no descrito con anterioridad, caracterizado por frente prominente, hipoplasia mediofacial, epicantus, mejillas llenas y labio superior fino (fig. 3).

El programa de reconocimiento facial (<http://suite.face2gene.com>) que incluyó pacientes controles, SAF y niños-TRA, permitió distinguir los tres patrones diferentes (fig. 4).

En todas las comparaciones binarias se obtuvo una curva ROC con valores de área bajo la curva muy altos y $p < 0,001$ (fig. 5).

Se realizó análisis univariante de posibles factores asociados a este patrón craneofacial, detectándose asociación estadísticamente significativa con trastornos del neurodesarrollo ($p = 0,016$), madres menores de 35 años ($p = 0,033$) y sexo masculino ($p = 0,025$).

Estudio de posibles factores de la TRA asociados a la aparición de MC en los casos

El 7,8% de los casos presentó MC mayores. El análisis univariante solo mostró asociación con la causa de esterilidad. De

los casos con esterilidad femenina solo uno tuvo MC mayor (3,3%) y de esterilidad de origen desconocido (EOD) el 40%. La regresión logística mostró como factor de riesgo la EOD (OR 11,9, IC 95% 2,06-69,64, $p = 0,006$).

En MC menores no se detectaron asociaciones, y de las más frecuentes: solo entre DGP y las LP. El 80% de los niños (4/5) concebidos tras DGP presentaron LP ($p = 0,037$). No se asociaron con antecedente de preclampsia, diabetes gestacional ni tabaco. Por la escasa muestra no pudo realizarse regresión logística.

Discusión

Son múltiples los trabajos sobre problemas de salud en población TRA que diferencian entre gestaciones únicas o múltiples y en los que se estratifica el riesgo según la edad materna, pero hasta donde sabemos, este es el primer estudio en el que se realice un seguimiento prospectivo controlado de niños-TRA, en el que las dos poblaciones estudiadas son similares en cuanto a gemelaridad, prematuridad y edad materna, y en el que la participación ha sido tan alta (en torno al 90%). El único factor relevante que no se ha podido evitar, y así poder atribuir los resultados fundamentalmente al uso de la TRA, es la subfertilidad (incapacidad de concebir tras un año de relaciones sexuales regulares sin protección), presente solo en el 7,8% de las parejas con niños-CN. Sin embargo, dado que la TRA va asociada a dificultades para concebir (excepto en los casos de DGP generalmente), y esta es la única opción que tienen muchas parejas para conseguir una gestación, creemos que de cara al asesoramiento es más apropiado que se tenga en cuenta el riesgo asociado a la subfertilidad y la TRA de forma conjunta.

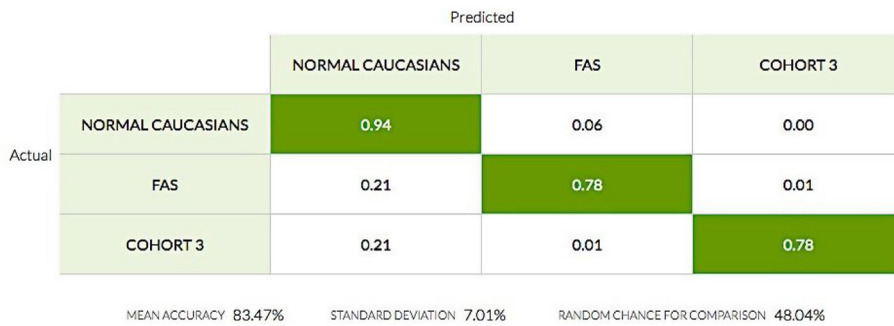
De los resultados del estudio destaca, que a pesar del alto porcentaje de MC mayores en la población TRA (7,8%),

COMPARISON	CASES	FRONTAL IMAGES	ACCURACY ^①	ACCURACY STD
Multiclass	102	102	83.47%	7.01%

BINARY COMPARISONS	CASES	FRONTAL IMAGES	MEAN AUC ^①	AUC STD
Normal Caucasians vs. FAS	49 vs. 33	49 vs. 33	0.95	0.02
Normal Caucasians vs. Cohort 3	49 vs. 20	49 vs. 20	0.98	0.02
FAS vs. Cohort 3	33 vs. 20	33 vs. 20	1.00	0.00
Cohort 3 vs. All Other Cohorts	20 vs. 82	20 vs. 82	0.98	0.02
FAS vs. All Other Cohorts	33 vs. 69	33 vs. 69	0.97	0.01
Normal Caucasians vs. All Other Cohorts	49 vs. 53	49 vs. 53	0.92	0.02

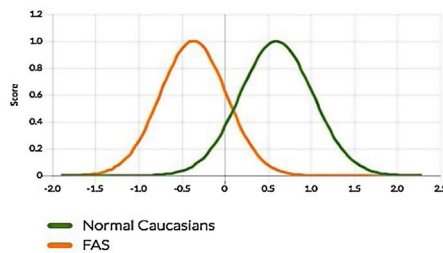
Multiclass Comparison

Confusion Matrix ^①

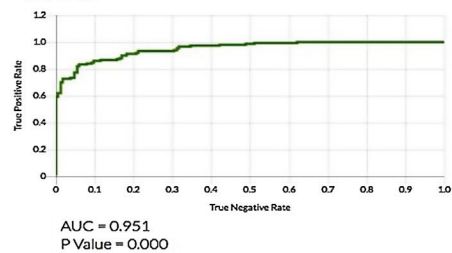


Normal Caucasians vs. FAS

Score Distribution

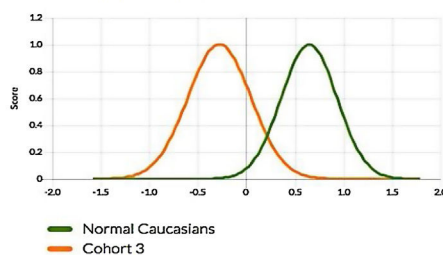


ROC ^①



Normal Caucasians vs. Cohort 3

Score Distribution



ROC ^①

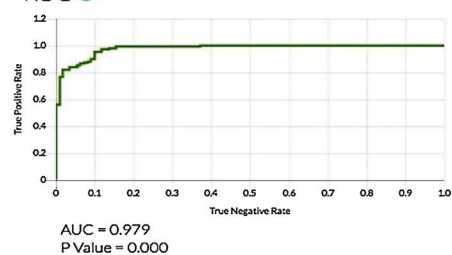
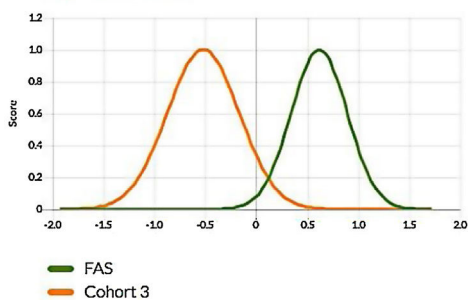


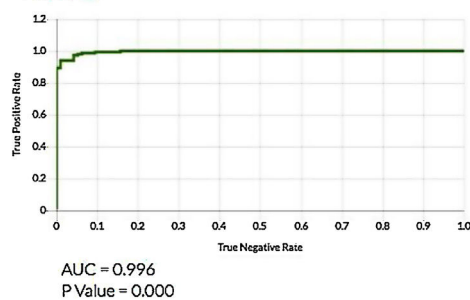
Figura 4 Estudio comparativo: patrón cráneo facial de controles, SAF y niños-TRA.

FAS vs. Cohort 3

Score Distribution

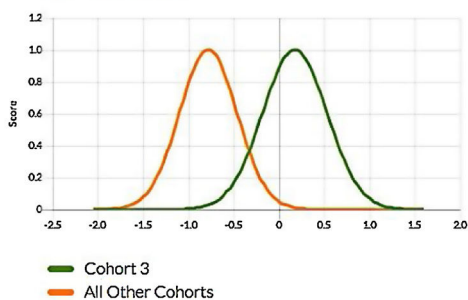


ROC



Cohort 3 vs. All Other Cohorts

Score Distribution



ROC

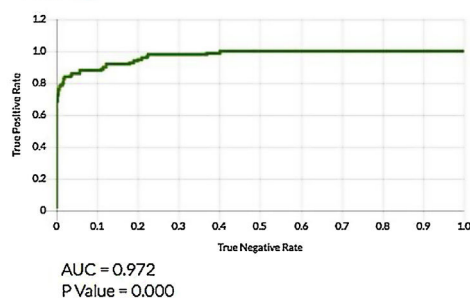


Figura 5 Comparaciones binarias entre las tres cohortes: niños caucásicos, SAF y TRA. Curva ROC.

el análisis comparativo con la población control, no mostró diferencias entre grupos, a diferencia de lo que describe el último metaanálisis¹⁰. Las altas tasas de malformaciones en ambos grupos muy probablemente se deban a las características de las poblaciones (24-25% de gemelaridad y prematuridad), así como a las características del estudio: prospectivo hasta los tres años de edad, lo que permite detectar casos que no son diagnosticados al nacimiento. Todo ello sugiere que los criterios utilizados para la selección del grupo control deben ser considerados como los principales factores asociados a la morbilidad descrita en la literatura en esta población y no tanto la TRA en sí misma. Las parejas deben ser informadas adecuadamente, y se debe tener en cuenta su edad al explicar las tasas de éxito, así como los posibles efectos de la misma sobre su salud durante la gestación y la de su descendencia en un futuro. Además, estos resultados apoyan también la tendencia creciente de transferir un único embrión²⁴, con lo que se minimizaría la tasa de GM y secundariamente la de prematuridad, lo que también debe informarse a las parejas.

Sí se detectó mayor riesgo de algunas anomalías menores como las LP, MLC múltiples y malformaciones capilares en el grupo-TRA, hallazgos no descritos previamente. Sí ha sido descrita la TRA como factor de riesgo de hemangioma infantil, como previamente se comentó, pero nuestro estudio, aunque sí mostró mayor tasa de esta anomalía en el grupo TRA (4,76 vs. 3,4%), no identificó diferencias estadísticamente significativas al ajustar los resultados por sexo, prematuridad, GM y otros posibles factores de confusión. El hallazgo de la asociación entre las TRA y lesiones cutáneas menores, aunque no tienen relevancia clínica *a priori*, sí se

considera de gran interés, ya que la presencia de LP y en concreto las MCLM (10% en nuestra serie), se ha descrito en la literatura asociada a otras anomalías del desarrollo, epilepsia²⁵ y algunos tipos de cáncer como la leucemia aguda linfoblástica²⁶. Sin embargo, la asociación con cáncer es controvertida en la actualidad. Un estudio reciente de población brasileña no detecta más porcentaje de MCLM en pacientes con diagnóstico de tumor sólido²⁷. Por todo ello, son necesarios más estudios para corroborar estas asociaciones, así como realizar un seguimiento a largo plazo de esta cohorte y otras, para determinar los posibles riesgos futuros.

También se describe de un patrón craneofacial recurrente no reportado con anterioridad, asociado a trastorno del neurodesarrollo. Si consideramos ambas alteraciones, los extremos de una alteración del desarrollo embrionario en sus primeras fases, como Seggers et al. plantean²⁸, estos hallazgos sugieren que pueda existir un trastorno embrionario generalmente leve asociado al uso de TRA, que condicione anomalías menores a nivel facial, y solo en un porcentaje bajo de casos, problemas más relevantes. Además, su asociación con sexo varón y mujeres más jóvenes es interesante, y podría sugerir una posible influencia hormonal. Si suponemos que las mujeres más jóvenes en general serán las más respondedoras y sus niveles de estradiol mayores, y a ello le asociamos la mayor frecuencia del patrón craneofacial en el varón, quizá los niveles de estrógenos jueguen algún papel a este nivel²⁹.

El conocimiento de este fenotipo por parte de los clínicos y en especial por los especializados en el estudio de pacientes con anomalías congénitas múltiples o trastornos

del neurodesarrollo resulta fundamental, ya que los rasgos craneofaciales son a veces el punto de partida para alcanzar un diagnóstico. Estos podrían en ocasiones enmascarar o dificultar el diagnóstico, o condicionar la realización de pruebas complementarias adicionales.

Conclusiones

Los resultados del estudio muestran un alto porcentaje de MC mayores en ambos grupos, sin embargo, no se identificaron diferencias estadísticamente significativas entre ellos. La tasa de anomalías menores es similar a la descrita en población TRA y subfétil, y tampoco se detectaron diferencias entre grupos.

Se describe por primera vez un aumento de riesgo de LP, MCL múltiples y malformaciones capilares en población TRA, independientemente del tipo de gestación y sexo. Las LP se asociaron con DGP, a pesar del escaso número de niños-DGP. Además, se detectó de forma inesperada un patrón craneofacial recurrente en esta población no descrito previamente. Son necesarios más estudios para corroborar estas asociaciones.

Ningún factor específico de la TRA se asoció con estas anomalías, pero sí hubo asociación con la gemelaridad, lo que apoya el importante papel que juega este factor en la alteración del desarrollo embrionario. Estos resultados deben ser informados a las parejas antes de la realización del tratamiento y enfatizan la necesidad de transferir un único embrión siempre que sea posible.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

A todos los participantes, padres, madres y niños, por su disponibilidad y colaboración. Estos resultados forman parte de la Tesis doctoral titulada: «Evaluación de salud y desarrollo de niños hasta los 3 años de edad concebidos por técnicas de reproducción asistida».

Bibliografía

- Calhaz-Jorge C, de Geyter C, Kupka MS, de Mouzon J, Erb K, Mocanu E, et al. Assisted reproductive technology in Europe 2012: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod*. 2016;31:1638–52.
- Disponible en: https://eu-rd-platform.jrc.ec.europa.eu/eurocat_en
- Rimm Aa, Katayama AC, Diaz M, Katayama KP. A meta-analysis of controlled studies comparing major malformation rates in IVF and ICSI infants with naturally conceived children. *J Assist Reprod Genet*. 2004;21:437–43.
- Hansen M, Bower C, Milne E, de Klerk N, Kurinczuk JJ. Assisted reproductive technologies and the risk of birth defects- a systematic review. *Hum Reprod*. 2005;20:328–38.
- Fedder J, Loft A, Parner ET, Rasmussen S, Pinborg A. Neonatal outcome and congenital malformations in children born after ICSI with testicular or epididymal sperm: a controlled national cohort study. *Hum Reprod*. 2013;28:230–40.
- Kermani RM, Nedaeifard L, Nateghi MR, Fazeli AS, Ahmadi E, Osia MA, et al. Congenital anomalies in infants conceived by assisted reproductive techniques. *Arch Iran Med*. 2012;15:228–31.
- Heisey AS, Bell EM, Herdt-losavio ML, Druschel C. Surveillance of Congenital Malformations in Infants Conceived Through Assisted Reproductive Technology or Other Fertility Treatments. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2015;103:119–26.
- Parazzini F, Cipriani S, Bulfoni G, Bulfoni C, Frigerio A, Somigliana E, et al. The risk of birth defects after assisted reproduction. *J Assist Reprod Genet*. 2015;32:379–85.
- Mozafari Kermani R, Farhangniya M, Shahzadeh Fazeli SA, Bagheri P, Ashrafi M, Taqi Dizaj AV. Congenital Malformations in Singleton Infants Conceived by Assisted Reproductive Technologies and Singleton Infants by Natural Conception in Tehran Iran. *Int J Fertil Steril*. 2018;11:304–8.
- Zhao J, Yan Y, Huang X, Li Y. Do the children born after assisted reproductive technology have an increased risk of birth defects? A systematic review and meta-analysis. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2020;33:322–33.
- Dickison P, Christou E, Wargon O. A Prospective Study of Infantile Hemangiomas with a Focus on Incidence and Risk Factors. *Pediatr Dermatol*. 2011;28:663–9.
- Merks JHM, Heval MO, Rijn JMVDB, Cobben JM, van Leeuwen FE, Hennekam RCM. Normal Values for Morphological Abnormalities in School Children. *Am J Med Genet Part A*. 2006;140:2091–109.
- Seggers J, Haadsma ML, Bos AF, Heineman MJ, Keating P, Middelburg KJ, et al. Dysmorphic features in 2-year-old IVF/ICSI offspring. *Early Hum Dev*. 2012;88:823–9.
- Davies MJ, Moore VM, Willson KJ, Van Essen P, Priest K, Scott H, et al. Reproductive Technologies and the Risk of Birth Defects. *N Engl J Med*. 2012;366:1803–13.
- Farhangniya M, Dortaj Rabori E, Mozafari Kermani R, Haghdoost AA, Bahrapour A, Bagheri P, et al. Comparison of Congenital Abnormalities of Infants Conceived by Assisted Reproductive Techniques versus Infants with Natural Conception in Tehran. *Int J Fertil Steril*. 2013;7:217–24.
- Ooki S. Birth defects after assisted reproductive technology according to the method of treatment in Japan: nationwide data between 2004 and 2012. *Environ Health Prev Med*. 2015;20:460–5.
- Kermani RM, Nedaeifard L, Nateghi MR, Fazeli AS, Osia MA, Jafarzadehpour E, et al. Congenital Anomalies in Infants Conceived by Assisted Reproductive Techniques. *Arch Iran Med*. 2012;15:228–31.
- Retzlöff MG, Hornstein MD. Is intracytoplasmic sperm injection safe? *Fertil Steril*. 2003;80:851–9.
- Zhu J, Zhu Q, Wang Y, Wang B, Lyu Q, Kuang Y. Comparative study on risk for birth defects among infants after in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Syst Biol Reprod Med*. 2019;65:54–60.
- Pelkonen S, Hartikainen A-L, Ritvanen A, Koivunen R, Martikainen H, Gissler M, et al. Major congenital anomalies in children born after frozen embryo transfer: a cohort study 1995-2006. *Hum Reprod*. 2014;29:1552–7.
- Disponible en: https://www.mscbs.gob.es/estadEstudios/estadisticas/normalizacion/CIE10/Clasif_Inter_Enfer_CIE_10_rev_3_ed.diag.pdf21
- Disponible en: <https://www.face2gene.com>
- Gurovich Y, Hanani Y, Bar O, Fleischer N, Gelbman D, Basel-Salmon L, et al. DeepGestalt - Identifying Rare Genetic Syndromes Using Deep Learning. 2017.
- Henningsen AA, Gissler M, Skjaerven R, Bergh C, Tiitinen A, Romundstad LB, et al. Trends in perinatal health after assisted reproduction: a Nordic study from the CoNARTaS group. *Hum Reprod*. 2015;30:710–6.
- Kakkar S, Mendiratta V, Sharma N, Aneja S, Harjai B. Cutaneous Manifestations of Seizure Disorder in Children—A

- Study of 100 Seizure Patients. *Pediatric Dermatol.* 2007;24:579–81.
26. Estrada-Padilla SA, Corona-Rivera JR, Sánchez-Zubietea F, Bobadilla-Morales L, Corona Rivera A. Minor phenotypic variants in patients with acute lymphoblastic leukaemia from west Mexico. *An Pediatr (Barc)*. 2015;82:75–82.
 27. dos Santos ACE, Heck B, Camargo De B, Vargas FR. Prevalence of Café-au-Lait Spots in children with solid tumors. *Genet Mol Biol.* 2016;39:232–8.
 28. Seggers J, Haadsma ML, Bos AF, Heineman MJ, Middelburg KJ, van den Heuvel ER, et al. Dysmorphic features and developmental outcome of 2-year-old children. *Dev Med Child Neurol.* 2014;56:1078–84.
 29. Mainigi MA, Olalere D, Burd I, Sapienza C, Bartolomei M, Coutifaris C. Peri-Implantation Hormonal Milieu: Elucidating Mechanisms of Abnormal Placentation and Fetal Growth. *Biol Reprod.* 2014;90:26.