



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>

PREVENCIÓ DE LA GESTACIÓ MÚLTIPLE EN UN PROGRAMA DE DONACIÓ D'OÒCITS

Memòria presentada per Elisabet Clua Obradó per optar
al grau de Doctor per la Universitat Autònoma de Barcelona
Programa de Doctorat de Biologia Cel·lular

Elisabet Clua Obradó
Barcelona, Abril 2016

Directora: Dra. Rosa Tur Padró
Tutor acadèmic: Dr. Joan Blanco Rodríguez

La Dra. Rosa Tur Padró, Ginecòloga del Servei de Medicina de la Reproducció del Departament d'Obstetrícia, Ginecologia i Reproducció de l'Hospital Universitari Dexeus i el Dr. Joan Blanco Rodríguez, professor titular de Biologia Cel·lular del Departament de Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia de la Universitat Autònoma de Barcelona.

CERTIFIQUEN que Elisabet Clua Obradó ha realitzat sota la seva direcció el treball de Tesi Doctoral titulat "Prevenició de la gestació múltiple en un programa de donació d'òocits".

Aquest treball s'ha dut a terme a la Unitat de Biologia Cel·lular de la Universitat Autònoma de Barcelona i al Servei de Medicina de la Reproducció de l'Hospital Universitari Dexeus.

Barcelona, Abril de 2016

Dra. Rosa Tur Padró

Dr. Joan Blanco Rodríguez

Als meus pares, a qui dec tot, especialment els valors de la constància i l'esforç.
Al Pep, per ser-hi sempre, per ajudar-me i participar de forma activa i creativa.
Al Pau i a la Joana, per la paciència d'aquests últims mesos, per haver ajudat
a que tot fos més fàcil.

ÍNDEX

RESUM.....	9
1. INTRODUCCIÓ.....	11
1.1. Gestació múltiple.....	11
1.1.1. Definició, classificació i embriogènesi.....	11
1.1.2. Epidemiologia, incidència i factors condicionants.....	14
1.1.3. Complicacions maternes i perinatals associades a les gestacions múltiples.....	15
1.2. Gestació múltiple en Tècniques de Reproducció Assistida.....	18
1.2.1. Epidemiologia, incidència i factors condicionants.....	18
1.2.2. Gestació múltiple en inducció de l'ovulació/estimulació ovàrica i inseminació artificial.....	20
1.2.3. Gestació múltiple en FIV/ICSI.....	22
1.2.4. Gestació múltiple en Donació d'òcits.....	28
1.2.4.1. Complicacions maternes i perinatals associades a les gestacions múltiples en receptores d'òcits.....	31
1.2.4.2. Recomanacions de les Societats Científiques sobre el nombre d'embrions a transferir.....	32
1.2.4.3. Evolució del nombre d'embrions transferits.....	33
1.2.4.4. Transferència d'un embrió.....	34
2. HIPÒTESI.....	35
3. OBJECTIUS.....	35

4. PUBLICACIONS.....	37
4.1. Article 1: “Obstetric and perinatal complications in an oocyte donation programme. Is it time to limit the number of embryos to transfer?”.....	39
4.2. Article 2: “Analysis of factors associated with multiple pregnancy in an oocyte donation programme”.....	47
4.3. Article 3: “ Elective single-embryo transfer in oocyte donation programmes:should it be the rule?”.....	55
4.4. Article 4: “Is it justified to transfer two embryos in oocyte donation? A pilot randomized clinical trial”.....	65
4.5. Article 5: “Evolución y resultados de la transferencia de un embrión en el programa de donación de ovocitos”.....	75
5. DISCUSSIÓ	99
5.1. Complicacions obstètriques i perinatals de la gestació múltiple en receptors d’òocits.....	99
5.2. Factors associats a la gestació múltiple en el programa de Donació d’Òocits.....	102
5.3. Eficàcia de la transferència selectiva d’un embrió.....	103
5.4. Efecte de la implantació de la transferència d’un embrió.....	107
5.5. Expectatives presents i futures per a la selecció embrionària.....	110
6. CONCLUSIONS.....	115
7. GLOSSARI.....	117
8. BIBLIOGRAFIA.....	119
9. AGRAÏMENTS.....	139

RESUM

La gestació múltiple està considerada una complicació de les Tècniques de Reproducció Assistida, especialment significativa en programes de Donació d'Oòcits (DO). No obstant, hi ha pocs autors que hagin avaluat el problema i establert els criteris a aplicar per a reduir-la.

Els objectius d'aquesta tesi van incloure:

- 1) Descriure la incidència de les complicacions obstètriques i perinatals en els embarassos únics i múltiples, així com l'impacte addicional de l'edat de les receptores;
- 2) Analitzar els factors associats a l'embaràs múltiple en el programa de DO;
- 3) Avaluar les taxes acumulades (cicles de transferència d'embrions en fresc més cicles de transferència d'embrions criopreservats) d'embaràs i nascut viu en els cicles de DO on s'havia realitzat la transferència selectiva d'un embrió (TES-1), en comparació amb els cicles amb transferència selectiva de dos embrions (TES-2);
- 4) Avaluar els resultats de l'aplicació del canvi d'estratègia de transferència embrionària de dos embrions cap a un embrió en el nostre programa de DO.

Pel primer objectiu es va dur a terme mitjançant un estudi retrospectiu observacional de 225 gestacions úniques, 113 múltiples i 447 nens nascuts, on el cicle de recepció, l'embaràs i el part es controlaren en el nostre centre. Els resultats demostraven que, en les gestacions múltiples de DO, existia una major incidència de complicacions obstètriques (preeclàmpsia, ruptura prematura de membranes, cesàries i part preterme) i perinatals (baix pes al néixer, ingrés en cures intensives i mortalitat perinatal) que en les gestacions úniques. L'edat (≥ 40 anys) incrementava la incidència de diabetis gestacional i de cesàries.

Pel segon objectiu, es va dur a terme un estudi retrospectiu de 945 cicles de recepció on s'havien transferit dos embrions (dia +2). Entre les variables estudiades, la qualitat embrionària va ser l'únic factor associat a la gestació múltiple. El risc de gestació múltiple era el doble si es transferien dos embrions òptims que dos no òptims.

El tercer objectiu es va desenvolupar a través de tres estudis on es varen avaluar les taxes acumulades de gestació i nascut viu: i) un estudi retrospectiu per comparar els resultats de 1073 cicles TES-2 en dia+2, *versus* 66 cicles amb TES-1; ii) un segon estudi prospectiu aleatoritzat, que comparà els resultats de 34 cicles de TES-1 i 31 de TES-2 quan es disposava de mínim 5 embrions amb almenys 2 d'òptima qualitat en dia +3; iii) un estudi prospectiu analític aplicant els criteris establerts en la pràctica clínica per aconsellar TES-1 i que inclogué 297 cicles de TES-1 i 203 de TES-2. Es va concloure que en receptores de bon pronòstic, les taxes acumulades d'embaràs i nascut viu eren similars en les dues estratègies. No obstant, tot i que amb la transferència d'un embrió es reduïa la taxa de múltiples, es necessitava més temps per aconseguir la mateixa taxa d'èxit.

Pel darrer objectiu, es va analitzar de forma retrospectiva la transferència d'un embrió en el període 2004-2014. Es va posar de manifest que la implementació de criteris mèdics i embriològics havia suposat un increment de transferència d'un embrió de 2.6% a 43.1%, amb una reducció de la taxa de gestació múltiple del 30% al 22.5% i sense una reducció clínicament rellevant de la taxa de gestació i nascut viu.

Els resultats varen demostrar que, aplicant criteris mèdics i embriològics per transferir un embrió, s'aconseguia augmentar el percentatge de transferències úniques i reduir la taxa de gestació múltiple sense que es veiessin afectades les taxes acumulades de gestació i nascut viu. Tot i així, es necessitava més temps per aconseguir la mateixa taxa de gestació.

1. INTRODUCCIÓ

En els últims 30 anys, s'ha produït un increment considerable del nombre de gestacions múltiples. La incidència d'aquest tipus de gestació ha oscil·lat al llarg del temps en funció de l'edat de la dona i, en els darrers anys, hi han tingut un paper rellevant les Tècniques de Reproducció Assistida (TRA).

La gestació múltiple és considerada actualment el major problema associat a les TRA degut als riscos obstètrics i perinatals que se'n deriven. Cada vegada hi ha més consciència de que no és un resultat desitjable i s'han anat prenent mesures per tal d'evitar-la. La prevenció ha estat diferent segons el tipus de TRA aplicada. En els casos d'inducció de l'ovulació i inseminació, s'ha optat per realitzar estimulacions de l'ovulació suaus per tal d'evitar una superovulació i per cancel·lar cicles en determinades circumstàncies. En el cas de la Fecundació *In Vitro* (FIV), s'ha decidit limitar el nombre d'embrions a transferir. Les estratègies per assolir aquesta fita inclouen l'estudi de criteris mèdics i embriològics. Els registres de diferents societats científiques mostren que les estratègies adoptades han suposat una considerable, però en alguns casos insuficient, reducció d'aquest tipus de gestació.

Si bé tant en els cicles d'inducció i d'inseminació com en els cicles FIV/ICSI hi hagut una preocupació i conscienciació del problema, evidenciada en les diferents legislacions, recomanacions i publicacions, en el cas de la Donació d'Oòcits (DO) el problema ha estat menys discutit. No obstant, s'ha de tenir en compte que la donació representa entre un 10-15% del total de cicles de TRA que es realitzen a l'estat espanyol, i que s'hi concentren aproximadament un 50% dels cicles de recepció d'oòcits que es realitzen a Europa.

1.1. Gestació múltiple

1.1.1. Definició, classificació i embriogesi

S'entén per gestació múltiple aquella en la que simultàniament es desenvolupen dos o més fetus a l'úter. Segons la zigositat les gestacions múltiples es classifiquen en:

a) Monozigòtiques (Fig. 1):

Són el producte de la fecundació d'un oòcit per un espermatozoide i, per tant, presenten una alta coincidència genètica. Els bessons monozigòtics es poden formar a partir de la divisió de l'embrió en diferents fases:

- Divisió del zigot en fase de mòrula (abans de les 72h post-fecundació): els blastòmers són pluripotencials i, per tant, es formaran sacs coriònics, placentes i sacs amniòtics independents. Es tracta de bessons bicorials i biamniòtics.

- Fragmentació del zigot en fase de blàstula (entre els dies 4 a 8 post-fecundació): segmentació de l'embrió, és a dir, abans que s'hagi format el sac amniòtic. Per tant, compartiran sac coriònic i placenta, però tindran sac amniòtic independent. Són els monocorials i biamniòtics.

- Fragmentació del zigot en fase de gàstrula (de 9 a 13 dies post-fecundació): divisió del disc embrionari; en aquest cas, compartiran sac coriònic, placenta i sac amniòtic, ja que s'havien format prèviament. Constitueixen els monocorials i monoamniòtics.

- Fragmentació del zigot més enllà del 13è dia post-fecundació: divisió més tardana i incompleta del disc embrionari, que comportarà l'aparició de bessons siamesos.

Segons els grups generats donarà lloc a bigèmins o bessons, trigèmins, quadrigèmins i excepcionalment a major nombre.

b) Polizigòtiques

Són el producte de la fecundació de diferents oòcits per part de diferents espermatozoides. Per tant, no són idèntics, sinó que tenen les mateixes similituds que els germans que no comparteixen embaràs. El nombre dependrà del nombre de zigots (dizigòtiques, trizigòtiques, etc.)

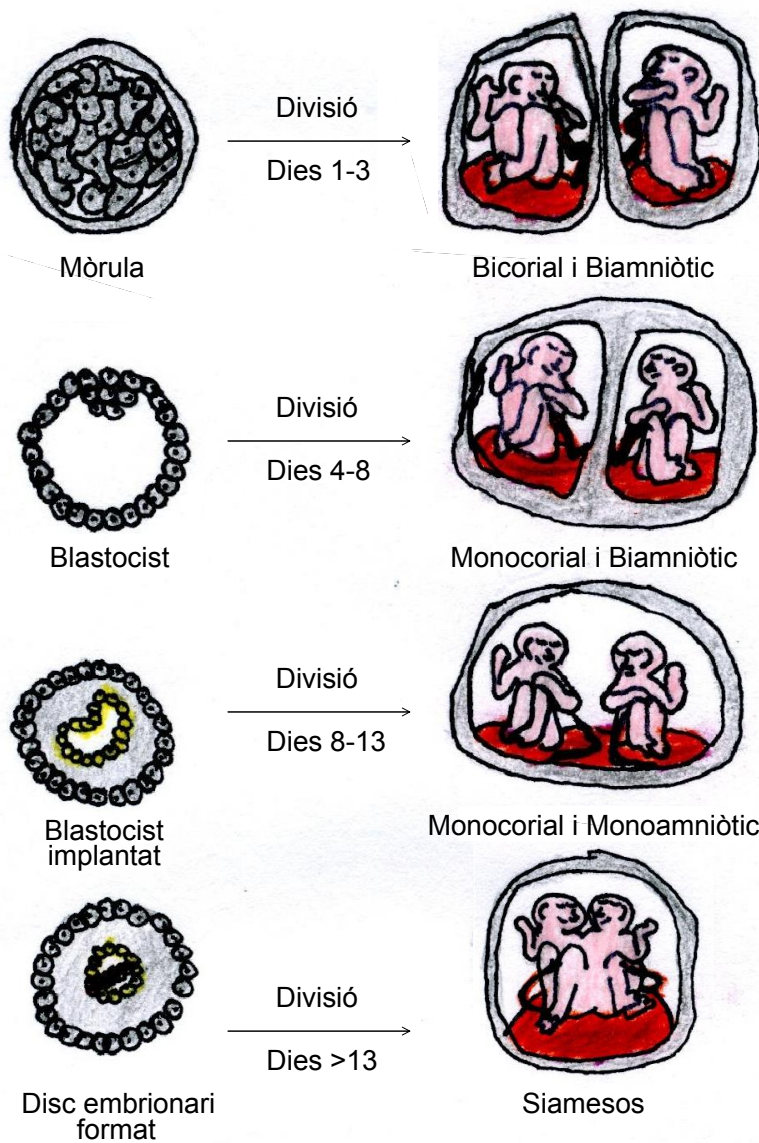


Fig 1. Bessons monozigòtics. Il·lustració Joana Vivas.

1.1.2. Incidència, epidemiologia i factors condicionants

La incidència de gestacions múltiples espontànies és d'aproximadament 1 de cada 85-90 naixements (Bonilla-Musoles et al., 2007). La freqüència de la gestació múltiple polizigòtica es calcula segons la llei d' Hellin mitjançant la fórmula $1/89^{(n-1)}$, on n és el nombre de fetus per gestació i on la freqüència disminueix a mesura que augmenta el nombre de fetus (Hellin D., 1895). Així doncs, la probabilitat de tenir bigèmins és $1/89$, la de tenir trigèmins és $1/7921$ ($1/89^2$), etc.

Pel que fa a la incidència de bessons monozigòtics és d'aproximadament 3/1000 i representa un 30% de les gestacions múltiples. La distribució dels bessons monozigòtics segons la seva corionicitat és del 25-30% pels bicorials i biamniòtics, del 70-75% pels monocorials i biamniòtics, i són esporàdics els casos de monocorials i monoamniòtics (1-2%). L'aparició de bessons siamesos té una freqüència molt baixa (0.25%) (Corsello and Piro, 2010).

Les causes i els mecanismes que provoquen les gestacions monozigòtiques són desconeguts. Algunes teories, basades en estudis realitzats en models animals (armadillo de nou bandes), intenten explicar les causes de la gènesi d'aquest tipus de bessons (Blickstein and Keith, 2007). La teoria de Blickstein (2005) suggereix la possibilitat d'un trencament (gap) de la zona pel·lúcida durant el desenvolupament embrionari, de manera que estaria perdent el seu rol de protecció i permetria una herniació de cèl·lules pluripotents. Per altra banda, Steinman i Valderrama (2001) suggereixen que la separació dels blastòmers estaria regulada per l'efecte del calci en l'adhesió cel·lular. No obstant, ambdues teories presenten limitacions per explicar el procés en tots els àmbits (*in vivo*, inducció de l'ovulació i *in vitro*).

En el cas de les gestacions polizigòtiques, la forma més habitual de gestació múltiple és la dizigòtica, i són anecdòtiques les gestacions espontànies de més de dos fetus. Les gestacions dizigòtiques es produeixen per poliovulació, ja sigui espontània o induïda farmacològicament. Els factors que les condicionen són epidemiològics: predisposició genètica, ètnia, variacions geogràfiques, edat materna, paritat i d'altres (malformacions uterines, talla i pes matern, grups sanguinis B i O) (Guttmacher, 1953; Hollenbach & Hickok, 1990).

A partir del 1970, la introducció dels tractaments d'inducció de l'ovulació i la posterior implementació de la FIV, van suposar també un augment notable en la freqüència de gestacions múltiples polizigòtiques (Bonilla-Musoles et al., 2007).

1.1.3 Riscos materns i perinatals associats a les gestacions múltiples

Tal i com descriu Ramírez (2004), els embarassos múltiples s'associen a un major risc de complicacions fetals, materns, neonatals i a més llarg termini.

Els resultats perinatals dependran del nombre de fetus, l'edat gestacional i el tipus de bessons. Entre les complicacions fetals destaquen:

- Creació de fistules vasculars en la placenta:

Parabiosi: síndrome de transfusió feto-fetal que afecta al 10-15% dels embarassos múltiples monocorials. S'associa a cardiopaties, restricció del creixement i a un 5-20% de la mortalitat dels bessons (Filkins and Beverly, 1998; Minakami *et al.*, 1999).

Quimerismes sanguinis: es dona en casos d'una implantació adjacent de gestacions dizigòtiques. La barreja de sangs fetals en fases d'histocompatibilitat pot ocasionar que d'adults tinguin dues poblacions antigèniques diferenciades a la seva sang.

- Major índex d'avortaments i pèrdues fetals (2-3 vegades més alt que en la gestació única).
- Major índex de malformacions fetals: especialment en els monozigòtics, on es dona una major incidència d'anomalies cromosòmiques, digestives i del Sistema Nerviós Central (Doyle *et al.*, 1991).
- Prematuritat: un 75% dels parts es produeixen abans de la setmana 38 de gestació i un 30% abans de la setmana 36.
- Insuficiència placentària: a major nombre de fetus, menor pes dels mateixos al néixer (fetus únic: 3.377g, bessons: 2.395g, trigèmins: 1818 g, quadrigèmins:1.395g). Tot i

així, aquesta insuficiència es pot veure parcialment compensada per una maduració fetal més precoç.

- Major incidència de placenta prèvia: l'existència de dues placentes o una gran massa placentària producte de la fusió de les mateixes, fa que aquestes s'implantin en el segment uterí inferior amb major facilitat.
- Major patologia funicular, insercions velamentoses, vasa prèvia, torsió de cordó i artèria umbilical única.

A més a més, els nens nascuts de gestacions múltiples tenen més risc de morbiditat per paràlisi cerebral que els nascuts de gestacions úniques (Pettersson *et al.*, 1993). La causa ve derivada de la prematuritat, de fenòmens isquèmics transitoris (especialment en la síndrome de transfusió feto-fetal), així com del retard de creixement intrauterí amb afectació hemodinàmica (Scher *et al.*, 2002).

La mortalitat perinatal és de 4 a 5 vegades més freqüent en les gestacions de bessons que en les gestacions úniques i 9 vegades més en les gestacions triples que en les úniques (Nicolás *et al.*, 2012). També ve condicionada, entre d'altres factors, per la zigositat, essent de 3 a 5 vegades més elevada en els monozigòtics que en els dizigòtics. Es distribueix en un 50% en els monocorials monoamniòtics, 26% pels monocorials biamniòtics i un 9% pels bicorials biamniòtics (Bonilla-Musoles *et al.*, 2007).

D'altra banda, la gestació múltiple suposa una sobrecàrrega per la mare (mecànica, hemodinàmica, metabòlica i psíquica), que es traduirà tant en una sèrie de canvis físics i funcionals com en complicacions maternes durant la gestació (Bonilla-Musoles *et al.*, 2007).

Canvis físics i funcionals:

- Augment de pes i retenció de líquids en un tercer espai (edema).

- Síntomes per compressió i distensió: dispnea, estrenyiment, varius i hemorroides, poliúria, estries, pirosi, dolors abdominals erràtics, lumbàlgies i moviments poc destres.
- Nàusees i vòmits: més intensos i precoços, per una sobrecàrrega endocrinometabòlica deguda a l'augment de l'hormona gonadotropina coriònica humana (hCG).

Complicacions:

- Augment de la incidència d'hipertensió gestacional, tromboembolisme i preeclàmpsia.
- Diabetis gestacional.
- Anèmia: la necessitat de ferro i àcid fòlic estan augmentades. Es dona amb una freqüència de mínim 1 de cada 5 embarassos múltiples.
- Polihidramnios: la quantitat de líquid amniòtic és superior al normal. Succeeix especialment en gestacions monocorials-monoamniòtiques (5-15%), amb el conseqüent risc augmentat de part preterme.
- Major temps de repòs, hospitalització i administració de fàrmacs, associats a l'amenaça de part preterme i a un augment del nombre de procediments quirúrgics com és la cesària (Senat *et al.*, 1998).
- Hemorràgia post-part.
- Problemes psíquics reactius a la situació.

La morbimortalitat materna és més elevada degut especialment a la preeclàmpsia (més freqüent en pacients de TRA), embolismes, hemorràgies (desprendiment de placenta normoinsera, placenta prèvia) i a un augment de cesàries (Senat *et al.*, 1998)

1.2. Gestació múltiple en Tècniques de Reproducció Assistida

1.2.1. Incidència, epidemiologia i factors condicionants

Entre finals de la dècada dels 60 i principis dels 70, s'havia observat una disminució dels índexs de parts de bessons a nivell mundial (Derom *et al.*, 1993; Tuppin *et al.*, 1993). Aquest fet semblava relacionat amb la disminució de l'edat i de la paritat de la població de dones en edat de procreació. No obstant, amb l'aplicació dels tractaments inductors de l'ovulació i d'estimulació ovàrica - tant per inseminacions artificials com per cicles de FIV - s'observà un increment dels índexs de parts múltiples, arribant a superar el 2% (Nicolás *et al.*, 2012).

A Espanya, segons dades de l' Institut Nacional d'Estadística (INE, 2013), la taxa de parts de bessons fins a l'any 1993 era inferior a l'1%. A partir de llavors, va anar augmentant gradualment amb un màxim de 2.2% l'any 2012, essent el 2013 l'únic amb una mínima disminució (2.1%). També s'observa que tot i la disminució de naixements registrada a partir del 2009, el percentatge de bessons va continuar augmentant. Pel que fa a la taxa de triples, començà a incrementar a partir de 1996 (0.041%), arribant quasi a doblar-se l'any 2002 (0.076%). Després, va experimentar una disminució gradual fins a assolir un mínim de 0.029% l'any 2013, percentatge similar al que hi havia l'any 1990, etapa abans de l'explosió de les TRA. (Fig. 2)

A Catalunya, segons dades del l'Institut d'Estadística de Catalunya (IDESCAT, 2013), la taxa de bessons era inferior a l'1% fins a l'any 1990. A partir de llavors, va augmentar gradualment amb un màxim de 2.2% l'any 2011, i s'ha mantingut estable en els últims 3 anys. La taxa de triples va començar a incrementar més aviat que a la resta d'Espanya, a partir de l'any 1989 (0.046%), augmentant gradualment i assolint un pic màxim l'any 1997 (0.082%). Després, va disminuir de forma gradual fins a un mínim l'any 2013 de 0.017%, percentatge similar al que hi havia el 1990, abans de l'aplicació de les TRA, i inferior al publicat a la resta de l'estat espanyol (Fig. 3).

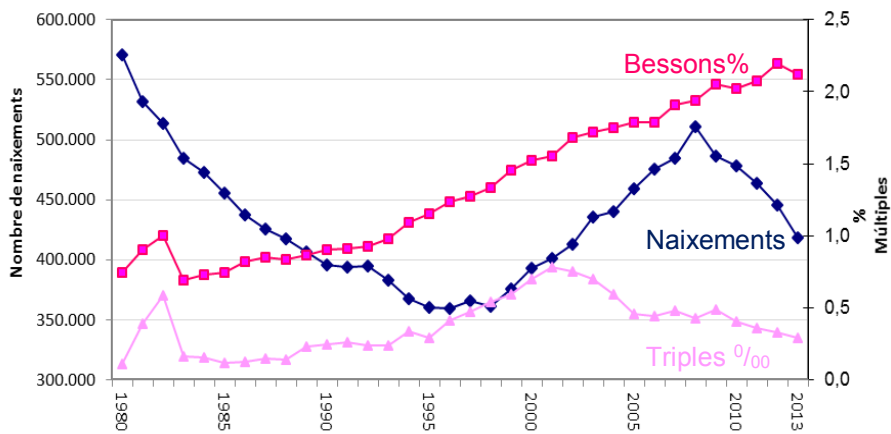


Fig. 2 Nombre de naixements, taxes de bessons i triples. Espanya. INE 1980-2013

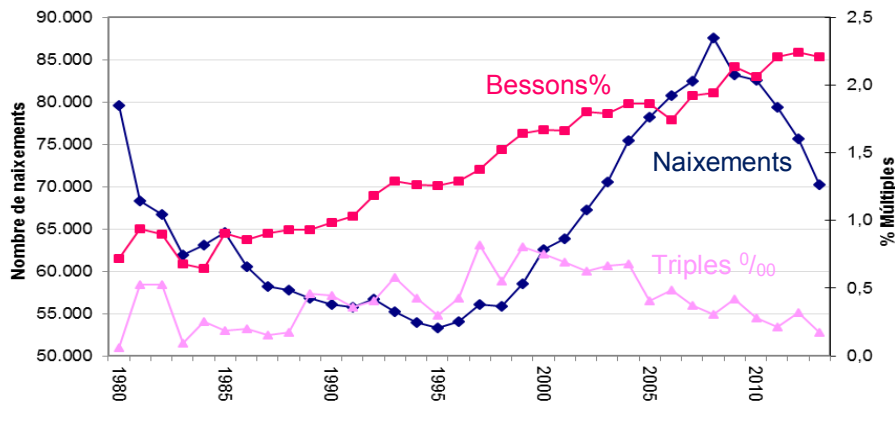


Fig. 3. Nombre de naixements, taxes de bessons i triples. Catalunya. IDESCAT 1980-2013

Està descrit que un 5% de les gestacions múltiples obtingudes per TRA donen lloc a gestacions monozigòtiques (Blickstein, 2006). La manipulació precoç del material embrionari podria determinar una major probabilitat de divisió post-fecundació del zigot. Les causes podrien trobar-se en l'existència d'una zona pel·lúcida més fina per facilitar la microinjecció intracitoplasmàtica (ICSI), la tècnica de "hatching" assistit i el cultiu fins a blastocist (Behr *et al.*, 2000; Alikani *et al.*, 2003).

Pel que fa a les gestacions dizigòtiques, l'augment més important ha estat per les gestacions procedents de les TRA, tot i que també hi poden tenir a veure l'edat materna avançada, l'efecte dels antinceptius orals i la paritat.

Considerant tant les elevades taxes de gestacions múltiples publicades, d'un 10-40% per inseminació i d'un 30-40% per FIV/ICSI (Fauser *et al.*, 2005), així com les complicacions obstètriques i perinatals que se'n derivaven, hi va haver un esforç mèdic per reduir aquest tipus de gestació

1.2.2. Gestació múltiple en inducció de l'ovulació/estimulació ovàrica i inseminació artificial

La inducció de l'ovulació és una tècnica de reproducció que s'utilitza habitualment en els casos d'anovulació i oligoovulació amb l'objectiu que es desenvolupi un fol·licle per programar el coit. La inseminació artificial (IA), prèvia estimulació ovàrica, és una tècnica que consisteix en dipositar espermatozoides d'una forma no natural a l'aparell reproductor de la dona, en el seu període ovulatori, per aconseguir una gestació. Si es realitza amb espermatozoides provinents de la parella, es tracta d'una inseminació artificial conjugal (IAC), però també es pot dur a terme amb espermatozoides de donant (IAD). Les indicacions per a la inseminació poden ser d'origen masculí, femení (disfuncions ovulatòries, factor cervical, factor uterí, endometriosis) o de causa desconeguda (Nicolás *et al.*, 2012).

Per tal que hi hagi desenvolupament múltiple dels fol·licles ovàrics, és necessària una estimulació ovàrica controlada amb agents inductors de l'ovulació. Inicialment, aquests agents es destinaven a tractar l'anovulació, l'oligoovulació o la disfunció ovulatòria en una població reduïda de pacients, on el risc de gestació múltiple tenia una baixa probabilitat. Però l'ampliació d'indicacions per l'ús de les gonadotropines, especialment

en casos de factor masculí lleu i casos d'esterilitat de causa desconeguda, ha suposat un augment de les gestacions múltiples.

Tot i que l'estimulació permet el desenvolupament de diversos fol·licles preovulatoris i la taxa de gestació augmenta amb el nombre de fol·licles desenvolupats, també s'incrementa de forma paral·lela el risc que es produeixin gestacions múltiples, especialment de tres o més fetus.

Segons dades dels registres de la Societat Espanyola de Fertilitat (SEF) i de l'European Human Reproduction and Embryology (ESHRE), des de l'any 2003 fins a l'any 2011, el percentatge de parts de bessons en inseminacions artificials (tant d'IAC com d'IAD) es manté estable, amb uns valors superiors a la SEF respecte a les dades europees (12.2 % vs. 9%) (SEF, 2011; ESHRE, 2011).

Pel que fa als parts triples, en el registre europeu del 2003 eren d'un 1.7% i disminuïren fins a un 0.5% l'any 2011. En el registre espanyol dels mateixos anys, també hi va haver una disminució d'un 1% a un 0.6% (SEF, 2011; ESHRE, 2011). L'American Society of Reproductive Medicine (ASRM) no publica els resultats de les inseminacions.

Dos terços de les gestacions múltiples iatrogèniques, especialment les de tres o més sacs embrionaris, eren atribuïdes a tractaments d'inducció/estimulació de l'ovulació (Levene et al. 1992; Evans et al. 1995; Wilcox et al. 1996; Fauser et al., 2005). Aquest fet va portar a la identificació de factors predictius de l'embaràs múltiple durant l'estimulació de l'ovulació. D'aquesta manera, es varen descriure com a factors associats a la gestació múltiple l'edat, els nivells plasmàtics d'estradiol i el nombre de fol·licles madurs el dia de la descàrrega ovulatòria (Gleicher et al., 2000; Tur et al., 2001). La dispersió dels resultats obtinguts feia difícil establir punts de tall homogenis per tal de prevenir aquest tipus de gestació. Per tant, era necessari que cada centre tingués cura de les seves taxes de múltiples i establís criteris de cancel·lació de cicles segons la seva experiència (Ragni et al., 2006). Tot i així, algunes societats científiques com són la SEF, l'ESHRE i l'ASRM, varen establir les seves recomanacions de cancel·lació de cicles amb risc d'embaràs múltiple, en funció de l'edat i del nombre de fol·licles el dia de la descàrrega ovulatòria amb l'administració de l'hCG (Matorras, 2004; ESHRE Capri Workshop Group, 2000; The Practice Committee of the ASRM,

2008). Per altra banda, era necessari posar en pràctica altres mesures com: indicar pautes d'estimulació suaus i individualitzades, establint la dosi en funció de l'edat i del recompte de fol·licles antrals; dur a terme una monitorització controlada mitjançant controls fol·liculars i tenir uns criteris establerts de cancel·lació del cicle en cas de risc de gestació múltiple (Balasch et al., 1994; Tur et al., 2005; Ragni et al., 2006; Dickey, 2009).

1.2.3. Gestació múltiple en FIV/ICSI

La Fecundació *In Vitro* és un tractament de reproducció assistida que consisteix en la fecundació dels oòcits, en condicions de cultiu "in vitro", prèvia obtenció i preparació dels gàmetes, per posteriorment transferir els embrions a la cavitat uterina. La introducció d'aquesta TRA als anys 80, amb els seus avenços tant en aspectes farmacològics (ús d'agonistes i antagonistes de la GnRH, suport de la fase lútea) com tecnològics (ultrasonografia vaginal) i de laboratori (microinjecció intracitoplasmàtica (ICSI), medis de cultiu, etc.), va ser un dels factors implicats en la gènesi de la gestació múltiple. La sistematització de les pautes d'estimulació ovàrica, amb el consegüent desenvolupament fol·licular múltiple, va permetre l'obtenció d'un major nombre d'oòcits, que va donar lloc a un major nombre d'embrions i una millor selecció dels mateixos. Paral·lelament, es va anar desenvolupant la tècnica de criopreservació, que va permetre congelar els embrions sobrants. Aquests fets van suposar un increment considerable de l'èxit de la tècnica, però també van portar associat un augment en la taxa de gestació múltiple al transferir més d'un embrió (Bassil *et al.*, 1997).

Els resultats dels diferents registres presenten una reducció tant en la taxa de parts de bessons com en la de triples. Pel que fa a la taxa de parts de bessons, els resultats a Espanya (SEF) han disminuït d'un 28% l'any 2001 fins a un 22% el 2011, però tot i així es mantenen per sobre dels que es publiquen el 2011 a Europa (ESHRE), que són d'un 18.5%, i sempre per sota dels valors publicats per la societat americana (ASRM). Aquests últims, tot i que també tenen una tendència a disminuir al llarg dels anys, encara presenten el 2011 un valor de 27.5% (SEF 2011; ESHRE,2011; ASRM, 2011) (Fig. 4).

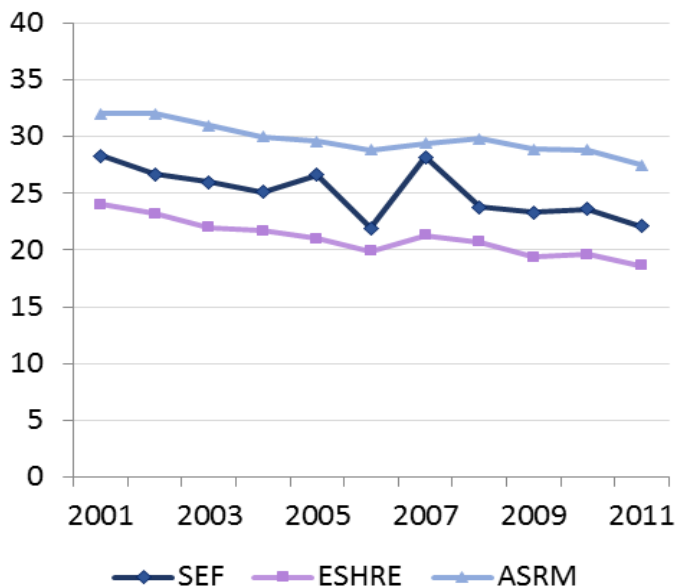


Fig 4. Evolució parts de bessons SEF/ESHRE/ASRM

Pel que fa als parts triples, els registres de les tres societats experimentaren una disminució, i és la SEF la que l'any 2011 publica la taxa més baixa (0.3%), per sota de la d'Europa (0.6%), mentre que en els EEUU, tot i haver-hi una disminució, presenta els valors més elevats (1.3%) (SEF 2011; ESHRE 2011, ASRM 2011).

En pacients de FIV/ICSI, l'única forma d'evitar la gestació múltiple era reduir el nombre d'embrions a transferir. Malgrat hi va haver un canvi d'estratègia de transferir tres o més embrions a transferir-ne dos (Templeton and Morris, 1998), encara s'observava una taxa de gestació de bessons elevada, per la qual cosa calia reduir aquest risc. La reducció fetal selectiva és i era una possible alternativa, no exempta de riscos i no sempre legalment permesa. Per tant, l'única solució per evitar els bessons dizigòtics era transferir un embrió en cada cicle.

Legislació i recomanacions de les Societats Científiques sobre el nombre d'embrions a transferir

Estudis realitzats a Suècia, Dinamarca, Holanda i Bèlgica han demostrat que la transferència d'un embrió en el cicle en fresc, combinada amb les successives transferències dels embrions criopreservats, permet assolir taxes d'embaràs i nascut viu equivalents a quan es transfereixen dos embrions, però evitant les complicacions que comporten les gestacions múltiples.

Durant els últims 10-12 anys, molts països han establert o bé legislació, o bé recomanacions per limitar el nombre d'embrions a transferir. Tot i que en la majoria no hi ha una regulació jurídica específica del nombre d'embrions a transferir, sí que hi ha recomanacions de les societats científiques. En l'últim informe publicat per l'International Federation of Fertility Society (IFFS Surveillance, 2013), s'observa que en la majoria de països es recomana transferir un màxim de dos embrions en casos de bon pronòstic, tres en casos excepcionals i, molt excepcionalment, es permet transferir-ne més de tres. Tot i així, amb els anys ha augmentat el nombre de països que recomanen la transferència d'un embrió i, entre els països que ho tenen establert a la seva jurisdicció, destaquen: Àustria, Bèlgica, Israel, Japó, Turquia, i Suècia. A Espanya, l'actual llei sobre TRA (Ley 14/2006) estableix la limitació de transferir un màxim de tres preembrions en cada cicle reproductiu sense fer cap més especificació.

A banda de la regulació legal, algunes Societats Científiques tenen establertes recomanacions sobre el nombre d'embrions a transferir, basades principalment en l'edat, la qualitat embrionària i el nombre de cicles previs realitzats. Inicialment, a les recomanacions de l'ESHRE es considerà un resultat òptim quan la taxa global d'embaràs era del voltant del 30% i la taxa de gestació de bessons inferior al 10% (ESHRE Campus Course Report, 2001). Posteriorment, Land & Evers (2003) publicaren les conclusions de la reunió de consens sobre els riscos i complicacions associats a les TRA, on ja es considerava l'embaràs múltiple com una complicació i es recomanava la transferència d'un embrió en pacients de ≤ 35 anys, que es trobessin en el seu primer o segon cicle de FIV/ICSI i sempre que es disposés de mínim un embrió d'òptima qualitat.

L'any 2009, la Human Fertilisation and Embryology Authority (HFEA) introduïa al Regne Unit una política per encoratjar els centres a adoptar la transferència d'un embrió en la seva pràctica habitual (HFEA, 2008), i condicionava la llicència dels centres a una política de reducció dels naixements múltiples, de manera que l'any 2012 no havia de superar el 10%. A principis del 2014, es va anul·lar aquesta condició (HFEA, 2013), però igualment tant la HFEA, l'Association of Clinical Embryologists (ACE), la British Fertility Society (BFS) com d'altres organitzacions de professionals continuen abonant el lema "One at a Time" i donen suport a la transferència d'un embrió per tal de reduir la taxa de naixements múltiples fins a un màxim d'un 10% (Harbottle *et al.*, 2015).

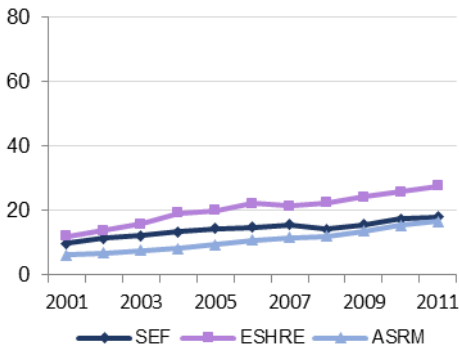
Les recomanacions de l'ASRM són més permissives que les europees, de manera que es transfereixen més embrions. No obstant, aconsellen la transferència d'un embrió a pacients joves <35 anys, de bon pronòstic i amb menys de dos cicles previs fallits.

Pel que fa a la SEF, les darreres recomanacions publicades l'any 2013 pel Grup d'Interès de Salut Embrionària (GISE) indiquen que s'ha de fomentar la transferència d'un embrió en dones de ≤ 37 anys, que es trobin en el 1er o 2n cicle de FIV/ICSI i que disposin d'embrions de bona qualitat en dia+3 o dia+5 de desenvolupament embrionari (Recomendaciones GISE SEF, 2013).

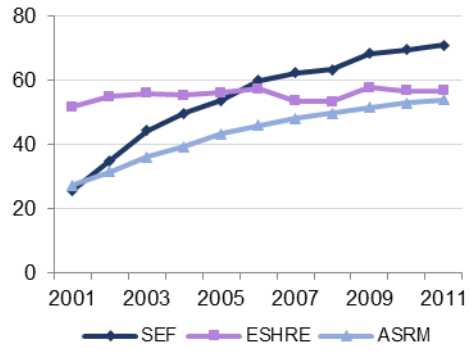
Evolució del nombre d'embrions transferits

Les recomanacions establertes han repercutit en la reducció del nombre d'embrions transferits. Les dades obtingudes dels registres de les societats científiques espanyola (SEF), europea (ESHRE) i americana (ASRM) des de l'any 2000 fins al 2011 mostren una clara tendència en la disminució de la transferència de tres embrions en pro de la transferència de dos embrions. És a les dades de l'ESHRE on s'observa un percentatge més alt de transferència d'un embrió (27.5%), seguit per la SEF (17.9%), i essent el percentatge més baix el publicat per l'ASRM (16.6%). (Fig. 5) (SEF 2011 ; ESHRE 2011; ASRM 2011).

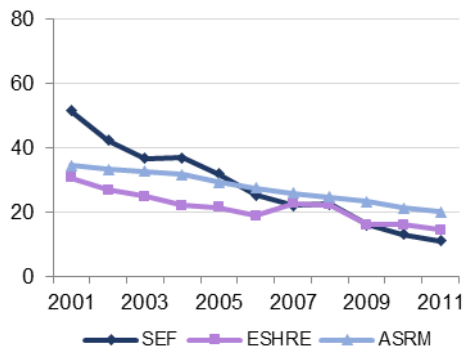
Suècia, Finlàndia, Noruega i Bèlgica són els països que transfereixen un embrió en més d'un 50% dels cicles. Per contra, Alemanya, Espanya, Grècia, Itàlia i Rússia son països que ni tan sols arriben a un 20% de transferència d'un embrió (Kupka *et al.*, 2016).



Evolució transferència d'un embrió



Evolució transferència de dos embrions



Evolució transferència de tres embrions

Fig 5. Evolució del nombre d'embrions transferits

Transferència d'un embrió

La reducció del nombre d'embrions transferits de tres a dos aplicada a FIV/ICSI va evidenciar que les taxes de nascut viu es mantenien, i que per contra s'evitaven les gestacions múltiples (Templeton and Morris, 1998). Tot i així, la taxa de gestació de bessons era encara elevada, pel que calia prendre més mesures. L'estratègia de transferir un embrió semblava la solució, però podia portar associada una disminució de la taxa de nascut viu. Per tant, calia identificar les pacients de bon pronòstic per dur a terme la transferència selectiva d'un embrió amb la mínima pèrdua de nascut viu. Els primers estudis varen demostrar que les úniques variables predictives de gestació múltiple eren l'edat de la pacient i el nombre d'embrions òptims transferits (Coetsier and Dhont, 1998; Terriou *et al.*, 2001; Hunault *et al.*, 2002), així com trobar-se en el primer, segon o tercer cicle de tractament (Coetsier and Dhont, 1998). D'altra banda, també varen ser estudiats i discutits els criteris embriològics per a la transferència selectiva d'un embrió. Diferents estudis van buscar la definició d'embrió d'òptima qualitat per transferir, i van determinar criteris per a la transferència en pronuclis (Scott and Smith, 1998; Ludwig *et al.*, 2000), en embrions primerencs (Van Royen *et al.*, 1999) o en estadi de blastocist (Gardner, 2000).

Al 1999, Vilska i col. varen publicar el primer estudi on es proposava la transferència embrionària selectiva d'un embrió en pacients de bon pronòstic. Es tractà d'un estudi retrospectiu on es demostrava que, en pacients de <35 anys que disposaven d'embrions de bona qualitat per transferir, les taxes d'embaràs eren similars al transferir un o dos embrions i, per tant, s'havia de recomanar la transferència d'un embrió per tal d'evitar l'embaràs múltiple. Posteriorment, es varen publicar diversos estudis prospectius aleatoritzats que comparaven la transferència selectiva d'un embrió amb la de dos embrions, i on es conclouia que la taxa de gestació i nascut viu en el cicle en fresc era inferior transferint un embrió que transferint-ne dos. No obstant, si es tenien en compte les taxes acumulades, és a dir, les resultants del cicle en fresc i/o dels subseqüents cicles de criotransferència amb embrions de la mateixa cohort, els resultats eren equiparables i es reduïa la taxa de gestació múltiple de forma considerable (Thurin *et al.*, 2004; van Montfoort *et al.*, 2006). Posteriorment, el metanàlisi de McLernon i col. (2010), així com la revisió d'estudis aleatoritzats publicada per la Cochrane (Pandian *et al.*, 2014), varen confirmar aquests resultats.

1.2.4. Gestació múltiple en Donació d'Oòcits

La donació d'oòcits (DO) és una alternativa a la FIV/ICSI on el gàmete femení és aportat per una donant. Si bé inicialment la indicació principal per a la DO era la fallida ovàrica prematura (FOP), l'ajornament de la maternitat, freqüent en la societat occidental, i la baixa rendibilitat de la FIV/ICSI en dones d'edat avançada (Devesa et al., 2015) han suposat que l'edat materna avançada s'hagi convertit en una de les indicacions més freqüents. Actualment, la donació està indicada tant en dones que presenten funció ovàrica (fallides repetides de FIV, alteracions genètiques que no es puguin tractar mitjançant diagnòstic genètic preimplantacional, edat materna avançada ≥ 38 anys), com en aquelles amb ovaris afuncionants (fallida ovàrica primària, FOP, menopausa fisiològica) (Barri et al., 1992).

Així doncs, en les dades del registre de la SEF, es pot observar un increment de nombre de cicles de recepció de 2.939 cicles l'any 2002, fins a 9.162 l'any 2011 (SEF, 2011); el registre de l'ESHRE publica pel mateix període un augment de 7.677 a 30.198 cicles (ESHRE, 2011). Si tenim en compte el factor edat, el percentatge de dones de ≥ 40 anys que van realitzar un cicle de recepció l'any 2002 va ser d'un 47%, mentre que a l'últim registre publicat l'any 2013, ja havia augmentat fins un 64.5 % (SEF, 2013).

L'èxit dels programes de DO és superior a l'aconseguit amb FIV/ICSI. L'edat jove de la donant s'associa a una millor qualitat dels oòcits alhora que comporta una millor qualitat embrionària. Aquest factor, en combinació amb un endometri receptiu, és decisiu en els resultats obtinguts (Noyes *et al.*, 2001; Reynolds *et al.*, 2001). En el període comprès entre els anys 2002-2011, el Registre SEF publica una taxa d'embaràs per transferència en DO d'un rang entre el 50-55%. El registre de l'ESHRE, entre un 35%-45% i a les dades publicades per l'ASRM és d'un 60-65% (Fig.6). Malgrat la taxa d'embaràs és elevada, no totes les gestacions arribaran a terme. Així doncs, les taxes de part varien entre les diferents societats, essent del voltant del 30% segons dades de la SEF, del voltant d'un 25% segons l'ESHRE i més altes per l'ASRM, on s'avalua la taxa de nascut viu, que se situa entre el 50-55% (Fig. 7). Cal tenir en compte que als EEUU, la política de transferència embrionària és més permissiva i que és per tant on

transfereixen un major nombre d'embrions (Fig.9), tot i que això suposa una taxa gestacions múltiples superior (Fig.8) (SEF, 2011; ESHRE, 2011; ASRM 2011).

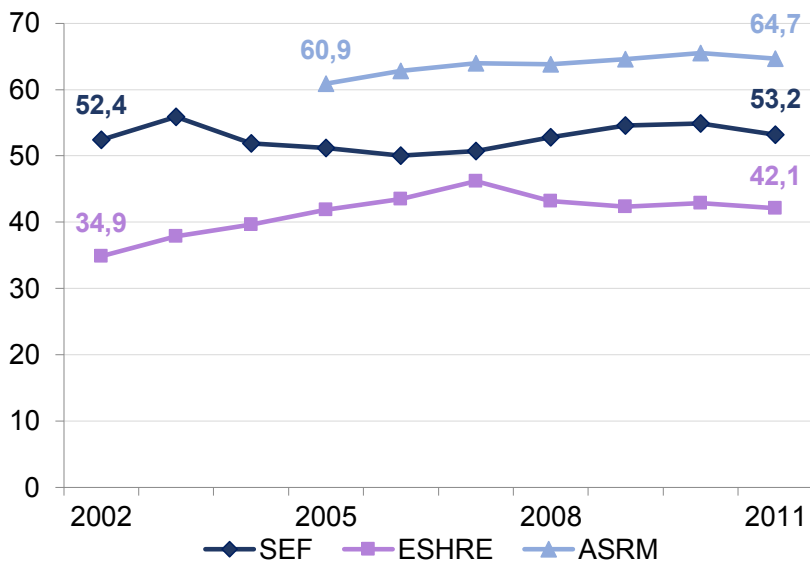


Fig 6. Evolució taxes d'embaràs/transferència a DO

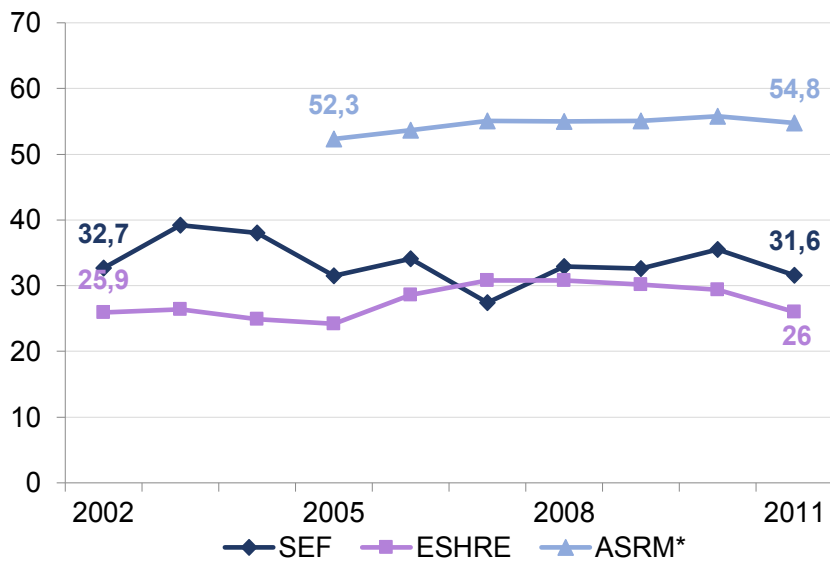


Fig 7 Evolució dels nombre de naixements/ transferència. *ASRM % nascut viu

Els bons resultats que permet assolir la DO van acompanyats de taxes d'embaràs múltiple elevades (20-45%) (Soderstrom-Anttila, 2003), degut a que normalment es transfereixen dos o fins i tot tres embrions (Toner *et al.* 2002). Tal i com passa a FIV/ICSI, els resultats publicats per les diferents societats científiques mostren una tendència a la reducció del nombre d'embrions transferits, però encara amb una incidència elevada de gestació múltiple. El 2011, és l'ESHRE qui presenta un percentatge més baix de parts de bessons (24.7%), seguida de la SEF (28.9%) i, per últim, de l'ASRM, amb les taxes més altes (34.9%) (Fig. 8) (SEF, 2011;ESHRE 2011; ASRM, 2011).

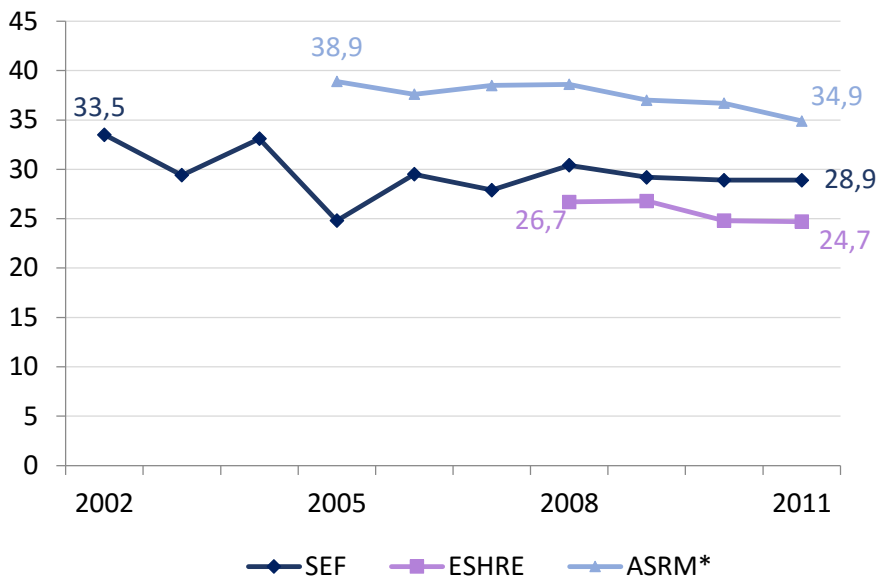


Fig 8. Evolució de la taxa parts de bessons. *ASRM % nascut viu

En el cas dels parts triples, és la SEF qui ha aconseguit una major reducció (0.1% l'any 2011), seguida de l'ESHRE (0.6%) i, per últim, l'ASRM, amb la major incidència de triples nascuts vius (1%) (SEF, 2011; ASRM, 2011).

1.2.4.1. Complicacions obstètriques i perinatals en receptores d'òcits

Des de la introducció de la tècnica de DO com a tractament d'esterilitat, moltes dones han experimentat la possibilitat de ser mares. No obstant, diferents estudis han demostrat una major incidència de complicacions obstètriques i perinatals que amb les gestacions espontànies i amb les gestacions aconseguides mitjançant FIV/ICSI.

Pel que fa a les complicacions obstètriques, el metanàlisi de Pecks i col. (2011) demostra que la DO confereix un major risc en receptores de desenvolupar hipertensió; de la mateixa manera, el metanàlisi de Blázquez i col., (2016) indica que la probabilitat de desenvolupar preeclàmpsia és tres vegades superior que en les pacients de FIV/ICSI; d'altres autors mostren en els seus estudis una major freqüència d'hemorràgies en el primer trimestre de gestació (Serhal and Craft, 1989; Pados *et al.*, 1994; Söderström-Anttila *et al.*, 1998; Stoop *et al.*, 2012), així com una elevada taxa de cesàries (Söderström-Anttila *et al.*, 1998; Sheffer-Mimouni *et al.*, 2002).

Pel que respecta a les complicacions perinatals, el metanàlisi d'Adams i col. (2015) demostra que els nounats de DO tenen un risc incrementat de prematuritat (<37 setmanes), baix pes (<2500 g) i molt baix pes al néixer (<1500 g) comparat amb els nounats d'òcits propis.

Les principals causes a les que són atribuïdes les complicacions obstètriques i perinatals en DO són: l'edat avançada de les pacients, la primiparitat, els possibles factors immunològics i les gestacions múltiples.

Amb l'edat avançada, les complicacions obstètriques presenten una freqüència superior que en embarassos espontanis o amb TRA (Simchen *et al.*, 2009; Tranquilli *et al.*, 2013). Per sobre dels 40 anys, hi ha un risc incrementat de diabetis gestacional, preeclàmpsia i tromboflebitis (Michalas *et al.*, 1996a) i, per sobre dels 45, es descriu major risc d'hipertensió, preeclàmpsia, ruptura prematura de membranes, hemorràgies de segon i tercer trimestre, part preterme i baix pes dels nens al néixer (Soares *et al.*, 2005; Simchen *et al.*, 2009; Laskov *et al.*, 2013).

La primiparitat també s'associa, en general, a un major risc de preeclàmpsia i baix pes dels nounats (Berkowitz *et al.*, 1990; Scholz *et al.*, 1999; Erez *et al.*, 2008).

Tot i que les causes no estan clares, es creu que els factors immunològics tenen un paper important en les complicacions de les receptores. La causa principal de la preeclàmpsia seria una disrupció en l'adaptació immune entre la mare i el fetus, que comporta una invasió trofoblàstica reduïda de les arteries espirals (Pecks *et al.* 2011).

Com ja s'ha vist a l'apartat 1.1.3., la gestació múltiple també suposa un increment en el risc de complicacions maternes i fetals, tant a curt com a llarg termini.

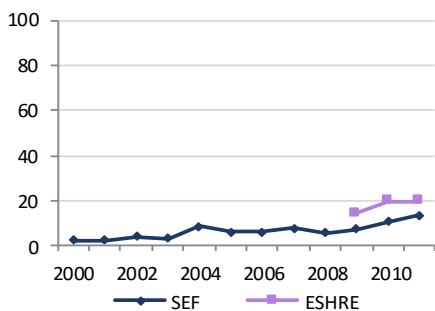
1.2.4.2. Recomanacions de les Societats Científiques sobre el nombre d'embrions a transferir

Els primers estudis que s'havien realitzat per avaluar els resultats de la transferència d'un embrió estaven limitats a cicles de FIV/ICSI, i van permetre establir les recomanacions de transferència d'un embrió en casos de bon pronòstic, però no especificaven com actuar en els casos de DO (Land and Evers, 2003). Tenint en compte les taxes elevades de gestació múltiple en els programes de DO, era necessari establir recomanacions específiques. Algunes societats científiques com les canadenques Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada i la Canadian Fertility and Andrology Society (Joint SOGC-CFAS), l'americana (ASRM) i l'anglesa (HFEA), en les seves guies per a FIV/ICSI, coincideixen en considerar l'edat de la donant a l'hora de recomanar el nombre d'embrions a transferir a les receptores (Min *et al.*, 2010; Guidelines ASRM, 2004; Cutting *et al.*, 2008).

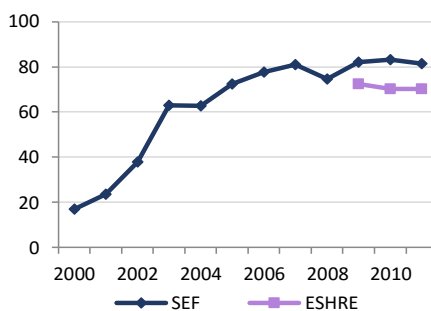
De la mateixa manera que es recomana en dones de <35 anys de FIV/ICSI, aquestes societats coincideixen en què, si les donants estan per sota d'aquesta edat i es disposa d'embrions d'òptima qualitat, és recomanable la transferència d'un embrió. Si bé a les primeres recomanacions de la SEF (Ricciarelli, 2007) s'aconsellava transferir d'1 a 2 embrions en receptores d'òocits, sense especificar més, recentment el GISE de la SEF indica clarament que s'ha de fomentar la transferència d'un embrió sempre que es disposi d'embrions de bona qualitat (Recomendaciones GISE SEF, 2013).

1.2.4.3. Evolució del nombre d'embrions transferits

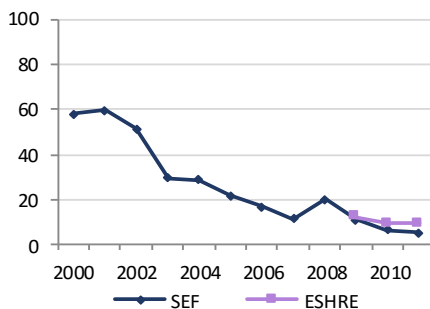
La tendència en la disminució del nombre d'embrions a transferir que s'observava a FIV/ICSI també es fa palesa a DO. Les dades del registre de la SEF (Fig. 9) mostren una clara disminució de la transferència de tres embrions des de l'any 2000, a favor d'un increment de la transferència de dos embrions. La transferència d'un embrió també s'ha vist incrementada, tot i que a un ritme més lent que a FIV/ICSI, passant segons la SEF d'un 2.4% el 2000 a un 13.4 % el 2011, i mantenint-se per sota del que publica el registre de l'ESHRE (19.7% el 2011). L'ASRM no publica aquesta dada per als cicles de DO, i l'ESHRE ho fa només per als últims anys (2009-2011) (SEF, 2011; ESHRE,2011).



Evolució transferència 1 embrió



Evolució transferència 2 embrions



Evolució transferència 3 embrions

Fig 9.. Evolució de la política de transferència embrionària a DO (SEF/ESHRE)

1.2.4.4. Transferència d'un embrió

Mentre que a FIV/ICSI es disposa de molts estudis, tant retrospectius com prospectius aleatoritzats o metanàlisis, que avaluen l'eficàcia de la transferència d'un embrió, a DO hi ha pocs estudis que comparin ambdues estratègies. Com ja hem dit, les guies indiquen que s'ha de tenir en compte l'edat de les donants, però les dades dels diferents registres evidencien un baix percentatge de transferència d'un embrió i, com a conseqüència, un elevat percentatge de gestació múltiple.

Entre els pocs estudis que hi ha publicats, trobem l'estudi retrospectiu de Söderström-Anttila *et al.* (2003), que demostra com l'augment en l'aplicació de la transferència d'un embrió no disminueix la taxa de gestació ni la de part, i per contra suposa una reducció en la taxa de gestació múltiple. El mateix grup verifica que, amb una aplicació d'un 70% de transferència d'un embrió, la seva eficàcia en termes de taxa de gestació i de part és similar a la de la transferència de dos embrions (Söderström-Anttila and Vilska, 2007). Així, conclou que s'hauria de transferir un embrió sempre que es disposi d'embrions d'òptima qualitat i sempre que hi hagi una contraindicació mèdica per a una gestació de bessons.

Tenint en compte que la meitat dels cicles de donació que es publiquen al registre de l'ESHRE de 2011 es varen realitzar a Espanya (15.600 d'un total de 30.198) (Kupka *et al.*, 2016) i que la taxa de gestació múltiple va ser del 29.8% (SEF, 2011), sembla necessari avaluar els nostres propis resultats i així poder establir recomanacions específiques en aquestes pacients, a fi i efecte de reduir les taxes de gestacions múltiples.

2. HIPÒTESI

La transferència selectiva d'un embrió en un programa de DO redueix la taxa de gestació múltiple, sense que es vegin afectades les taxes acumulades de gestació i nascut viu.

3. OBJECTIUS

Objectiu 1. Descriure la incidència de les complicacions obstètriques i perinatals entre els embarassos únics i els múltiples, així com l'impacte addicional de l'edat de les receptores.

Objectiu 2. Analitzar els factors associats a la gestació múltiple en el programa de DO.

Objectiu 3. Avaluar les taxes acumulades (cicles de transferència en fresc i cicles de transferència d'embrions criopreservats) d'embaràs i nascut viu en els cicles de DO on s'ha realitzat la transferència selectiva d'un embrió, en comparació amb els cicles amb transferència selectiva de dos embrions.

Objectiu 4. Avaluar els resultats de l'aplicació del canvi d'estratègia de transferència embrionària de dos embrions a un embrió en el nostre programa de DO.

4. PUBLICACIONES

4.1. Article 1: Objectiu 1

Títol: *“Obstetric and perinatal complications in an oocyte donation programme. Is it time to limit the number of embryos to transfer?”*

Autors: Elisabet Clua, Eva Meler, Dalia Rodríguez, Buenaventura Coroleu, Ignacio Rodríguez, Francisca Martínez, Rosa Tur.

Revista científica: Gynecological Endocrinology

Cita bibliogràfica: Any 2016, volum 32, pàgines: 267-271.

Índex d'impacte: 1,33 (2015)

OBSTETRIC COMPLICATION AND OOCYTE DONATION

Obstetric and perinatal complications in an oocyte donation programme. Is it time to limit the number of embryos to transfer?

Elisabet Clua¹, Eva Meler², Dalia Rodríguez¹, Buenaventura Coroleu¹, Ignacio Rodríguez³, Francisca Martínez¹, and Rosa Tur¹

¹Reproductive Medicine Service, ²Service of Obstetrics and Fetal Medicine, and ³Unit of Biostatistics, Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction, Hospital Universitari Quiron Dexeus, Barcelona, Spain

Abstract

The aim of this study is to describe obstetric and perinatal complications in pregnancies from oocyte donation (OD) cycles, delivering in our centre and to determine the impact of maternal age. Retrospective observational study of a 225 singleton pregnancies, 113 multiple pregnancies and 447 live birth. Pearson's χ^2 test or Fisher's exact test were used for the statistical analysis. A higher incidence of obstetric complications was observed in multiple compared to singleton pregnancies with regard to preeclampsia (24.8% versus 8%), premature rupture of membranes (9.7% versus 1.8%), preterm delivery at <37 weeks (54.9% versus 10.2%) and caesarean section (81.4% versus 64%) ($p < 0.05$). If the age factor is added, the caesarean sections are higher in the single pregnancy group aged >40 years than in the group of <40 years (73.5% versus 49.4%) ($p < 0.05$). A higher incidence is found in multiple versus singleton pregnancies for low birth weight (<2500 g) (61.1% versus 8.2%), admissions to the intensive care unit (15.2% versus 4.7%) and perinatal mortality (13.5% versus 0%) ($p < 0.05$). It is necessary to consider preconception counselling prior to an OD cycle to inform patients about the incidence complications observed and recommend to transfer only a single embryo.

Keywords

Advanced maternal age, multiple pregnancy, obstetric complications, oocyte donation, perinatal complications

History

Received 12 October 2015
Accepted 18 October 2015
Published online 19 November 2015

Introduction

It is widely known that oocyte donation (OD) involves a higher risk of obstetric and perinatal complications compared to pregnancies achieved through *in vitro* fertilisation (IVF) cycles [1–3] and spontaneous pregnancies [2,4]. Advanced patient age and multiple pregnancies are considered the main causes [2,5–7]. Moreover, the absolute allogeneity of the embryo is being postulated as the cause of certain obstetric complications, such as preeclampsia (PE) [1,2,8–10].

The indications for OD are not currently limited to premature ovarian failure, but have also been extended to repeated IVF failures, maternal genetic causes and, especially, advanced maternal age. Delayed motherhood in Western society has been one of the main causes of the increase of women using OD. According to 2012 data from the Spanish Fertility Society (SEF) registry, the percentage of recipients above 40 years of age undergoing OD cycles has increased by almost 40% in the last 10 years, from 47% in 2002 to 64.7% in 2012 [11].

Pregnancy rates in OD programmes are 50–60% and live birth rates are around 40% [11–14]. However, these results are accompanied with high twin pregnancy rates (30–35%) [11,12,14]. Multiple pregnancies, commonly associated with

poor perinatal outcomes, is considered the most frequent complication of assisted reproductive techniques (ART) [15]. According to the SEF registry, a remarkable decrease in triplet delivery in OD has been observed in recent years, reaching 0.5% in 2012, yet twin pregnancy rates remain high, being 27.8% in the same year [11].

Furthermore, advanced maternal age has been related to a higher rate of obstetric complications such as gestational diabetes (GD), hypertensive disorders [16], PE [4,17] and preterm delivery [4].

Some studies carried out on multiple pregnancies of oocyte recipients with advanced age describe a higher risk not only of maternal but also neonatal complications, especially prematurity, and consequently low birth weight [3,6].

Although there are published data about the incidence of obstetric and perinatal complications in oocyte recipients, most studies are based on the evaluation of the patients' medical records who usually performed the cycle in a different centre from where the follow-up of their pregnancy was made [2,4,18], and the information was obtained from computerised databases [6,7] or from questionnaires filled out by the patients after the delivery [1,16]. In our study, all patients performed both the reception cycle and follow-up and labour in our centre.

The aim of the study was to describe obstetric and perinatal complications in singleton and multiple pregnancies in our setting and determine the additional impact of maternal age. This information could provide objective information about these complications to our patients and a better counselling on the number of embryos for transfer.

Address for correspondence: Elisabet Clua and Rosa Tur, Reproductive Medicine Service, Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction, Hospital Universitari Quiron Dexeus, Gran Via Carles III, 71-75, Barcelona 08028, Spain. Tel: 0034932274700. E-mail: elicluc@dexeus.com; rostur@dexeus.com

Methods

Study design

This is a retrospective observational study that analyses the obstetric and perinatal outcomes of pregnancies from OD cycles delivering in our centre.

Subjects

Oocyte recipients aged between 18 and 50 years treated at Hospital Universitari Quirón Dexeus (Barcelona, Spain) between January 2000 and December 2013. The pregnancies analysed correspond to recipients who performed a cycle of fresh embryo transfer of OD. Only cycles in which both pregnancy and delivery were monitored in our centre were included in the study.

All donors accepted for our OD programme fulfilled the legal and clinical requirements requested by the Spanish regulations on ART [19].

Recipients and donor treatment

Recipients with normal ovarian function were treated with a long-acting gonadotropin-releasing hormone (GnRH) agonist administered between days 20 and 22 of the cycle. Endometrial preparation included oral oestradiol valerate plus vaginal progesterone from the day of the oocyte retrieval. Women with no ovarian function received the same treatment for endometrial preparation without GnRH agonist administration, as described by Martínez et al. (2006) [20].

Donor screening and stimulation protocols were as described by Martínez et al. (2006) [20] and Barri et al. (2014) [21].

Donors were allocated to recipients by matching the phenotype, as established by current Spanish regulations [22]. Oocytes retrieved by follicular puncture were donated to the assigned recipients and were inseminated according to sperm quality: IVF, intracytoplasmic sperm injection (ICSI) or sperm bank.

Until the year 2010, our embryo transfer strategy consisted of transferring two embryos (three embryos were transferred in very restricted cases), and the transfer of one embryo was limited to cases of medical indication or the patient's will. As of 2010, our strategy was to transfer a maximum number of two embryos, and elective single embryo transfer was included in good prognosis cases.

Obstetric and perinatal follow-up

Obstetric and perinatal follow-up were carried out according to our own protocols [23], with an accurate monitoring of cases considered as high obstetric risk: women >40 years, multiple pregnancy and/or coexistence of a maternal pathology or a gynaecological-associated condition.

Analysed variables

The variables analysed included the following obstetric and perinatal complications.

Obstetric complications variables

PE defined as the presence of blood pressure $\geq 140/90$ and proteinuria levels ≥ 300 mg/24 h urine or >0.1 g/l; GD determined by the National Diabetes Data Groups criteria: fasting plasma glucose levels ≥ 126 mg/dl and/or abnormal oral glucose tolerance test result after load of 100 g oral glucose (1 h above 190 mg/dl, 2 h above 165 mg/dl and 3 h above 145 mg/dl). GD was diagnosed when two or more values were abnormal. Other variables analysed in this category were the incidence of premature rupture of membranes (PROM); placenta previa (PP); placental

abruption; chorioamnionitis; preterm delivery classified according to gestational age at delivery, before 28, 34 and 37 weeks; caesarean sections and post-partum hysterectomy.

Perinatal outcome variables

Low birth weight (≤ 1500 g/ ≤ 2500 g), admission to intensive care unit (ICU) and perinatal mortality.

Statistical analysis

Rates between the different groups were compared with the Pearson's χ^2 test or Fisher's exact test. All tests were bilateral with a significance level set at 5%.

Results

A total of 338 recipients were included in the study. Two hundred and twenty-five (66%) were singleton pregnancies and 113 (33.4%) multiple ones (111 twins and 2 triplets), with a total of 447 live births.

Mean oocyte donor and recipient ages were 26.2 ± 4.7 and 40.5 ± 4.9 , respectively. One hundred and thirty-five patients were <40 years (39.9%) and 203 (60.1%) were ≥ 40 years. The majority were nulliparous, 80.4% among the singleton pregnancies and 77.0% among the multiple pregnancies, and no differences were found among groups according to maternal age: the rate of nulliparity in patients <40 was 84.4% and in patients ≥ 40 years 75.9% ($p > 0.05$).

Our results show a statistically significant higher incidence of obstetric complications in the group of patients with multiple pregnancy compared to patients with singleton pregnancy with regard to the rate of PE (8% in single pregnancies versus 24.8% in multiple pregnancies), PROM (1.8% in single versus 9.7% in multiple), preterm labour at <37 weeks (10.2% in singleton versus 54.9% in multiple) and caesarean sections (64% in single versus 81.4% multiple) (Table 1). When the age factor was accounted for, we found statistically significant differences in the caesarean section rate, which was higher in the group of singleton pregnancies aged ≥ 40 years (73.5%) compared to patients <40 years (49.4%) (Table 2). In multiple pregnancies, although there

Table 1. Obstetric and perinatal outcomes by type of pregnancy.

Obstetric complications	Singleton pregnancies	Multiple pregnancies
	(n = 225)	(n = 113)
Diabetes	45 (20)	27 (23.9)
Preeclampsia*	18 (8)	28 (24.8)
Placenta previa	5 (2.2)	4 (3.5)
Placental abruption	1 (0.4)	1 (0.9)
PROM*	4 (1.8)	11 (9.7)
Chorioamnionitis	1 (0.4)	0
Preterm labour		
<37 weeks*	23 (10.2)	62 (54.9)
<34 weeks*	7 (3.1)	15 (13.3)
<28 weeks*	0	3 (2.7)
Caesarean sections*	144 (64)	92 (81.4)
Hysterectomy	1 (0.4)	2 (1.8)
Perinatal complications		
Number of foetuses	n = 225	n = 228
Birth weight		
<2500 g*	19 (8.2)	140 (61.1)
<1500 g*	2 (0.9)	18 (8.1)
ICU admission*	11 (4.7)	34 (15.2)
Mortality*	0	6 (13.5)

Values are n (%) except for mortality n (%).
* $p < 0.001$ statistically significant differences.

Table 2. Obstetric and perinatal outcomes by type of pregnancy and age.

Obstetric complications	Singleton pregnancies (n = 225)		Multiple pregnancies (n = 113)	
	<40 (n = 89)	≥40 (n = 136)	<40 (n = 46)	≥40 (n = 67)
Patient age				
Diabetes*	10 (11.2)	35 (25.7)	7 (15.2)	20 (29.9)
Preeclampsia	6 (6.7)	12 (8.8)	13 (28.3)	15 (22.4)
Placenta previa	1 (1.1)	4 (2.9)	2 (4.3)	2 (3.0)
Placental abruption	0	1 (0.7)	1 (2.2)	0
PROM	1 (1.1)	3 (2.2)	5 (10.9)	6 (9.0)
Chorioamnionitis	1 (1.1)	0	0	0
Preterm labour				
<37 weeks	7 (7.9)	16 (11.8)	23 (50.0)	39 (58.2)
<34 weeks	3 (3.4)	4 (2.9)	6 (13.0)	9 (13.4)
<28 weeks	0	0	2 (4.3)	1 (1.5)
Caesarean sections*	44 (49.4)	100 (73.5)	36 (78.3)	56 (84.6)
Hysterectomy	0	1 (0.7)	1 (2.2)	1 (1.5)
Perinatal complications				
No. of foetuses		n = 225		n = 228
Age of the patient	<40 (n = 90)	≥40 (n = 135)	<40 (n = 91)	≥40 (n = 137)
Birth weight				
<2500 g**	6 (6.45)	13 (9.3)	49 (53.6)	91 (66.1)
<1500 g**	1 (1.1)	1 (0.7)	5 (6)	13 (9.4)
ICU admission**	4 (4.3)	7 (5)	16 (17.9)	18 (13.4)
Mortality**	0	0	3 (36)	3 (24)

Values are n (%) except for mortality n (‰).

* $p < 0.001$ between <40 and ≥40 years in singleton pregnancies.

** $p < 0.001$ between <40 and ≥40 years in multiple pregnancies.

are not statistically significant differences among both groups, the caesarean section rate is much higher in both groups (<40 years: 78.3% and ≥40 years: 84.6%).

Although no statistically significant differences were observed between both groups when evaluating the incidence of GD (Table 1), when the results were subanalysed by age groups, statistically significant differences were actually found in women with singleton pregnancy <40 years (11.2%) as opposed to patients ≥40 years (25.7%). However, while the incidence of GD was higher in multiple pregnancies in patients ≥40 years (29.9%) compared to those <40 years (15.2%), these differences did not reach statistical significance (Table 2).

A higher incidence of perinatal complications was found in multiple versus singleton pregnancies, when evaluating birth weight (<2500 g) (61.1% in multiple pregnancies versus 8.2% in singleton), admissions to ICU (15.2% versus 4.7%) as well as perinatal mortality (13.5% versus 0%) ($p < 0.05$) (Table 1). If we also consider maternal age (<40 and ≥40 years), no statistically significant differences are observed due to this factor.

Discussion

Our results, which agree with several published studies, show that there is a higher incidence of obstetric complications in multiple pregnancies than in singleton pregnancies with regard to PE, PROM, caesarean sections and preterm delivery. However, when we assess maternal obstetric complications, according to maternal age, significant differences are only found for GD and caesarean section. No differences are observed in PE and preterm delivery rates.

The overall incidence of GD in our patients is high compared to the general population, which ranges between 3% and 10% (World Diabetes Foundation). When including the age factor, the incidence is much higher in older pregnant women, a result that coincides with the data published in our centre by Vázquez et al. (2010) [24]. In a sample of 14 000 singleton pregnancies from ART (no oocyte recipients included) and spontaneous pregnancies, the authors found an increase in the GD rate in patients >40

years (17.9%) versus <40 years (8.9%). Furthermore, this incidence was significantly higher in patients <40 years who had achieved their pregnancy through ART (12.5%) than in patients who conceived spontaneously (8.5%). If we focus on oocyte recipients, Sheffer-Mimouni et al. (2002) [16], in a study that analysed singleton pregnancies, with a mean maternal age of 41.3 ± 7.0 , found a GD rate similar to our current study (23.9%). With regard to our outcomes, we only find significant differences in patients ≥40 years in the incidence of GD by age in singleton pregnancies. A higher sample would probably be needed to ensure that the GD incidence is not higher in patients ≥40 years in multiple pregnancies.

The incidence of PE found in our study is in concordance with the published studies on pregnancies achieved through OD. For instance, Le Ray et al. (2012) [2], in a study conducted on recipients >43 years with a multiple pregnancy rates similar to our own (39.4%), reported a PE rate of 19.2%. Recent studies have demonstrated that immunoregulation in OD pregnancies is different to spontaneous pregnancies. The degree of antigenic dissimilarity between the mother and the foetus is higher, and could play an important role in the pathophysiology of PE [8]. In pregnant oocyte recipient women, an increase in T helper cells (Th1 and Th2) is observed in peripheral blood compared to women who conceive spontaneously [25]. It would suggest that an additional immunity mechanism led by the Th2 would participate in a successful pregnancy, even in the case of an absolutely allogeneic foetus. Such a mechanism could also be reflected at foetal-maternal interphase level. Tilburgs et al. (2009) [26] found a significant correlation between the degree of human leukocyte antigen (HLA) dissimilarity and the percentage of activated Th2 cells in the decidua parietalis in uneventful pregnancies.

In multiple pregnancies, the caesarean section rate is especially high if we compare it to the data published in 2011 by the General Hospitals of the Spanish National Health System [27], describing a rate of 21.9%. According to our study, maternal age would have a higher effect on this complication in single pregnancies than in multiple ones, in which the proportion is very high in both age groups. The overall caesarean section rate in our centre is around

30%, but it is significantly higher in pregnancies achieved through ART, as published by Vázquez et al. (2010) [24], 34.9% in the group <40 years (1150 pregnant women) and 50.8% for the group ≥40 years (126 pregnant women). However, when we compare our caesarean delivery rate to those published in other studies, including oocyte recipients they are in the same range. Le Ray et al. (2012) [2] published a rate of 61.4% in recipients >43 years, significantly higher than that of the spontaneous pregnancy (37.9%) and IVF/ICSI pregnancy (42.1%) groups. Similarly, the results published by Keegan et al. (2007) [1] on a sample of 199 recipients, were very similar to ours with a caesarean rate in patients <35 years of 50% in singleton pregnancies and 78% in twin pregnancies, and 75% in singleton and 84% in multiple pregnancies in patients >40 years.

Some factors, such as the presence of a concomitant obstetric pathology (PE, GD or foetal macrosomy) may contribute to the caesarean section rate. Advanced maternal age, known to be associated with poor perinatal outcomes, often determines an earlier elective termination of pregnancy. The combination of advanced maternal age, early induction with generally unfavourable cervical conditions and primiparity, will reduce the chances of vaginal delivery in these induced deliveries. Therefore, there is a clear increase in the elective caesarean rate in this group of patients. Multiple pregnancy is another factor determining the increase in caesarean delivery rate [4]. Moreover, other factors may influence the obstetrician's decision [10], such as maternal anxiety, the perception of health, if ART was performed and fear of delivery itself [28].

The high incidence of preterm delivery (25.1%) and, as a consequence, the low birth weight incidence (33.3%) is largely due to multiple pregnancies, as described in other publications [4]. Maternal age does not seem to have an added effect in our study.

In contrast with other studies, the most relevant aspect of our study is that it includes an extensive and complete follow-up of the patients with objective data, since they were monitored in our centre from the beginning until the end (hormonal replacement therapy as endometrial preparation, embryo transfer, pregnancy follow up and delivery).

We conclude that our data provide information on the obstetric and neonatal complications of OD pregnancies, especially with regard to multiplicity. These data are relevant enough to carry out a preconceptional counselling consultation prior to initiating an OD cycle, offer thorough information about the incidence of the complications in our centre, consider the transfer of a single embryo and, finally, carry out an adequate obstetric and neonatal monitoring.

Acknowledgements

We would like to thank Dr Joan Blanco for his critical reading of the manuscript, Elena Gálvez for her help in the initial phase of the study and also Mónica Reig for her assistance with the translation of the manuscript.

Declaration of interest

This work was performed under the auspices of the Càtedra d'Investigació en Obstetrícia i Ginecologia of the Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction, Hospital Universitari Quirón Dexeus, Universitat Autònoma de Barcelona. The authors report no declarations of interest.

References

- Keegan DA, Krey LC, Chang HC, Noyes N. Increased risk of pregnancy-induced hypertension in young recipients of donated oocytes. *Fertil Steril* 2007;87:776-81.
- Le Ray C, Scherier S, Anselem O, et al. Association between oocyte donation and maternal and perinatal outcomes in women aged 43 years or older. *Hum Reprod* 2012;27:896-901.
- Malchau SS, Loft A, Larsen EC, et al. Perinatal outcomes in 375 children born after oocyte donation: a Danish national cohort study. *Fertil Steril* 2013;99:1637-43.
- Henne MB, Zhang M, Paroski S, et al. Comparison of obstetric outcomes in recipients of donor oocytes vs. women of advanced maternal age with autologous oocytes. *J Reprod Med* 2007;52:585-90.
- Söderström-Anttila V. Pregnancy and child outcome after oocyte donation. *Hum Reprod Update* 2001;7:28-32.
- Simchen MJ, Shulman A, Wisner A, et al. The aged uterus: multifetal pregnancy outcome after ovum donation in older women. *Hum Reprod* 2009;24:2500-3.
- Shrim A, Levin I, Mallozzi A, et al. Does very advanced maternal age, with or without egg donation, really increase obstetric risk in a large tertiary center? *J Perinat Med* 2010;38:645-50.
- van der Hooft ML, Lashley EE, Bianchi DW, et al. Clinical and immunologic aspects of egg donation pregnancies: a systematic review. *Hum Reprod Update* 2010;16:704-12.
- Pecks U, Maass N, Neulen J. Oocyte donation: a risk factor for pregnancy-induced hypertension: a meta-analysis and case series. *Dtsch Arztebl Int* 2011;108:23-31.
- Tranquilli AL, Biondini V, Talebi Chahvar S, et al. Perinatal outcomes in oocyte donor pregnancies. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2013;26:1263-7.
- Ciclos para obtención de ovocitos de donante. Available from: www.registrosef.com/public/docs/sef2011_IAFIV.pdf. 11-12. [last accessed 20 Mar 2015].
- Clua E, Tur R, Coroleu B, et al. Analysis of factors associated with multiple pregnancy in an oocyte donation programme. *Reprod Biomed Online* 2010;21:694-9.
- Kupka MS, Ferraretti AP, de Mouzon J, et al. Assisted reproductive technology in Europe, 2010: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod* 2014;29:2099-113.
- National Center of Chronic Disease Prevention and Health Promotion, 2011. Available from: <http://www.cdc.gov/art/ART2011/section4.htm>. [last accessed 20 Mar 2015].
- Land JA, Evers JL. Risks and complications in assisted reproduction techniques: report of an ESHRE consensus meeting. *Hum Reprod* 2003;18:455-7.
- Sheffer-Mimouni G, Mashlach S, Dor J, et al. Factors influencing the obstetric and perinatal outcome after oocyte donation. *Hum Reprod* 2002;17:2636-40.
- Lamminpää R, Vehviläinen-Julkunen K, Gissler M, Heinonen S. Preeclampsia complicated by advanced maternal age: a registry-based study on primiparous women in Finland 1997-2008. *BMC Pregnancy Childbirth* 2012;12:47. doi: 10.1186/1471-2393-12-47.
- Krieg SA, Henne MB, Westphal LM. Obstetric outcomes in donor oocyte pregnancies compared with advanced maternal age in *in vitro* fertilization pregnancies. *Fertil Steril* 2008;90:65-70.
- Real Decreto-ley 9/2014, de 4 de julio, BOE, núm. 163, Anexo IV, Selección y evaluación del donante de células reproductoras. 52751-3.
- Martínez F, Boada M, Coroleu B, et al. A prospective trial comparing oocyte donor ovarian response and recipient pregnancy rates between suppression with gonadotrophin-releasing hormone agonist (GnRHa) alone and dual suppression with a contraceptive vaginal ring and GnRH. *Hum Reprod* 2006;21:2121-5.
- Barri PN, Coroleu B, Clua E, et al. Investigations into implantation failure in oocyte-donation recipients. *Reprod Biomed Online* 2014; 28:99-105.
- Ley 14/2006, de 26 de mayo, sobre técnicas de reproducción humana asistida. BOE num 126, Capítulo II, Artículo 6.4. Usuarios de las técnicas.19950.
- Serra B y Mallafre J. Protocolos de Obstetrícia y Medicina Perinatal del Instituto Universitario Quirón Dexeus, 5ª edición, ISBN edición impresa 978-84-458-2049-0. ISBN edición electrónica 978-84-458-2507-5.
- Vázquez A, Tur R, Martínez F, et al. Influencia de la edad y de las técnicas de reproducción asistida en nuestros resultados obstétricos y perinatales. *Prog Obstet Ginecol* 2010;53:391-8.

25. Chernyshov VP, Tumanova LE, Sudoma IA, Bannikov VI. Th1 and Th2 in human IVF pregnancy with allogenic fetus. *Am J Reprod Immunol* 2008;59:352–8.
26. Tilburgs T, Scherjon SA, van der Mast BJ, et al. Fetal-maternal HLA-C mismatch is associated with decidual T cell activation and induction of functional T regulatory cells. *J Reprod Immunol* 2009; 82:148–57.
27. Evolución de la Tasa de Cesáreas en los Hospitales Generales del Sistema Nacional de Salud: Años 2001-2011. Available from: http://www.mssi.gob.es/estadEstudios/estadisticas/docs/Ev_de_Tasa_Cesareas1.pdf. [last accessed 15 Apr 2015].
28. Handelzalts JE, Fisher S, Lurie S, et al. Personality, fear of childbirth and cesarean delivery on demand. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2012; 91:16–21.

4.2. Article 2: Objectiu 2

Títol: *“Analysis of factors associated with multiple pregnancy in an oocyte donation programme”*

Autors: Elisabet Clua, Rosa Tur, Buenaventura Coroleu, Montse Boada, Pere N. Barri, Anna Veiga.

Revista científica: Reproductive BioMedicine Online.

Cita bibliogràfica: Any 2010, volum 21, pàgines 694-699.

Índex d'impacte: 2,285 (2010)



www.sciencedirect.com
www.rbmonline.com



ARTICLE

Analysis of factors associated with multiple pregnancy in an oocyte donation programme

Elisabet Clua ^{a,*}, Rosa Tur ^a, Buenaventura Coroleu ^a, Montse Boada ^a,
Pere N Barri ^a, Anna Veiga ^{a,b}

^a Servei de Medicina de la Reproducció, Departament d'Obstetrícia, Ginecologia i Reproducció. Institut Universitari Dexeus, Barcelona, Spain; ^b Banc de Línies Cel·lulars, Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona, Barcelona, Spain
* Corresponding author. E-mail address: eliclu@dexeus.com (E Clua).



Elisabet Clua obtained her degree in Biology at the Universidad de Barcelona in 1991. She has been working at the Reproductive Medicine Service at Institut Universitari Dexeus since 1995, as IVF patient monitoring coordinator from 1995 to 2004 and, since 2004, in charge of the oocyte and embryo donation programme. She is a member of the European Society of Human Reproduction and Embryology, Association for the Study of the Reproductive Biology and Spanish Society of Fertility. Her main interests are related to oocyte and embryo donation, multiple pregnancy and ethics and psychological aspects of donation and cross-border reproductive care.

Abstract The aim of this study is to identify the factors associated with multiple pregnancy in an oocyte donation programme. A retrospective study (2000–2007) of 945 synchronous cycles was performed. Two embryos were transferred in all cycles on day 2 after oocyte retrieval. All variables (egg donor and recipient age, number of inseminated oocytes, fertilized oocytes, cleaved embryos, good-quality embryos available, good-quality embryos transferred and frozen embryos) were analysed in relation to the clinical pregnancy rate per transfer (PR) and the multiple pregnancy rate (MPR). The donor age was 26.8 ± 4.5 years and recipient age was 41.0 ± 5.4 . The number of good-quality embryos per recipient was 3.1 ± 2.5 . The PR was 55.1% and the MPR 36.5%. The number of good-quality embryos transferred (2 versus 0) was significantly associated ($P < 0.05$) with the PR (60.6% versus 43.5%). The relationship between the MPR and the number of good-quality embryos transferred was adjusted by donor and recipient's age. For those patients who received 2 versus 0 good-quality embryos, the odds ratio of a multiple pregnancy was 2.1 (95% CI 1.121–3.876). The only predictive factor for multiple pregnancies in an oocyte donation programme is the quality of the transferred embryos.

RBMO Online

© 2010, Reproductive Healthcare Ltd. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

KEYWORDS: clinical pregnancy rate, embryo quality, multiple pregnancy rate, oocyte donation

Introduction

Since the first pregnancies achieved by oocyte donation (Coroleu et al., 1988; Lutjen et al., 1984), the indications for this technique have expanded. Currently, in addition to premature ovarian failure, it is commonly applied in case

of advanced reproductive age and impaired ovarian reserve as well as implantation failure after IVF (Barri et al., 1992; Schoolcraft and Gardner, 2000).

Clinical pregnancy rate in oocyte donation programmes is higher than in patients undergoing IVF/intracytoplasmic sperm injection (ICSI) with their own oocytes. According

to the data in the registry of the Spanish Fertility Society (Hernández et al., 2009), in 2006 the clinical pregnancy rate for IVF/ICSI was 38.7%, whereas for oocyte donation it was 50%. It has been reported that the age of the donor and the quality of the oocytes, in combination with an adequate endometrial thickness are the most important factors which determine the success of the oocyte donation (Cohen et al., 1999; Edwards, 1992; Harris et al., 2002; Navot et al., 1991; Reynolds et al., 2001; Simon et al., 1995). However, the incidence of multiple pregnancy in oocyte donation programmes is high (20–45%) because more than one embryo is usually transferred (Schoolcraft and Gardner, 2000; Toner et al., 2002).

Multiple pregnancies not only involve obstetric and perinatal risks (gestational diabetes, pre-eclampsia, haemorrhage, low birthweight, prematurity, neurological damage, neonatal morbidity and mortality) but also an increased risk of birth defects which can be related to the age of the woman (Cnattingius et al., 1992; Gardner et al., 1995; Kiely, 1998; Kinzler et al., 2000; Pharoah and Cooke, 1996; Senat et al., 1998; Spellacy et al., 1990).

In IVF/ICSI cycles, in order to decrease the multiple pregnancy rate, some authors (Thurin et al., 2004; Tur et al., 2006; Vilska et al., 1999) suggest elective single-embryo transfer (SET) in young women, who are in their first or second IVF cycle and have good-quality embryos. Experience has proven that the cumulative pregnancy rate after SET (fresh and frozen embryo transfer) is comparable to double-embryo transfer (DET) (Gelbaya et al., 2009; Rodríguez et al., 2009). This approach allows a decrease in maternal and fetal complications as well as a reduction of the overall costs (Thurin et al., 2006). Also, some Belgian authors, after analysing the economic costs associated with multiple pregnancy, proposed a financial strategy for assisted reproduction cycles. The reduction in the number of embryos transferred in IVF cycles will finally result in a lower proportion of risky and complicated multiple pregnancies and births, which are associated with high costs at pregnancy, delivery and perinatal care (Ombelet et al., 2005; Tur et al., 2006).

Most oocyte donation programmes consider a high clinical pregnancy rate as the most important outcome to be taken into account. Pressure to obtain good results, as well as the difficulty of the patients both emotionally and in economic terms in repeating cycles (e.g. advanced age, lack of donors) might explain that some centres do not take into consideration the costs and risks associated with complications caused by multiple gestations.

For oocyte donation, there are limited data comparing SET with DET (Söderstrom-Anttila and Vilska, 2007; Söderström-Anttila et al., 2003). In order to reduce the multiple pregnancy rate, some scientific societies have established guidelines about the number of embryos to be transferred to women receiving oocytes: Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada, Canadian Fertility and Andrology Society, Society for Assisted Reproductive Technology (SART), American Society for Reproductive Medicine (ASRM), British Fertility Society and Association of Clinical Embryologists.

The aim of this study was to assess the factors associated with multiple pregnancy in an oocyte donation programme

in order to establish future guidelines for embryo transfer to reduce the risk of multiple pregnancies.

Materials and methods

This study includes a retrospective analysis of 945 oocyte donation synchronous cycles performed between January 2000 and December 2007 at USP-Institut Universitari Dexeus (Barcelona, Spain) where two embryos were transferred.

Donors

Donors included in the oocyte donation programme fulfilled the clinical and legal prerequisites requested by Spanish regulations (Real Decreto 1301/2006). Donations were anonymous and the age of the donors ranged from 18 to 35 years old.

The donors were screened following the protocol described by Martínez et al., 2008. Briefly, plasma FSH concentration and basal 17 β -oestradiol were measured, along with ultrasound scan with antral follicle count. Past medical history was examined to exclude personal and familial risk factors. A karyotype and molecular analysis of cystic fibrosis mutations were also performed. Only candidates with FSH <10 IU/L, body mass index <28 kg/m², no history of hereditary diseases and normal results for all tests performed were accepted.

Ovarian stimulation was performed as previously described (Martínez et al., 2008) with the use of leuprolide acetate 3.75 mg (Ginecrin Depot; Abbott Laboratorios, SA, Madrid, Spain) and human menopausal gonadotrophin (hMG-Lepori; Farma-Lepori, Madrid, Spain). Human chorionic gonadotrophin (hCG Lepori; Farma-Lepori) was administered when at least three follicles measuring \geq 20 mm were observed. Transvaginal ultrasound-guided oocyte retrieval was performed 36 h later.

Recipients

Oocyte recipients received a treatment for endometrial preparation with hormonal replacement therapy according to the protocol described previously (Martínez et al., 2006). Donors were allocated to recipients by matching both the phenotype, blood group and Rhesus factor, as established by current regulations. The upper age limit to receive oocytes in the programme was 50 years old.

On the same day as the oocyte donation, oocytes were inseminated with IVF or ICSI, according to sperm quality. The assessment and selection of embryos on the day of embryo transfer were performed 46 h after insemination. In all cycles, two embryos were transferred on day 2, performed under ultrasound guidance (Coroleu et al., 2000). The remaining embryos were frozen for subsequent attempts.

Pregnancy was diagnosed by urine and/or plasma β -human chorionic gonadotrophin concentrations and considered as clinical pregnancy after visualization of fetal heart beat by ultrasound scan on week 6 of gestation.

Embryo quality assessment

According to morphological criteria classification, good-quality embryos were defined as those having four

equal-sized symmetrical blastomeres, no multinucleation and less than 10% fragmentation on day 2 of development or those with four blastomeres, no multinucleation, but with slightly asymmetrical cells and up to 20% fragmentation (Table 1). Embryos graded with score 8, 9 and 10 were considered good-quality embryos to be transferred.

Analysed variables

Mean egg donor and recipient age, number of oocytes per recipient, inseminated oocytes, fertilized oocytes, cleaved embryos, good-quality embryos available, good-quality embryos transferred and frozen embryos were analysed in relation to the clinical pregnancy rate per transfer (PR) and the multiple pregnancy rate (MPR). Recipient age groups (<38 years, 38–41 years, 42–45 years, ≥46 years) were established to compare the incidence of PR and MPR.

Statistical analysis

Quantitative variables were compared with the *t*-test or the Mann Whitney *U*-test, depending on whether the conditions required for each of the tests were met. Qualitative variables were compared with the chi-squared test or the Fisher's exact test. The multivariate logistic model was adjusted to analyse the association between the type of pregnancy (single/multiple), the age of donors and recipients and embryo quality. All tests were bilateral with a significance level set to $P = 0.05$. The statistical analysis was performed using the Statistical Package for Social Sciences version 16.0 (SPSS, USA).

Results

A total of 793 oocyte donors were included, with mean \pm SD age of 26.8 ± 4.4 years and mean oocytes retrieved of 12.2 ± 4.4 per donor (Table 2). A total of 945 embryo transfers were performed to 879 recipients with a mean age of 41.0 ± 5.4 years. The number of oocytes allocated per recipient was 11.8 ± 4.0 . Five hundred and twenty-one

Table 2 General description of the sample ($n = 945$).

Parameter	Outcome
Donor age (years)	26.8 ± 4.4
Recipient age (years)	41.0 ± 5.4
Donor BMI (kg/m^2)	22.9 ± 3.5
No. of oocytes retrieved/donor	12.2 ± 4.4
No. of oocytes allocated/recipient	11.8 ± 4.0
No. of MII oocytes	9.2 ± 3.1
No. of inseminated oocytes	10.1 ± 3.3
No. of fertilized oocytes	7.8 ± 2.9
No. of cleaved embryos	5.6 ± 2.6
No. of embryos available	3.1 ± 2.5
No. of good-quality embryos transferred	1.5 ± 0.7
No. of cryopreserved embryos	3.6 ± 2.6
Clinical pregnancy rate/transfer	55.1
Multiple pregnancy rate	36.5
Implantation rate	37.6
Live birth rate/transfer	42.4

Values are mean \pm SD or (%).

BMI = body mass index; MII = metaphase II.

pregnancies were achieved (55.1% clinical pregnancy rate per transfer), of which 331 (63.5%) were single pregnancies and 190 (36.5%) twin pregnancies, resulting in a 37.6% implantation rate. Finally, the live birth rates per transfer and per clinical pregnancy were 42.4% (401/945) and 77.0% (401/521), respectively.

No significant differences were found when analysing the clinical pregnancy rate (ranging from 54.1% in women aged <38 years to 57.2% in women aged 38–41 years) and the multiple pregnancy rate (ranging from 34.5% in women aged 42–45 years to 40.4% in women aged ≥46 years) by age group (Table 3). No significant differences were observed when comparing the analysed variables (egg donor and recipient age, number of oocytes per recipient, inseminated oocytes, fertilized oocytes, cleaved embryos, good-quality embryos available, good-quality embryos transferred and frozen embryos) between single and twin pregnancies except for the number of good-quality embryos transferred, which was higher in multiple pregnancies (1.5 ± 0.7 versus 1.7 ± 0.6) ($P < 0.05$) (Table 4).

When analysing the clinical pregnancy, implantation and multiple pregnancy rates according to the number of good-quality embryos transferred (none, one or two), it was observed that the higher the number of good-quality embryos transferred, the higher the clinical pregnancy rate (none: 43.5%; one: 46.9%; two: 60.6%; $P < 0.05$) and the higher the implantation rate (none: 27%; one: 32%; two: 42%; $P < 0.001$). The multiple pregnancy rate showed a non-significant trend towards higher values as the number of good quality embryos transferred increased (none: 23.4%; one: 35.2%; two: 39.1%; Table 5). When applying the multivariate logistic regression model, adjusted by donor and recipient's age, it was observed that when transferring two good-quality embryos, the odds ratio for multiple pregnancy was double that than when two non-good-quality embryos were transferred (2.08, 95% CI 1.12–3.88) (Table 6).

Table 1 Embryo score.

Criterion	Day-2 feature	Score
Number	≥4	6
	<4	2
Size and shape	Symmetrical	1
	Slight asymmetry	0
	Asymmetrical	-1
Fragmentation	<10%	3
	10–19%	2
	20–29%	1
	30–49%	0
	≥50%	-1
Multinucleation	Other parameters not taken into consideration and always score 2	2

Table 3 Cycle outcomes in terms of clinical pregnancy rates and multiple pregnancy rates by age group.

Outcome	Age of recipient (years)			
	<38	38–41	42–45	≥46
Transfers	246	229	269	201
Clinical pregnancies	133 (54.1)	131 (57.2)	148 (55.0)	109 (54.2)
Multiple pregnancies	49 (36.8)	46 (35.1)	51 (34.5)	44 (40.4)

Values are n or n (%). There were no statistically significant differences.

Table 4 Embryological outcomes by type of pregnancy.

Outcome	Pregnancy	
	Single (n = 331)	Twin (n = 190)
Donor age (years)	27.0 ± 4.5	26.6 ± 4.2
Recipient age (years)	40.9 ± 5.3	41.1 ± 5.6
No. of oocytes/recipient	11.9 ± 3.8	11.6 ± 3.9
No. of inseminated oocytes	10.3 ± 3.2	10.0 ± 3.4
No. of fertilized oocytes	8.0 ± 2.95	7.8 ± 2.9
No. of cleaved embryos	5.7 ± 2.63	5.9 ± 2.6
Total no. of good-quality embryos	3.2 ± 2.4	3.4 ± 2.6
No. of good-quality embryos transferred ^a	1.5 ± 0.7	1.7 ± 0.6
No. of cryopreserved embryos	3.7 ± 2.63	3.9 ± 2.6

Values are mean ±SD. ^aP < 0.05 for single versus twin pregnancy.

Discussion

The only factor associated with the multiple pregnancy rate was the number of good-quality embryos transferred. The multiple pregnancy rate was 23.4% when none of the two embryos transferred were of good-quality and 39.1% when both transferred embryos were of good-quality. Although these results did not reach statistically significant differences, when adjusting the number of good-quality embryos transferred by donor and recipient’s age, the chance of multiple pregnancy was double when transferring two good-quality embryos as opposed to two non-good-quality embryos. The importance of embryo quality in oocyte donation programmes has also been demonstrated in the study by Söderstrom-Anttila and Vilksa (2007), which shows that when transferring one embryo of good-quality, the implantation rate is higher than with a non-good-quality embryo. Different authors have reported that embryo quality consti-

Table 5 Outcomes by good-quality embryos transferred.

Outcome	No. of good-quality embryos transferred			P-value
	0	1	2	
Clinical pregnancy rate	43.5 (64/147)	46.9 (91/194)	60.6 (366/604)	<0.05
Multiple pregnancy rate	23.4 (15/64)	35.2 (32/91)	39.1 (143/366)	NS
Implantation rate	26.9 (79/294)	31.7 (123/388)	42.1 (509/1208)	<0.001

Values are % (n/total). NS = not statistically significant.

Table 6 Multivariate analysis with multiple pregnancy rate as a dependent variable, adjusted by donor and recipient’s age.

No. of good-quality embryos transferred	Odds ratio	95% CI
0	—	1
1	1.72	(0.83–3.57)
2	2.08	(1.12–3.88)

tutes the most important factor to predict pregnancy and multiple pregnancy occurrence in IVF/ICSI cycles (Lee et al., 2006; Vilksa et al., 1999).

In the current study, the age of the donor was not related to the multiple pregnancy rate, probably because they were all <35 years old. On the other hand, in accordance with other authors (Reynolds et al., 2001), the age of the recipient was not associated with the multiple pregnancy rate. It has been clearly demonstrated that the endometrial preparation with hormonal replacement therapy along with the fact that the embryos transferred came from oocytes of young women gives rise to high clinical pregnancy and twin pregnancy rates even in women of advanced age.

A high multiple pregnancy rate after the transfer of two embryos was observed for the current data. These results are consistent with the data published by the SEF for 2006 (Hernández et al., 2009), in which the multiple pregnancy rate was 30.4% (29.1% twin, 1.3% triplets) and, for the same year, by the ASRM and SART (Practice Committee of SART and Practice Committee of ASRM, 2008) showing a multiple pregnancy rate of 37% and, for three or more gestational sacs, 4%. These high multiple pregnancy rates are due to the fact that, in most oocyte donation programmes, more than one embryo is transferred (Schoolcraft and Gardner, 2000; Toner et al., 2002). In Spain, in 2006, 81.2% of transfers performed in oocyte donation programmes were of two embryos and 14.1% of three embryos (Hernández et al., 2009).

Data from SET policies in oocyte donation programmes have proved to be efficient in the reduction of the incidence of multiple gestation. The data from Söderström-Anttila

et al. (2003) show that when increasing the SET rate from 17% to 61%, the proportion of twins decreases from 29% to 10% without affecting the live birth rate. Most scientific societies (JOINT SOGC-CFAS, 2008; SART and ASRM, 2008; BFS and ACE, 2008) suggest the transfer of one embryo in oocyte donation programmes, following the same criteria as in IVF/ICSI. Although these guidelines take into account the number of good-quality embryos, the number of cycles and the age (considering the age of the donor <35 years in most oocyte donation programmes), there is a certain reluctance to recommend SET due to a lower clinical pregnancy rate compared with DET in the fresh cycle (Baruffi et al., 2009). Moreover, the high physical, emotional and economical cost of the oocyte donation treatment together with the previous reproductive history of the patients are factors to be considered (Gerris et al., 1999; Licciardi et al., 2001). Furthermore, some couples express a wish to have twins (Harstshorne and Lilford, 1999; Porter and Bhattacharya, 2005). All this, along with the obstetric and perinatal care improvements, may lead, in certain circumstances, to recommend the transfer of two embryos in order to increase the chance of pregnancy alongside underestimating the maternal and fetal risks of twin pregnancies. This attitude has to be changed in oocyte donation programmes, both in clinicians and couples. Grobman et al. (2001) found that, after being confronted with actual probabilities of specified perinatal complications associated with a twin pregnancy, women were less keen to have a twin pregnancy. For this reason, adequate information must be provided.

To conclude and according to the current results, the only predictive factor for multiple pregnancy in an oocyte donation programme is embryo quality. As in IVF programmes, with the aim of reducing multiple pregnancy rates, it would be recommended to transfer one single embryo when good-quality embryos are available. The cumulative pregnancy rate after transfer of cryopreserved embryos should yield similar success rates, just as in IVF/ICSI programmes (Gelbaya et al., 2009; Rodríguez et al., 2009). In order to efficiently implement SET without compromising the outcomes, an adequate selection of the best embryo is needed (De Sutter et al., 2003), along with an effective embryo cryopreservation programme (Cutting et al., 2008; Gerris, 2005; Lundin and Bergh, 2007; Tiitinen et al., 2001).

A decrease in the multiple pregnancy rate is especially important in oocyte donation programmes given that most oocyte-recipient women are of advanced age and therefore have a higher probability of obstetric and neonatal risks (Cnattingius et al., 1992; Reynolds et al., 2001). To reach this objective, it will be necessary to provide detailed information to the patients and to raise awareness among clinicians and couples about the advantages of SET and about the obstetric, perinatal and psychosocial risks of multiple pregnancy (D'Alton, 2004; Jones, 2003; Roca, 2009; Vilkska et al., 2009). Prospective studies are needed to assess the cumulative pregnancy rates after SET.

Acknowledgements

This work was performed under the auspices of Catedra d'Investigació en Obstetrícia i Ginecologia of the Depart-

ment of Obstetrics and Gynaecology, Institut Universitari Dexeus, Universitat Autònoma de Barcelona. We are indebted to N Rodríguez for statistical analysis of the data and to M Reig for the translation.

References

- Barri, P.N., Coroleu, B., Martínez, F., et al., 1992. Indications for oocyte donation. *Hum. Reprod.* 7, 85–88.
- Baruffi, R., Mauri, A., Petersen, C., et al., 2009. Single-embryo transfer reduces clinical pregnancy rates and live births in fresh IVF and Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI) cycles: a meta-analysis. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 7, 36.
- Cnattingius, S., Forman, M.R., Berendes, H., et al., 1992. Delayed child-bearing and risk of adverse perinatal outcome: a population-based study. *J. Am. Med. Assoc.* 268, 886–890.
- Cohen, M.A., Lindheim, S.R., Sauer, M.V., 1999. Donor age is paramount to success in oocyte donation. *Hum. Reprod.* 14, 2755–2758.
- Coroleu, B., Martínez, F., Veiga, A., et al., 1988. Programa de donación de ovocitos en el Instituto Dexeus. *Prog. Obstet. Ginecol.* 31, 557–562.
- Coroleu, B., Carreras, O., Veiga, A., et al., 2000. Embryo transfer under ultrasound guidance improves pregnancy rates after in-vitro fertilization. *Hum. Reprod.* 15, 616–620.
- Cutting, R., Morroll, D., Roberts, S., et al., 2008. Elective single embryo transfer: guidelines for practice British fertility society and association of clinical embryologist. *Hum. Fertil.* 11, 131–146.
- D'Alton, M., 2004. Infertility and the desire for multiple births. *Fertil. Steril.* 81, 523–525.
- De Sutter, P., Van der Elst, J., Coetsier, T., et al., 2003. Single embryo transfer and multiple pregnancy rate reduction in IVF/ICSI: a 5-year appraisal. *Reprod. BioMed. Online* 6, 464–469.
- Edwards, R.G., 1992. Why are agonadal and post-amenorrhoeic women so fertile after oocyte donation? *Hum. Reprod.* 7, 773–774.
- Gardner, M.O., Goldenberg, R.L., Cliver, S.P., et al., 1995. The origin and outcome of preterm twin pregnancies. *Obstet. Gynecol.* 85, 553–557.
- Gelbaya, T.A., Tsoumpu, I., Nardo L.C., 2009. The likelihood of live birth and multiple birth after single versus double embryo transfer at the cleavage stage: a systematic review and meta-analysis. *Fertil. Steril.* May 14 [Epub ahead of print].
- Gerris, J.M., 2005. Single embryo transfer and IVF/ICSI outcome. A balanced appraisal. *Hum. Reprod. Update* 11, 105–121.
- Gerris, J.M., De Neubourg, D., Mangelschots, K., et al., 1999. Prevention of twin pregnancy after in-vitro fertilization or Intracytoplasmic sperm Injection based on strict embryo criteria: a prospective randomized clinical trial. *Hum. Reprod.* 14, 2581–2587.
- Grobman, W.A., Milad, M.P., Stout, J., et al., 2001. Patient perceptions of multiple gestations: an assessment of knowledge and risk aversion. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 185, 920–924.
- JOINT SOGC-CFAS, Guidelines for the number of embryos to transfer following in vitro fertilization No. 182, September 2006. *Int. J. Gynecol. Obstet.* 102, 203–216.
- Harris, S.E., Faddy, M., Levett, S., et al., 2002. Analysis of donor heterogeneity as a factor affecting the clinical outcome of oocyte donation. *Hum. Fertil.* 5, 193–198.
- Harstshorne, G.M., Lilford, R.J., 1999. Different perspectives of patients and health care professionals on the potential benefits and risks of blastocyst culture and multiple embryo transfer. *Hum. Reprod.* 17, 1023–1030.
- Hernández, J., Cabello, Y., Gómez, J.L., et al., 2009. Registro FIV-ICSI de la Sociedad Española de Fertilidad 2006. *Rev. Iberoam. Fert.* 26, 16–27.

- Jones, H.W., 2003. Multiple births: how are we doing? *Fertil. Steril.* 79, 17–21.
- Kiely, J.L., 1998. What is the population-based risk of preterm birth among twins and other multiples? *Clin. Obstet. Gynecol.* 41, 3–11.
- Kinzler, W.L., Ananth, C.V., Vintzileos, A.M., 2000. Medical and economic effects of twin gestations. *J. Soc. Gynecol. Investig.* 7, 321–327.
- Lee, T., Chen, Ch., Tsai, Y., et al., 2006. Embryo quality is more important for younger women whereas age is more important for older women with regard to in vitro fertilization outcome and multiple pregnancy. *Fertil. Steril.* 86, 64–69.
- Licciardi, F., Berkeley, A.S., Krey, L., et al., 2001. A two-versus three embryo transfer: the oocyte donation model. *Fertil. Steril.* 75, 510–513.
- Lundin, K., Bergh, C., 2007. Cumulative impact of adding frozen-thawed cycles to single versus double fresh embryo transfer. *Reprod. BioMed. Online* 15, 76–82.
- Lutjen, P., Trounson, A., Leeton, J., et al., 1984. The establishment and maintenance of pregnancy using in vitro fertilization and embryo donation in a patient with primary ovarian failure. *Nature* 307, 174–175.
- Martínez, F., Boada, M., Coroleu, B., et al., 2006. A prospective trial comparing oocyte donor ovarian response and recipient pregnancy rates between suppression with gonadotrophin-releasing hormone agonist (GnRHa) alone and dual suppression with a contraceptive vaginal ring and GnRH. *Hum. Reprod.* 21, 2121–2125.
- Martínez, F., Clua, E., Parera, N., et al., 2008. Prospective, randomized, comparative study of leuprorelin + human menopausal gonadotropins versus ganirelix + recombinant follicle-stimulating hormone in oocyte donors and pregnancy rates among the corresponding recipients. *Gynecol. Endocrinol.* 24, 188–193.
- Navot, D., Bergh, P.A., Williams, M., et al., 1991. An insight into early reproductive processes through the *in vivo* model of ovum donation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 72, 408–414.
- Ombelet, W., De Sutter, P., Van der Elst, J., et al., 2005. Multiple gestation and infertility treatment: registration, reflection and reaction – the Belgian project. *Hum. Reprod. Update* 11, 3–14.
- Pharoah, P.O., Cooke, T., 1996. Cerebral palsy and multiple births. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed.* 75, 174–177.
- Porter, M., Bhattacharya, S., 2005. Investigation of staff and patients' opinions of a proposed trial of elective single embryo transfer. *Hum. Reprod.* 20, 2523–2530.
- Practice Committee of the Society for Assisted Reproductive Technology and the Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, Guidelines on number of embryos transferred. *Fertil. Steril.* 90, 163–164.
- Real Decreto 1301/2006 de 10 de Noviembre. BOE núm. 270, 11/11/2006, Anexo IV, Selección y evaluación del donante de células reproductoras. 39493–39494.
- Reynolds, M.A., Schieve, L.A., Jeng, G., et al., 2001. Risk of multiple birth associated with in vitro fertilization using donor eggs. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 154, 1043–1050.
- Roca, M., 2009. Consecuencias psicosociales de los partos múltiples como resultado de la aplicación de técnicas de Reproducción Asistida. *Rev. Iberoam. Fert. y Reprod.* 26, 35–44.
- Rodríguez, D., Tur, R., Parriego, M., et al., 2009. Transferencia selectiva de un embrión (TES-1): Tasa de embarazo acumulada con las criotransferencias (CT) de su ciclo FIV/ICSI. Análisis de 5 años de experiencia. *Rev. Iberoam. Fert.* 25, 72–73.
- Schoolcraft, W.B., Gardner, D.K., 2000. Blastocyst culture and transfer increases the efficiency of oocyte donation. *Fertil. Steril.* 74, 482–486.
- Senat, M.V., Ancel, P.Y., Bouvier-Colle, M.H., et al., 1998. How does multiple pregnancy affect maternal mortality and morbidity? *Clin. Obstet. Gynecol.* 41, 78–83.
- Simon, C., Cano, F., Valbuena, D., et al., 1995. Clinical evidence for a detrimental effect on uterine receptivity of high serum estradiol levels in high and normal responder patients. *Hum. Reprod.* 10, 2432–2437.
- Söderström-Anttila, V., Vilksa, S., Mäkinen, S., et al., 2003. Elective single embryo transfer yields good delivery rates in oocyte donation. *Hum. Reprod.* 18, 1858–1863.
- Söderström-Anttila, V., Vilksa, S., 2007. Five years of single embryo transfer with anonymous and non-anonymous oocyte donation. *Reprod. BioMed. Online* 15, 428–433.
- Spellacy, W.N., Handler, A., Ferre, C.D., 1990. A case-control study of 1253 twin pregnancies from a 1982–1987 perinatal data base. *Obstet. Gynecol.* 75, 168–171.
- Thurin, A., Hausken, J., Hillensjö, T., et al., 2004. Elective single-embryo transfer versus double-embryo transfer in in-vitro fertilization. *N. Engl. J. Med.* 351, 2392–2402.
- Thurin, A., Carlsson, P., Bergh, C., 2006. Randomized single versus double embryo transfer. Obstetric and pediatric outcome and a cost-effectiveness analysis. *Hum. Reprod.* 21, 210–216.
- Tiitinen, A., Halttunen, M., Harkki, P., et al., 2001. Elective single embryo transfer: the value of cryopreservation. *Hum. Reprod.* 16, 1140–1144.
- Toner, J.P., Grainger, D.A., Frazier, L.M., 2002. Clinical outcomes among recipients of donated eggs: an analysis of the U.S. national experience, 1996–1998. *Fertil. Steril.* 78, 1038–1045.
- Tur, R., Coroleu, B., Torelló, M.J., et al., 2006. Prevention of multiple pregnancy following IVF in Spain. *Reprod. BioMed. Online* 13, 856–863.
- Vilksa, S., Tiitinen, A., Hyden-Granskog, C., et al., 1999. Elective transfer of one embryo results in an acceptable pregnancy rate and eliminates the risk of multiple birth. *Hum. Reprod.* 14, 2392–2395.
- Vilksa, S., Unkila-Kallio, L., Punamäki, R.L., et al., 2009. Mental health of mothers and fathers of twins conceived via assisted reproduction treatment: a 1-year prospective study. *Hum. Reprod.* 24, 367–377.

Declaration: The authors report no financial or commercial conflicts of interest.

Received 4 March 2010; refereed 4 June 2010; accepted 8 June 2010.

4.3. Article 3: Objectiu 3

Títol: “ *Elective single-embryo transfer in oocyte donation programmes: should it be the rule?*”

Autors: Elisabet Clua, Rosa Tur, Buenaventura Coroleu, Montse Boada, Ignacio Rodríguez, Pedro N. Barri, Anna Veiga.

Revista científica: Reproductive BioMedicine Online

Cita bibliogràfica: Any 2012, volum 25, pàgines 642-648.

Índex d'impacte: 2,675 (2012)



www.sciencedirect.com
www.rbmonline.com



ARTICLE

Elective single-embryo transfer in oocyte donation programmes: should it be the rule?

Elisabet Clua ^{a,*}, Rosa Tur ^a, Buenaventura Coroleu ^a, Montse Boada ^a,
I Rodríguez ^a, Pedro N Barri ^a, Anna Veiga ^{a,b}

^a Servei de Medicina de la Reproducció, Departament d'Obstetrícia, Ginecologia i Reproducció. Institut Universitari Dexeus, Barcelona, Spain; ^b Banc de Línies Cel·lulars, Centre de Medicina Regenerativa de Barcelona, Barcelona, Spain
* Corresponding author. E-mail address: eliclu@dexeus.com (E Clua).



Elisabet Clua obtained her degree in biology at the Universidad de Barcelona in 1991. She has been working at the Reproductive Medicine Service at Institut Universitari Dexeus since 1995. From 1995 to 2004, she was IVF patient monitoring coordinator and since 2004 she has been in charge of the oocyte and embryo donation programme. She is a member of the European Society of Human Reproduction and Embryology, Association for the Study of the Reproductive Biology and Spanish Society of Fertility. Her main interests are related to oocyte and embryo donation, multiple pregnancy and ethics and psychological aspects of donation and cross-border reproductive care.

Abstract The aim of this study is to compare the cumulative clinical pregnancy and live birth rates (fresh embryo transfers followed by frozen–thawed embryo transfers from the same stimulated cycle) between single-embryo transfer (SET) and double-embryo transfer (DET) in an oocyte donation programme. A retrospective analysis of the outcome in 1139 recipient fresh cycles (1073 from DET and 66 from SET) with at least three available embryos for transfer was performed. The clinical pregnancy rates were similar after SET (45.5%, 30/66) and DET (57.1%, 613/1073), whereas the multiple pregnancy rate was 0% and 39.5% for SET and DET, respectively. After evaluating the results using the Kaplan–Meier survival analysis in a period of 1 year, no statistically significant differences were observed in the cumulative clinical pregnancy and live birth rates (SET 82.8% and 76.4% versus DET 77.2% and 63.7%). The results indicate that for women who have at least three available embryos in oocyte donation programmes, one single embryo should be transferred as no significant decrease in the success rate is observed and multiple pregnancy can be avoided.

© 2012, Reproductive Healthcare Ltd. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

Keywords: cumulative live birth rate, cumulative pregnancy rate, double-embryo transfer, oocyte donation, single-embryo transfer

Introduction

High pregnancy rates are achieved in oocyte donation programmes: 43.5% according to the 2006 data from the European IVF Monitoring Consortium of the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) (De Mouzon et al., 2010), and 54.6% according to the 2009 data from the registry of the Spanish Fertility Society (SEF;

www.registrosef.com). However, multiple pregnancy rates are also high and reach 31.7% according to the SEF registry of the same year. It has been described that the success of oocyte donation is, to a great extent, associated with oocyte quality (which is determined by the age of the donor), which results in a better embryo quality (Cohen et al., 1999; Noyes et al., 2001). Moreover, the number of embryos transferred and their quality constitute factors

associated with multiple pregnancy (Söderström-Anttila et al., 2003; Clua et al., 2010).

Women conceiving by means of oocyte donation present higher obstetric risks than those conceiving spontaneously (Sheffer-Mimouni et al., 2002; Söderström-Anttila et al., 1998; Van der Hoorn et al., 2010). The advanced age of these women and the occurrence of multiple pregnancies lead to increased perinatal and obstetric risks when compared with single pregnancies (Simchen et al., 2009; Le Ray et al., 2012).

According to the report of the ESHRE consensus meeting on 'Risks and complications in assisted reproduction techniques' held in Maastricht in 2002, the success of assisted reproduction technology should be measured by the birth of one single healthy child, and multiple pregnancy should be considered as a major complication (Land and Ever, 2003). For oocyte donation, most scientific societies (Cutting et al., 2008, Joint Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada and Canadian Fertility and Andrology Society, 2008; Society for Assisted Reproductive Technologies and American Society for Reproductive Medicine, 2008) recommend that the age of the donor should be used to determine the number of embryos for transfer. Since in Spain, Law 14/2006 establishes that all donors must be under 35 years of age, it would be logical to recommend single-embryo transfer (SET) in oocyte donation programmes as long as good-quality embryos were available, similarly to the recommendation made for young IVF patients (Tur et al., 2006). In Spain, according to the SEF guidelines, it is advisable to transfer one or two embryos in oocyte donation recipients (Ricciarelli, 2007).

In IVF/intracytoplasmic sperm injection (ICSI), the meta-analysis of randomized trials by Baruffi et al. (2009) shows that, up until now, double-embryo transfer (DET) has had a higher ongoing pregnancy rate than SET. However, some authors suggest the need to refer to cumulative pregnancy rates, i.e. to consider the pregnancies achieved from both the fresh and the cryopreserved embryo transfers (Le Lannou et al., 2006; Thurin et al., 2004). In a more recent meta-analysis, McLernon et al. (2010) confirm that similar cumulative live birth rates are obtained in both groups, with a clear reduction of twin pregnancies after SET.

There is a limited number of publications comparing both strategies in oocyte donation programmes and although they analyse the pregnancy and delivery rate, none of them refers to cumulative live birth rates (Söderström-Anttila et al., 2003; Söderström-Anttila and Vilska, 2007). The aim of this study is to compare the cumulative clinical pregnancy and live birth rates between SET and DET in an oocyte donation programme.

Materials and methods

This retrospective study compares the outcomes between SET and DET in oocyte donation synchronous cycles. The results reported correspond to one fresh embryo transfer plus the additional frozen-thawed embryo transfers performed, regardless of the number of embryos for transfer. All cycles were carried out at Institut Universitari Dexeus between January 2000 and December 2008. This study was

approved by the Institutional Review Board of the Catedra d'Investigació en Obstetrícia i Ginecologia (CIOG) of the Department of Obstetrics and Gynaecology, Institut Universitari Dexeus on 17 February 2010 (IRB reference: CIOG 17022010/04).

From all the cycles performed during this period, only those with a minimum of three available embryos on the day of the fresh embryo transfer were included, to ensure embryo freezing for subsequent attempts.

Donors

The donors included in the oocyte donation programme fulfilled the clinical and legal requirements requested by the Spanish regulations on assisted reproduction technology (RD, 1301/2006). Donations were anonymous and the age of the donors ranged from 18 to 35 years old.

Following the protocol described by Martínez et al. (2008), 2 months before treatment, a gynaecological check up with pap smear was performed. Plasma FSH and basal 17 β -oestradiol concentrations were measured, along with an ultrasound scan with antral follicle count. Past medical history was assessed to exclude personal and familial risk factors. A karyotype and molecular analysis of cystic fibrosis mutations were also conducted. Only candidates with FSH <10 IU/L, body mass index <28 kg/m², no history of hereditary diseases and adequate results for all tests performed were accepted.

Ovarian stimulation was performed as previously described by Martínez et al., 2008 with the use of leuprolide acetate 3.75 mg for pituitary down-regulation and human menopausal gonadotrophin (HMG-Lepori; Farma-Lepori, Madrid, Spain). Human chorionic gonadotrophin was administered (10,000 HCG-IU Lepori; Farma-Lepori) when at least three follicles measuring >20 mm were observed. Transvaginal ultrasound-guided oocyte retrieval was performed 36 h later under sedation with propofol.

Recipients

Women with normal ovarian function were down-regulated with a long-acting gonadotrophin-releasing hormone agonist administered during the luteal phase, between days 20 and 22 of the cycle. Endometrial preparation included oestradiol valerate and vaginal micronized progesterone from the day previous to the oocyte retrieval. Women with no ovarian function (physiological menopause or premature ovarian failure) received the same treatment for endometrial preparation without agonist administration (Martínez et al., 2006).

Donors were allocated to recipients by matching the phenotype, the blood type and rhesus factor, as established by current assisted reproduction regulations (Law 14/2006).

Oocytes were inseminated according to sperm quality (IVF/ICSI/sperm bank). Embryo quality was assessed taking into account the number of blastomeres, their size and shape, the percentage of fragmentation and multinucleation. Embryos graded with a score ≥ 6 on a scale of 1–10 were considered embryos available to be transferred or frozen. Embryos graded with a score ≥ 8 were considered good-quality embryos (Clua et al., 2010).

Fresh embryo transfer was performed on day 2 under ultrasound guidance (Coroleu et al., 2000). During the analysed period, the standard policy in the oocyte donation programme was to transfer two embryos, with the exception of patients with medical contraindications for multiple pregnancy or the patient's will. The remaining embryos were frozen on day 3 of development. Embryo cryopreservation criteria were to have a minimum of 6 blastomeres on day 3, less than 35% fragmentation and no multinucleated blastomeres. Cryopreservation and thawing was performed following protocol described by Veiga et al. (1987). Endometrial preparation for patients undergoing frozen-thawed embryo transfer was the same as the one described for fresh embryo transfer (Martínez et al., 2006).

Pregnancy was diagnosed by urine and/or plasma human chorionic gonadotrophin concentrations and considered as clinical pregnancy after visualization of fetal heart beat by ultrasound scan on weeks 6–7 of gestation. Clinical pregnancy and live birth rates in fresh cycles, as well as cumulative clinical pregnancy and live birth rates, were the main analysed variables.

Statistical analysis

Clinical pregnancy and live birth rates were compared with the chi-squared test. The Student's t-test was used for the means. Cumulative rates were estimated using the Kaplan–Meier survival analysis and were compared with the LogRank (Mantel–Cox) test. Follow-up time was considered as the time from the transfer until the achievement of the first clinical pregnancy (cumulative clinical pregnancy rate) or until the achievement of the first pregnancy that led to live birth (cumulative live birth rate). Regarding the analysis of the cumulative rates, it should be noted that there are patients with remaining frozen embryos who still have not proceeded with their transfer for many reasons (such as medical condition, separation) and some may even end up not transferring these frozen embryos. Those cases not reaching pregnancy were censored for the data analysis. The method of analysis chosen for this study allows for an estimation of what would have happened in a specific period (set to 12 months) if the patients with remaining frozen embryos would have proceeded with the transfer, based on the experience of the patients fulfilling the established prerequisites (to have a minimum of three available embryos to transfer) who have transferred their frozen embryos.

The statistical analysis was performed using Statistical Package for Social Sciences version 17.0 (SPSS, Chicago, IL, USA). All tests were bilateral with a significance level set to $\alpha = 0.05$.

Results

From a total of 1365 oocyte donation synchronous cycles carried out between January 2000 and December 2008, 1139 (83.4%) met the selection criteria established (minimum three embryos available for transfer) (Figure 1). SET was performed in 66 cycles and DET in 1073 cycles. Subsequently 75 frozen-thawed embryo transfer cycles were performed from the SET group and 783 from the DET group.

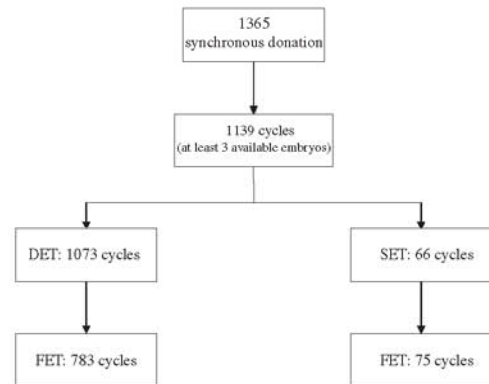


Figure 1 Flow chart of participants.

When analysing the general characteristics of the patients in both groups (Table 1), significant differences were found in the age of the recipients, the youngest being among the SET group in the fresh cycle (39.2 ± 5.7 versus 41.1 ± 5.2 ; $P < 0.05$). No differences were observed in the age of the donors from both groups. The mean IVF plus oocyte donation cycles previously performed was significantly higher in the DET group than in the SET group ($P < 0.05$). No statistically significant differences were found between both groups in the number of inseminated oocytes, fertilized oocytes or available embryos for transfer. The number of good-quality embryos ($P < 0.05$), the number of frozen embryos ($P < 0.0001$) and the quality of the embryos transferred ($P < 0.0001$) was significantly higher in the SET group.

The clinical pregnancy rate in the SET group of patients was 45.5% and 57.1% in the DET group, showing no statistically significant differences. The multiple pregnancy rate was 0% in the SET group and 39.5% in the DET group ($P < 0.0001$), of which four were triplets. In all these patients, the transfer of two embryos resulted in a triplet pregnancy which was dichorionic and triamniotic. The multiple pregnancy rate per transfer was 22.6% (242/1073). No significant differences were observed in the live birth rate (SET 36.4% versus DET 46.1%).

Frozen embryo transfer cycles, 75 in the SET group and 783 in the DET group, were performed with a mean of 1.1 ± 1.1 transfers in the group of patients who underwent SET in the fresh cycle and 0.7 ± 0.8 in the DET group in the fresh cycle. The mean number of frozen-thawed embryos per transfer was similar in both groups (SET 1.9 ± 0.5 and DET 1.9 ± 0.6).

Finally, in the estimates of the cumulative clinical pregnancy and live birth rates after a 12-month follow up, no statistically significant differences were observed (SET 82.8% and 76.4% versus DET 77.2% and 63.7%; Table 2). Figure 2 shows that even though during the first months there was a substantial difference in the clinical pregnancy rate between the SET group and the DET group, results were level at 12-month follow up. The same applied to the live birth rate (Figure 3).

Table 1 Results from the first fresh embryo transfers and subsequent frozen–thawed embryo transfer from the same oocyte donation cycle.

	First fresh SET (n = 66)	First fresh DET (n = 1073)
Recipient age (years) ^a	39.2 ± 5.7	41.1 ± 5.2
Donor age (years)	26.6 ± 4.8	26.8 ± 4.4
No. of previous cycles (IVF + oocyte donation) ^a	1.9 ± 1.5	2.6 ± 1.9
No. of inseminated oocytes	10.3 ± 2.6	10.5 ± 3.3
No. of fertilized oocytes	8.3 ± 2.3	8.3 ± 2.8
No. of embryos available for transfer	6.4 ± 2.0	6.1 ± 2.4
No. of good-quality embryos ^a	4.1 ± 2.3	3.3 ± 2.4
Quality of embryo transferred ^b	8.9 ± 0.9	8.1 ± 1.1
No. of frozen embryos ^b	5.4 ± 2.0	4.1 ± 2.4
Clinical pregnancy rate	45.5 (30/66)	57.1 (613/1073)
Multiple pregnancy rate ^b	0 (0/30)	39.5 (242/613)
Twins	–	38.8 (238/613)
Triplets	–	0.7 (4/613)
Implantation rate	45.5 (30/66)	40.1 (859/2146)
Live birth rate	36.4 (24/66)	46.1 (495/1073)
No. of FET cycles	75	783
FET/fresh transfer cycles ^b	1.1 ± 1.1	0.7 ± 0.8
No. of embryos/FET	1.9 ± 0.5	1.9 ± 0.6
Clinical pregnancy rate with FET ^a	42.7 (32/75)	26.6 (208/783)

Values are mean ± SD or% (n/total).

DET = double-embryo transfer; FET = frozen–thawed embryo transfer; SET = single-embryo transfer.

^aP < 0.05 for SET versus DET.

^bP < 0.0001 for SET versus DET.

Table 2 Estimated cumulative outcomes at 12-month follow up after embryo transfer.

	SET	DET
Cumulative clinical pregnancy rate (%)	82.8	77.2
Cumulative live birth rate (%)	76.4	63.7

DET = double-embryo transfer; SET = single-embryo transfer.

Discussion

According to this analysis of this oocyte donation programme, the cumulative clinical pregnancy and live birth rates achieved by SET are similar to those obtained by DET when there are at least three available embryos for transfer. Transferring a single embryo in fresh cycles also implies the absence of occurrence of multiple pregnancies compared with the 39.5% of multiple pregnancies attained by transferring two embryos, a result similar to that published in other retrospective studies (Söderström-Anttila and Vilkska, 2007).

The importance of embryo quality as a factor associated with multiple pregnancy in oocyte donation programmes has been demonstrated (Clua et al., 2010). When transferring embryos of good quality, the implantation is better than transferring non-good-quality embryos (Söderström-Anttila and Vilkska, 2007). In this study, there was homogeneity in the number of embryos available for transfer in both groups (average of six embryos); however, the mean number of

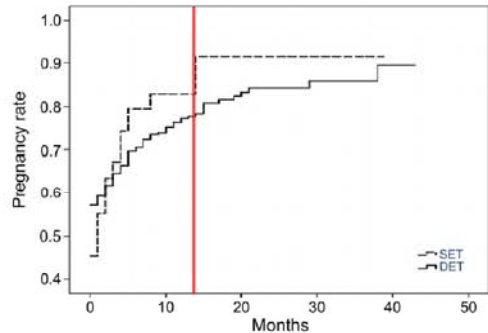


Figure 2 Kaplan–Meier curves for cumulative clinical pregnancy rate depending on the time required to achieve a clinical pregnancy for double-embryo transfer (DET) and single-embryo transfer (SET). The red line marks the cumulative clinical pregnancy rates at 12-month follow up after the first transfer. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

good-quality embryos was significantly lower in the DET group compared with the SET group (3.3 versus 4.1). The reason for the difference is unclear, but it may be related to the sample size of the SET group. The difference in embryo quality could have had an impact on the results of the frozen cycles, which resulted in a higher clinical pregnancy rate in the SET group and probably contributed to the achievement of similar cumulative clinical pregnancy

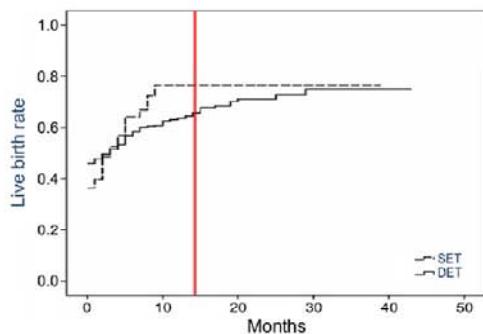


Figure 3 Kaplan–Meier curves for cumulative live birth rate depending on the time required to achieve a clinical pregnancy for double-embryo transfer (DET) and single-embryo transfer (SET). The red line marks the cumulative clinical pregnancy rates at 12-month follow up after the first transfer. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

rates in the two groups. Although the fresh embryos transferred in the SET group had a mean quality that was higher compared with the DET group, this difference is not considered biologically relevant. The embryo evaluation criteria considered as good quality those embryos graded ≥ 8 , and in this case both groups met this condition (8.1 versus 8.9).

The practice in the laboratory at the time of the study was to transfer the embryos in day 2 and freeze the remaining available embryos in day 3. However, a Cochrane meta-analysis and also several authors suggest that blastocyst embryo transfer is a determining factor for improved outcomes in oocyte donation cycles and allows a reduction in the mean number of embryos to transfer (Blake et al., 2007; Porat et al., 2010; Schoolcraft and Gardner, 2000).

In this study centre, SET was only performed in 5.8% of the total transfers analysed in a 9-year period. This policy is similar to the one reported in the oocyte donation 2009 SEF registry statistics (www.registrosef.com). Although there has been an increase in the transfer of two embryos in recent years (2004 62.8% versus 2009 82.0%) and a marked decrease in the transfer of three embryos (2004 28.6% versus 2009 10.8%), the transfer of one embryo did not reach 9% (2004 8.6% versus 2009 7.2%).

There are several reasons that account for the fact that practitioners transfer two embryos in oocyte donation programmes, mainly the concern for a decline in clinical pregnancy rates and the pressure of the patient's age and frequently a history of repeated failures (e.g. artificial insemination, IVF). However, this argument is incorrect since the probability of clinical pregnancy is associated with the embryo quality (Söderström-Anttila et al., 2003) and, with oocyte donors being young (under 35 years), their age and not the recipients' should be considered for the embryo transfer. So as long as good-quality embryos are available, a single embryo should be transferred. The same criterion should be applied regarding the history of past treatments using their own oocytes, which should not determine beforehand the number of embryos to transfer in an oocyte donation cycle. In IVF/ICSI, several studies have already

proven that patients under 35 years and in their first or second IVF cycle, a single embryo should be transferred (Land and Ever, 2003) and certain scientific societies already include recommendations for the transfer of a single embryo in oocyte donation programmes (Cutting et al., 2008, Joint Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada and Canadian Fertility and Andrology Society, 2008; Society for Assisted Reproductive Technologies and American Society for Reproductive Medicine, 2008). Also the advanced age of the patient combined with the twin pregnancy should not be overlooked since it can entail increased obstetric and perinatal risks (Le Ray et al., 2012; Simchen et al., 2009; Vazquez et al., 2010).

The improvement in the cryopreservation programmes should also help practitioners to feel more comfortable when advising the transfer of one embryo, as studies conducted in IVF/ICSI cycles report similar cumulative live birth rates between SET and DET (Rodríguez et al., 2012), as findings also show in this study.

Some of a patient's reasons to request the transfer of more than one embryo are the pressure of their age, the previous treatments performed and the belief that the probability of pregnancy will be higher if two embryos are transferred. Couples ignore the maternal and fetal complications and this fact, along with the cost of having to perform more cycles, is the origin of a DET request (Blennborn et al., 2005; De Lacey et al., 2007; Maheshwari et al., 2011; Pinborg et al., 2003). The current study confirms the clinical factors conditioning the decision of the number of embryos to transfer, the most important being the age of the recipients and the number of previous cycles performed. The mean age of the recipients was significantly lower in the SET group, the result concurring with observational non-recipient IVF/ICSI studies, which also report that a higher number of good-prognosis patients (young women with a greater number of good-quality embryos) undergo SET, whereas those with a poor prognosis proceed to DET (Blennborn et al., 2005; Lundin and Bergh, 2007; Rodríguez et al., 2012). However, Söderström-Anttila and Vilkska (2007) do not find differences in the age of the patients between both groups, although in their sample groups the mean age is 35 years (5 years younger than the current study).

Counselling patients to transfer a single embryo should be based on three criteria. First, counselling needs to inform patients about the real possibilities of live birth with SET, emphasizing that the oocytes in oocyte donation programmes come from young women and providing detailed information about the possibilities of pregnancy with the subsequent cycles of cryopreserved embryos, especially in case of good-prognosis recipients (in their first or second oocyte donation cycle, no uterine pathology, no hydrosalpinx, no history of repeated miscarriages of unknown cause and no severe male factor). Second, counselling can point out that in oocyte donation, unlike IVF with the patient's oocytes, clinical pregnancy and multiple pregnancy rates are related to the age of the donor and not the recipient's (Clua et al., 2010; Reynolds et al., 2001; Wang et al., 2012). And third, counselling should thoroughly explain the obstetric and perinatal risks associated with age and multiple pregnancy (Grobman et al., 2001).

Social funding or reimbursement policies for assisted reproduction treatment would probably lead to a reduction

of the number of embryos per transfer (Ombelet et al., 2005; Reynolds et al., 2003). Several publications suggest that, disregarding the long-term costs associated with prematurity, transferring one embryo has the same outcome and cost-effectiveness as transferring two embryos (Gerris et al., 2004; Ombelet et al., 2005).

This study presents the limitations of being a retrospective study and, despite the total sample of patients being considerably large, the analysis does not have enough power to be an equivalence study, so it may be that with more patients these rates would have been different. The groups are unbalanced regarding the number of good-quality embryos, which could favour cumulative outcomes in the SET group. However, after verifying that the cumulative pregnancy and live birth rates are similar for both strategies and considering the obstetric and perinatal complications associated with multiple pregnancy, aggravated by the mean age of these patients, SET should be the best option as long as at least three embryos are available for transfer. Only 6% of recipients underwent SET, but implementing the SET strategy among those patients with three or more available embryos for transfer, this percentage of patients would increase considerably.

Acknowledgements

This work was performed under the auspices of Catedra d'Investigació en Obstetrícia i Ginecologia of the Department of Obstetrics and Gynaecology, Institut Universitari Dexeus, Universitat Autònoma de Barcelona. The authors are indebted to M Reig for the translation.

References

- Baruffi, R.L.R., Mauri, A.L., Petersen, C.G., Nicoletti, A., Pontes, A., Oliveira, J.B.A., Franco Jr., J.G., 2009. Single-embryo transfer reduces clinical pregnancy rates and live birth rates in fresh IVF and Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI) cycles: a meta-analysis. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 7, 36.
- Blake, D.A., Farquhar, C.M., Johnson, N., Proctor, M., 2007. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted conception. *Cochrane Database Syst. Rev.* 4, 118.
- Blennborn, M., Nilsson, S., Hillervik, C., Hellber, D., 2005. The couple's decision-making in IVF: one or two embryos at transfer? *Hum. Reprod.* 20, 1292–1297.
- Clua, E., Tur, R., Coroleu, B., Boada, M., Barri, P.N., Veiga, A., 2010. Analysis of factors associated with multiple pregnancy in an oocyte donation programme. *Reprod. BioMed. Online* 21, 694–699.
- Cohen, M.A., Lindheim, S.R., Sauer, M.V., 1999. Donor age is a paramount to success in oocyte donation. *Hum. Reprod.* 16, 2658–2661.
- Coroleu, B., Carreras, O., Veiga, A., Martell, A., Martínez, F., Belil, I., Hereter, F., Barri, P.N., 2000. Embryo transfer under ultrasound guidance improves pregnancy rates after in-vitro fertilization. *Hum. Reprod.* 15, 616–620.
- Cutting, R., Morroll, D., Roberts, S., Pickering, S., Rutherford, A. (on behalf of the BFS and ACE) 2008. Elective Single Embryo Transfer: guidelines for practice British Fertility Society and Association of Clinical Embryologist. *Hum. Fertil.* 11, 131–146.
- De Lacey, S., Davies, M., Hornan, G., Briggs, N., Norman, R.J., 2007. Factors and perceptions that influence women's decisions to have a single embryo transferred. *Reprod. BioMed. Online* 15, 526–531.
- De Ferraretti, A.P., Korsak, V., Kupka, M., Nygren, K.G., Nyboe Andersen, A. The European IVF-Monitoring (EIM) Consortium for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE), 2010. Assisted reproductive technology in Europe 2006 results generated from European registers by ESHRE. *Hum. Reprod.* 25, 1851–1862.
- Gerris, J., De Sutter, P., De Neubourg, D., Van Royen, E., Vander Elst, J., Mangelschots, K., Vercruyssen, M., Kolk, P., Elseviers, M., Annemans, L., Pauwels, P., Dhont, M., 2004. A real-life prospective health economic study of elective single embryo transfer versus two-embryo transfer in first IVF/ICSI cycles. *Hum. Reprod.* 19, 917–923.
- Grobman, W.A., Milad, M.P., Sout, J., Klock, S.C., 2001. Patient perceptions of multiple gestations: an assessment of knowledge and risk aversion. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 185, 920–924.
- JOINT SOGC-CFAS, 2008. Guidelines for the number of embryos to transfer following in vitro fertilization No 182, September 2006. *Int. J. Gynecol. Obstet.* 102, 203–216.
- Land, J.A., Ever, J.L., 2003. Risks and complications in assisted reproduction techniques: report of an FSHRF consensus meeting. *Hum. Reprod.* 18, 455–457.
- Law 14/2006 of 26 May, on human assisted reproduction techniques. *BOE [Official State Gazette]* 126, 27/05/2006.
- Le Lannou, D., Griveau, J.F., Laurent, M.C., Gueho, A., Veron, E., Morcel, K., 2006. Contribution of embryo cryopreservation to elective single embryo transfer in IVF-ICSI. *Reprod. BioMed. Online* 13, 368–375.
- Le Ray, C., Scherier, S., Anselem, O., Marszalek, A., Tsatsaris, V., Cabrol, D., Goffinet, F., 2012. Association between oocyte donation and maternal and perinatal outcomes in women aged 43 years or older. *Hum. Reprod.* <http://dx.doi.org/10.1093/humrep/der469>.
- Lundin, K., Bergh, C., 2007. Cumulative impact of adding frozen-thawed cycles to single versus double fresh embryo transfers. *Reprod. BioMed. Online* 15, 76–82.
- Maheshwari, A., Griffiths, S., Bhattacharya, S., 2011. Global variations in the uptake of single embryo transfer. *Hum. Reprod. Update* 17, 107–120.
- Martínez, F., Boada, M., Coroleu, B., Clua, E., Parera, N., Rodríguez, I., Barri, P.N., 2006. A prospective trial comparing oocyte donor ovarian response and recipient pregnancy rates between suppression with gonadotrophin-releasing hormone agonist (GnRH_a) alone and dual suppression with a contraceptive vaginal ring and GnRH. *Hum. Reprod.* 21, 2121–2125.
- Martínez, F., Clua, E., Parera, N., Rodríguez, I., Boada, M., Coroleu, B., 2008. Prospective, randomized, comparative study of leuprorelin + human menopausal gonadotropins versus ganirelix + recombinant follicle-stimulating hormone in oocyte donors and pregnancy rates among the corresponding recipients. *Gynecol. Endocrinol.* 24, 188–193.
- McLernon, D.J., Harrild, K., Bergh, C., Davies, M.J., de Neubourg, D., Dumoulin, J.C., Gerris, J., Kremer, J.A., Martikainen, H., Mol, B.W., Norman, R.J., Thurin-Kjellberg, A., van Moonfoort, A.P., van Peperstraten, A.M., Van Royen, E., Bhattacharya, S., 2010. Clinical effectiveness of elective single versus double embryo transfer: meta-analysis of individual patient data from randomised trials. *BMJ* 341, c6945.
- Noyes, N., Hampton, B.S., Berkeley, A., Licciardi, F., Grifo, J., Krey, L., 2001. Factors useful in predicting the success of oocyte donation: a 3-year retrospective analysis. *Fertil. Steril.* 76, 92–97.
- Ombelet, W., De Sutter, P., Van der Elst, J., Martens, G., 2005. Multiple gestation and infertility treatment: registration, reflection and reaction – the Belgian project. *Hum. Reprod. Update* 11, 3–14.
- Pinborg, A., Loft, A., Schmidt, L., Andersen, A.N., 2003. Attitudes of IVF/ICSI-twin mothers towards twins and single embryo transfer. *Hum. Reprod.* 18, 621–627.

- Porat, N., Boehnlein, L., Barker, M.A., Kovacs, P., Lindheim, S.R., 2010. Blastocyst embryo transfer is the primary determinant for improved outcomes in oocyte donation cycles. *J. Obstet. Gynaecol.* 26, 357–363.
- Practice Committee of the Society for Assisted Reproductive Technology and the Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2008. Guidelines on number of embryos transferred. *Fertil. Steril.* 90, 163–164.
- Real Decreto 1301/2006 de 10 de Noviembre. BOE núm 270, 11/11/2006, Anexo IV, Selección y evaluación del donante de células reproductoras. 39493–39494.
- Reynolds, M.A., Schieve, L.A., Jeng, G., Peterson, H.B., Wilcox, L.S., 2001. Risk of multiple birth associated with in vitro fertilization using donor eggs. *Am. J. Epidemiol.* 154, 1043–1050.
- Reynolds, M.A., Schieve, L.A., Jeng, G., Peterson, H.B., 2003. Does insurance coverage decrease the risk for multiple births associated with assisted reproductive technology? *Fertil. Steril.* 80, 16–23.
- Ricciarelli, E., 2007. Marco de actitud ante las gestaciones múltiples: Legislaciones y recomendaciones. *Rev. Iberoam. de Fert. y Reprod. Hum.* 24, 405–410.
- Rodríguez, D., Tur, R., Mancini, F., Parriego, M., Rodríguez, I., Coroleu, B., Barri, P.N., 2012. Elective single embryo transfer and cumulative pregnancy rate: five-year experience in a Southern European Country. *Gynecol. Endocrinol.* 28, 425–428.
- Schoolcraft, W.B., Gardner, D.K., 2000. Blastocyst culture and transfer increases the efficiency of oocyte donation. *Fertil. Steril.* 74, 482–486.
- Sheffer-Mimouni, G., Mashiach, S., Dor, J., Levran, D., Seidman, D.S., 2002. Factors influencing the obstetric and perinatal outcome after oocyte donation. *Hum. Reprod.* 17, 2636–2640.
- Simchen, M.J., Shulman, A., Wiser, A., Zilberberg, E., Schiff, E., 2009. The aged uterus: multifetal pregnancy outcome after ovum donation in older women. *Hum. Reprod.* 24, 2500–2503.
- SEF (Sociedad Española de Fertilidad) registry statistics (www.registrosef.com). SEF registro 2008. <<http://www.registrosef.com>>.
- Söderström-Anttila, V., Vilska, S., 2007. Five years of single embryo transfer with anonymous and non-anonymous oocyte donation. *Reprod. BioMed. Online* 15, 428–433.
- Söderström-Anttila, V., Foudila, T., Hovatta, O., 1998. Obstetric and perinatal outcome after oocyte donation-comparison with in vitro fertilization pregnancies. *Hum. Reprod.* 13, 483–490.
- Söderström-Anttila, V., Vilska, S., Mäkinen, S., Foudila, T., Suikkari, A.M., 2003. Elective single embryo transfer yields good delivery rates in oocyte donation. *Hum. Reprod.* 18, 1858–1863.
- Thurin, A., Hausken, J., Hillensjö, T., Jablonowska, B., Pinborg, A., Strandell, A., Bergh, C., 2004. Elective single-embryo transfer versus double-embryo transfer in in-vitro fertilization. *N. Engl. J. Med.* 351, 2392–2402.
- Tur, R., Coroleu, B., Torelló, M.J., Boada, M., Veiga, A., Barri, P.N., 2006. Prevention of multiple pregnancy following IVF in Spain. *Reprod. BioMed. Online* 13, 856–863.
- Van der Hoorn, M.L.P., Lashley, E.E.L.O., Bianchi, D.W., Claas, F.H.J., Schonkeren, C.M.C., Scherjon, S.A., 2010. Clinical and immunologic aspects of egg donation pregnancies: a systematic review. *Hum. Reprod. Update* 16, 704–712.
- Vazquez, A., Tur, R., Martínez, F., Mateo, I., Coroleu, B., Comas, C., Barri, P.N., 2010. Influencia de la edad y de las técnicas de reproducción asistida en nuestros resultados obstétricos y perinatales. *Prog. Obstet. Ginecol.* 53, 391–398.
- Veiga, A., Calderon, G., Barri, P.N., Coroleu, B., 1987. Pregnancy after the replacement of a frozen-thawed embryo with less than 50% intact blastomeres. *Hum. Reprod.* 2, 321–323.
- Wang, Y.A., Farquhar, C., Sullivan, E.A., 2012. Donor age is a major determinant of success of oocyte donation/recipient programme. *Hum. Reprod.* 27, 118–125.

Declaration: The authors report no financial or commercial conflicts of interest.

Received 26 May 2012; refereed 30 August 2012; accepted 11 September 2012.

4.4. Article 4: Objectiu 3

Títol: *“Is it justified to transfer two embryos in oocyte donation? A pilot randomized clinical trial”*

Autors: Elisabet Clua, Rosa Tur, Buenaventura Coroleu, Ignacio Rodríguez, Montserrat Boada, M^a José Gómez, Pedro N. Barri, Anna Veiga.

Revista científica: Reproductive BioMedicine Online

Cita bibliogràfica: Any 2015, volum 31, pàgines 154-161

Índex d'impacte: 3,015 (2015)



ELSEVIER

www.sciencedirect.com
www.rbmonline.com



ARTICLE

Is it justified to transfer two embryos in oocyte donation? A pilot randomized clinical trial




Elisabet Clua ^{a,1,*}, Rosa Tur ^{a,1,*}, Buenaventura Coroleu ^a, Ignacio Rodríguez ^b,
Montserrat Boada ^a, M^a José Gómez ^a, Pedro Nolasca Barri ^a, Anna Veiga ^{a,c}

^a Reproductive Medicine Service, Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction, Hospital Universitari Quiron Dexeus, Barcelona, Spain; ^b Unit of Biostatistics, Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction, Hospital Universitari Quiron Dexeus, Barcelona, Spain; ^c Stem Cell Bank, Center of Regenerative Medicine, Barcelona, Spain

* Corresponding authors. E-mail addresses: eliclu@dexeus.com (E Clua); rostur@dexeus.com (R Tur). ¹ The authors consider that the first two authors should be regarded as joint first authors.



Elisabet Clua obtained her degree in Biology at the Universidad de Barcelona in 1991. She has been working at the Reproductive Medicine Service at Institut Universitari Dexeus since 1995 and was IVF patient monitoring coordinator from 1995 to 2004. Since 2004 she has been in charge of the oocyte and embryo donation program. She is a member of the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE), the Association for the Study of Reproductive Biology (ASEBIR) and the Spanish Society of Fertility (SEF). Her main interests are related to oocyte and embryo donation, and multiple pregnancy, as well as ethics and psychological aspects of donation and cross-border reproductive care.

Abstract Multiple pregnancies involve high obstetric and perinatal risks. The aim of this study is to evaluate, in a pilot randomized control study, if the cumulative pregnancy and live birth rates of elective single embryo transfer (eSET) are comparable to the ones obtained with elective double embryo transfer (eDET). A total of 65 patients with at least two good quality embryos was randomized, 34 (52.3%) assigned to the eSET group and 31 (47.7%) to the eDET group. The cumulative pregnancy rates (eSET: 73.5% and eDET: 77.4%. RR: 0.95 95% CI: 0.72–1.25) and live birth rates (eSET: 58.8% and eDET: 61.3%. RR: 0.96 95% CI: 0.64–1.42) were similar in the two groups. The twin pregnancy rate in the fresh transfers of eDET group was 47.7% and 0% in the eSET group. The medical team decided to interrupt the study for reasons related to risks associated with elevated twin pregnancy rate, leaving low numbers of patients within the study as a result. When considering cumulative success rates, eSET and eDET are similar in terms of efficacy. However, eDET involves an increased and unacceptable twin pregnancy rate. The only prevention strategy is single embryo transfer. 

© 2015 Reproductive Healthcare Ltd. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

KEYWORDS: cumulative pregnancy rate, elective double embryo transfer (eDET), elective single embryo transfer (eSET), multiple pregnancy, oocyte donation

<http://dx.doi.org/10.1016/j.rbmo.2015.04.013>

1472-6483/© 2015 Reproductive Healthcare Ltd. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

Introduction

Multiple pregnancies are regarded as a complication of assisted reproductive technologies (ART). The goal of ART must be the achievement of a healthy newborn. Therefore, in IVF/intracytoplasmic sperm injection (ICSI) patients with good prognosis, namely women <35 years old in their first or second IVF cycle and with good-quality embryos available, elective single embryo transfer (eSET) should be recommended (Land and Evers, 2003; Tur et al., 2006).

The meta-analyses of randomized studies in IVF/ICSI patients that compare eSET with elective double embryo transfer (eDET) show that eSET reduces the risk of multiple pregnancy but at the expense of decreasing pregnancy and live birth rates (Baruffi et al., 2009). However, when the subsequent cryopreserved embryo transfers are taken into account, the pregnancy and live birth rates are levelled in both groups. Therefore, the cumulative rates in eSET considering fresh and cryopreserved embryo transfers are comparable with those obtained with eDET (McLernon et al., 2010; Pandian et al., 2013; Thurin-Kjellberg et al., 2009).

In pregnancies accomplished through oocyte donation, a higher risk of obstetric and perinatal complications has been observed compared with pregnancies after IVF/ICSI cycles or with spontaneous conception (Keegan et al., 2007; Le Ray et al., 2012; Malchau et al., 2013; Simchen et al., 2009). The advanced maternal age of the recipients and the occurrence of multiple pregnancies are factors that increase the chance of complications including diabetes, preeclampsia, Caesarean delivery, preterm delivery and low birth weight (Le Ray et al., 2012; Simchen et al., 2009).

Advanced maternal age is becoming a frequent indication for oocyte donation. According to the data from 2011 official register of the SEF (Sociedad Española de Fertilidad-Spanish Fertility Society), the percentage of recipients ≥ 40 years old was 61.4%. The same register published an oocyte donation pregnancy rate per transfer of 53.2% with a multiple pregnancy rate of 29.8% (www.registrosef.com). Several publications have shown that the pregnancy rate does not decrease with recipient's age, since it depends on the quality of the embryo, hence on the age of the donor. Similarly, the multiple pregnancy rate, which is related to the number of embryos transferred and their quality, does not decrease with the age of the recipient (Clua et al., 2010; Reynolds et al., 2001; Soares et al., 2005).

Most scientific societies consider that the age of the donor and not the recipient's age should be taken into account when advising on the number of embryos to be transferred. Therefore, in cases where the donor is <35 years old and there are good-quality embryos available, it is recommended to transfer a single embryo (Cutting et al., 2008; Fritz et al., 2009; Min et al., 2010).

There are few publications that analyse the transfer of a single embryo in oocyte donation, and all of them are retrospective studies. They all find that pregnancy, delivery, live birth and cumulative pregnancy rates are similar between eSET and eDET (Clua et al., 2012; Söderström-Anttila and Vilksa, 2007; Söderström-Anttila et al., 2003).

The aim of this study is to evaluate whether eSET and eDET outcomes are comparable in terms of efficacy in an oocyte donation program. The hypothesis tested is the equivalence

of the cumulative pregnancy rate between eSET and eDET assessed 12 months after the fresh embryo transfer.

Materials and methods

Study design

The study was carried out in the Reproductive Medicine Service of the Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction at the Hospital Universitari Quirón Dexeus, Barcelona, Spain, between October 2010 and July 2012. It was approved by the Institutional Review Board on 30 September 2010 and all patients signed the corresponding informed consent form. It was an equivalence parallel-group study with equal randomization, registered at www.clinicaltrials.gov with identification number: NCT01228474 and it was reported in accordance with the newly revised CONSORT 2010 (Consolidated Standards of Reporting Trials) statement (Schulz et al., 2010).

Subjects

Patients included were recipients between 18 and 50 years old, in their first or second synchronous oocyte donation cycle and with a minimum of five embryos with at least two good-quality embryos on day 3 after oocyte retrieval.

The exclusion criteria were: medical indication to transfer only one embryo (Turner Syndrome, uterine pathology and/or surgery, diabetes, hypertension, cardiovascular disease, serious general diseases) and severe male factor.

Donor and recipient therapy

The donors included in the studies oocyte donation program fulfilled the clinical and legal prerequisites of the Spanish regulations on ART (RD-Ley, 2014). Ovarian stimulation was performed as previously described by Barri et al. (2014) with the use of a daily dose of antagonist 0.25 mg ganirelix (Orgalutran, MSD, Madrid, Spain) combined with 150–200 IU daily recombinant FSH (Puregon, MSD, Madrid, Spain). A gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) agonist 0.2 mg triptoreline (Decapeptyl © Ipsen Pharma, Barcelona, Spain) was used to trigger ovulation when at least three follicles measuring ≥ 20 mm were observed. Transvaginal oocyte retrieval was performed 36 h later under sedation with propofol.

Donors were allocated to recipients by matching phenotype, blood group and Rhesus factor, as established by Spanish current national ART regulations (Law 14/2006). Donors and recipients were synchronized and scheduled simultaneously. Endometrial preparation of the recipients included hormone replacement therapy as described by Martínez et al. (2006). Briefly, women with normal ovarian function were down-regulated with a long-acting GnRH agonist administered during the luteal phase (during days 20 and 22 of the cycle) triptorelin acetate (Decapeptyl 3.75 mg, Ipsen Pharma, Barcelona, Spain). Endometrial preparation included oestradiol valerate (Progynova, Bayer, Barcelona, Spain) and vaginal micronized progesterone (Utrogestan, Seid, Barcelona, Spain)

from the night of the oocyte retrieval (day 0). Women with no ovarian function received the same treatment for endometrial preparation without agonist administration.

Frozen/thawed cycles

The embryo cryopreservation technique was slow freezing following the protocol described by [Veiga et al. \(1987\)](#).

Endometrial preparation for patients undergoing frozen-thawed embryo transfer was the same as the one described for fresh embryo transfer ([Martinez et al., 2006](#)).

Two embryos were transferred in these cases according to usual practice in the authors' centre.

Embryo score and selection

Collected oocytes were submitted to IVF or ICSI depending on sperm quality. Good quality embryos were defined as those having six equal-sized symmetrical blastomeres, no multinucleation and less than 10% fragmentation on day 3 of development, or those with six blastomeres, no multinucleation, but with slightly asymmetrical cells and up to 20% fragmentation ([Table 1](#)). Embryos graded with a score ≥ 6 on a scale of 1 to 10 were considered available for transfer, and among them those with a score ≥ 8 were good-quality embryos. Embryo transfer was performed on day 3 after oocyte retrieval under ultrasound guidance as described by [Coroleu et al. \(2000\)](#). eSET or eDET were defined as the transfer of a single embryo or two embryos, respectively, when additional embryos were available and subsequently cryopreserved.

Enrolment and allocation

For the implementation of the study, a few days before the start of the hormone replacement therapy, the recipients' medical records were thoroughly checked to determine which ones were eligible for the study. The day of the oocyte donation an informational interview took place to inform about the study and the results obtained in the retrospective study

([Clua et al., 2012](#)). Patients were handed the informed consent form and authorisation to exploit their study-related data. After the interview, the information was completed with the details of the obstetric and perinatal risks associated with multiple pregnancy. The following day, at the fertilization result's meeting, the patients had the opportunity get additional information about the study or the informed consent form. Two days later, before embryo transfer, the patients were informed about the number of ongoing and good-quality embryos available and in case they fulfilled the inclusion criteria and had decided to participate in the study, they signed the informed consent form. The IVF laboratory was in charge of the concealed allocation of the recipient to the randomization list. The patient was then informed of the allocated group and the embryo transfer was performed with the determined number of embryos.

One or two embryos were transferred based on a computer-generated simple randomization list with concealed allocation created by the authors' Statistics and Epidemiology Unit. The allocation ratio was 1:1. The remaining embryos were frozen on the same day of the transfer.

Efficacy variables

The primary efficacy variable was the cumulative pregnancy rate, calculated considering the first pregnancy obtained either with fresh or with subsequent frozen embryo transfers from a single oocyte collection in a period of 12 months starting with the fresh embryo transfer. Observation of a gestational sac by ultrasound scan at 6 weeks' amenorrhoea after fresh or frozen-thawed embryo transfer was considered as clinical pregnancy.

Cumulative live birth rate (calculated considering the first live birth either with fresh or with frozen embryo transfer from a single oocyte collection in a period of 12 months starting with the fresh embryo transfer) and the relationship between pregnancy rate and the time needed to achieve pregnancy were analysed as secondary efficacy variables. The multiple pregnancy rate was also analysed as a safety variable.

Power calculation

The sample size needed to demonstrate the equivalence of cumulative pregnancy rate between both strategies (eSET versus eDET) was calculated on the basis of a cumulative rate of 75% ([Clua et al., 2012](#)) and an equivalence limit of 5%, in a one-tailed test with a significance level set at $\alpha = 0.025$ and an 80% power. One thousand one hundred and seventy-nine patients per group would be required. As this sample size was unattainable for a single centre, a sample with 80 patients per treatment arm was decided for a pilot study.

The study was not designed for an interim analysis to estimate the primary efficacy variable. However, as the most important adverse side effect was the twin pregnancy, the research team assessed the multiple pregnancy rate at an interim stage and the medical team (clinicians and embryologists, including the research team) decided to interrupt the study for reasons related to risks associated with elevated twin pregnancy rate. In retrospect, in statistical terms,

Table 1 Embryo scoring criteria.

Criterion	Day 3 68 h post IVF/ICSI	Score
No. of blastomeres	≥ 6	6
	< 6	2
Size and shape	Even and regular	1
	Slightly uneven and/or irregular	0
	Uneven and/or irregular	-1
% Fragmentation	< 10	3
	$\geq 10 - < 20$	2
	$\geq 20 - < 30$	1
	$\geq 30 - < 50$	0
	≥ 50	-1
Multinucleation	Always embryo score	2

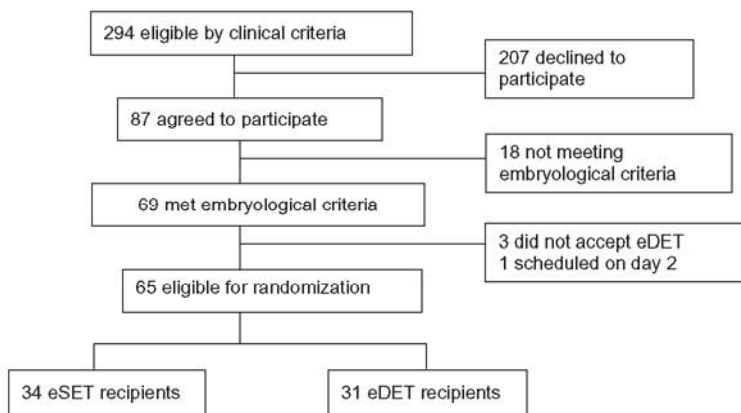


Figure 1 Participants’ flowchart. eDET = elective double embryo transfer; eSET = elective single embryo transfer.

an inappropriate decision leaving low numbers of patients within the study.

Statistical analysis

Continuous variables were described by the mean and the standard deviation and categorical variables were described by the frequency distribution.

The primary efficacy variable was analysed using the chi-squared test and the computation of the relative risk with the corresponding 95% confidence interval (CI).

Cumulative pregnancy rates of both strategies were compared with the Kaplan–Meier survival analysis and the Mantel–Cox log-rank test. The time to achieve pregnancy was considered as the time elapsed between the day of the fresh embryo transfer and the day of the embryo transfer of the cycle in which the pregnancy was attained. When the pregnancy was achieved in the fresh embryo transfer cycle the time was considered as zero. Cases not achieving pregnancy were censored in the statistical analysis at the time of the last transfer.

Continuous variables were compared using the Student’s *t*-test or the Wilcoxon–Mann–Whitney test depending on the assumptions.

All tests were bilateral, with a significance level of 5%.

The statistical analysis was performed using the IBM® SPSS® Statistics 21.0 software (Chicago, IL, USA).

Results

From a total of 294 recipients who fulfilled the inclusion criteria, 87 (29.6%) agreed to participate in the study. Twenty-two of these 87 patients were excluded on the day of the embryo transfer: 18 did not reach the established number of available embryos, 3 withdrew on the same day of the embryo transfer and 1 was scheduled on day 2 instead of day 3. Therefore, a total of 65 patients were finally randomized, representing 74.7% of the patients who initially agreed to

participate, 34 (52.3%) being allocated to the eSET group and 31(47.7%) to the eDET group (Figure 1).

The characteristics of both groups were comparable (Table 2), except for the number of cryopreserved embryos, which was higher in the eSET group (6.4 ± 2.1 versus 4.9 ± 2.1 in eDET; *P* = 0.0055) due to the study design.

The study showed a clinical pregnancy rate after fresh embryo transfer in the eSET group of 47.1% versus 61.3% in the eDET, with an implantation rate of 47.1% versus 45.2%, respectively (Table 3). The twin pregnancy rate was 0% in the fresh transfers of the eSET group and 47.7% in the eDET group (Table 3). The study was terminated before the target sample size was reached due to the high twin pregnancy rate in the eDET group. This decision was taken by the medical team and was announced to the same Institutional Review Board that had approved the study.

Table 4 shows the results of the total of subsequent frozen-thawed cycles included until the date of analysis. The clinical pregnancy rate in the patients from the eSET group was 52.2% and 38.9% in the patients from the eDET group, with an implantation rate of 31.8% versus 20.6%, respectively (Table 4).

The cumulative clinical pregnancy rate 12 months after the fresh embryo transfer was similar between both groups, 73.5% in the eSET group and 77.4% in the eDET group, with a relative

Table 2 Characteristics of the study groups.

	eSET (n = 34)	eDET (n = 31)
Recipient’s age (years)	40.4 ± 5.4	40.8 ± 4.2
Donor’s age (years)	27.3 ± 4.5	26.6 ± 4.8
No. of previous cycles	0.15 ± 0.4	0.16 ± 0.4
No. of inseminated oocytes	12.8 ± 3.1	12.2 ± 2.5
No. of fertilized oocytes	9.8 ± 2.5	9.8 ± 2.4
No. of embryos	7.4 ± 2.1	6.9 ± 2.1
No. of good quality embryos	5.6 ± 2.1	4.9 ± 1.9

Values are means, with their standard deviations. eDET = elective double embryo transfer; eSET = elective single embryo transfer.

Table 3 Outcome of the fresh embryo transfer (ET).

	eSET (n = 34)	eDET (n = 31)
Clinical pregnancy	16 (47.1)	19 (61.3)
Singleton pregnancy	16 (100)	10 (52.6)
Twin pregnancy*	0 (0)	9 (47.4)
Miscarriage/ET	1/34 (2.9)	2/31 (6.5)
Implantation rate	16/34 (47.1)	28/62 (45.2)
Deliveries/fresh ET	15/34 (44.1)	17/31 (54.8)
Singleton	15 (100)	9 (52.9)
Twin	0	8 (47.1)

Values are number and percentage, *n* (%).

eDET = elective double embryo transfer; eSET = elective single embryo transfer.

**P* = 0.001.

Table 4 Outcome of the frozen-thawed embryo transfers of the two study groups.

	eSET (n = 34)	eDET (n = 31)
No. of patients	19	15
No. of transfers	23	18
No. of embryos transferred	1.9 ± 0.6	1.9 ± 0.5
Clinical pregnancies	12 (52.2)	7 (38.9)
Single pregnancies	10 (83.3)	7 (100)
Twin pregnancies	2 (16.7)	0 (0)
Miscarriages/ET	5/23 (21.7)	3/18 (16.7)
Implantation rate	14/44 (31.8)	7/34 (20.6)
Deliveries/ET	7/23 (30.4)	4/18 (22.2)
Singleton	5 (71.4)	4 (100)
Twin	2 (28.6)	0 (0)

Values are number and percentage, *n* (%) or mean with their standard deviations.

eDET = elective double embryo transfer; eSET = elective single embryo transfer.

There were no statistically significant differences.

risk (RR): 0.95 95% CI (0.72–1.25). No differences were observed in the cumulative live birth rate, being 58.8% for eSET and 61.3% for eDET, with a RR: 0.96 95% CI (0.64–1.42) (Table 5).

When the Kaplan–Meier curve generated was analysed, it was observed that although the clinical pregnancy rate at time

Table 5 Cumulative outcome 12 months after fresh embryo transfer.

	eSET (n = 34)	eDET (n = 31)	RR (95%CI)
Clinical pregnancies	25 (73.5)	24 (77.4)	0.95 (0.72–1.25)
Deliveries	20 (58.8)	19 (61.3)	0.96 (0.64–1.42)

Values are number and percentage, *n* (%).

CI = confidence interval; eDET = elective double embryo transfer; eSET = elective single embryo transfer; RR = relative risk.

0 was higher in the eDET group compared with eSET, rates were levelled at time 3.5 months (Figure 2).

Discussion

According to the results, no differences were observed between the two strategies, either in the cumulative pregnancy rate or in the cumulative live birth rate 12 months after the fresh embryo transfer. Conversely, the twin pregnancy rate was significantly higher (*P* = 0.0014) when two embryos were transferred in the fresh cycle.

Only retrospective studies have been published that compare eSET and eDET in oocyte donation programmes. Results of such studies have already demonstrated that similar pregnancy rates are obtained with the two strategies with a high multiple pregnancy rate in the eDET group (Clua et al., 2012; Söderström-Anttila and Vilska, 2007; Söderström-Anttila et al., 2003). This is the first pilot randomized study performed to date and it allows the confirmation of the data previously published. The results from this study demonstrate, while initially a higher percentage of recipients achieve pregnancy with eDET when compared with eSET, after three and a half months the patients in the eSET group have already reached the same pregnancy rate. Both rates remain similar up to the 12-month time limit, data already observed in the retrospective study (Clua et al., 2012). There is always at least one extra good-quality embryo in the eSET group than in the eDET. This could explain why the cumulative pregnancy rate in the two strategies is levelled with time after the subsequent frozen-thawed embryo transfers, as previously described in the meta-analyses of IVF/ICSI cycles (McLernon et al., 2010; Pandian et al., 2013).

It is necessary to highlight that the patients included in this study had a good prognosis and that the embryos selected for transfer were chosen from a cohort of at least five embryos including at least two good-quality embryos. It has been reported that embryo quality constitutes the most important factor to predict pregnancy and multiple pregnancy occurrence in IVF/ICSI (Lee et al., 2006) and also in oocyte donation (Clua et al., 2010; Söderström-Anttila and Vilska, 2007). This fact might have determined a high implantation rate and, in the group where two embryos were transferred, an unacceptably high twin pregnancy rate. This was the reason why the recruitment process was interrupted as mentioned before. These data confirm the relationship of embryo quality with the occurrence of multiple pregnancy in oocyte donation (Clua et al., 2010).

Maternal and perinatal complications related to multiple pregnancies arise in oocyte donation pregnancies and have to be avoided. The review published by Van der Hoorn et al. (2010) shows that oocyte donation patients have an increased risk of gestational hypertension, Caesarean sections, post-partum haemorrhages and first trimester vaginal bleeding. The age, the primigravida and the ovarian failure are factors that could be associated with these complications. Levron et al. (2014), comparing patients that conceived through donor with the ones with autologous oocytes and adjusting for maternal age, gravidity, parity and chronic hypertension, showed a higher rate of hypertensive diseases in pregnancies from oocyte donation. Moreover, the advanced maternal age women and the twin pregnancy rate is

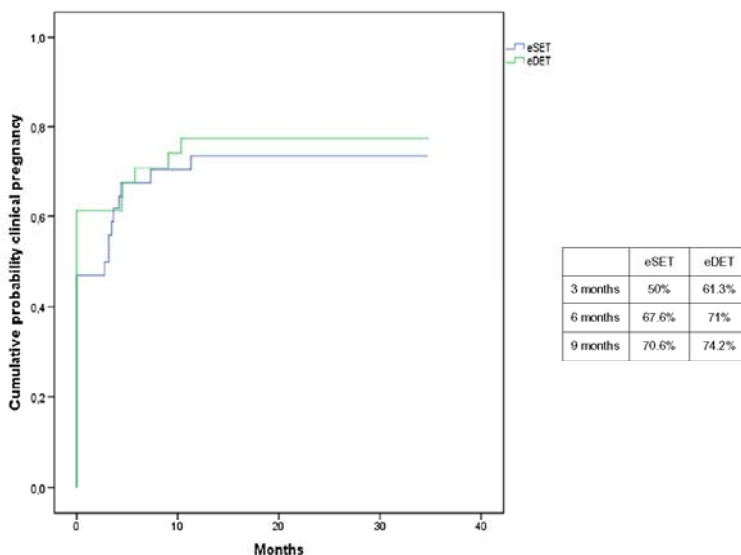


Figure 2 Kaplan-Meier curve for cumulative pregnancy rate considering time needed to achieve clinical pregnancy for both strategies, elective single embryo transfer (eSET) and elective double embryo transfer (eDET). Log rank test not statistically significant.

associated with significant maternal and fetal complications (prematurity, lower birthweight, morbidity and mortality) (Le Ray et al., 2012; Shrim et al., 2010; Simchen et al., 2009; Van der Hoorn et al., 2010).

Despite the recommendations of scientific societies to transfer a single embryo in oocyte donation, the fact is that in 2011, according to the Spanish register on ART (SEF), only 13.4% of patients underwent single embryo transfers (www.registrosef.com). It is important to note that the SEF guidelines recommend transferring one or two embryos in oocyte donation with no specific criteria for single embryo transfer (Ricciarelli, 2007).

According to the voluntary registry of the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE), in total 25,187 cycles of oocyte donation were reported in 2010, and 12,928 (51.33%) were performed in Spain (Kupka et al., 2014). These data probably include patients that travel to Spain, as oocyte donation is not allowed in their respective countries, and it is important to consider that multiple pregnancies are a financial burden to their national health system.

However, patient's age (Blenborn et al., 2005; Newton et al., 2007), nulliparity, previous implantation failures (De Lacey et al., 2007), the wish for twins (Pinborg et al., 2003) and unawareness of the complications associated with multiple pregnancy are some of the reasons why patients request the transfer of two embryos.

Other factors also determine the transfer of two embryos, such as the aim of clinics to achieve high pregnancy rates and that the pregnancy follow-up may be performed at another medical centre (Van Peperstraten et al., 2008). Economic factors, including a funding health system that would promote single embryo transfer should also be considered (Ombelet et al., 2005; Peeraer et al., 2012).

Most of these causes could justify the reluctance of patients wanting to participate in this study and that only 29.6% agreed to be randomized.

The similar results obtained in the eSET and eDET strategies questions the validity of the motivations mentioned above and reinforces single embryo transfer recommendation in oocyte donation, as already seen in IVF/ICSI cycles (McLernon et al., 2010; Pandian et al., 2013).

The weakness of this study is the limited number of cases does not allow us to demonstrate the equivalence between both strategies. The clinical relevance of the data from this study lies in proving that the single embryo transfer in oocyte donation is a safe and effective strategy and it would be mandatory to avoid the transfer of two embryos. Health care providers are responsible for avoiding obstetric and perinatal risks associated with multiple pregnancies.

The results from this study show that the efficacy to transfer one or two embryos in oocyte donation is similar when considering cumulative pregnancy rates. Double embryo transfer involves an increased and unacceptable twin pregnancy rate. The clinical relevance of this study supports the recommendation to transfer a single embryo in oocyte donation patients.

Acknowledgements

This work was performed under the auspices of the Càtedra d'Investigació en Obstetrícia i Ginecologia of the Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction, Hospital Universitari Quirón Dexeus, Universitat Autònoma de Barcelona. We would like to thank Dr Joan Blanco for his critical reading of the manuscript, Marta Luna, Laura Latre and Jessica Roa for their enthusiasm in the recruitment and data

collection and also Mònica Reig for her assistance with the translation of the manuscript.

References

- Barri, P.N., Coroleu, B., Clua, E., Tur, R., Boada, M., Rodríguez, I., 2014. Investigations into implantation failure in oocyte-donation recipients. *Reprod. Biomed. Online* 28, 99–105.
- Baruffi, R.L.R., Mauri, A.L., Petersen, C.G., Nicoletti, A., Pontes, A., Oliveira, J.B.A., Franco, J.G., Jr., 2009. Single- and Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI) cycles: a meta-analysis. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 7, 36.
- Blennborn, M., Nilsson, S., Hillervik, C., Hellberg, D., 2005. The couple's decision-making in IVF: one or two embryos at transfer? *Hum. Reprod.* 20, 1292–1297.
- Clua, E., Tur, R., Coroleu, B., Boada, M., Barri, P.N., Veiga, A., 2010. Analysis of factors associated with multiple pregnancy in an oocyte donation program. *Reprod. Biomed. Online* 21, 694–699.
- Clua, E., Tur, R., Coroleu, B., Boada, M., Rodríguez, I., Barri, P.N., Veiga, A., 2012. Elective single-embryo transfer in oocyte donation programmes: should it be the rule? *Reprod. Biomed. Online* 25, 642–648.
- Coroleu, B., Carreras, O., Veiga, A., Martell, A., Martínez, F., Belil, I., Hereter, L., Barri, P.N., 2000. Embryo transfer under ultrasound guidance improves pregnancy rates after in-vitro fertilization. *Hum. Reprod.* 15, 616–620.
- Cutting, R., Morrill, D., Roberts, S.A., Pickering, S., Rutherford, A., BFS and ACE, 2008. Elective single embryo transfer: guidelines for practice British Fertility Society and Association of Clinical Embryologist. *Hum. Fertil. (Camb.)* 11, 131–146.
- De Lacey, S., Davies, M., Homan, G., Briggs, N., Norman, R.J., 2007. Factors and perceptions that influence women's decisions to have a single embryo transferred. *Reprod. Biomed. Online* 15, 526–531.
- Fritz, M.A., Ory, S.J., Barnhart, K.T., Catherino, W.H., Cedars, M.I., Collins, J., Goldberg, J.M., Gracia, C., Licht, M., Liu, J.H., Racowsky, C., Schattman, G., Thomas, M.A., Rebar, R.W., La Barbera, A.R., Schattman, G., Battaglia, D., Propst, A., Reed, M., Sakkas, D., Sharara, F., Vernon, M., Widra, E., 2009. Guidelines on number of embryos transferred. *Fertil. Steril.* 92, 1518–1519.
- Keegan, D.A., Krey, L.C., Chang, H.C., Noyes, N., 2007. Increased risk of pregnancy induced hypertension in young recipients of donated oocytes. *Fertil. Steril.* 87, 776–781.
- Kupka, M.S., Ferraretti, A.P., de Mouzon, J., Erb, K., D'Hooghe, T., Castilla, J.A., Calhaz-Jorge, C., De Geyter, C., Goossens, V., The European IVF-monitoring (EIM) Consortium, for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE), 2014. Assisted reproductive technology in Europe, 2010: results generated from European registers by ESHRE. *Hum. Reprod.* 29, 2099–2113.
- Land, J.A., Evers, J.L., 2003. Risks and complications in assisted reproduction techniques: report of an ESHRE consensus meeting. *Hum. Reprod.* 18, 455–457.
- Le Ray, C., Scherier, S., Anselom, O., Marszalek, A., Tsatsaris, V., Cabrol, D., Goffinet, F., 2012. Association between oocyte donation and maternal and perinatal outcomes in women aged 43 years or older. *Hum. Reprod.* 27, 896–901.
- Lee, T.H., Chen, C.D., Tsai, Y.Y., Chang, L.J., Ho, H.N., Yang, Y.S., 2006. Embryo quality is more important for younger women whereas age is more important for older women with regard to in vitro fertilization outcome and multiple pregnancy. *Fertil. Steril.* 86, 64–69.
- Levron, Y., Dviri, M., Segol, I., Yerushalmi, G.M., Hourvitz, A., Orieto, R., Mazaki-Tovi, S., Yinon, Y., 2014. The 'immunologic theory' of preeclampsia revisited: a lesson from donor oocyte gestations. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 211, 383, e1-5. doi:10.1016/j.ajog.2014.03.044.
- Malchau, S.S., Loft, A., Larsen, E.C., Aaris Henningsen, A.K., Rasmussen, S., Andersen, A.N., Pinborg, A., 2013. Perinatal outcomes in 375 children born after oocyte donation: a Danish national cohort study. *Fertil. Steril.* 99, 1637–1643.
- Martínez, F., Boada, M., Coroleu, B., Clua, E., Parera, N., Rodríguez, I., Barri, P.N., 2006. A prospective trial comparing oocyte donor ovarian response and recipient pregnancy rates between suppression with gonadotrophin-releasing hormone agonist (GnRHa) alone and dual suppression with a contraceptive vaginal ring and GnRH. *Hum. Reprod.* 21, 2121–2125.
- McLernon, D.J., Harrild, K., Bergh, C., Davies, M.J., De Neubourg, D., Dumoulin, J.C., Gerris, J., Kremer, J.A., Martikainen, H., Mol, B.W., Norman, R.J., Thurin-Kjellberg, A., van Moonfoort, A.P., van Peperstraten, A.M., van Royen, E., Bhattacharya, S., 2010. Clinical effectiveness of elective single versus double embryo transfer: meta-analysis of individual patient data from randomized trials. *BMJ* 341, c6945.
- Min, J.K., Hughes, E., Young, D., Gysler, M., Hemmings, R., Cheung, A.P., Goodrow, G.J., Senikas, V., Wong, B.C., Sierra, S., Carranza-Mamane, B., Case, A., Dwyer, C., Graham, J., Havelock, J., Lee, F., Lui, K., Vause, T., Joint Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada-Canadian Fertility and Andrology Society Clinical Practice Guidelines Committee, 2010. Elective single embryo transfer following in vitro fertilisation. *J. Obstet. Gynaecol. Can.* 32, 363–377.
- Newton, C.R., McBride, J., Feyles, V., Tekpetey, F., Power, S., 2007. Factors affecting patients' attitudes toward single- and multiple-embryo transfer. *Fertil. Steril.* 87, 269–278.
- Ombelet, W., De Sutter, P., Van der Elst, J., Martens, G., 2005. Multiple gestation and infertility treatment: registration, reflection and reaction—the Belgian project. *Hum. Reprod. Update* 11, 3–14.
- Pandian, Z., Marjoribanks, J., Ozturk, O., Serour, G., Bhattacharya, S., 2013. Number of embryos for transfer following in-vitro fertilisation or intra-cytoplasmic sperm injection. *Cochrane Database Syst. Rev.* (7), CD003416.
- Peeraer, K., Debrock, S., Laenen, A., De Loecker, P., Spiessens, C., De Neubourg, D., D'Hooghe, T.M., 2012. The impact of legally restricted embryo transfer and reimbursement policy on cumulative delivery rate after treatment with assisted reproduction technology. *Hum. Reprod.* 29, 267–275.
- Pinborg, A., Loft, A., Schmidt, L., Andersen, A.N., 2003. Attitudes of IVF/ICSI-twin mothers towards twins and single embryo transfer. *Hum. Reprod.* 18, 621–627.
- RD-Ley, 2014. Real Decreto Ley 9/2014 de 4 de julio. BOE núm 163, 05/07/2014, Anexo IV, Selección y evaluación del donante de células reproductoras. 52752–52753.
- Reynolds, M.A., Schieve, L.A., Jeng, G., Peterson, H.B., Wilcox, L.S., 2001. Risk of multiple birth associated with in vitro fertilization using donor eggs. *Am. J. Epidemiol.* 154, 1043–1050.
- Ricciarelli, E., 2007. Marco de actitud ante las gestaciones múltiples: legislaciones y recomendaciones. *Rev. Iberoam. Fert. Rep. Hum.* 24, 405–410.
- Schulz, K.F., Altman, D.G., Moher, D., 2010. CONSORT 2010 Statement: updated guidelines for reporting parallel group randomized trials. *BMJ* 340, c332.
- Shrim, A., Levin, I., Mallozzi, A., Brown, R., Salama, K., Gamzu, R., 2010. Does very advanced maternal age, with or without egg donation, really increase obstetric risk in a large tertiary center? *J. Perinat. Med.* 38, 645–650.
- Simchen, M.J., Shulman, A., Wisner, A., Zilberberg, E., Schiff, E., 2009. The aged uterus: multifetal pregnancy outcome after ovum donation in older woman. *Hum. Reprod.* 24, 2500–2503.
- Soares, S.R., Troncoso, C., Bosch, E., Serra, V., Simón, C., Remohí, J., Pellicer, A., 2005. Age and uterine receptiveness: predicting the outcome of oocyte donation cycles. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 90, 4399–4404.

- Söderström-Anttila, V., Vilska, S., 2007. Five years of single embryo transfer with anonymous and non-anonymous oocyte donation. *Reprod. Biomed. Online* 15, 428-433.
- Söderström-Anttila, V., Vilska, S., Mäkinen, S., Foudila, T., Suikkari, A.M., 2003. Elective single embryo transfer yields good delivery rates in oocyte donation. *Hum. Reprod.* 18, 1858-1863.
- Thurin-Kjellberg, A., Olivius, C., Bergh, C., 2009. Cumulative live-birth rates in a trial of single-embryo or double-embryo transfer. *N. Engl. J. Med.* 18, 1812-1813.
- Tur, R., Coroleu, B., Torelló, M.J., Boada, M., Veiga, A., Barri, P.N., 2006. Prevention of multiple pregnancy following IVF in Spain. *Reprod. Biomed. Online* 13, 856-863.
- Van der Hoorn, M.L.P., Lashley, E.E.L.O., Bianchi, D.W., Claas, F.H.J., Schonkeren, C.M.C., Scherjon, S.A., 2010. Clinical and immunologic aspects of egg donation pregnancies: a systematic review. *Hum. Reprod. Update* 16, 704-712.
- Van Peperstraten, A.M., Kreuwel, I.A., Hermens, R.P., Nelen, W.L., Van Dop, P.A., Grol, R.P., Kremer, J.A., 2008. Determinants of the choice for single or double embryo transfer in twin prone couples. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 87, 226-231.
- Veiga, A., Calderon, G., Barri, P.N., Coroleu, B., 1987. Pregnancy after the replacement of a frozen-thawed embryo with less than 50% intact blastomeres. *Hum. Reprod.* 2, 321-323.

Declaration: The author reports no financial or commercial conflicts of interest.

Received 9 September 2014; refereed 20 April 2015; accepted 21 April 2015.

4.5. Article 5: Objectiu 4

Títol: “ *Evolución y resultados de la transferencia de un embrión en un programa de DO*”

Autors: Elisabet Clua, Marta Luna, Laura Latre, Buenaventura Coroleu, Ignacio Rodríguez, Anna Veiga, Pedro N. Barri, Rosa Tur

Revista científica: Medicina Reproductiva y Embriología Clínica.

DOI: 10.1016/j.medre.2016.04.001

EVOLUCIÓN Y RESULTADOS DE LA TRANSFERENCIA DE UN EMBRIÓN EN UN PROGRAMA DE DONACIÓN DE OVOCITOS.

EVOLUTION AND RESULTS OF SINGLE EMBRYO TRANSFER IN AN OOCYTE DONATION PROGRAMME

Elisabet Clua¹, Marta Luna¹, Laura Latre¹, Buenaventura Coroleu¹, Ignacio Rodríguez², Ana Veiga^{1,3}, Pedro Nolasco Barri¹, Rosa Tur¹

¹ Servicio de Medicina de la Reproducción, Departamento de Obstetrícia, Ginecología y Reproducción, Hospital Universitario Quiron-Dexeus, Barcelona, España

² Unidad de Bioestadística, Departamento de Obstetrícia, Ginecología y Reproducción, Hospital Universitario Quiron-Dexeus, Barcelona, España

³ Banco de células madre, Centro de Medicina Regenerativa, Barcelona, España

Correspondencia: Elisabet Clua Obradó. Teléfono: 932274700 extensión: 22062, e-mail: elicluc@dexeus.com, Gran Vía de Carles III, nº 71-75 , 08028 BCN, España

RESUMEN

Introducción: El embarazo múltiple comporta un riesgo elevado de complicaciones obstétricas y perinatales. La única forma de evitar la gestación múltiple es transferir un embrión. El primer objetivo de este estudio es valorar la evolución del porcentaje de transferencia de un embrión y la tasa de gestación múltiple en nuestro programa de Donación de Ovocitos. Como segundo objetivo se comprobará la eficacia de la transferencia selectiva de un embrión (TES-1), tras implementar criterios embriológicos de número y calidad para aconsejarla. **Material y métodos:** Análisis retrospectivo de los resultados del período 2004-2014 y, prospectivo analítico de las tasas acumuladas de embarazo, nacido vivo y gestación múltiple, tras aplicar TES-1 en pacientes con ≥ 5 embriones evolutivos con ≥ 2 óptimos (diciembre 2012-octubre 2014). **Resultados:** La transferencia de un embrión se incrementó de 2.6% (año 2004) a 43.1% (año 2014), con una disminución de la tasa de gestación gemelar de 32.5% (año 2004) a 22.5% (año 2014). La aplicación de criterios embriológicos supuso que se recomendara TES-1 en un 48.2% de los ciclos (500/1038) y se aplicara en un 59.4% (297/500). Las tasas de embarazo y nacido vivo en fresco fueron significativamente inferiores en el grupo de TES-1 que en TES-2. Sin embargo, las tasas acumuladas (transferencia en fresco más criotransferencias) de embarazo y nacido vivo fueron similares (TES-1: 73.1% y 55.9 vs. TES-2: 70% y 50.2 %; $p > 0.05$, respectivamente), con una tasa acumulada de gestación múltiple superior en TES-2 (TES-1: 8.8% vs. TES-2: 34.5%; $p < 0.05$). **Discusión:** El incremento progresivo del porcentaje de transferencia de un embrión se acentúa al aplicar criterios para aconsejar TES-1 y conlleva una considerable, pero todavía insuficiente, disminución en la tasa de gestación múltiple. Los resultados acumulados obtenidos colaboran en el progresivo grado de aceptación y seguridad de la transferencia de un embrión y acreditan su práctica en pacientes de buen pronóstico.

PALABRAS CLAVE: transferencia selectiva de un embrión, donación de ovocitos, tasa acumulada de embarazo y nacido vivo, tasa de embarazo múltiple

EVOLUTION AND RESULTS OF SINGLE EMBRYO TRANSFER IN AN OOCYTE DONATION PROGRAMME

ABSTRACT

Introduction: Multiple pregnancy involves a high risk of obstetric and perinatal complications. The only way to prevent multiple gestation in ART is to transfer one embryo. The primary objective of this study is to assess the evolution in the proportion of single embryo transfers and the multiple pregnancy rate in our Oocyte Donation programme. As a secondary objective the efficacy of selective single embryo transfer (SET) is verified, following the application of embryo number- and quality-related criteria for the purpose of recommendation. Material and methods: Retrospective analysis of the results between 2004 and 2014 and prospective analysis of cumulative pregnancy, live birth and multiple pregnancy rates between December 2012 and October 2014, following SET in patients with ≥ 5 cleaved embryos, ≥ 2 of which are good-quality embryos. Results: Single embryo transfer increased from 2.6% (2004) to 43.1% (2014), with a decrease in the twin pregnancy rate from 32.5% (2004) to 22.5% (2014). The application of embryo criteria led to the recommendation of SET in 48.13% of the cycles (500/1038) of which 59.4% were performed (297/500). Pregnancy and live birth rates were significantly lower in the SET group than in the DET (double embryo transfer) group. However, cumulative (fresh + frozen and thawed transfer) pregnancy and live birth rates were similar (SET: 73.1% and 55.9 vs. DET: 70% and 50.2%; $p > 0.05$, respectively), with a higher cumulative multiple pregnancy rate in DET (SET: 8.8% vs. DET: 34.5%; $p < 0.05$). Discussion: The progressive increase in the proportion of single embryo transfer becomes more noticeable when the SET criteria are followed, leading to a considerable, albeit still insufficient, decline in the multiple gestation rate. The cumulative results obtained contribute to the gradual degree of acceptance and safety of single embryo transfer and endorse its performance in good-prognosis patients.

KEYWORDS: selective single embryo transfer, oocyte donation, cumulative pregnancy and live birth rate, multiple pregnancy rate.

INTRODUCCIÓN

Las técnicas de reproducción asistida (TRA) han mejorado tanto en aspectos clínicos como biológicos. La evolución de la técnica ha permitido que en el laboratorio se pueda llevar a cabo una mejor selección de los embriones a transferir, lo que ha supuesto un aumento en las tasas de implantación y como consecuencia un incremento de la tasa de gestación múltiple al transferir más de un embrión. Diversos estudios han demostrado que dichas gestaciones presentan un mayor riesgo obstétrico y perinatal (Vázquez *et al.*, 2010; Geisler *et al.* 2014; Clua *et al.* 2015).

Con el fin de disminuir la tasa de gestación múltiple se ha observado un interés internacional en reducir el número de embriones a transferir en los ciclos de TRA. En las conclusiones de la reunión de consenso de la European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) sobre riesgos y complicaciones en TRA se estableció que el objetivo esencial de las mismas debería ser el nacimiento de un niño sano (Land and Evers, 2003). La gestación múltiple debería ser considerada una complicación, no debiendo superar el 10% y considerándose inaceptable una tasa de gestación múltiple >25% (ESHRE Campus 2000). Además, se estableció que se debería recomendar la transferencia embrionaria selectiva de un embrión (TES-1) a pacientes con ≤ 36 años, que se hallaran en el primer o segundo ciclo de FIV, y siempre que dispusieran de embriones de buena calidad. En la misma línea, las recomendaciones publicadas por la American Society of Reproductive Medicine and Society of Assisted Reproduction Tecnology (ASRM/SART) se sumaron a la europea de transferir un embrión en pacientes de buen pronóstico (ASRM, 2006).

Con respecto a los ciclos de DO, tanto las recomendaciones de la ASRM (ASRM,2013), las de la Sociedad Canadiense (Joint SOGC-CFAS) (Min *et al.*, 2010), como las de la Human Fertilisation and Embryology Authority (HFEA) (Harbottle *et al.*, 2015), aconsejan que debe considerarse la edad de la donante para decidir el número de embriones a transferir. De esta forma, en los ciclos de DO en que la donante tenga <35 años y se disponga de embriones de buena calidad se debería aconsejar la transferencia de un embrión.

Las recomendaciones publicadas por el Grupo de Interés de Salud Embrionaria de la Sociedad Española de Fertilidad (SEF), en el 2013, aconsejan que fomentar la TES-1 cuando la paciente se halle en su 1º o 2º ciclo y/o disponga de embriones de buena calidad (<http://sefertilidad.net/docs/grupos/salud/reunionGrupos.pdf>).

Los estudios realizados hasta el momento demuestran que el único factor asociado a la gestación múltiple en receptoras de ovocitos es la calidad embrionaria. Al transferir dos embriones de óptima calidad el riesgo de gestación múltiple se duplica (Clua *et al.*, 2010). Diversos estudios describen una eficacia similar entre la TES-1 y la transferencia selectiva de dos embriones (TES-2), evitándose con la TES-1, tasas de gestación múltiple elevadas y por tanto reduciendo el riesgo asociado a dichas gestaciones (Söderström-Anttila *et al.* 2003; Söderström-Anttila & Vilska 2007; Clua *et al.* 2012; Clua *et al.* 2015). Además estos estudios han permitido establecer criterios de número y calidad de los embriones para aconsejar la TES-1.

El primer objetivo de este estudio es valorar la evolución del porcentaje de transferencia de un embrión y su traducción en los resultados obtenidos de gestación múltiple durante el período 2001-2014. El segundo objetivo es analizar la eficacia de la transferencia selectiva de un embrión tras la implementación de criterios embriológicos (período 2012-2014) para la toma de decisiones del número de embriones a transferir.

MATERIAL Y MÉTODOS

Período Enero 2004-Noviembre 2012

Se recomendó la transferencia de un embrión, selectiva o no, por indicación médica (antecedentes ginecológicos de miomectomías o malformaciones uterinas, antecedentes médicos generales: hipertensión, diabetes, síndrome de Turner etc.) o por deseo de la paciente, sin aplicar criterios establecidos de edad ni embriológicos.

Período Diciembre de 2012-Octubre 2014

Se aconsejó TES-1 si las receptoras cumplían como criterios: disponer de ≥ 5 embriones evolutivos en día 3 de desarrollo embrionario, de los cuales ≥ 2 debían ser embriones óptimos (Clua *et al.*, 2015). Además se recomendó la transferencia de un

embrión, selectiva o no, por criterios médicos y/o de deseo de la pacientes y se incorporó el criterio edad, aconsejando transferencia de un embrión a las pacientes de ≥ 45 años.

La transferencia de dos embriones, selectiva o no, fue recomendada en casos de fallos repetidos de ciclos de DO.

Diseño del estudio

Para analizar la evolución de la transferencia de un embrión en el período 2004-2014 se evaluó de forma retrospectiva, el porcentaje anual de pacientes que incorporaron dicha práctica. Así como las tasas de embarazo, embarazo múltiple y la media de embriones transferidos.

La eficacia de la TES-1 tras la implementación de criterios embriológicos, se comprobó mediante un estudio prospectivo analítico de los ciclos de recepción realizados en el período transcurrido entre Diciembre de 2012-Octubre de 2014. Se compararon los ciclos en que las pacientes aceptaron el consejo de transferir un embrión (TES-1), con aquellos en que decidieron la transferencia de dos embriones (TES-2). Las variables principales analizadas fueron: tasa de gestación y gestación múltiple, tasa de nacido vivo así como sus respectivas tasas acumuladas a fecha 31/12/2015. Para dicho cálculo se consideró el primer embarazo o el primer nacido vivo (según variable analizada) obtenido mediante la transferencia de embriones en fresco o de los subsecuentes embriones criopreservados, procedentes de ovocitos de un mismo ciclo de DO.

Donantes y receptoras

El procedimiento aplicado en donantes y receptoras incluidas en este período consistió en la aceptación como donantes de las candidatas que cumplieran los requisitos clínicos y legales, requeridos por la ley española de Técnicas de Reproducción Asistida (TRA) (Real Decreto-Ley 9/2014). La donación tuvo carácter anónimo y la edad de las donantes estuvo comprendida entre 18 y 35 años, tal y como establece la Ley 14/2006.

El cribado de las candidatas se llevó a cabo tal y como se describe en Martínez *et al.* (2008), incorporando las modificaciones establecidas en el RD-Ley 9/2014. Se incorporó el test genético de portador de enfermedades autosómicas recesivas y ligadas al cromosoma X (test qCarrier) basado en la técnica *Next Generation Sequencing*, que permite detectar 240 enfermedades genéticas.

Las donantes se sometieron a una estimulación ovárica controlada, para ello se aplicó el tratamiento con antagonistas de la GnRH, 0.25 mg de Ganirelix, (Orgalutran, MSD, Madrid, España), combinado con dosis diarias de 150-200 IU de hormona foliculoestimulante recombinante (FSHr) (Puregon, MSD, Madrid, España) (Barri *et al.*, 2014). Para la determinación del diámetro folicular se realizaron controles ecográficos diarios y se llevó a cabo la descarga folicular, mediante la administración de 0.2 mg de triptorelina (Decapeptyl ® Ipsen Pharma, Barcelona, España), al observar mínimo 3 folículos con un diámetro de ≥ 20 mm. La recuperación de los ovocitos se hizo 36 horas después de la descarga ovulatoria, por vía transvaginal y bajo sedación con propofol.

Las receptoras tenían edades comprendidas entre 18 y 50 años. La preparación endometrial se basó en un tratamiento hormonal sustitutivo, tal y como describen Martínez y col (2008)

La asignación de donante a receptora se realizó respetando la máxima similitud fenotípica e inmunológica, tal y como determina la legislación española sobre TRA (ley 14/2006). Además, se evaluó la idoneidad genética evitando la asignación en el caso de que la pareja de la receptora y la donante fueran portadores de las mismas enfermedades genéticas recesivas. Las donantes portadoras de mutaciones ligadas al cromosoma X fueron descartadas del programa tras asesoramiento genético para su futuro reproductivo.

Los ovocitos frescos fueron inseminados mediante FIV convencional o ICSI dependiendo de la calidad seminal. En el caso de ovocitos vitrificados fueron previamente desvitrificados tal y como se describe en Solé y col. (2013) e inseminados mediante ICSI.

Para la selección embrionaria se aplicó la puntuación descrita previamente en Clua y col. (2015), los embriones fueron clasificados como evolutivos cuando presentaban en día 3 de desarrollo embrionario una puntuación entre 6 y 10 y se clasificaron como óptimos cuando la puntuación era de 8, 9 y 10.

La transferencia de los embriones se realizó en día 3 de desarrollo embrionario, mediante ecografía vaginal ecoguiada (Coroleu *et al.*, 2000). Los embriones sobrantes fueron criopreservados el mismo día de la transferencia mediante la técnica de vitrificación, utilizando el sistema *Cryotop* descrito por Kuwayama y col. (2005).

En los ciclos posteriores de criotransferencia la preparación endometrial se realizó siguiendo el mismo protocolo que en los ciclos en fresco (Martínez *et al.*, 2006) y en este caso se aplicó mayoritariamente la transferencia de dos embriones.

Se consideró embarazo clínico cuando a las 6 semanas de amenorrea se observó, mediante control ecográfico, saco gestacional con latido cardíaco.

Análisis estadístico

Las tasas de embarazo y de embarazo múltiple fueron analizadas con la prueba Chi-cuadrado. Para las variables cuantitativas se aplicó el test t de Student.

Las tasas acumuladas fueron analizadas mediante el test de supervivencia de Kaplan-Meier. La comparación entre ambas estrategias se realizó con la prueba LogRank (Mantel-Cox).

El tiempo de seguimiento para las tasas acumuladas fue el transcurrido entre el día de la transferencia embrionaria en fresco y el día de la transferencia embrionaria con la que se consiguió la primera gestación (tasa acumulada de embarazo) o el primer nacido vivo (tasa acumulada de nacido vivo). En caso de gestación tras la transferencia embrionaria en fresco, el tiempo fue considerado como cero. Las pacientes en las que no fue posible la transferencia de embriones criopreservados, fueron censuradas a fecha a 31/12/2015.

Todas las pruebas fueron bilaterales, con un nivel de significación estadística de $\alpha=0.05$. Los análisis se llevaron a cabo mediante el programa IBM® SPSS® Statistics 21.0 (Chicago, IL, USA).

RESULTADOS

La evolución de los criterios de transferencia embrionaria en nuestro programa, desde el año 2004 hasta el año 2014 (fig 1/tabla 1), muestra como inicialmente el porcentaje de transferencia de un embrión era de un 2.6% (5/192) pasando a un 9.6% (44/ 462) el año 2010. A partir de este momento se observa un incremento que, en el año 2012, alcanza un valor de 24% (134/560) y que asciende hasta un 43.1% (263/612) en el 2014.

Al analizar la evolución de los resultados obtenidos en el mismo período (Fig. 2/tabla 1) se observa como durante el período de tiempo comprendido entre los años 2004-2010, la media de embriones transferidos se hallaba entre 1.9 y 2, con una tasa de gestación alrededor del 50% y una tasa de gestación múltiple superior al 30%, alcanzado un máximo de 39% en el año 2008. En el 2014, la media de embriones transferidos fue de 1.5 y la tasa de gestación múltiple del 22.5%. La tasa de gestación se mantiene por encima del 50% hasta el año 2012. Y en los dos últimos años es de un 47.7% 95% IC [43.8%- 51.7%] y de un 47.2% 95% IC [43.4%-51.4%] (Fig. 2 / Tabla1).

Tabla 1. Resultados de los ciclos de recepción de ovocitos correspondientes al período 2004-2014

Año	Edad	ciclos (núm)	Núm. embriones transferidos (%)			ET	%EM	% Embarazo/ Transferencia*	% Nacido vivo/ Transferencia*
			1	2	3				
2004	40,9	191	2,6	93,2	4,2	2	32,1	56.1 [49.0-63.2]	42.1 [35.1-49.1]
2005	40,8	227	2,8	90,8	6,4	2	30,5	52,2 [45.7-58.7]	40.5 [34.1-46.9]
2006	41,4	212	1,9	94,4	3,7	1,9	35,7	55.7[49.0-62.3]	48.1 [41.4-54.8]
2007	41,5	226	4,9	91,6	3,5	2	30	57.7 [51.3-64.2]	45.5 [39.1-52.1]
2008	41,7	340	5,4	91	3,6	2	39,3	53 [47.6-58.3]	40 [34.8-45.2]
2009	42	494	5,2	92,3	2,5	1,9	26,5	53.7 [46.8-56.1]	42.9 [38.6-47.4]
2010	41,7	462	9,6	87,7	2,7	1,9	29,6	49,1 [44.5-53.7]	37.4 [33.0-41.9]
2011	41,8	532	17,9	80,2	1,9	1,8	31,5	55,1 [50.8-59.3]	42 [37.8-46.2]
2012	42,0	560	24	74,6	1,5	1,7	23,5	51,9 [47.8-56.2]	40.7 [36.6-44.8]
2013	41,5	625	37,8	61,7	0,5	1,6	25,6	47,7 [43.8-51.7]	35 [31.2-38.8]
2014	41,8	612	43,1	56,6	0,3	1,5	22,5	47,2 [43.4-51.4]	35 [31.0-38.7]

*% 95 IC [Límite superior-límite inferior] ET: media de embriones transferidos; %EM: % Embarazo múltiple

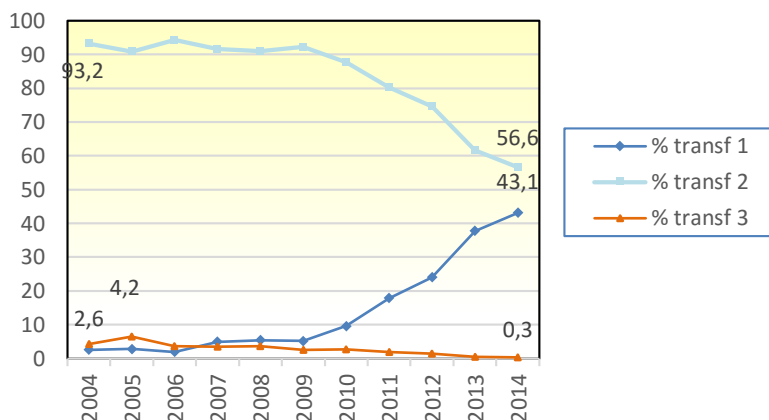


Figura 1. Evolución del número de embriones transferidos en el período 2004-2014

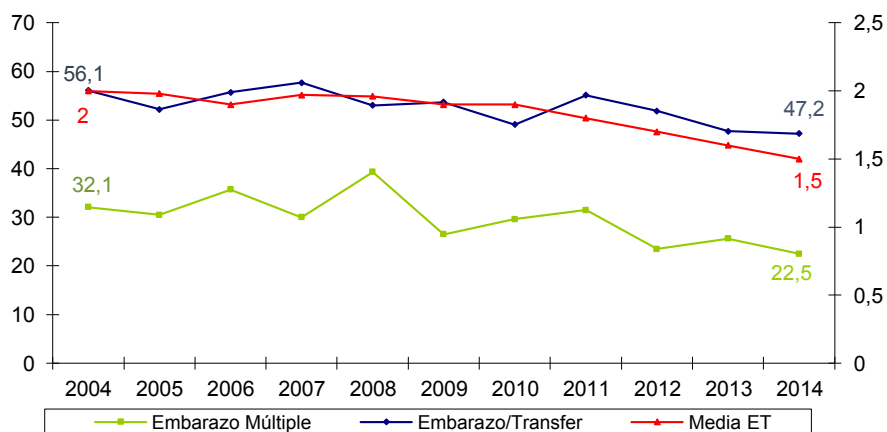


Figura 2. Evolución de las tasas de embarazo, embarazo múltiple y media de embriones transferidos. Período 2004-2014

La aplicación de los criterios embriológicos para aconsejar TES-1 en el período de diciembre de 2012 a octubre de 2014, supuso que de un total de 1038 ciclos, se recomendará TES-1 en un total de 500 ciclos (48.2%), de los cuales se realizó en 297 ciclos (59.4%), mientras que en los restantes 203 (40.6%) se llevó a cabo TES-2.

Los resultados muestran diferencias estadísticamente significativas en el número de ciclos previos, en la media ovocitos fecundados, media de embriones evolutivos y calidad de los embriones transferidos (tabla 2).

Aunque se observaron diferencias estadísticamente significativas entre TES-1 y TES-2 en las tasas de embarazo (TES1: 42.4% vs TES-2: 56.2%) y nacido vivo (TES-1: 31.0% vs TES-2: 40.4%) del ciclo en fresco; las tasas acumuladas fueron similares entre ambas estrategias. Así se halló una tasa acumulada de embarazo para TES-1 de 73.1% y de 70% para TES-2 y una tasa acumulada de nacido vivo para TES-1 de 55.9% y de 50.2% para TES-2. Por lo que respecta a la tasa de gestación múltiple y a la tasa acumulada de gestación múltiple, fueron superiores en el grupo de TES-2, alcanzando la tasa acumulada de gestación múltiple un valor de 33.6% para el grupo de TES-2 vs y de un 8.8 % para TES-1 ($p<0.05$) (tabla 2).

Tabla 2. Características y resultados correspondientes a los grupos de pacientes a quien se aplicó TES-1 y TES-2. Período diciembre 2012-Octubre 2014, tras Implementación de criterios embriológicos para aconsejar TES-1.

	TES-1 (n=297)	TES-2(n=203)
Media de Edad receptora	42.8±4.9	42.6±5.2
Nº ciclos previos*	0.1±0.5	0.4±0.03
Media de ovocitos inseminados	9.7±2.9	9.2±2.9
Media ovocitos fecundados*	7.9±2.7	7.2±2.5
Media embriones evolutivos*	5.7±2.3	5.0±2.0
Calidad embriones transferidos*	9.1±0.8	8.2±1.6
Tasa de embarazo/transfer*	42.4% (126)	56.2% (114)
Tasa de embarazo gemelar*	0.8%(1)	36%(41)
Tasa abortos	21.4% (27/126)	21.1% (24/114)
Tasa de nacido vivo*	31.0% (92/297)	40.4% (82/203)
Tasa acumulada de embarazo	73.1% (217/297)	70% (142/203)
Tasa acumulada de embarazo gemelar*	8.8% (19/217)	34.5% (49/142)
Tasa acumulada de nacido vivo	55.9% (166/297)	50.2%(102/203)

Los valores son media ± DS o %(n/total)

Las tasas acumuladas se calcularon con fecha 31.12.2015

* $p<0.05$ para TES-1 vs TES-2

Finalmente, aunque las tasas de embarazo en el ciclo en fresco fueron superiores en TES-2, las tasas acumuladas se igualaron a TES-1 al cabo de 10 meses ($p>0.05$) y las tasas acumuladas de nacido vivo en un tiempo inferior ($p>0.05$) (Fig. 3 y 4).

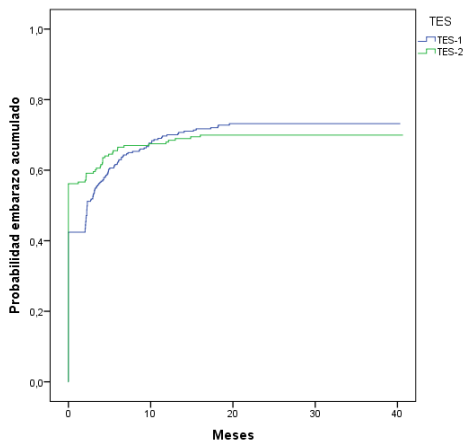


Figura. 3 Curva de Kaplan-Meier para las tasas acumuladas de embarazo de TES-1 y TES-2 considerando el tiempo necesario para conseguir el embarazo clínico. Log rank test sin diferencias estadísticamente significativas.

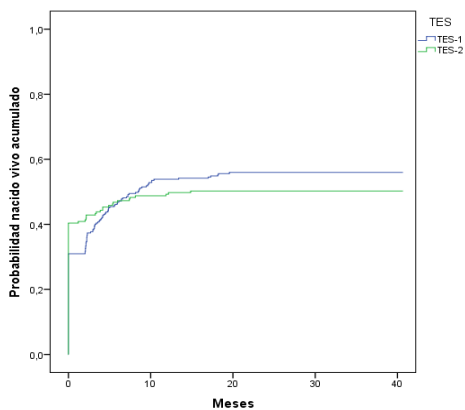


Figura 4. Curva de Kaplan-Meier para las tasas acumuladas de nacido vivo de TES-1 y TES-2 considerando el tiempo necesario hasta conseguir el nacido vivo. Log rank test sin diferencias estadísticamente significativas.

DISCUSIÓN

De nuestros resultados se concluye que el porcentaje de transferencia de un embrión ha ido incrementándose a partir del año 2010 y de forma más pronunciada a partir de diciembre del 2012 al establecer criterios, no solo médicos sino también de edad y embriológicos, para recomendar la transferencia de un embrión. La aplicación de estos criterios ha supuesto un mayor grado de seguridad en nuestro programa al reducirse la tasa de gestación gemelar hasta un 22.5%, en el año 2014. Además, los resultados del estudio han permitido verificar la eficacia de la TES-1 al alcanzar las mismas tasas acumuladas de gestación y nacido vivo que con la TES-2.

La tendencia del incremento en la transferencia de un embrión también se manifiesta en los datos publicados por el registro de la SEF del 2013 que presentaba en el año 2010 un porcentaje de transferencia de un embrión de un 10.4%, parecido al de nuestro centro (9.6%), y que alcanzaba en 2013 un 21.7%, siendo en el mismo año del 37.8%, en nuestro centro (SEF, 2013)

La evolución de los resultados muestra una disminución sostenida de la media de embriones transferidos con una disminución paralela de la tasa de gestación múltiple y con una ligera disminución de la tasa de gestación sin relevancia clínica.

El valor hallado para la tasa de gestación en los años 2013 y 2014 (47.7% y 47.2%, respectivamente) continúa siendo acorde con el publicado en otros grupos que, con un porcentaje de transferencia de un embrión del 60% y del 77.3%, hallan tasas del 46% y del 43.2%, respectivamente (Söderström *et al.*, 2003; Söderström y Vilska, 2007).

Un requisito básico para poder recomendar TES-1 es asegurar que las tasas acumuladas son similares, para ello es indispensable disponer de un buen programa de criopreservación de embriones que garantice el éxito de los ciclos de congelación-descongelación de éstos (Tiitinen *et al.*, 2001; Gerris *et al.*, 2003). En este sentido, a pesar de que la tasa de gestación de la transferencia en fresco es superior en el grupo de pacientes de TES-2, los resultados acumulados de tasa de embarazo hallados tras la implementación de los criterios embriológicos establecidos son parecidos a los

publicados en estudios previos (Clua et al, 2010: TES-1: 82.8% y TES-2: 77.2% y Clua et al., 2015: TES-1: 73.5 vs. TES-2: 77.4%).

Al no tratarse de un estudio aleatorizado existen diferencias entre TES-1 y TES-2 en algunas de las variables. Sin embargo, las pacientes de ambos grupos cumplen los criterios de número y calidad embrionaria establecidos para recomendar TES-1 por lo que se considera que dichas diferencias son clínicamente irrelevantes.

La aplicación de criterios de selección de pacientes a quien aconsejar TES-1 pretende garantizar una mayor seguridad en el programa, basada en minimizar la tasa de gestación múltiple sin que la tasa de embarazo se vea comprometida. Los datos de este estudio son relevantes para asegurar que los criterios implementados son útiles en la práctica clínica habitual. Aún así, la tasa de múltiples todavía es elevada, e indica que probablemente los criterios han sido establecidos con demasiada prudencia, y deberían ser ajustarse todavía más para incrementar el número de pacientes a quien aconsejar la transferencia de un embrión.

Diversos estudios plantean la posibilidad de transferir un embrión en estadio de blastocisto (Schoolcraft and Gardner, 2000). La literatura describe una mayor tasa de implantación en este estadio de desarrollo embrionario, puesto que permite, por un lado, seleccionar el embrión con mayor capacidad de desarrollarse y además, proporciona una mejor sincronización entre el embrión y el endometrio. Sin embargo, esta práctica todavía tiene ciertos inconvenientes, entre los que destacan: la posibilidad de que la paciente se quede sin transferencia (Glujovsky et al. 2012), un mayor riesgo de embarazo gemelar monocigótico, con las complicaciones obstétricas y perinatales que comporta (Chang et al. 2009; Vitthala et al., 2009; Luke et al. 2014), así como también un mayor riesgo de desórdenes epigenéticos (Källén et al., 2010).

Todavía se observa reticencia, en una gran parte de pacientes, en aceptar la transferencia de un embrión. En nuestro estudio, aceptaron la recomendación de TES-1 solo el 48%, las causas podrían estar relacionadas con la no percepción del riesgo, motivos económicos, el deseo de conseguir el embarazo, así como también en algunos casos el deseo de gemelos (Blennborn et al., 2005; De Lacey et al., 2007; Newton et al., 2007; Van Peperstraten et al., 2008). Además, aunque los resultados acumulados

de embarazo son similares, el resultado no llega en el mismo tiempo y con el mismo número de ciclos.

Es necesario un trabajo de educación por parte de los profesionales a la vez que una política sanitaria que favorezca el cambio de estrategia, tal y como ya se ha producido anteriormente en países como Bélgica (Van Landuyt *et al.* 2006; Ombelet *et al.*, 2005). Para concluir podemos decir que el porcentaje de transferencia de un embrión ha tenido un aumento progresivo en el tiempo con una considerable pero todavía insuficiente reducción de la tasa de gestación múltiple. Además, la eficacia de la transferencia selectiva de un embrión acredita que, en receptoras de buen pronóstico, debe ser la práctica recomendada.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado bajo los auspicios de la Cátedra de Investigación en Obstetricia y Ginecología del Departamento de Obstetricia, Ginecología y Reproducción del Hospital Universitario Quirón Dexeus, adscrito a la Universidad Autónoma de Barcelona.

Agradecemos al Dr. Joan Blanco Rodríguez la lectura crítica del manuscrito.

BIBLIOGRAFÍA

Barri, P.N., Coroleu, B., Clua, E., Tur, R., Boada, M., Rodriguez, I., 2014. Investigations into implantation failure in oocyte-donation recipients. *Reprod. Biomed. Online* 28, 99–105.

Blennborn, M., Nilsson, S., Hillervik, C., Hellberg, D., 2005. The couple's decision-making in IVF: one or two embryos at transfer? *Hum. Reprod.* 20, 1292–7.

Chang, H.J., Lee, J.R., Jee, B.C., Suh, C.S., Kim, S.H., 2009. Impact of blastocyst transfer on offspring sex ratio and the monozygotic twinning rate: a systematic review and meta-analysis. *Fertil. Steril.* 91, 2381–90.

Clua, E., Meler, E., Rodríguez, D., Coroleu, B., Rodríguez, I., Martínez, F., Tur, R., 2015. Obstetric and perinatal complications in an oocyte donation programme. Is it time to limit the number of embryos to transfer? *Gynecol. Endocrinol.* 1–5.

Clua, E., Tur, R., Coroleu, B., Boada, M., Barri, P.N., Veiga, A., 2010. Analysis of factors associated with multiple pregnancy in an oocyte donation programme. *Reprod. Biomed. Online* 21, 694–699.

Clua, E., Tur, R., Coroleu, B., Boada, M., Rodríguez, I., Barri, P.N., Veiga, A., 2012. Elective single-embryo transfer in oocyte donation programmes: Should it be the rule? *Reprod. Biomed. Online* 25, 642–8.

Clua, E., Tur, R., Coroleu, B., Rodríguez, I., Boada, M., Gomez, M.J., Barri, P.N., Veiga, A., 2015. Is it justified to transfer two embryos in oocyte donation? A pilot randomized clinical trial. *Reprod Biomed Online* 31, 154–161.

Coroleu, B., Carreras, O., Veiga, A., Martell, A., Martinez, F., Belil, I., Hereter, L., Barri, P.N., 2000. Embryo transfer under ultrasound guidance improves pregnancy rates after in-vitro fertilization. *Hum. Reprod.* 15, 616–20.

de Lacey, S., Davies, M., Homan, G., Briggs, N., Norman, R.J., 2007. Factors and perceptions that influence women's decisions to have a single embryo transferred. *Reprod. Biomed. Online* 15, 526–31.

Geisler, M.E., O'Mahony, A., Meaney, S., Waterstone, J.J., O'Donoghue, K., 2014. Obstetric and perinatal outcomes of twin pregnancies conceived following IVF/ICSI treatment compared with spontaneously conceived twin pregnancies. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 181, 78–83.

Gerris, J., De Neubourg, D., De Sutter, P., Van Royen, E., Mangelschots, K., Vercruyssen, M., 2003. Cryopreservation as a tool to reduce multiple birth. *Reprod. Biomed. Online* 7, 286–94.

Glujovsky, D., Blake, D., Farquhar, C., Bardach, A., 2012. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology. *Cochrane database Syst. Rev.* 7, CD002118.

Harbottle, S., Hughes, C., Cutting, R., Roberts, S., 2015. Elective Single Embryo Transfer: an update to UK Best Practice Guidelines Elective Single Embryo Transfer: an update to UK Best. *Hum. Fertil.* 7273.

Källén, B., Finnström, O., Lindam, A., Nilsson, E., Nygren, K.-G., Olausson, P.O., 2010. Blastocyst versus cleavage stage transfer in in vitro fertilization: differences in neonatal outcome? *Fertil. Steril.* 94, 1680–3.

Kuwayama, M., Vajta, G., Kato, O., Leibo, S.P., 2005. Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. *Reprod. Biomed. Online* 11, 300–8.

Land, J. a., Evers, J.L.H., 2003. Risks and complications in assisted reproduction techniques: Report of an ESHRE consensus meeting. *Hum. Reprod.* 18, 455–457.

Luke, B., Brown, M.B., Wantman, E., Stern, J.E., 2014. Factors associated with monozygosity in assisted reproductive technology pregnancies and the risk of recurrence using linked cycles. *Fertil. Steril.* 101, 683–9.

Martínez, F., Clua, E., Parera, N., Rodríguez, I., Boada, M., Coroleu, B., 2008. Prospective, randomized, comparative study of leuprorelin + human menopausal gonadotropins versus ganirelix + recombinant follicle-stimulating hormone in oocyte donors and pregnancy rates among the corresponding recipients. *Gynecol. Endocrinol.* 24, 188–93.

Min, J.K., Hughes, E., Young, D., Gysler, M., Hemmings, R., Cheung, A.P., Goodrow, G.J., Senikas, V., Wong, B.C.-M., Sierra, S., Carranza-Mamane, B., Case, A., Dwyer, C., Graham, J., Havelock, J., Lee, F., Liu, K., Vause, T., 2010. Elective single embryo transfer following in vitro fertilization. *J. Obstet. Gynaecol. Canada JOGC = J. d'obstétrique gynécologie du Canada JOGC* 32, 363–77.

Newton, C.R., McBride, J., Feyles, V., Tekpetey, F., Power, S., 2007. Factors affecting patients' attitudes toward single- and multiple-embryo transfer. *Fertil. Steril.* 87, 269–78.

Ombelet, W., De Sutter, P., Van der Elst, J., Martens, G., 2007. Multiple gestation and infertility treatment: registration, reflection and reaction—the Belgian project. *Hum. Reprod. Update* 11, 3–14.

Schoolcraft, W.B., Gardner, D.K., 2000. Blastocyst culture and transfer increases the efficiency of oocyte donation. *Fertil. Steril.* 74, 482–6.

SEF 2013: Informes del Registro de la Sociedad Española de Fertilidad. Disponible on line: https://www.registrosef.com/public/docs/sef2013_IAFIV.pdf. Últim accés 12/12/2015.

Söderström-Anttila, V., Vilska, S., 2007. Five years of single embryo transfer with anonymous and non-anonymous oocyte donation. *Reprod. Biomed. Online* 15, 428–33.

Söderström-Anttila, V., Vilska, S., Mäkinen, S., Foudila, T., Suikkari, A.M., 2003. Elective single embryo transfer yields good delivery rates in oocyte donation. *Hum. Reprod.* 18, 1858–1863.

Solé, M., Santaló, J., Boada, M., Clua, E., Rodríguez, I., Martínez, F., Coroleu, B., Barri, P.N., Veiga, A., 2013. 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.* 28, 2087–92.

Tiitinen, A., Halttunen, M., Härkki, P., Vuoristo, P., Hyden-Granskog, C., 2001. Elective single embryo transfer: the value of cryopreservation. *Hum. Reprod.* 16, 1140–4.

Van Landuyt, L., Verheyen, G., Tournaye, H., Camus, M., Devroey, P., Van Steirteghem, A., 2006. New Belgian embryo transfer policy leads to sharp decrease in multiple pregnancy rate. *Reprod. Biomed. Online* 13, 765–71.

Van Peperstraten, A.M., Kreuwel, I.A.M., Hermens, R.P.M.G., Nelen, W.L.D.M., Van Dop, P.A., Grol, R.P.T.M., Kremer, J.A.M., 2008. Determinants of the choice for single or double embryo transfer in twin prone couples. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 87, 226–31.

Vitthala, S., Gelbaya, T.A., Brison, D.R., Fitzgerald, C.T., Nardo, L.G.,. The risk of monozygotic twins after assisted reproductive technology: a systematic review and meta-analysis. *Hum. Reprod. Update* 15, 45–55.

5. DISCUSSIÓ

L'interès principal d'aquesta tesi s'ha centrat en la prevenció de l'embaràs múltiple en el programa de DO. En els cicles de FIV/ICSI, ha estat àmpliament demostrat que la transferència selectiva d'un embrió comporta taxes acumulades de nascut viu similars a les que s'obtenen amb la transferència selectiva de dos embrions, evitant la gestació múltiple i, com a conseqüència, disminuint la incidència de complicacions obstètriques i perinatals. Els resultats obtinguts en el nostre programa de DO reflectien unes taxes de gestació múltiple elevades i, per tant, calia dur a terme mesures estratègiques per aconseguir la seva reducció i disminuir la incidència de complicacions, sense que l'èxit de la tècnica es veiés afectat.

La discussió d'aquesta tesi ha estat estructurada seguint la línia argumental dels articles publicats.

5.1. Complicacions obstètriques i perinatals de la gestació múltiple en receptores d'òcits

Després de l'anàlisi de les nostres dades i en concordança amb altres estudis realitzats en receptores d'òcits (Sheffer-Mimouni et al. 2002; Keegan et al. 2007; Pecks et al. 2011; Le Ray et al. 2012), es pot concloure que entre les complicacions amb major incidència en les gestacions múltiples hi trobem la preeclàmpsia, triplicant-se la seva incidència respecte a les gestacions úniques i situant-se al voltant d'un 20% en front del 2.5-3% descrit per a la població general (Serra et al., 2007a; Sekhon et al. 2014). La major massa de teixit placentari i una disminució relativa de la perfusió placentària fan que la gestació múltiple sigui un dels factors associats a aquesta complicació. No obstant, també hi ha d'altres factors associats com són: la primiparitat en dones d'edat avançada, l'obesitat, factors hereditaris i patologies mèdiques concomitants (diabetis insulíndependent, hipertensió crònica, trombofílies, etc.), així com un factor rellevant en la DO com és la càrrega antigènica, ja que la mare biològica no té contribució genètica al fetus, com queda evidenciat en la revisió de Blázquez i col. (2016) que troben una probabilitat tres vegades superior de preeclàmpsia en receptores que en pacients de FIV/ICSI.

Coincidint amb els factors de risc descrits a la bibliografia, trobem que la diabetis gestacional estaria relacionada amb l'edat i no amb el tipus de gestació, essent superior en dones de ≥ 40 anys i superant el 25% versus el 3-10% de la població general (Vázquez et al., 2010). Altres autors com Shrim i col. (2010) troben un risc dues vegades i mig superior en gestacions úniques de dones de >40 anys (tant receptores com pacients de FIV/ICSI). Sheffer-Mimouni i col. (2002) també descriuen en pacients de ≥ 40 anys una taxa de diabetis gestacional d'un 24%. Durant la gestació i per efecte del lactògen, dels estrògens i de la progesterona placentaris, així com d'altres hormones (prolactina i cortisol matern), es desenvolupa una resistència tissular perifèrica a la insulina en la mare que dificulta el consum de glucosa facilitant que arribi al fetus. Normalment, aquesta resistència es troba contrarestada per una hiperinsulinèmia provocada per una hipertrofia dels illots pancreàtics, que permeten que els nivells de glucèmia de la mare es mantinguin dintre de la normalitat. La causa d'aquesta diabetis gestacional resideix en que existeix un patró alterat, endarrerit, de segregació d'insulina dels illots pancreàtics, resultant ineficient per contrarestar la resistència tissular perifèrica. Entre altres factors de risc per a la diabetis, a part de l'edat materna, trobem els antecedents familiars i l'obesitat (Serra et al., 2007b).

Pel que fa a la incidència de ruptura prematura de membranes, tot i que en els nostres resultats és superior en les gestacions múltiples respecte a les úniques (9.7% vs 1.8%), es troba dintre del rang publicat per la població general (3-18%). Aquesta complicació és la causa del 40% dels parts preterme i del 10% de la mortalitat perinatal. A més d'estar condicionada per la gestació múltiple i pel fet de tractar-se de TRA, també presenta d'altres factors associats com són: antecedents de part preterme i/o avortaments, anomalies i patologia placentària, corioamnionitis clínica o subclínica, anomalies uterines i cervicals, mals hàbits (tabaquisme, alcohol, estrès) o d'altres factors probables com són les infeccions urogenitals o el consum de drogues (Bonilla et al., 2007).

Tal i com també apuntaven altres autors (Pados et al. 1994; Paulson et al. 1997; Keegan et al. 2007; Le Ray et al. 2012), en els nostres resultats s'observa que la multiplicitat comporta una major incidència de cesàries, essent superior al 80% vs el 60% per les gestacions úniques i vs el 27.4% descrit per la població general (IDESCAT, 2013). Tot i així, cal destacar que hi ha d'altres factors associats descrits que farien que

els obstetres optessin per realitzar una cesària com són: l'edat materna, la primiparitat, les patologies associades a la gestació (preeclàmpsia, diabetis o retard del creixement intrauteri) (Henne et al., 2007) i factors com l'ansietat o la por al part de la mateixa pacient. En els nostres resultats observem també com el factor edat incideix en la taxa de cesàries, essent superior en les gestacions úniques de pacients amb edat ≥ 40 anys (al voltant del 70% vs 50% en < 40 anys). A més, està descrit un risc superior de no resposta a la inducció al part en el cas de primiparitat, que finalitzaria en cesària, (Wielgos et al., 2015). Cal considerar que el percentatge de pacients primíparaes en el nostre estudi era superior al 75%, tant en gestacions úniques com en múltiples.

Si bé la incidència de prematuritat en el nostre país és del 8%, l'ús de les TRA ha fet que sigui superior (Bonilla et al., 2007), ja sigui per una major indicació de finalització electiva per problemes mèdics i/o per l'augment de les gestacions múltiples. Els nostres resultats abonen aquesta afirmació, amb una incidència de prematuritat en les gestacions úniques d'un 10% i de més del 50% en les gestacions múltiples.

Les gestacions múltiples controlades en el nostre centre varen tenir una major incidència de baix pes al néixer ($< 2500\text{g}$: 61.1% vs 8.2%; $< 1500\text{g}$: 8.1% vs 0.9%), d'ingrés en cures intensives (15.2% vs 4.7%) i de mortalitat perinatal (130/00 vs 0 0/00) que les úniques, probablement determinades per la prematuritat, en concordança amb el descrit per altres autors que troben un 62.5% de baix pes en els nens de gestacions múltiples (Pados et al., 1994), i una incidència de mortalitat de 1.7% i 3.3% (Pados et al., 1994; Söderström-Anttila et al., 1998). La prematuritat comporta complicacions pels nounats a curt termini (síndrome de distrès respiratori, hemorràgia intraventricular, septicèmia, displàsia broncopulmonar i persistència del conducte arteriós) però també a llarg termini (paràlisi cerebral, alteracions auditives i visuals, malaltia broncopulmonar crònica o retard en el coeficient intel·lectual) (Bonilla et al., 2007).

Aquestes dades són prou rellevants com per recomanar una visita d'assessorament preconcepcional abans d'iniciar el cicle de DO, i reafirmen la necessitat d'informar a les pacients sobre la incidència de complicacions obstètriques i neonatals associades a la DO, especialment pel que fa a la multiplicat i l'edat. A més, confirmen la conveniència de recomanar la transferència d'un embrió i dur a terme un seguiment obstètric i neonatal acurat.

5.2. Factors associats a la gestació múltiple en el programa de DO

Les receptores constitueixen un grup de pacients especial, ja que a diferència del que passa en els cicles de FIV/ICSI amb oòcits propis, la probabilitat de gestació no disminueix amb la seva edat (Reynolds et al., 2001; Toner et al., 2002). És l'edat de les donants la que condiciona la qualitat oocitària i contribueix, en gran mesura, a la qualitat embrionària (Navot et al., 1991; Cohen et al., 1999; Noyes et al., 2001; Mirkin et al., 2003; Wang et al., 2012). Aquesta darrera, juntament amb un úter receptiu, són els principals factors associats a la implantació i la gestació (Soares et al., 2008).

Segons els nostres resultats, les taxes de gestació de receptores no varien pels diferents grups d'edat analitzats (Clua et al., 2010). Diversos estudis publiquen que en receptores d'edat avançada la probabilitat d'èxit és la mateixa que en receptores joves, almenys fins als 45 anys. A partir d'aquesta edat, alguns autors descriuen taxes d'implantació i gestació inferiors (Toner et al., 2002; Soares et al., 2005; Check et al., 2010; Wang et al., 2012; Yeh et al., 2014) i taxes d'avortament superiors (Soares et al., 2005; Yeh et al., 2014). L'explicació podria trobar-se en una disminució de la receptivitat uterina degut a alteracions vasculars que podrien modificar l'impregnació hormonal de l'endometri (Huang et al., 2008).

De la mateixa manera, les receptores constitueixen una excepció pel que fa a la taxa de gestacions múltiples en relació a l'edat de les pacients. Mentre que en pacients de FIV/ICSI en augmentar l'edat de la pacient disminueix el risc de gestació múltiple, en receptores, on els oòcits són de dones joves, no es produeix aquest efecte. Així, la taxa de múltiples no varia en relació a l'edat de les receptores (Reynolds et al. 2001; Soares et al. 2005; Clua et al. 2010).

A l'estudiar quins factors poden estar associats a la gestació múltiple, l'únic factor que s'ha trobat ha estat la qualitat embrionària, sense que l'edat de la donant (≤ 35 anys) hi intervingui. Aquests resultats són coincidents amb l'estudi de Reynolds i col. (2001), que descriu que al transferir dos embrions s'incrementa el risc de gestació múltiple sense que augmenti la probabilitat de nascut viu i, per tant, apunta la necessitat de considerar l'edat de la donant i la qualitat embrionària a l'hora de recomanar el nombre d'embrions a transferir.

En els nostres resultats es constata que si els dos embrions transferits són òptims, les taxes de gestació i implantació són superiors, amb un risc d'embaràs múltiple doble si es compara amb la transferència de dos embrions no òptims (Clua et al. 2010). Aquest resultat coincideix amb el publicat per Söderstrom i Vilska (2007).

Entre els altres factors analitzats no s'observa que el nombre d'òocits assignats, els fecundats, el nombre d'embrions evolutius i el d'embrions òptims, tinguin un efecte sobre la incidència de gestacions múltiples.

En els cicles de DO, que per llei es duen a terme amb donants que tenen ≤ 35 anys, la qualitat embrionària és el factor condicionant de la gestació múltiple i és, per tant, el paràmetre a considerar a l'hora d'establir criteris per recomanar la transferència d'un embrió.

5.3. Eficàcia de la transferència selectiva d'un embrió

Partint de la base que la qualitat embrionària era l'únic factor associat a la gestació múltiple, es varen dur a terme diferents estudis per tal d'evidenciar si, disposant d'un determinat nombre d'embrions evolutius i òptims, la transferència selectiva d'un embrió (TES-1) era comparable a la transferència selectiva de dos embrions (TES-2) pel que fa a taxes acumulades d'embaràs i nascut viu. Si bé els resultats dels primers estudis publicats (Clua *et al.*, 2012, 2015) coincidien amb els d'altres autors (Söderström-Anttila and Vilska, 2007) - que no detectaven diferències en la taxa de gestació en el cicle de transferència en fresc entre les dues estratègies - en les darreres dades analitzades (Clua *et al.*, en premsa), on s'inclou un major nombre de casos, s'ha evidenciat que la taxa de gestació per transferència és inferior en la TES-1 comparat amb la TES-2.

Aquests resultats coincideixen amb els publicats en dones de < 36 anys pacients de FIV/ICSI (McLernon *et al.*, 2010; Pandian *et al.*, 2014).

El motiu de les diferències entre els diferents estudis probablement s'ha d'atribuir a la potència estadística de les mostres analitzades. En el nostre primer estudi retrospectiu (Clua *et al.*, 2012), tot i incloure una mostra gran de pacients, hi havia un important desequilibri en el número de casos per grup (TES-1: 66 vs TES-2: 1.073), tal com també passava als resultats publicats per Söderström-Anttila i Vilska (2007) (TES-1:102

i TES-2:30). En canvi, la limitació de l'estudi pilot prospectiu (Clua *et al.*, 2015) era el nombre de pacients (TES-1:34 i TES-2:31). Per contra, l'últim treball (Clua *et al.*, en premsa), tot i no ser aleatoritzat, presenta un major nombre de casos amb un equilibri entre grups (TES1: 297 i TES-2: 203), fet que li confereix una major potència estadística.

Finalment, tant l'estudi retrospectiu (Clua *et al.*, 2012) com els prospectius (Clua *et al.*, 2015; Clua *et al.*, en premsa), han demostrat que els resultats de les taxes acumulades de gestació i de nascut viu són similars entre ambdues estratègies. Tot i així, cal considerar que el temps per aconseguir la mateixa taxa d'èxit és superior mitjançant TES-1, resultats que coincideixen amb els publicats a FIV/ICSI (Pandian *et al.*, 2014).

A més a més, s'ha aconseguit reduir la taxa de gestació múltiple en el cicle en fresc, que era entre 30-40% en els període 2004-2008 i ha passat a un 22.5% l'any 2014 (Clua *et al.*, en premsa). Tot i així, la taxa de gestacions múltiples segueix sent elevada en comparació a la que publica el grup finlandès de Söderström-Anttila and Vilska (2007), que era del voltant d'un 10% (4/41) aplicant TES-1 a gairebé un 80% dels cicles. Per tant, tot i haver aconseguit una important reducció de la taxa de gestació múltiple, són percentatges encara elevats si considerem que el desitjable seria no superar el 10% (ESHRE Campus Course Report, 2001). Aquest fet indica que els criteris que hem utilitzat per recomanar TES-1 probablement encara haurien de ser més ajustats per aconseguir aquesta fita.

Hi ha dos aspectes a tenir en compte a l'hora de recomanar la transferència d'un embrió a receptores: els aspectes mèdics i els biològics.

Aspectes mèdics

La salut de les pacients pot condicionar un major risc pel que fa a la gestació i el part. És per aquest motiu que per recomanar el nombre d'embrions a transferir s'han de considerar els antecedents mèdics generals (diabetis, hipertensió, malalties cardiovasculars), ginecològics (patologia uterina i/o cirurgia) i genètics (Síndrome de Turner). En tots aquests casos, la recomanació mèdica hauria de ser transferir un embrió, independentment de la qualitat embrionària (Söderström-Anttila and Vilska, 2007).

Cal recordar que, si bé l'edat de la receptora no influeix en les taxes de gestació i gestació múltiple, sí que es considera un factor de risc independent per algunes complicacions obstètriques i perinatals que es poden veure agreujades, com és el cas de la tromboflebitis (Michalas *et al.*, 1996b), la diabetis gestacional i la incidència de cesàries (Clua *et al.*, 2016). Malgrat que en el nostre estudi sobre complicacions obstètriques i perinatals (Clua *et al.*, 2016) no es va estudiar el subgrup de receptores de ≥ 45 anys, ja que representava un nombre baix de pacients, hi ha estudis que, encara que en una mostra també reduïda (12 pacients), descriuen una major incidència de part preterme (Soares *et al.*, 2005). Per tots aquests fets assenyalats, vàrem incorporar la recomanació de transferir un embrió en pacients d'edat ≥ 45 anys.

Aspectes biològics

Per dur a terme de forma eficaç la transferència d'un embrió cal seleccionar l'embrió amb major capacitat d'implantació. Avui en dia no hi ha cap tècnica que ens ho asseguri. En aquest procés de selecció, els diversos estudis existents van encaminats a trobar el millor sistema de selecció embrionària.

Selecció embrionària. Criteris morfològics

La morfologia ha estat relacionada amb el potencial d'implantació de l'embrió i, per això, a dia d'avui, l'embrió òptim és seleccionat per a la transferència mitjançant criteris morfològics en els diferents estadis de desenvolupament embrionari: embrió primerenc (dia+2 o dia+3) o blastocist (dia+5). Aquests criteris es basen principalment en el nombre, mida i simetria dels blastòmers, el percentatge de fragmentació citoplasmàtica i la presència de multinucleació. Tot i que hi ha matisos en la classificació segons les diferents societats científiques, es considera un embrió òptim el que presenta 4 blastòmers mononucleats de mida similar en dia+2 de desenvolupament o 8 en dia+3, i té un percentatge de fragments inferior al 10% del seu volum total (Plachot and Crozet, 1992; Alpha Scientist in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology, 2011; ASEBIR, 2015). El no compliment d'aquests criteris està relacionat amb un menor potencial de desenvolupament embrionari i amb una menor probabilitat de nascut viu.

En els nostres estudis, la classificació dels embrions es va dur a terme en dia+2 (Clua *et al.*, 2012) o dia+3 de desenvolupament embrionari (Clua *et al.*, 2015; Clua *et al.*, en premsa), tenint en compte els paràmetres morfològics abans esmentats i assignant una puntuació de l'1 al 10, on els embrions evolutius eren els puntuats ≥ 6 i els òptims ≥ 8 . Els criteris finalment establerts per aconsellar la TES-1 en el nostre programa (Clua *et al.*, en premsa) varen ser: disposar de ≥ 5 embrions evolutius amb ≥ 2 òptims en dia+3 de desenvolupament embrionari.

Criopreservació embrionària

La criopreservació constitueix un altre factor a considerar a l'hora de valorar l'eficàcia global de la transferència d'un embrió. Des de l'any 1983, on Trounson and Mohr aconseguiren la primera gestació amb embrions criopreservats mitjançant congelació lenta, la tècnica s'ha anat optimitzant (Lassalle *et al.*, 1985). Tot i que avui en dia es continua utilitzant en alguns laboratoris, la incorporació de la vitrificació ha permès obtenir unes millors taxes de supervivència embrionària i d'embrions intactes (Balaban *et al.*, 2008). La literatura demostra que, en cicles de FIV/ICSI, els resultats de taxa d'embaràs i nascut viu amb la vitrificació (tant en estadi d'embrions primerencs com en estadi de blastocist) resulten significament superiors que amb congelació lenta, amb un menor risc de part preterme i amb uns resultats perinatals similars als de la població general (Li *et al.*, 2014; Roy *et al.*, 2014; Debrock *et al.*, 2015).

Les taxes més baixes d'èxit amb embrions criopreservats mitjançant la tècnica de congelació lenta, probablement han portat fins ara a que molts grups plantegessin la transferència de dos embrions post-descongelació, inclús en aquells cicles on s'havia realitzat la transferència d'un embrió en fresc. Tot i així, alguns autors han analitzat els factors predictors de taxa d'implantació i nascut viu en cicles de criotransferència on s'ha aplicat la transferència d'un embrió, indicant la taxa de supervivència dels blastòmers com a factor predictor (Le Lannou *et al.*, 2006; Tang *et al.*, 2006; Olivius *et al.*, 2008).

Sigui quina sigui la tècnica utilitzada, així com l'estadi de l'embrió a congelar, un programa efectiu de criopreservació és essencial per incrementar les taxes acumulades

d'embaràs i nascut viu que s'han d'aconseguir amb la transferència d'un embrió (Gerris *et al.*, 2003).

La revisió de la Cochrane (Pandian *et al.*, 2014) conclou que, encara que les taxes de nascut viu amb transferència de dos embrions són millors que quan es transfereix un embrió, les taxes acumulades considerant la transferència d'un embrió en fresc i un descongelat són comparables.

Pel que fa a DO, Soderstrom i Vilska (2007) publiquen una taxa de naixements d'un 12% amb la transferència d'un embrió post-descongelació, i conclouen que, si després de la congelació es disposa de dos embrions no òptims, és millor recomanar la transferència de dos embrions.

Malgrat que les recomanacions estan focalitzades en els cicles de transferència d'embrions en fresc, els avenços en els mètodes de criopreservació (vitricació) i la major supervivència dels embrions vitrificats en estadi de blastocist permetran millors resultats en el cicles de criotransferència i, per tant, suposaran que les taxes acumulades siguin cada vegada més elevades. Caldrà doncs, que les recomanacions vagin encaminades a tenir en consideració les taxes acumulades de gestació però especialment de nascut viu.

5.4. Avaluació del canvi d'estratègia de dos embrions a un embrió

En el nostre programa de DO, la implementació de la transferència d'un embrió no ha estat un procés ràpid. Fins a la introducció de criteris per aplicar aquesta estratègia, el percentatge de pacients que es transferien un embrió era molt baix (<10%) (Clua *et al.*, en premsa). Tot i haver augmentat el nombre de cicles en el que es realitza la transferència d'un embrió des d'aproximadament un 3% (any 2004) fins a un 43% (any 2014), encara s'observa reticència per part dels pacients a acceptar-la. Cal remarcar que en l'estudi prospectiu varen acceptar participar només un 30% de les pacients (Clua *et al.*, 2015) i, a l'últim treball (Clua *et al.*, en premsa), de les pacients a qui es va aconsellar transferir un embrió, solament ho van acceptar el 60%.

Per tant, l'increment en la transferència d'un embrió ha estat baix i lent si ho comparem amb altres programes de DO, com el del grup de Söderström i col (2003), que descriu un augment d'un 17% a un 61% en un període de quatre anys (1998-2001). Probablement, l'explicació pot trobar-se en l'alt nivell de conscienciació dels professionals i pacients; d'altra banda, no es pot obviar que el seu sistema de salut pública financia les TRA. A l'últim registre europeu del 2011 publicat recentment, el percentatge de transferència d'un embrió en DO era del 19.7% (Kupka et al., 2016), percentatge similar al nostre (17.9%) (Clua et al., en premsa), mentre que en el mateix any el publicat per la SEF era del 13.4% (SEF, 2011). L'increment gradual de la transferència d'un embrió en el nostre programa ha suposat una disminució de la taxa de gestació múltiple d'un 32% (any 2004) a un 22.5% (any 2014), sense que hi hagi hagut un descens clínicament rellevant de la taxa de gestació per transferència, que ha passat d'un 56.1% a un 47.2%, ni de la taxa de nascuts vius, que ha passat d'un 42.1% a un 35%, en els mateixos anys.

A l'últim registre publicat per la SEF l'any 2013, la transferència d'un embrió va ser d'un 21.7%, però encara amb una taxa elevada de gestació múltiple (30.1%) i de parts múltiples (29%), mentre que en el nostre programa en el mateix any el percentatge de transferència d'un embrió ja era del 37.8%, amb una taxa de gestacions múltiples d'un 25.6% (Clua et al., en premsa).

De tota manera, s'ha de considerar que a l'estat espanyol la majoria de cicles es realitzen en el sector privat, i aquest fet probablement fa que, per motius econòmics, l'evolució cap a la transferència d'un embrió sigui més difícil. Tot i les recomanacions ja existents, segueix havent-hi barreres per a la seva aplicació com són els propis professionals, els pacients i el context en el que s'ha d'aplicar.

Pel que fa als professionals, a l'estudi quantitatiu de van Peperstraten i col. (2008) els autors descriuen que, entre els factors que els influeixen més a l'hora de recomanar el nombre d'embrions a transferir, es troben els resultats subòptims associats a la criopreservació, la no percepció de la gestació múltiple com una complicació de les TRA i l'absència d'un protocol intern per recomanar la transferència d'un embrió. En el nostre centre, la conscienciació de tots els professionals de l'equip ha estat bàsica per poder realitzar la transferència d'un embrió a un major percentatge de pacients. En

aquest sentit, conèixer la incidència de complicacions obstètriques i perinatals avaluades al propi centre, establir uns criteris de recomanació de TES-1 i analitzar els resultats de les taxes acumulades obtingudes ha ajudat a l'increment en el nombre de cicles on s'ha transferit un embrió.

Respecte als pacients, malgrat no existeixen estudis aplicats directament en DO, entre els factors que es descriuen que influeixen als pacients de FIV/ICSI per desestimar la transferència d'un embrió trobem: la probabilitat d'embaràs en el primer intent; el desig de bessons; la pressió que exerceix l'edat; el cost emocional que suposa la història reproductiva prèvia (avortaments, cicles fallits previs); el requeriment de més cicles, amb el cost econòmic i el temps associat per aconseguir la mateixa taxa acumulada de nen nascut viu; les llistes d'espera en alguns països i la competència entre centres per unes taxes elevades de gestació (Blennborn et al., 2005; de Lacey et al., 2007; Newton et al., 2007)

L'acceptació de la transferència d'un embrió està molt lligada a la informació que es proporciona als pacients. Cal facilitar informació detallada i robusta que els ajudi a prendre decisions; informar bé de la incidència de complicacions obstètriques i perinatals per tal que puguin associar la gestació múltiple amb la percepció de risc i no simplement amb una major probabilitat d'embaràs (Rai et al., 2011); informar dels resultats globals, especialment de les taxes acumulades i utilitzar elements de suport com DVD o fullets informatius (Murray et al., 2004; Hope and Rombauts, 2010). En tot cas, cal respectar la decisió dels pacients després d'haver facilitat la informació.

Respecte al context en que s'ha d'aplicar la TES-1, és important tant l'existència d'un protocol clar d'actuació per part del centre, amb les recomanacions concretes sobre el número d'embrions a transferir, com la implementació de directrius legals específiques. A més a més, el finançament per part de l'administració pública facilitaria l'aplicació de la transferència d'un embrió, com ha succeït a països com Suècia o Bèlgica (Ombelet et al. 2005).

Així doncs, al llarg dels anys hem aconseguit en el nostre programa de DO una disminució clara de la taxa de gestacions múltiples. Això ha estat possible gràcies a l'augment progressiu de la transferència d'un embrió, propiciat per una conscienciació

tant dels professionals com dels pacients. Tot i així, estem encara lluny d'aconseguir aquest màxim "ideal" del 10% de gestacions múltiples. El futur ha d'anar encaminat a aconseguir una millor selecció embrionària que ens permeti assolir un percentatge més elevat de nens en el més curt termini possible.

5.5. Expectatives presents i futures per a la selecció embrionària

Transferència embrionària en estadi de blastocist

Com ja s'ha dit a l'apartat 5.3, la possibilitat de seleccionar un embrió òptim és un factor decisiu a l'hora d'aconsellar la transferència d'un embrió. Si bé en els nostres estudis aquesta selecció ha estat feta en dia+2 i dia+3 de desenvolupament embrionari, les recomanacions establertes pel GISE de la SEF ja contemplen la possibilitat d'aconsellar transferir un blastocist quan se'n disposa d'òptims (ASEBIR, 2015).

L'activació del genoma embrionari, tot i que s'inicia en dia +2 (Vassena *et al.*, 2011), es produeix en dia+3 de desenvolupament. Sense aquesta activació, l'embrió no pot continuar el seu desenvolupament. Per tant, allargar el cultiu fins a l'estadi de blastocist sembla una solució per poder identificar i seleccionar els embrions que han estat capaços de dur a terme l'activació del genoma (Braude *et al.*, 1988). A més, estan descrites diferents teories que explicarien una millor implantació dels embrions en aquest estadi. Alguns autors (Gardner and Lane, 1997), suggereixen que un embrió transferit en dia+2 o dia+3 de desenvolupament està exposat a un estrès que no té en una fecundació *in vivo*, ja que de forma natural no entra a l'ambient uterí abans de l'estadi de mòrula o dia+4 de desenvolupament; Fanchin *et al.*, (2001) descriuen que quan la transferència embrionària es realitza en dia+2 o dia+3 hi pot haver una major contractilitat uterina, que podria comportar una expulsió mecànica dels embrions de la cavitat. Alhora, especulen sobre la possibilitat que, durant la fase lútea, la relaxació uterina per mediació de la progesterona es trigui més a establir i que, per tant, la transferència en estadi de blastocist afavoreixi la implantació dels embrions.

Segons dades de la SEF, a FIV/ICSI les transferències en estadi de blastocist han augmentat d'un 3.7% l'any 2005 a un 7.1% l'any 2013, però en el cas de DO, hi ha hagut un increment més acusat d'un 8.1% a un 34.3%. L'ASRM, en el mateix període, publica

a FIV/ICSI uns percentatges molt més elevats, que van d'un 25.1% a un 54.2% (SEF, 2013; ASRM,2013).

El metanàlisi de Blake *et al.* (2007) indica que la taxa de gestació i nascut viu és superior transferint un blastocist *versus* un embrió primerenc. A l'estudi aleatoritzat de Glujovsky i col (2012), tot i que la taxa de gestació és més elevada amb blastocist que en estadi d'embrions primerencs, les taxes acumulades de gestació són superiors amb embrions primerencs. Els autors que defensen la transferència en blastocist argumenten que això és degut a que alguns embrions no aconsegueixen assolir aquest estadi, ja que els sistemes de cultiu no són els adequats. Una baixa tensió d'oxigen (<5%) en els cultius, que mimetizi les condicions fisiològiques del tracte femení (Fischer and Bavister, 1993), així com l'aplicació de la vitrificació com a mètode de criopreservació dels embrions sobrants, poden suposar una millora en la taxa de blastocist obtinguda i presumiblement una millor taxa acumulada d'embaràs (Gardner, 2016).

No obstant, en el supòsit que les taxes acumulades de gestació siguin comparables, encara hi ha aspectes controvertits. Mentre que alguns autors descriuen major risc de bessons monozigòtics (Milki *et al.*, 2003; Chang *et al.*, 2009; Luke *et al.*, 2014), d'altres no troben aquest increment (Papanikolaou *et al.*, 2008; Franasiak *et al.*, 2015). Pel que fa als resultats obstètrics i perinatals: els metaanàlisi d'estudis observacionals de Dar i col. (2014); Maheshwari i col., (2013) publiquen un major risc de prematuritat, però l'estudi de (Chambers *et al.*, 2015), amb una mostra elevada de nens nascuts (50.000), no troba aquests resultats; també Dar i col.. (2014) publiquen un major risc d'anomalies congènites, i tant (Chang *et al.*, 2009) com Alfarawati i col. (2011) observen una alteració de la ràtio nens-nenes en favor dels nens, fet que és desmentit per (Weston *et al.*, 2009). A més a més, en alguns estudis també s'observa un pes dels nounats superior al que correspondria per la seva edat gestacional (Mäkinen *et al.*, 2013; Zhu *et al.*, 2014).

A la vista d'aquests resultats, tot hi haver-hi una tendència cap a la transferència en estadi de blastocist, falten estudis que demostrin que, utilitzant les condicions òptimes de cultiu i la vitrificació, les taxes acumulades de nascut viu siguin superiors que amb la

transferència d'embrions en dia+3. Així mateix, són claus estudis que avaluin els efectes a curt i llarg termini sobre els nens nascuts.

Avaluació morfocinètica

La recent incorporació d'incubadors amb tecnologia time-lapse (TL) en els laboratoris de reproducció assistida ha permès efectuar no només l'anàlisi de la morfologia sinó també proporcionar informació dels canvis de naturalesa dinàmica que es produeixen en l'embrió. Consisteix en un incubador amb un sistema de captura seriada d'imatges, la projecció accelerada de les quals permet observar la seqüència d'esdeveniments que tenen lloc durant la fecundació i el desenvolupament embrionari. La importància d'aquesta tecnologia està basada en l'estabilitat de les condicions de cultiu i en l'observació dinàmica dels esdeveniments embrionaris (Cruz *et al.*, 2011; Kirkegaard *et al.*, 2012).

La revisió de Kaser i Racowsky (2014), indica que els resultats obtinguts per diferents estudis respecte si existeix correlació entre els paràmetres morfocinètics i la capacitat per assolir l'estadi de blastocist o la implantació encara són poc conclouents. Sembla que, idealment, cada laboratori hauria d'establir els seus propis paràmetres morfocinètics i els rangs informatius de viabilitat embrionària en les seves poblacions i amb les seves condicions de treball.

Per tant, amb les dades publicades, sembla que la selecció d'embrions amb TL pot ajudar a seleccionar el millor embrió des del punt de vista morfològic, però falten estudis que confirmin que es millora la taxa d'implantació. La causa de que la taxa d'implantació no millori podria ser deguda a que, tot i seleccionar l'embrió morfològicament òptim, la correlació entre morfologia i euploïdia és dèbil (Alfarawati *et al.*, 2011). Així ho demostren alguns estudis en que blastocists morfològicament normals poden ser aneuploïdes (Fragouli *et al.*, 2014). La literatura descriu també una correlació entre l'aneuploïdia, la fallida d'implantació i l'avortament espontani (Rubio *et al.*, 2005; Munné *et al.*, 2006).

Mitjançant screening genètic preimplantacional (PGS) amb anàlisi complet dels cromosomes, s'ha observat que en dones de menys de 35 anys, el percentatge

d'embrions anormals és d'aproximadament un 30% (Harton *et al.*, 2013; Franasiak *et al.*, 2014). A més a més, l'estudi pilot aleatorizat de Yang *et al.*, (2012) demostra que, en pacients de FIV/ICSI amb bon pronòstic i d'edat <35 anys (cas més semblant a les donants d'òocits), resulta insuficient considerar solament els criteris morfològics per seleccionar l'embrió òptim. La taxa d'embaràs és superior i la taxa d'avortaments és inferior quan es té en compte no solament la morfologia sinó també la dotació cromosòmica. Malgrat tot, la tècnica de PGS no deixa de suposar una major manipulació dels embrions i, a dia d'avui, tenint en compte l'edat jove de les donants, és qüestionable que s'hagi d'aplicar indiscriminadament en el programa de DO.

6. CONCLUSIONS

1. Les gestacions múltiples de pacients receptores d'òocits presenten una major incidència de complicacions obstètriques (preeclàmpsia, ruptura prematura de membranes, cesàries i part preterme) i perinatals (baix pes al néixer, ingrés en cures intensives i mortalitat perinatal) que les gestacions úniques. Quan considerem l'impacte addicional de l'edat (≥ 40 anys), solament observem diferències significatives per la diabetis gestacional i la taxa de cesàries.

2. La qualitat embrionària és l'únic factor associat a la gestació múltiple. El risc de gestació múltiple és el doble si es transfereixen dos embrions òptims que si se'n transfereixen dos no òptims.

3. Les taxes acumulades d'embaràs i nascut viu són similars tant si es transfereix un embrió com si se'n transfereixen dos. No obstant, tot i que amb la transferència d'un embrió es redueix la taxa de múltiples, es necessita més temps per aconseguir la mateixa taxa d'èxit.

4. L'aplicació dels criteris mèdics i embriològics per transferir un embrió ha permès reduir la taxa de gestació múltiple sense que les taxes de gestació i nascut viu s'hagin vist compromeses.

7. GLOSSARI

ACE: Association of Clinical Embryologists

ASEBIR: Asociación para el Estudio de Biología de la Reproducción

ASRM: American Society of Reproductive Medicine

BFS: British Fertility Society

DO: Donació d'Oòcits

ESHRE: European Society of Human Reproduction and Embryology

FIV: Fecundació *In Vitro*

FOP: Fallida Ovàrica Prematura

GISE: Grup d'Interès de Salut Embrionària

hCG: Gonadotropina Coriònica humana

HFEA: Human Fertilisation and Embryology Authority

IAC: Inseminació Artificial de Cònjuge

IAD: Inseminació Artificial de Donant

ICSI: Injecció intracitoplasmàtica

IDESCAT: Institut D'Estadística de Catalunya

INE: Institut Nacional d'Estadística

Joint SOGC-CFAS: Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada & Canadian Fertility and Andrology Society

PGS: Screening Genètic Preimplantacional

SEF: Societat Espanyola de Fertilitat

TES-1 : Transferència Selectiva d'un embrió

TES-2: Transferència Selectiva de dos embrions

TL: Time-Lapse

TRA: Tècniques de Reproducció Assistida

8. BIBLIOGRAFIA

A

Adams DH, Clark RA, Davies MJ, Lacey S de. A meta-analysis of neonatal health outcomes from oocyte donation. *J Dev Orig Health Dis.* 2015;1–16

Alfarawati S, Fragouli E, Colls P, Stevens J, Gutiérrez-Mateo C, Schoolcraft WB, Katz-Jaffe MG, Wells D. The relationship between blastocyst morphology, chromosomal abnormality, and embryo gender. *Fertil Steril.* 2011;95:520–524.

Alikani M, Cekleniak NA, Walters E, Cohen J. Monozygotic twinning following assisted conception: an analysis of 81 consecutive cases. *Hum Reprod.* 2003;18:1937–1943.

Alpha Scientist in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology: The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Hum Reprod.* 2011; 26:1270-1283

ASEBIR. *Cuadernos de embriología clínica II. Criterios ASEBIR de valoración morfológica de ovocitos, embriones tempranos y blastocistos humanos.* In Gobalo, editor. 2008; Madrid.

ASRM 2011: Registre de l' American Society of Reproductive Medicine. Disponible on line: <http://www.cdc.gov/art/reports/archive.html>. Últim accés 20/11/2015.

ASRM 2013: Registre de l' American Society of Reproductive Medicine. Disponible on line: <http://www.cdc.gov/art/reports/archive.html>. Últim accés 20/11/2015.

B

Balaban B, Urman B, Ata B, Isiklar A, Larman MG, Hamilton R, Gardner DK. A randomized controlled study of human Day 3 embryo cryopreservation by slow freezing or vitrification: vitrification is associated with higher survival, metabolism and blastocyst formation. *Hum Reprod.* 2008;23:1976–1982.

Balasz J, Ballescá JL, Pimentel C, Creus M, Fábregues F, Vanrell JA. Late low-dose pure follicle stimulating hormone for ovarian stimulation in intra-uterine insemination cycles. *Hum Reprod*.1994;9:1863–1866.

Barri PN, Coroleu B, Martinez F, Parera N, Veiga A, Calderón G, Boada M, Belil I. Indications for oocyte donation. *Hum Reprod*. 1992 Jun;7 Suppl 1:85-8.

Bassil S, Wyns C, Toussaint-Demylle D, Abdelnour W, Donnez J. Predictive factors for multiple pregnancy in in vitro fertilization. *J Reprod Med*. 1997;42:761–766.

Behr B, Fisch JD, Racowsky C, Miller K, Pool TB, Milki AA. Blastocyst-ET and monozygotic twinning. *J Assist Reprod Genet*. 2000;17:349–351.

Berkowitz GS, Skovron ML, Lapinski RH, Berkowitz RL. Delayed childbearing and the outcome of pregnancy. *N Engl J Med*. 1990;322:659–664.

Blake DA, Farquhar CM, Johnson N, Proctor M. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted conception. *Cochrane database Syst Rev* .2007;CD002118Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17943767>.

Blázquez A, García D, Rodríguez A, Vassena R, Figueras F, Vernaev V. Is oocyte donation a risk factor for preeclampsia? A systematic review and meta-analysis. *J Assist Reprod Genet*. 2016;Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27007875>.

Blennborn M, Nilsson S, Hillervik C, Hellberg D. The couple's decision-making in IVF: one or two embryos at transfer? *Hum Reprod*. 2005;20:1292–1297.

Blickstein I, Keith LG. On the possible cause of monozygotic twinning: lessons from the 9-banded armadillo and from assisted reproduction. *Twin Res Hum Genet*. 2007;10:394–399.

Blickstein I. Estimation of iatrogenic monozygotic twinning rate following assisted reproduction: Pitfalls and caveats. *Am J Obstet Gynecol*. 2005;192:365-368.

Blickstein I. Monochorionicity in perspective. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2006;27:235–238.

Bonilla-Musoles F., Machado L., Font Sastre V., Raga F., Bonilla Jr. F., Dolz M. Embarazo múltiple. Complicaciones. En Bonilla-Musoles, F. Pellicer A, editores. *Obstetricia, Reproducción y Ginecología Básicas* 2007; p. 295–307. Editorial Médica Panamericana: Buenos Aires, Madrid.

Bonilla Jr., F., Bonilla-Musoles, F., Raga, F., Gironés R. Rotura prematura de membranas (RPM); parto pretérmino. In Bonilla-Musoles, F., Pellicer A, editor. *Obstet Reprod y Ginecol Básicas* 2007; p. 395–418. Buenos Aires; Madrid.

Braude P, Bolton V, Moore S. Human gene expression first occurs between the four- and eight-cell stages of preimplantation development. *Nature* 1988;332:459–461.

C

Chambers GM, Chughtai AA, Farquhar CM, Wang YA. Risk of preterm birth after blastocyst embryo transfer: a large population study using contemporary registry data from Australia and New Zealand. *Fertil Steril.* 2015;104:997–1003.

Chang HJ, Lee JR, Jee BC, Suh CS, Kim SH. Impact of blastocyst transfer on offspring sex ratio and the monozygotic twinning rate: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 2009;91:2381–2390.

Check JH, Katsoff B, Jamison T, Choe JK, Brasile D, Amui J. A novel method to assess the effect of uterine senescence by comparing pregnancy outcome in younger donors vs older recipients who are sharing a common pool of oocytes. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2010;37:97–98.

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;21:694–699.

Clua E, Tur R, Coroleu B, Boada M, Rodríguez I, Barri PN, Veiga A. Elective single-embryo transfer in oocyte donation programmes: Should it be the rule? *Reprod Biomed Online* 2012;25:642–648.

Clua E, Tur R, Coroleu B, Rodríguez I, Boada M, Gomez MJ, Barri PN, Veiga A. Is it justified to transfer two embryos in oocyte donation? A pilot randomized clinical trial. *Reprod Biomed Online* 2015;31:154–161

Clua E, Meler E, Rodríguez D, Coroleu B, Rodríguez I, Martínez F, Tur R. Obstetric and perinatal complications in an oocyte donation programme. Is it time to limit the number of embryos to transfer? *Gynecol Endocrinol* 2016; 32: 267-271.

Coetsier T, Dhont M. Avoiding multiple pregnancies in in-vitro fertilization: who's afraid of single embryo transfer? *Hum Reprod.*1998;13:2663–2664.

Cohen MA, Lindheim SR, Sauer M V. Donor age is paramount to success in oocyte donation. *Hum Reprod.*1999;14:2755–2758.

Corsello G, Piro E. The world of twins: an update. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2010;23 Suppl 3:59–62.

Cruz M, Gadea B, Garrido N, Pedersen KS, Martínez M, Pérez-Cano I, Muñoz M, Meseguer M. Embryo quality, blastocyst and ongoing pregnancy rates in oocyte donation patients whose embryos were monitored by time-lapse imaging. *J Assist Reprod Genet.* 2011;28:569–573.

Cuadernos de embriología clínica III. Criterios ASEBIR de valoración morfológica de oocitos, embriones tempranos y blastocistos humanos 2015; Gobalo: Madrid.

Cutting R, Morroll D, Roberts SA, Pickering S, Rutherford A. Elective single embryo transfer: guidelines for practice British Fertility Society and Association of Clinical Embryologists. *Hum Fertil (Camb).* 2008;11:131–146.

D

Dar S, Lazer T, Shah PS, Librach CL. Neonatal outcomes among singleton births after blastocyst versus cleavage stage embryo transfer: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2014; 20:439-448.

De Lacey S, Davies M, Homan G, Briggs N, Norman RJ. Factors and perceptions that influence women's decisions to have a single embryo transferred. *Reprod Biomed Online*. 2007;15:526-531.

Debrock S, Peeraer K, Fernandez Gallardo E, Neubourg D De, Spiessens C, D'Hooghe TM. Vitrification of cleavage stage day 3 embryos results in higher live birth rates than conventional slow freezing: a RCT. *Hum Reprod*. 2015;30:1820-1830.

Derom C, Derom R, Vlietinck R, Maes H, Berghe H Van den. Iatrogenic multiple pregnancies in East Flanders, Belgium. *Fertil Steril*. 1993;60:493-496.

Devesa M, Tur R, Martinez F, Parriego M, Solé M, Rodriguez I, Coroleu B BP. I'll use my own :until what age? *Hum Reprod*. 2015;30:, p. i84.

Dickey RP. Strategies to reduce multiple pregnancies due to ovulation stimulation. *Fertil Steril*. 2009;91:1-17.

Doyle PE, Beral V, Botting B, Wale CJ. Congenital malformations in twins in England and Wales. *J Epidemiol Community Health* 1991;45:43-48.

E

Erez O, Mayer A, Shoham-Vardi I, Dukler D, Mazor M. Primiparity, assisted reproduction, and preterm birth in twin pregnancies: a population based study. *Arch Gynecol Obstet*. 2008;277:311-317.

ESHRE 2011: The European IVF-Monitoring Consortium (EIM) Disponible on line: <http://www.eshre.eu/Data-collection-and-trials/Consortia/EIM/Publications.aspx>. Últim accés 20/11/2015.

ESHRE Campus Course Report. Prevention of twin pregnancies after IVF/ICSI by single embryo transfer. *Hum Reprod.* 2001;16:790–800.

ESHRE Capri Workshop Group. Multiple gestation pregnancy. *Hum Reprod.* 2000;15:1856–1864.

Evans MI, Littmann L, St Louis L, LeBlanc L, Addis J, Johnson MP, Moghissi KS. Evolving patterns of iatrogenic multifetal pregnancy generation: implications for aggressiveness of infertility treatments. *Am J Obstet Gynecol.* 1995;172:1750–1753; discussion 1753–1755.

F

Fanchin R, Ayoubi JM, Righini C, Olivennes F, Schönauer LM, Frydman R. Uterine contractility decreases at the time of blastocyst transfers. *Hum Reprod.* 2001;16:1115–1119.

Fauser BCJM, Devroey P, Macklon NS. Multiple birth resulting from ovarian stimulation for subfertility treatment. *Lancet (London, England).* 2005; 365:1807–1816.

Filkins KA, Beverly SE. Twin-twin transfusion syndrome: the challenge of etiology-based management decisions. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 1998;10:441–446.

Fischer B, Bavister BD. Oxygen tension in the oviduct and uterus of rhesus monkeys, hamsters and rabbits. *J Reprod Fertil.* 1993;99:673–679.

Fragouli E, Alfarawati S, Spath K, Wells D. Morphological and cytogenetic assessment of cleavage and blastocyst stage embryos. *Mol Hum Reprod.* 2014;20:117–126.

Franasiak JM, Dondik Y, Molinaro TA, Hong KH, Forman EJ, Werner MD, Upham KM, Scott RT. Blastocyst transfer is not associated with increased rates of monozygotic twins when controlling for embryo cohort quality. *Fertil Steril.* 2015;103:95–100.

Franasiak JM, Forman EJ, Hong KH, Werner MD, Upham KM, Treff NR, Scott Jr. RT. The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: a review of 15,169 consecutive trophectoderm biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening. *Fertil Steril*. 2014;101:656–663 e1.

G

Gardner DK, Lane M. Culture and selection of viable blastocysts: a feasible proposition for human IVF? *Hum Reprod Update* 1997; 3:367–382.

Gardner DK. Blastocyst culture: toward single embryo transfers. *Hum Fertil (Camb)*. 2000;3:229–237.

Gardner DK. The impact of physiological oxygen during culture, and vitrification for cryopreservation, on the outcome of extended culture in human IVF. *Reprod Biomed Online* 2016;32:137-41.

Gerris J, Neubourg D De, Sutter P De, Royen E Van, Mangelschots K, Vercruyssen M. Cryopreservation as a tool to reduce multiple birth. *Reprod Biomed Online* 2003;7:286–294.

Gleicher N, Oleske DM, Tur-Kaspa I, Vidali A, Karande V. Reducing the risk of high-order multiple pregnancy after ovarian stimulation with gonadotropins. *N Engl J Med*. 2000;343:2–7.

Glujovsky D, Blake D, Farquhar C, Bardach A. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology. *Cochrane database Syst Rev*. 2012;7:CD002118.

Guidelines ASRM, 2004. Guidelines on the number of embryos transferred. *Fertil Steril*. 2004;82:773–774.

Guttmacher AF. The incidence of multiple births in man and some of the other unipara. *Obstet Gynecol*. 1953;2:22–35.

H

Harbottle S, Hughes C, Cutting R, Roberts S. Elective Single Embryo Transfer : an update to UK Best Practice Guidelines Elective Single Embryo Transfer : an update to UK Best. *Hum Fertil* 2015;7273.:

Harton GL, Munné S, Surrey M, Grifo J, Kaplan B, McCulloh DH, Griffin DK, Wells D. Diminished effect of maternal age on implantation after preimplantation genetic diagnosis with array comparative genomic hybridization. *Fertil Steril* 2013;100:1695–1703.

Hellin D. *NDie Ursache der Multiparität der uniparen Tiere überhaupt und der Zwillingschwangerschaft beim Menschen insbesondere. o Title.* In Schauer S und, editor. 1895; München.

Henne MB, Zhang M, Paroski S, Kelshikar B, Westphal LM. Comparison of obstetric outcomes in recipients of donor oocytes vs. women of advanced maternal age with autologous oocytes. *J Reprod Med.* 2007;52:585–590.

HFEA (2008). Chairs Letter, Multiple Births, Single Embryo Transfer policy. Disponible on line a <http://www.hfea.gov.uk/489.html>. Últim accés 30/01/2016.

HFEA (2013). Chairs Letter, Removal of the license condition relating to multiple births. Disponible on line a <http://www.hfea.gov.uk/8380.html>. Últim accés 30/01/2016.

Hollenbach KA, Hickok DE. Epidemiology and diagnosis of twin gestation. *Clin Obstet Gynecol.* 1990;33:3–9.

Hope N, Rombauts L. Can an educational DVD improve the acceptability of elective single embryo transfer? A randomized controlled study. *Fertil Steril.* 2010;94:489–495.

Huang L-S, Lee M-S, Cheng E-H, Lee T-H, Liu C-H, Lee M-C, Chou M-C. Recipient age and pulsatility index affect uterine receptivity in oocyte donation programmes. *Reprod Biomed Online.* 2008;17:94–100.

Hunault CC, Eijkemans MJC, Pieters MHEC, Velde ER te, Habbema JDF, Fauser BCJM, Macklon NS. A prediction model for selecting patients undergoing in vitro fertilization for elective single embryo transfer. *Fertil Steril*. 2002;77:725–732.

I

IDESCAT,2013: Institut d'Estadística de Catalunya. Parts segons multiplicitat i maturitat . Disponible on line: <http://www.idescat.cat/pub/?id=naix&n=56&lang=es>. Últim accés 20/11/2015.

IDESCAT,2013: Institut d'Estadística de Catalunya. Activitat quirúrgica i obstètrica.2013. Disponible on line:<http://www.idescat.cat/pub/?id=aec&n=839&m=i>. Últim accés 10.11.2015.

INE, 2013: Insituto Nacional de Estadística. Partos ocurridos en España. Partos por edad de la madre, multiplicitad y maturidad. Disponible on line: <http://www.ine.es/jaxi/tabla.do?path=/t20/e301/parto/a2013/I0/&file=09001.px&type=pca&xis&L=0>. Últim accés 20/11/2015.

IFFS Surveillance, 2013: The Internation Federation of Fertility Societies: Surveillance 2013. Disponible on line a: http://www.iffs-reproduction.org/resource/resmgr/iffs_surveillance_09-19-13.pdf. Últim accés 20/11/2015.

K

Kaser DJ, Racowsky C. Clinical outcomes following selection of human preimplantation embryos with time-lapse monitoring: a systematic review. *Hum Reprod Update* 2014; 20:617–631.

Keegan DA, Krey LC, Chang H-C, Noyes N. Increased risk of pregnancy-induced hypertension in young recipients of donated oocytes. *Fertil Steril*. 2007;87:776–781.

Kirkegaard K, Agerholm IE, Ingerslev HJ. Time-lapse monitoring as a tool for clinical embryo assessment. *Hum Reprod*. 2012;27:1277–1285.

Kupka MS, D'Hooghe T, Ferraretti AP, Mouzon J de, Erb K, Castilla JA, Calhaz-Jorge C, Geyter C De, Goossens V. Assisted reproductive technology in Europe, 2011: results generated from European registers by ESHRE†. *Hum Reprod*. 2016;31:233–248.

L

Land J a., Evers JLH. Risks and complications in assisted reproduction techniques: Report of an ESHRE consensus meeting. *Hum Reprod* 2003;18:455–457.

Lannou D Le, Griveau J-F, Laurent M-C, Gueho A, Veron E, Morcel K. Contribution of embryo cryopreservation to elective single embryo transfer in IVF-ICSI. *Reprod Biomed Online*. 2006;13:368–375.

Laskov I, Michaan N, Cohen A, Tsafirir Z, Maslovitz S, Kupfermanc M, Lessing J, Many A. Outcome of twin pregnancy in women ≥ 45 years old: a retrospective cohort study. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2013;26:669–672.

Lassalle B, Testart J, Renard JP. Human embryo features that influence the success of cryopreservation with the use of 1,2 propanediol. *Fertil Steril*. 1985;44:645–651.

Le Ray C, Scherier S, Anselem O, Marszalek A, Tsatsaris V, Cabrol D, Goffinet F. Association between oocyte donation and maternal and perinatal outcomes in women aged 43 years or older. *Hum Reprod*. 2012;27:896–901.

Levene MI, Wild J, Steer P. Higher multiple births and the modern management of infertility in Britain. The British Association of Perinatal Medicine. *Br J Obstet Gynaecol*. 1992;99:607–613.

Ley 14/2006, de 26 de mayo, sobre técnicas de reproducción humana asistida. Publicado en BOE núm. 126 de 27 de Mayo de 2006 . Artículo 3. Condiciones personales de la aplicación de las técnicas Apartado 2.

Li Z, Wang YA, Ledger W, Edgar DH, Sullivan EA. Clinical outcomes following cryopreservation of blastocysts by vitrification or slow freezing: a population-based cohort study. *Hum Reprod*. 2014;29:2794–2801.

Ludwig M, Schöpfer B, Al-Hasani S, Diedrich K. Clinical use of a pronuclear stage score following intracytoplasmic sperm injection: impact on pregnancy rates under the conditions of the German embryo protection law. *Hum Reprod.* 2000;15:325–329.

Luke B, Brown MB, Wantman E, Stern JE. Factors associated with monozygosity in assisted reproductive technology pregnancies and the risk of recurrence using linked cycles. *Fertil Steril.* 2014;101:683–689.

M

Maheshwari A, Kalampokas T, Davidson J, Bhattacharya S. Obstetric and perinatal outcomes in singleton pregnancies resulting from the transfer of blastocyst-stage versus cleavage-stage embryos generated through in vitro fertilization treatment: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 2013;100:1615-21.e1-10.

Mäkinen S, Söderström-Anttila V, Vainio J, Suikkari A-M, Tuuri T. Does long in vitro culture promote large for gestational age babies? *Hum Reprod.* 2013;28:828–834.

Matorras R, editor. Recomendaciones sobre la inseminación artificial con semen de la pareja. *Estud y Trat la Pareja Estéril* 2004;:, p. 135–146.

McLernon DJ, Harrild K, Bergh C, Davies MJ, Neubourg D de, Dumoulin JCM, Gerris J, Kremer JAM, Martikainen H, Mol BW, *et al.* Clinical effectiveness of elective single versus double embryo transfer: meta-analysis of individual patient data from randomised trials. *BMJ.* 2010;341:c6945.

Michalas S, Loutradis D, Drakakis P, Kallianidis K, Milingos S, Deligeoroglou E, Aravantinos D. A flexible protocol for the induction of recipient endometrial cycles in an oocyte donation programme. *Hum Reprod.* 1996a;11:1063–1066.

Michalas S, Loutradis D, Drakakis P, Milingos S, Papageorgiou J, Kallianidis K, Koumantakis E, Aravantinos D. Oocyte donation to women over 40 years of age: pregnancy complications. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1996b;64:175–178.

Milki AA, Jun SH, Hinckley MD, Behr B, Giudice LC, Westphal LM. Incidence of monozygotic twinning with blastocyst transfer compared to cleavage-stage transfer. *Fertil Steril*. 2003;79:503–506.

Min JK, Hughes E, Young D, Gysler M, Hemmings R, Cheung AP, Goodrow GJ, Senikas V, Wong BC-M, Sierra S, *et al*. Elective single embryo transfer following in vitro fertilization. *J Obstet Gynaecol Canada JOGC = J d'obstétrique gynécologie du Canada JOGC*. 2010;32:363–377.

Minakami H, Honma Y, Matsubara S, Uchida A, Shiraishi H, Sato I. Effects of placental chorionicity on outcome in twin pregnancies. A cohort study. *J Reprod Med*. 1999;44:595–600.

Mirkin S, Gimeno TG, Bovea C, Stadtmauer L, Gibbons WE, Oehninger S. Factors associated with an optimal pregnancy outcome in an oocyte donation program. *J Assist Reprod Genet*. 2003;20:400–408.

Montfoort APA van, Fiddelers AAA, Janssen JM, Derhaag JG, Dirksen CD, Dunselman GAJ, Land JA, Geraedts JPM, Evers JLH, Dumoulin JCM. In unselected patients, elective single embryo transfer prevents all multiples, but results in significantly lower pregnancy rates compared with double embryo transfer: a randomized controlled trial. *Hum Reprod*. 2006;21:338–343.

Munné S, Fischer J, Warner A, Chen S, Zouves C, Cohen J. Preimplantation genetic diagnosis significantly reduces pregnancy loss in infertile couples: a multicenter study. *Fertil Steril*. 2006;85:326–332.

Murray S, Shetty A, Rattray A, Taylor V, Bhattacharya S. A randomized comparison of alternative methods of information provision on the acceptability of elective single embryo transfer. *Hum Reprod*. 2004;19:911–916.

N

Navot D, Bergh PA, Williams MA, Garrisi GJ, Guzman I, Sandler B, Grunfeld L. Poor oocyte quality rather than implantation failure as a cause of age-related decline in female fertility. *Lancet (London, England)*. 1991;337:1375–1377.

Newton CR, McBride J, Feyles V, Tekpetey F, Power S. Factors affecting patients' attitudes toward single- and multiple-embryo transfer. *Fertil Steril*. 2007;87:269–278.

Nicolás M., Fernández L., Albero P., Landeras J. Prevención del embarazo múltiple. En Remohí, Bellver, Matorras, Ballesteros, Pellicer, editores. *Manual práctico Esterilidad y Reproducción Humana* 2012;., p. 547–558. Editorial Médica Panamericana: Madrid.

Noyes N, Hampton BS, Berkeley A, Licciardi F, Grifo J, Krey L. Factors useful in predicting the success of oocyte donation: a 3-year retrospective analysis. *Fertil Steril*. 2001;76:92–97.

O

Olivius C, Lundin K, Bergh C. Predictive factors for live birth in cryopreservation single embryo transfer cycles. *Reprod Biomed Online*. 2008;17:676–683.

Ombelet W, Sutter P De, Elst J Van der, Martens G. Multiple gestation and infertility treatment: registration, reflection and reaction--the Belgian project. *Hum Reprod Update*. 2005;11:3–14.

P

Pados G, Camus M, Steirteghem A Van, Bonduelle M, Devroey P. The evolution and outcome of pregnancies from oocyte donation. *Hum Reprod*. 1994;9:538–542.

Pandian Z, Marjoribanks J, Ozturk O, Serour G, Bhattacharya S. Number of embryos for transfer following in vitro fertilisation or intra-cytoplasmic sperm injection: Summary of a Cochrane review. *Fertil Steril* 2014;102:345–347.

Papanikolaou EG, Kolibianakis EM, Tournaye H, Venetis C a., Fatemi H, Tarlatzis B, Devroey P. Live birth rates after transfer of equal number of blastocysts or cleavage-stage embryos in IVF. A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod* 2008;23:91–99.

Paulson RJ, Hatch IE, Lobo R a, Sauer M V. Cumulative conception and live birth rates after oocyte donation: implications regarding endometrial receptivity. *Hum Reprod*. 1997;12:835–839.

Pecks U, Maass N, Neulen J. Oocyte donation: a risk factor for pregnancy-induced hypertension: a meta-analysis and case series. *Dtsch Arztebl Int*. 2011;108:23–31.

Peperstraten AM van, Hermens RPMG, Nelen WLDM, Stalmeier PFM, Scheffer GJ, Grol RPTM, Kremer JAM. Perceived barriers to elective single embryo transfer among IVF professionals: a national survey. *Hum Reprod*. 2008a;23:2718–2723.

Petterson B, Nelson KB, Watson L, Stanley F. Twins, triplets, and cerebral palsy in births in Western Australia in the 1980s. *BMJ*. 1993;307:1239–1243.

Plachot M, Crozet N. Fertilization abnormalities in human in-vitro fertilization. *Hum Reprod*. 1992;7 Suppl 1:89–94.

R

Ragni G, Caliarì I, Nicolosi AE, Arnoldi M, Somigliana E, Crosignani PG. Preventing high-order multiple pregnancies during controlled ovarian hyperstimulation and intrauterine insemination: 3 years' experience using low-dose recombinant follicle-stimulating hormone and gonadotropin-releasing hormone antagonists. *Fertil Steril*. 2006;85:619–624.

Rai V, Betsworth A, Beer C, Ndukwe G, Glazebrook C. Comparing patients' and clinicians' perceptions of elective single embryo transfer using the attitudes to a twin IVF pregnancy scale (ATIPS). *J Assist Reprod Genet*. 2011;28:65–72.

Ramírez JV. Embarazo múltiple. Universidad de Valencia. Actualitzat el 2004. pp 1-11. Disponible on line: [http://www.uv.es/~jvramire/apuntes/passats/obstetricia/TEMA%20O-18%20\(2004\).pdf](http://www.uv.es/~jvramire/apuntes/passats/obstetricia/TEMA%20O-18%20(2004).pdf).

Recomendaciones GISE SEF, 2013. Presentación del grupo de interés de Salud Embrionaria. ¿Los avances de la medicina perinatal permiten los embarazos gemelares? 04.05.2013 Disponible on line: <http://www.sefertilidad.net/docs/grupos/salud/reunionGrupos.pdf>.
Últim accés 20/10/2015.

Reynolds MA, Schieve LA, Jeng G, Peterson HB, Wilcox LS. Risk of multiple birth associated with in vitro fertilization using donor eggs. *Am J Epidemiol.* 2001;154:1043–1050.

Ricciarelli E. Marco de actitud ante las gestaciones múltiples: Legislaciones y recomendaciones. *Rev Iberoam Fert y Reprod Hum* 2007;24:405–410.

Roy TK, Bradley CK, Bowman MC, McArthur SJ. Single-embryo transfer of vitrified-warmed blastocysts yields equivalent live-birth rates and improved neonatal outcomes compared with fresh transfers. *Fertil Steril.* 2014;101:1294–1301.

Royen E Van, Mangelschots K, Neubourg D De, Valkenburg M, Meerssche M Van de, Ryckaert G, Eestermans W, Gerris J. Characterization of a top quality embryo, a step towards single-embryo transfer. *Hum Reprod.* 1999;14:2345–2349.

Rubio C, Pehlivan T, Rodrigo L, Simón C, Remohí J, Pellicer A. Embryo aneuploidy screening for unexplained recurrent miscarriage: a minireview. *Am J Reprod Immunol.* 2005;53:159–165.

S

Scher AI, Petterson B, Blair E, Ellenberg JH, Grether JK, Haan E, Reddihough DS, Yeargin-Allsopp M, Nelson KB. The risk of mortality or cerebral palsy in twins: a collaborative population-based study. *Pediatr Res.* 2002;52:671–681.

Scholz HS, Haas J, Petru E. Do primiparas aged 40 years or older carry an increased obstetric risk? *Prev Med (Baltim)*. 1999;29:263–266.

Scott LA, Smith S. The successful use of pronuclear embryo transfers the day following oocyte retrieval. *Hum Reprod*. 1998;13:1003–1013.

SEF 2011: Informes del Registro de la Sociedad Española de Fertilidad. Disponible on line: https://www.registrosef.com/public/docs/sef2011_IAFIV.pdf. Últim accés 01/01/2016.

SEF 2013: Informes del Registro de la Sociedad Española de Fertilidad. Disponible on line: https://www.registrosef.com/public/docs/sef2013_IAFIV.pdf. Últim accés 01/01/2016.

Sekhon LH, Gerber RS, Rebarber A, Saltzman DH, Klauser CK, Gupta S, Fox NS. Effect of oocyte donation on pregnancy outcomes in in vitro fertilization twin gestations. *Fertil Steril*. 2014;101:1326–1330.

Senat M V, Ancel PY, Bouvier-Colle MH, Bréart G. How does multiple pregnancy affect maternal mortality and morbidity? *Clin Obstet Gynecol*. 1998;41:78–83.

Serhal PF, Craft IL. Oocyte donation in 61 patients. *Lancet (London, England)*. 1989;1:1185–1187.

Serra, V., Alcover I., Lara, C., Bellver J. Preclampsia (I). In Bonilla-Musoles F, editor. *Obstet Reprod y Ginecol Básicas 2007a*;, p. 309–321. Editorial Médica Panamericana: Buenos Aires; Madrid.

Serra, V., Alcover I., Lara, C., Bellver, J., Machado LE. Diabetes y embarazo. In Bonilla-Musoles PA, editor. *Obstet Reprod y Ginecol Básicas 2007b*;, p. 349–360. Buenos Aires; Madrid.

Sheffer-Mimouni G, Mashiach S, Dor J, Levran D, Seidman DS. Factors influencing the obstetric and perinatal outcome after oocyte donation. *Hum Reprod.* 2002;17:2636–2640.

Shrim A, Levin I, Mallozzi A, Brown R, Salama K, Gamzu R, Almog B. Does very advanced maternal age, with or without egg donation, really increase obstetric risk in a large tertiary center? *J Perinat Med.* 2010;38:645–650.

Simchen MJ, Shulman A, Wisner A, Zilberberg E, Schiff E. The aged uterus: multifetal pregnancy outcome after ovum donation in older women. *Hum Reprod.* 2009;24:2500–2503.

Soares SR, Troncoso C, Bosch E, Serra V, Simón C, Remohí J, Pellicer A. Age and uterine receptiveness: Predicting the outcome of oocyte donation cycles. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:4399–4404.

Soares SR, Velasco JAG, Fernandez M, Bosch E, Remohí J, Pellicer A, Simón C. Clinical factors affecting endometrial receptiveness in oocyte donation cycles. *Fertil Steril.* 2008;89:491–501.

Söderström-Anttila V, Tiitinen A, Foudila T, Hovatta O. Obstetric and perinatal outcome after oocyte donation: comparison with in-vitro fertilization pregnancies. *Hum Reprod.* 1998;13:483–490.

Söderström-Anttila V, Vilks S, Mäkinen S, Foudila T, Suikkari AM. Elective single embryo transfer yields good delivery rates in oocyte donation. *Hum Reprod* 2003;18:1858–1863.

Söderström-Anttila V, Vilks S. Five years of single embryo transfer with anonymous and non-anonymous oocyte donation. *Reprod Biomed Online.* 2007;15:428–433.

Soderstrom-Anttila V. Elective single embryo transfer yields good delivery rates in oocyte donation. *Hum Reprod.* 2003;18:1858–1863.

Steinman, G., and Valderrama, E. Mechanisms of twinning. III. Placentarium, calcium reduction and modified compaction. *Journal of Reproductive Medicine* 2001; 46:995-1002.

Stoop D, Baumgarten M, Haentjens P, Polyzos NP, Vos M De, Verheyen G, Camus M, Devroey P. Obstetric outcome in donor oocyte pregnancies: a matched-pair analysis. *Reprod Biol Endocrinol.* 2012;10:42.

T

Tang R, Catt J, Howlett D. Towards defining parameters for a successful single embryo transfer in frozen cycles. *Hum Reprod.* 2006;21:1179–1183.

Templeton A, Morris JK. Reducing the risk of multiple births by transfer of two embryos after in vitro fertilization. *N Engl J Med.* 1998;339:573–577.

Terriou P, Sapin C, Giorgetti C, Hans E, Spach JL, Roullet R. Embryo score is a better predictor of pregnancy than the number of transferred embryos or female age. *Fertil Steril.* 2001;75:525–531.

The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Use of exogenous gonadotropins in anovulatory women: a technical bulletin. *Fertil Steril.* 2008;90:S7–S12.

Thurin A, Hausken J, Hillensjö T, Jablonowska B, Pinborg A, Strandell A, Bergh C. Elective single-embryo transfer versus double-embryo transfer in in vitro fertilization. *N Engl J Med* 2004;351:2392–2402.

Toner JP, Grainger D a., Frazier LM. Clinical outcomes among recipients of donated eggs: An analysis of the U.S. national experience, 1996-1998. *Fertil Steril* 2002;78:1038–1045.

Tranquilli AL, Biondini V, Talebi Chahvar S, Corradetti A, Tranquilli D, Giannubilo S. Perinatal outcomes in oocyte donor pregnancies. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2013;26:1263–1267.

Trounson A, Mohr L. Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature*. 1983;305:707–709.

Tuppin P, Blondel B, Kaminski M. Trends in multiple deliveries and infertility treatments in France. *Br J Obstet Gynaecol*. 1993;100:383–385.

Tur R, Barri PN, Coroleu B, Buxaderas R, Martínez F, Balasch J. Risk factors for high-order multiple implantation after ovarian stimulation with gonadotrophins: evidence from a large series of 1878 consecutive pregnancies in a single centre. *Hum Reprod*. 2001;16:2124–2129.

Tur R, Barri PN, Coroleu B, Buxaderas R, Parera N, Balasch J. Use of a prediction model for high-order multiple implantation after ovarian stimulation with gonadotropins. *Fertil Steril*. 2005;83:116–121.

V

Vassena R, Boué S, González-Roca E, Aran B, Auer H, Veiga A, Izpisua Belmonte JC. Waves of early transcriptional activation and pluripotency program initiation during human preimplantation development. *Development*. 2011;138:3699–3709.

Vázquez, A., Tur R., Martínez F., Mateo, L., Coroleu, B., Comas, C., Barri PN. Influencia de la edad y de las técnicas de reproducción asistida en nuestros resultados obstétricos y perinatales. *Prog Obs Ginecol* 2010;53:391–398.

Vilks S., Tiitinen A., Hyden-Granskog C., Hovatta O. Elective transfer of one embryo results in an acceptable pregnancy rate and eliminates the risk of multiple birth. *Hum Reprod* 1999;14:2392–2395.

W

Wang YA, Farquhar C, Sullivan EA. Donor age is a major determinant of success of oocyte donation/recipient programme. *Hum Reprod*. 2012;27:118–125.

Weston G, Osianlis T, Catt J, Vollenhoven B. Blastocyst transfer does not cause a sex-ratio imbalance. *Fertil Steril*. 2009;92:1302–1305.

Wielgos A, Szymusik I, Bartnik P, Kacperczyk J, Kosinska-Kaczynska K, Pietrzak B. Pregnancy beyond the age of 40 - the influence of parity on perinatal outcome. *Neuro Endocrinol Lett.* 2015;36:387–393.

Wilcox LS, Kiely JL, Melvin CL, Martin MC. Assisted reproductive technologies: estimates of their contribution to multiple births and newborn hospital days in the United States. *Fertil Steril.* 1996;65:361–366.

Y

Yang Z, Liu J, Collins GS, Salem SA, Liu X, Lyle SS, Peck AC, Sills ES, Salem RD. Selection of single blastocysts for fresh transfer via standard morphology assessment alone and with array CGH for good prognosis IVF patients: results from a randomized pilot study. *Mol Cytogenet.* 2012;5:24.

Yeh JS, Steward RG, Dude AM, Shah AA, Goldfarb JM, Muasher SJ. Pregnancy outcomes decline in recipients over age 44: an analysis of 27,959 fresh donor oocyte in vitro fertilization cycles from the Society for Assisted Reproductive Technology. *Fertil Steril.* 2014;101:1331–1336.

Z

Zhu J, Lin S, Li M, Chen L, Lian Y, Liu P, Qiao J. Effect of in vitro culture period on birthweight of singleton newborns. *Hum Reprod.* 2014;29:448–454.

9. AGRAÏMENTS

A la Rosa, DIRECTORA d'aquesta tesi, per la seva tenacitat, per la seva energia i absoluta dedicació, per contagiar-me totes les inquietuds que aquest tema suposa, per donar-me suport, per ser molt més que una directora. Moltes, moltes gràcies!

Al Joan, tutor i també amic, per haver acceptat a supervisar un treball que no formava part del seu dia a dia, per totes les bones aportacions que ens han ajudat a avançar.

Al Dr. Barri, per confiar en mi i endinsar-me en nous reptes.

Al Ventu, per haver-me donat suport des del primer dia que vaig entrar a Dexeus, per la seva qualitat humana i per ser un referent professional.

A l'Anna, per la seva col·laboració, pels "dinars i sopars d'ànims tesi" i sobretot per creure en mi.

A la Montse, qui ja fa molts, molts anys em donà l'oportunitat de participar en unes Jornades de Biologia de la Reproducció, "allà va començar tot...".

Al Nacho, per ser una de les persones claus en aquest treball i en molts del que fem a Dexeus; per transmetre els seus coneixements d'estadística i per la seva paciència; Crack!

A tot l'equip de donació (Marta L, Laura , Marta T, Jéssi, Vero, Amanda, Marta L.) i les que ja no hi formen part (Cris i Yuna, Anna Z., Vanessa P.), per ser un molt bon equip!!!, pel vostre entusiasme i la vostra implicació tant en la feina com en el TES-1, sense vosaltres no haguéssim fet tota aquesta feina!

A la Mònica i la Gemma, per la seva amistat, per donar-me suport i ser una de les meves fonts de consulta.

A la Paca, per ser una "mina" d'idees, per haver-me deixat participar en els seus treballs i engrescar-me a fer més i més...

A l'Eva Salas, per la seva eficiència, per fer-me arribar tots els articles en molt poc temps, amb un somriure i sempre amb un missatge bonic.

A tots els biòlegs i metges del Servei, totes les vostres aportacions han estat molt valuoses per l'aplicació de TES-1!

Als màsters que en algun moment han format part d'aquest estudi, a la Núria Alcañiz, a l'Elena Gálvez i especialment, a la Marta Roca que ha estat molt implicada en aquesta última etapa. Gràcies Marta per les teves minucioses revisions. Espero algun dia assistir a la teva tesi!

Aquest treball és el resultat de l'esforç de tot un equip per canviar la manera de funcionar, per tenir clars quins són els resultats i no tirar-se enrere en les adversitats. Moltes gràcies absolutament a TOTS els que formeu part de l'equip de Medicina de la Reproducció.

I també als de fora:

A la meva família i família política, que hi són tant quan els necessites com quan no.

A la Laura, la Imma i especialment, a l'Anna Busquets, per animar-me i estar pendents de com anava tot; per tots aquests anys de fer créixer l'amistat.

A les altres biòlogues "out", i més concretament a la Bego, que un dia em va passar el relleu en una dedicatòria, i a la Tore, per fer que el vincle "in and out" perduri en el temps.

I com no, als més importants, al Pep, al Pau i a la Joana, els incondicionals! Gràcies per fer-me sentir estimada.