

CARACTERÍSTICAS DE LAS MADRES QUE SIGUIERON TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA

M.L. Martínez-Frías^{1,2,3}, E. Bermejo^{1,3,4}, y el Grupo Periférico del ECEMC⁵.

¹ECEMC, Centro de Investigación sobre Anomalías Congénitas (CIAC), del Instituto de Salud Carlos III. Madrid.

²Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense. Madrid.

³CIBER de Enfermedades Raras (CIBERER), ISCIII. Madrid.

⁴Instituto de Investigación de Enfermedades Raras. Instituto de Salud Carlos III. Madrid

⁵Los integrantes del mismo figuran en la Sección IX de este Boletín

Summary

Title: Characteristics of mothers following assisted reproductive technologies.

Background: Assisted reproductive technologies (ART), such as *in vitro* fertilization, intracytoplasmic sperm injection (ICSI), assisted fecundation, and all the fertility treatments and procedures, have been successfully used to overcome infertility. Indeed, it has been estimated that between 1 and 4% of births in developed countries are conceived through ART. But at the same time, rising concerns exist on their potential adverse effects on the embryo and fetal development. However, in spite of the huge amount of studies that have been published, big gaps in this knowledge still exist. To assess this association through epidemiological studies, it is necessary to recognize which maternal characteristics, among others, could confound the results. However, some of the maternal characteristics may be related with cultural and social aspects, as well as with other local influences. Therefore, it is advisable to identify those characteristics in the different populations.

Objective and methods: Here we present the results of the analysis of several maternal characteristics on data from the cases and controls' mothers of the ECEMC database. The analysis included 20,233 mothers of consecutive live born infants with congenital defects, and 19,411 mothers of control infants. The studied characteristics were: maternal age (≤ 19 , 20-30, 31-35, ≥ 36), level of education (primary, secondary, and university studies), body mass index (BMI) in three strata (<25 , 25-30, >30), maternal chronic diseases, maternal diabetes mellitus, hypertension, gestational diabetes, infectious diseases during pregnancy, tobacco and alcohol consumption while pregnant, multiple births, and caesarean section. Due to the number of analyses performed, the statistical significance was established in $p < 0.01$.

Results: We have observed that women undergoing ART are older, with higher educational levels, suffer more chronic diseases, higher frequency of gestational diabetes, and more infectious diseases than mothers with natural conceptions. Most of these results are observed either in cases' mothers or controls' mothers, but did not differ when we analyzed cases versus controls' mothers, all of them using ART for conception. On the other hand, mothers following ART, are less smokers, do not have more frequency of both diabetes mellitus and hypertension. Regarding the BMI, the only statistically significant result is an increased frequency of women having a BMI of <25 among those following ART.

Conclusions: Many of the studied characteristics can be confounder factors for epidemiological analyses to identify potential risks of ART to produce birth defects. In addition, although most of the results are similar to those observed in other studies, particularly in Sweden, some of the observed differences may be due to variations in social and educational aspects. Therefore, it is advisable to identify which maternal characteristics can be confounder factors in each population.

Introducción

Las técnicas de reproducción asistida (TRA) han mostrado ser muy eficaces para el tratamiento de las parejas infértiles. Por tanto, su utilización se ha generalizado de tal modo que entre el 1 y 4% del total de nacimientos anuales de los países desarrollados son consecuencia de TRA, considerándose que desde que nació el primer bebé por fecundación *in vitro* (FIV) en 1978, han nacido más de un millón de niños por estas técnicas¹⁻³. Entre ellas, además de la FIV, se incluyen diferentes tipos como la inyección intra-citoplásmica de esperma (ICSI), la inseminación intra-

uterina -o artificial (IA)- y, con menor frecuencia, sólo la estimulación ovárica (EO) mediante tratamientos hormonales.

Desde sus inicios, ha existido una gran preocupación sobre la posibilidad de que las TRA pudieran tener efectos adversos. De hecho, son muchísimos los trabajos que se publican cada año tratando de determinar si las diferentes técnicas suponen un riesgo para el embrión y feto, para las propias mujeres, sobre los tipos de efectos, y sobre la magnitud de los mismos⁹⁻¹¹. Sin embargo, las limitaciones metodológicas para su estudio, y los problemas de diseño son constantemente invocados en la evaluación crítica de

los resultados para su rechazo/aceptación. Además, los estudios epidemiológicos que no tienen graves problemas de diseño o de análisis, pueden mostrar resultados contradictorios que, aunque no implican que necesariamente sean debidos a limitaciones y problemas, no son fáciles de interpretar. Sobre todo cuando no se tiene el conocimiento suficiente sobre las metodologías utilizadas para los análisis, o sobre los mecanismos de los procesos biológicos que se están analizando, incluyendo las modificaciones de los mismos.

De hecho, los únicos efectos sobre los que existe unanimidad en cuanto a su relación con las TRA, se refieren a su relación con partos múltiples, con el nacimiento de niños prematuros y con bajo peso al nacer, siendo menor la unanimidad en cuanto al posible retraso del crecimiento intrauterino^{5,10-12}. A pesar de esto, en muchos trabajos se discute si estos efectos no serán consecuencia de que las mujeres que siguen TRA, pueden tener ciertas características que difieran de las mujeres que no siguen esas técnicas en cuanto a la concurrencia de factores como enfermedades crónicas, hipertensión, infecciones, entre otras.

Este trabajo se ha estructurado para analizar un grupo de características maternas entre las madres que siguieron TRA y las que no lo hicieron, utilizando la información de la base de datos del ECEMC.

Material y Métodos

Material

Durante el periodo comprendido entre los años 1991 y 2007, en el ECEMC se registraron 20.233 niños que nacieron con defectos congénitos (casos) y 19.411 niños sin defectos congénitos (controles), cuyas madres habían especificado el dato sobre si el embarazo había sido, o no, por TRA, que son las incluidas en este trabajo. Dado que la metodología del ECEMC incluye la recogida de alrededor de 312 datos por cada niño, sea caso o control, hemos podido analizar las siguientes características separadas en dos grupos. Uno con las que presentan distribución continua, que incluye: la edad materna en cuatro estratos (≤ 19 , 20-30, 31-35, ≥ 36), el nivel cultural medido en tres estratos de escolarización (estudios primarios, secundarios y universitarios), e índice de masa corporal (IMC) en tres estratos (< 25 , 25-30, > 30). El segundo grupo incluye las siguientes variables discontinuas: si la madre tenía alguna enfermedad crónica de cualquier tipo, si tenía diabetes mellitus, hipertensión, si tuvo diabetes gestacional, si tuvo infecciones durante el embarazo, si fumaba, si bebió alcohol, si el parto fue múltiple y si fue por cesárea. Además, se ha analizado la fre-

cuencia de TRA entre los casos y controles a lo largo de los años del periodo estudiado, y por comunidades autónomas.

Estructura de las tablas

Para el análisis de las diferentes variables, se ha aplicado la misma estructura para todas las tablas, de modo que permita el análisis comparativo en distintas formas. Además, también ofrecen la posibilidad de que los lectores interesados puedan disponer de toda la información. Para ello, en lo relativo a las filas, se han establecido dos filas principales correspondientes a las variables estudiadas (en varios estratos las continuas y en dos grupos las discontinuas), y otras filas menores que incluyen los valores de la ji-cuadrado con 1 ó 2 grados de libertad (g.l.) para las comparaciones entre TRA y No TRA en las madres de casos, e igual en las madres de controles. La última fila de las Tablas, indica el valor de la ji-cuadrado con 1 g.l., para la comparación entre madres de casos y de controles, que han seguido TRA. En cuanto a las columnas, la primera de cada tabla incluye la variable estudiada tanto en casos como en controles, y los valores de las pruebas de hipótesis (ji-cuadrado y p). La segunda columna muestra los datos correspondientes para todo el periodo de tiempo estudiado (1991-2007) en dos grupos de madres, las que tuvieron el embarazo mediante TRA y las que no usaron TRA. Con objeto de detectar variaciones temporales, las dos columnas siguientes tienen la misma estructura que la segunda, pero separando el tiempo del estudio en dos periodos, 1991-1999 y 2000-2007. Esta estructura nos va a permitir mirar la información desde diferentes ángulos.

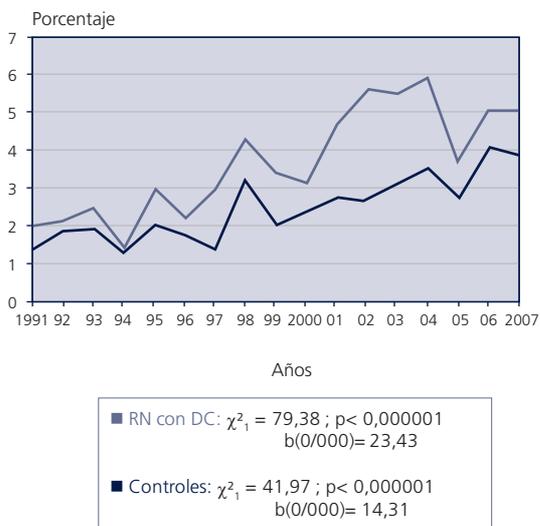
Métodos estadísticos

Para el estudio de cada variable se analizaron el total de madres que tenían el dato especificado. Por ello, los totales de algunas tablas son diferentes. Para los análisis estadísticos de la distribución temporal y por edades maternas se ha calculado la ji-cuadrado con un grado de libertad para estudiar si hay una tendencia lineal a lo largo de la variable estudiada (tiempo o años de edad materna). La hipótesis nula de esta prueba establece que no existe una tendencia lineal de incremento o descenso entre los estratos. La ji-cuadrado con K-1 grados de libertad se utilizó para determinar si existen diferencias entre los valores de los distintos estratos. Para el análisis de los riesgos se utilizó el cálculo del "Odds Ratio" (OR) o razón de productos cruzados. En los análisis estratificados, se aplicó el procedimiento de Mantel-Haenszel, para obtener el valor del OR promedio. Dada la cantidad de análisis realizados, se estableció un nivel de significación estadística en valores de p menores de 0,01.

Resultados

En la Gráfica 1 se muestra la evolución temporal de la proporción de madres, tanto de casos como de controles, que tuvieron un hijo tras TRA. La gráfica muestra un incremento secular estadísticamente muy significativo para ambos grupos de madres ($p < 0,000001$). Además, la línea correspondiente a las madres de niños con defectos congénitos queda por encima de la correspondiente a la de los controles en todos los años, y muestra un promedio de incremento anual de 2,34 por cada 1.000 mujeres, mientras que en el grupo de madres de controles el incremento medio anual es de 1,43 por 1.000. Esta diferencia sugiere que puede haber un riesgo para defectos congénitos relacionado con las TRA. De hecho, el análisis global (Tabla 1) muestra que mientras un 3,57% de las madres de niños con defectos congénitos habían logrado el embarazo mediante alguna TRA, la proporción en las de niños controles es de 2,40%, siendo la diferencia estadísticamente muy significativa ($p = 0,000000$). Además, en el cálculo del riesgo global para defectos congénitos se obtuvo un valor del OR de 1,51, con un intervalo de confianza cuyo límite inferior es superior a la unidad. Esto indica que, sin ajustar por potenciales factores de confusión, las TRA incrementan en un 51% el riesgo que para cualquier tipo de defectos congénitos, tienen los hijos de mujeres que tuvieron un embarazo natural (o biológico).

GRÁFICA 1
DISTRIBUCIÓN POR AÑOS
DEL PORCENTAJE DE MADRES CON
TRATAMIENTO DE FERTILIDAD
(Periodo: 1.01.1991 / 31.12.2007)



Análisis de variables continuas

El análisis de las edades maternas mostró que la media de edad entre las mujeres que obtuvieron el embarazo mediante una TRA es mayor que entre las que no siguieron TRA, tanto entre las madres de casos (*con TRA* $n=710$; **media**= 32,76, $DE=4,40$. *Sin TRA* $n=19.464$; **media**= 29,64; $DE=5,41$; $t=15,18$, $p < 0,01$), como en las de controles (*con TRA* $n=456$; **media**= 32,22, $DE=4,57$. *Sin TRA* $n=18.919$; **media**= 29,34; $DE=5,15$; $t=11,83$, $p < 0,01$), aunque en el límite de significación establecido. Sin embargo, en la Tabla 2, se observan diferentes aspectos. Ante todo, que las comparaciones de los diferentes estratos de edad materna entre las mujeres que siguieron TRA y las que no las siguieron, son estadísticamente muy significativas tanto en las madres de casos como de controles y en todos los periodos de tiempo estudiados (los seis valores de ji-cuadrado con 3 g.l., muestran valores estadísticamente muy significativos). Es decir, que en este análisis se objetiva que las TRA se asocian a madres con mayores edades. De hecho, según se muestra en esta misma Tabla 2, las mayores proporciones de mujeres que siguieron una TRA se acumulan en los dos estratos de edades más altas, a diferencia de lo observado en el grupo de madres con embarazo biológico. Por otra parte, es interesante constatar que cuando analizamos las edades maternas en las madres que siguieron una TRA, y comparamos las madres de casos con las de controles (análisis vertical de las columnas de TRA SI), los valores de las ji-cuadrado con 3 g.l., alcanzan un valor del test de hipótesis ($p < 0,05$; $p < 0,08$; $p < 0,41$, respectivamente) que no alcanza el nivel de significación estadística establecido. Estos resultados que, en principio indicarían que la distribución de la relación entre las edades y las TRA es independiente de la relación entre la edad y los defectos fetales, en realidad es un resultado confundido por las interrupciones voluntarias de la gestación (IVEs) por defectos congénitos. Esto se debe, precisamente, a que al haber una fuerte relación entre las edades maternas y ciertos defectos congénitos, estas madres más añosas constituyen el grupo diana al que va especialmente dirigido el diagnóstico prenatal. Con objeto de visualizar mejor esta relación, en la Gráfica 2, se muestra la distribución de las madres de casos y controles que siguieron TRA, por cada año de edad materna. Como es lógico, se observa un incremento muy significativo de la proporción de madres que utilizaron las TRA a medida que aumenta la edad de las mujeres. También en esta gráfica se observa que la línea de las madres de niños con defectos congénitos está por encima de la de las madres que tuvieron embarazos biológicos, lo que apoya la existencia del incremento de riesgo para defectos congénitos de cualquier tipo, que se cuantificó en la Tabla 1. Por último, si analizamos los resultados

TABLA 1
TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA (TRA)
 Periodo: 1.01.1991 / 31.12.2007

	TRA		NO	Total	OR (95% IC)
	SÍ	%			
CASOS	721	3,57	19.502	20.223	1,51
Controles	465	2,40	18.946	19.411	(1,34-1,70)
					P=0,0000000

TABLA 2
DISTRIBUCIÓN DE MADRES DE CASOS Y CONTROLES POR CUATRO ESTRATOS DE EDAD MATERNA, CONCEPCIÓN MEDIANTE TRA O BIOLÓGICA Y DOS PERIODOS DE TIEMPO

EADADES MATERNAS	Todo el periodo 1991-2007				En dos periodos 1991-1999				En dos periodos 2000-2007				Valor de P del test de la χ^2	
	TRA SI		TRA NO		TRA SI		TRA NO		TRA SI		TRA NO			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%		
CASOS	≤19	0	-----	724	3,72	0	0,00	456	4,13	0	0,00	268	3,18	----
	20-30	220	30,99	10146	52,13	113	38,31	6270	56,82	107	25,78	3876	45,98	P<0,002
	31-35	295	41,55	5900	30,31	124	42,03	3007	27,25	171	41,20	2893	34,32	P<0,003
	≥36	195	27,46	2694	13,84	58	19,66	1301	11,79	137	33,01	1393	16,52	P<0,000005
Ji-cuadrado con 3 g.l.		202,95; P=0,0000000				63,23; P=0,0000000				116,59; P=0,0000000				
TOTAL		710	100.-	19464	100.-	295	100.-	11034	100.-	415	100.-	8430	100.-	
Controles	≤19	2	0,44	676	3,57	1	0,50	428	4,00	1	0,39	248	3,02	P=1,00 (NS)
	20-30	157	34,43	10364	54,78	93	46,27	6495	60,63	64	25,10	3869	47,14	P>0,38 (NS)
	31-35	196	42,98	5747	30,38	81	40,30	2805	26,19	115	45,10	2942	35,85	P>0,04
	≥36	101	22,15	2132	11,27	26	12,94	984	9,19	75	29,41	1148	13,99	P<0,00006
Ji-cuadrado con 3 g.l.		115,26; P=0,0000000				38,74; P=0,000001				78,24; P=0,0000000				
TOTAL		456	100.-	18919	100.-	201	100.-	10712	100.-	255	100.-	8207	100.-	
Valor de P de la χ^2		P>0,05 (NS)				P>0,08 (NS)				P>0,41 (NS)				

(NS): No significativo.

por filas en dos periodos de tiempo (tres últimas columnas), se observa que se han producido variaciones en la distribución de las edades maternas a lo largo del tiempo (dos últimos periodos). Así, la proporción de madres de los casos que usaron TRA muestra una disminución en el segundo periodo de tiempo (2000-2007) en los dos estratos de edades intermedias, que es estadísticamente significativa. Sin embargo, se aprecia un fuerte incremento en el estrato de ≥ 36 años (pasa del 19,66% en el primer periodo al 33,01% en el segundo), que es muy significativo ($p < 0,000005$). En las madres de los controles, las variaciones que se observan son de incremento en los dos estratos de mayores edades. Nuevamente se confirma que la distribución de edades no se relaciona con defectos congénitos porque al comparar los es-

tratos de las madres de casos y controles en la columna de TRA SI, las diferencias no son estadísticamente significativas. Sin embargo, estas variaciones y diferencias también están influidas por las IVEs por defectos fetales. Por tanto, la edad materna debe ser considerada como un factor de confusión para los estudios del potencial riesgo de las TRA para defectos congénitos.

En la Tabla 3, se muestra la misma estructura y tipos de análisis pero referidos al nivel de escolaridad materno. Las madres que siguieron una TRA, tanto de casos como de controles, se distribuyen con menor frecuencia en el estrato de menor nivel y mayor frecuencia en el correspondiente a estudios superiores, siendo las diferencias con las madres que tuvieron el embarazo biológico estadísticamente muy

GRÁFICA 2
PORCENTAJE DE MADRES CON TRATAMIENTOS DE FERTILIDAD, POR EDAD MATERNA (Periodo: 1.01.1991 / 31.12.2007)



significativas en todos los grupos, con la única excepción de las madres de los controles del primer periodo de tiempo. En relación con la evolución en los dos periodos de tiempo de las madres de cada nivel de estudios que siguieron una TRA, se observa un incremento significativo de la proporción de madres en los dos niveles de escolaridad más altos, tanto en las de los casos como en las de controles (valores del test en la última columna de la derecha). Este resultado relaciona las TRA con la escolaridad materna, además, al igual que ocurría para la edad materna, cuando comparamos las madres de casos que habían seguido TRA con las de controles que también habían seguido TRA, no se observan diferencias estadísticamente significativas.

En el estudio de la relación con el IMC materno (Tabla 4), lo único destacable es que la proporción de madres que siguieron TRA, tanto de casos como de controles, cuyo IMC era <25 es ligeramente inferior en el primer periodo (1991-1999) que en el segundo y, aunque esa diferencia es pequeña, es estadísticamente significativa ($p < 0,0004$ en las madres de casos, y $p < 0,007$ en las de controles). Sin embargo, las medias de IMC no difieren ni entre las madres de casos (con TRA: $n = 556$; **media** = 23,92, $DE = 4,06$. Sin TRA: $n = 12.511$; **media** = 23,68; $DE = 4,10$; $t = 1,35$, $p > 0,01$, NS), ni entre las de controles (con TRA $n = 354$; **media** = 23,71, $DE = 4,30$. Sin TRA $n = 12.324$; **media** = 23,39; $DE = 3,75$; $t = 1,58$, $p > 0,01$, NS). Tampoco difieren las medias entre las madres de casos y las de los controles.

Análisis de variables discontinuas

La frecuencia de enfermedades crónicas entre las madres que siguieron TRA es mayor que en las madres con embarazos biológicos en todos los periodos de tiempo estudiados, tanto al comparar los casos como los controles (Tabla 5). No obstante, en el primer periodo (1991-1999) las diferencias no llegan a alcanzar significación estadística en ninguno de los dos grupos de madres, posiblemente por los tamaños de las muestras. Nuevamente, cuando se comparan las madres de casos y controles con TRA, las diferencias no son estadísticamente significativas ($p < 0,12$, $p < 0,47$ y $p < 0,19$ en los tres periodos de tiempo, respectivamente). Por tanto, las mujeres que siguieron una TRA tienen más frecuencia de enfermedades crónicas que las que no siguieron TRA, y dado que también existe una relación entre estas enfermedades crónicas maternas y defectos congénitos, esta variable (o alguna de las enfermedades que incluye), es un factor de confusión para la relación entre TRA y defectos congénitos.

Al analizar algunas enfermedades crónicas por separado, se observa que no existe una clara relación con la diabetes mellitus (Tabla 6), ni con la hipertensión materna (Tabla 7). Este resultado, no obstante, puede estar influido porque los embarazos de las madres con diabetes crónica, son especialmente vigilados mediante ecografías para confirmar que el desarrollo embrio-fetal es correcto y, por tanto, son más susceptibles de IVE cuando se detectan defectos fetales. Sin embargo, la diabetes gestacional (Tabla 8) es más frecuente en todas las madres que siguieron TRA, independientemente de que tuvieran un niño con defectos o sin defectos. Por el contrario, cuando se comparan las madres de casos y controles que siguieron TRA, las diferencias no son significativas. Es más, en las madres de casos del último periodo, la proporción de madres con diabetes gestacional es mayor que en el periodo anterior. Es posible que dado el incremento que ha experimentado el control del embarazo a lo largo del tiempo, este resultado puede ser debido a una mejor detección en los últimos años.

En cuanto a las infecciones durante el embarazo entre las madres que han seguido TRA, tanto en las de casos como en las de controles (Tabla 9), sólo se observa una tendencia a disminuir en el segundo periodo de tiempo, que es estadísticamente significativa (pasa del 43,54% al 37,59%; $p = 0,00003$ entre las madres de casos, y del 40,91% a 37,94%, $p < 0,005$, entre las de controles).

Los análisis de los aspectos relacionados con los estilos de vida, como el hábito de fumar y el consumo de bebidas alcohólicas, muestran una menor proporción de madres fu-

TABLA 3

DISTRIBUCIÓN DE MADRES DE CASOS Y CONTROLES POR TRES ESTRATOS DE ESCOLARIDAD, CONCEPCIÓN MEDIANTE TRA O BIOLÓGICA Y DOS PERIODOS DE TIEMPO

NIVEL DE ESCOLARIDAD MATERNO	Todo el periodo 1991-2007				En dos periodos								Valor de P del test de la χ^2	
	TRA SI		TRA NO		1991-1999				2000-2007					
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%		
CASOS	Primarios	93	13,52	4154	21,94	50	17,36	2693	24,91	43	10,75	1461	17,98	P<0,03
	Secundarios	422	61,34	11622	61,37	177	61,46	6634	61,37	245	61,25	4988	61,38	P<0,003
	Universitarios	173	25,15	3161	16,69	61	21,18	1483	13,72	112	28,00	1678	20,65	P<0,000000
Ji-cuadrado con 2 g.l.		49,66; P=0,000000				17,70; P=0,0001				21,11; P=0,00003				
TOTAL		688	100.-	18937	100.-	288	100.-	10810	100.-	400	100.-	8127	100.-	
Controles	Primarios	54	11,89	3546	19,11	31	15,50	2333	22,10	23	9,06	1213	15,16	P<0,20 (NS)
	Secundarios	286	63,00	11708	63,08	131	65,50	6716	63,61	155	61,02	4992	62,38	P<0,0001
	Universitarios	114	25,11	3306	17,81	38	19,00	1509	14,29	76	29,92	1797	22,46	P<0,009
Ji-cuadrado con 2 g.l.		25,29; P=0,000003				7,02; P=0,03				12,25; P=0,002				
TOTAL		454	100.-	18560	100.-	200	100.-	10558	100.-	254	100.-	8002	100.-	
Valor de P de la χ^2		P>0,70 (NS)				P>0,46 (NS)				P>0,55 (NS)				

TABLA 4

DISTRIBUCIÓN DE MADRES DE CASOS Y CONTROLES POR TRES ESTRATOS DE ÍNDICE DE MASA CORPORAL (IMC) MATERNO ANTES DEL EMBARAZO, CONCEPCIÓN MEDIANTE TRA O BIOLÓGICA Y DOS PERIODOS DE TIEMPO

IMC MATERNO	Todo el periodo 1991-2007				En dos periodos								Valor de P del test de la χ^2	
	TRA SI		TRA NO		1991-1999				2000-2007					
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%		
CASOS	<25	385	69,24	9020	72,10	108	68,35	3326	72,83	277	69,60	5694	71,68	P<0,0004
	25-30	125	22,48	2537	20,28	41	25,95	925	20,25	84	21,11	1612	20,29	P>0,40 (NS)
	>30	46	8,27	954	7,63	9	5,70	316	6,92	37	9,30	638	8,03	P>0,05 (NS)
Ji-cuadrado con 2 g.l.		2,16; P=0,34 (NS)				3,18; P=0,20 (NS)				1,10; P=0,58 (NS)				
TOTAL		556	100.-	12511	100.-	158	100.-	4567	100.-	398	100.-	7944	100.-	
Controles	<25	255	72,03	9174	74,44	69	73,40	3234	72,28	186	71,54	5940	75,67	P<0,007
	25-30	67	18,93	2408	19,54	18	19,15	966	21,59	49	18,85	1442	18,37	P<0,03
	>30	32	9,04	742	6,02	7	7,45	274	6,12	25	9,62	468	5,96	P>0,08 (NS)
Ji-cuadrado con 2 g.l.		5,47; P=0,06 (NS)				0,53; P=0,77 (NS)				6,13; P=0,05 (NS)				
TOTAL		354	100.-	12324	100.-	94	100.-	4474	100.-	260	100.-	7850	100.-	
Valor de P de la χ^2		P>0,42 (NS)				P>0,43 (NS)				P>0,77 (NS)				

madoras entre todas las madres (de casos y controles) que siguieron una TRA (Tabla 10). Además, se mide una tendencia de descenso entre los dos periodos de tiempo estudiados que, aunque es pequeña, es estadísticamente muy significativa ($p=0,000003$) en las madres de casos, y no alcanza la significación en las de controles, posiblemente por los menores tamaños de las muestras. Por otra parte, la comparación del hábito de fumar entre madres con TRA y sin TRA, es estadísticamente muy significativa (tanto en casos como

en controles) para todo el periodo, así como al comparar los casos del periodo 1991-1999 y los controles en el 2000-2007. Al igual que para las otras variables analizadas, la comparación del hábito de fumar entre madres de casos y controles, todas con TRA, no difieren significativamente. En relación con el consumo de bebidas alcohólicas (Tabla 11), los resultados, aunque tienden a comportarse en forma similar al tabaco, no llegan a alcanzar el nivel de significación estadística establecido.

TABLA 5

DISTRIBUCIÓN DE MADRES DE CASOS Y CONTROLES SEGÚN SI TENÍA O NO ENFERMEDADES CRÓNICAS, CONCEPCIÓN MEDIANTE TRA O BIOLÓGICA Y DOS PERIODOS DE TIEMPO

ENFERMEDADES CRÓNICAS		Todo el periodo 1991-2007				En dos periodos								Valor de P del test de la χ^2
		TRA SI		TRA NO		1991-1999				2000-2007				
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	
CASOS	SI	168	23,70	3039	15,82	50	16,95	1426	13,14	118	28,50	1613	19,32	P= 0,00001
	NO	541	76,30	16165	84,18	245	83,05	9428	86,86	296	71,50	6737	80,68	
Ji-cuadrado con 1 g.l.		31,35; P= 0,0000000				3,63; P> 0,05				20,99; P= 0,000005				
TOTAL		709	100.-	19204	100.-	295	100.-	10854	100.-	414	100.-	8350	100.-	
CONTROLES	SI	91	19,83	2542	13,61	29	14,50	1154	10,95	62	23,94	1388	17,05	P= 0,01
	NO	368	80,17	16134	86,39	171	85,50	9383	89,05	197	76,06	6751	82,95	
Ji-cuadrado con 1 g.l.		14,58; P= 0,001				2,52; P> 0,11				8,33; P= 0,004				
TOTAL		459	100.-	18676	100.-	200	100.-	10537	100.-	259	100.-	8139	100.-	
		P>0,11 (NS)				P>0,46 (NS)				P>0,18 (NS)				

TABLA 6

DISTRIBUCIÓN DE MADRES DE CASOS Y CONTROLES SEGÚN SI TENÍA O NO DIABETES MELLITUS, CONCEPCIÓN MEDIANTE TRA O BIOLÓGICA Y DOS PERIODOS DE TIEMPO

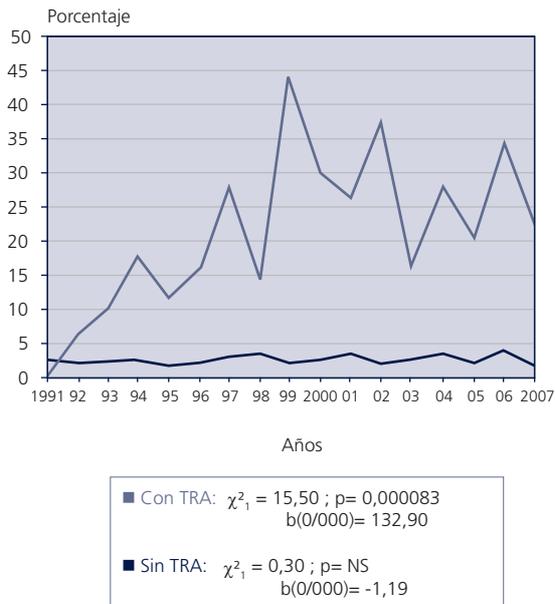
DIABETES MELLITUS		Todo el Periodo 1991-2007				En dos periodos								Valor de P del test de la χ^2
		TRA SI		TRA NO		1991-1999				2000-2007				
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	
CASOS	SI	4	0,56	87	0,45	0	0,00	42	0,38	4	0,96	45	0,54	P> 0,12
	NO	705	99,44	19239	99,55	292	100.-	10909	99,62	413	99,04	8330	99,46	
Ji-cuadrado con 1 g.l.		0,20; P>0,56				P>0,63				0,20; P> 0,55				
TOTAL		709	100.-	19326	100.-	292	100.-	10951	100.-	417	100.-	8375	100.-	
CONTROLES	SI	2	0,43	37	0,20	1	0,50	15	0,14	1	0,38	22	0,27	P=1,00
	NO	462	99,57	18766	99,80	201	99,50	10617	99,86	261	99,62	8149	99,73	
Ji-cuadrado con 1 g.l.		1,23; P> 0,28				1,68; P> 0,26				0,12; P>0,52				
TOTAL		464	100.-	18803	100.-	202	100.-	10632	100.-	262	100.-	8171	100.-	
		P=1,00 (NS)				P>0,41 (NS)				P>0,65 (NS)				

En la Tabla 12 y Gráfica 3, se analiza la frecuencia de partos múltiples. Los valores de la última columna de la derecha nos informan de que el riesgo de partos múltiples es 12,91 veces superior en las madres de casos que siguieron TRA que entre las madres de casos que no siguieron TRA, siendo la diferencia estadísticamente muy significativa ($p=0,0000000$). Además, entre los controles se obtienen resultados similares, lo que indica que hay una asociación entre TRA y partos múltiples. De hecho, el valor del riesgo de esta asociación, independientemente de que sean casos o controles es de $OR_{M-H}=14,11$ (12,04-16,90), $p=0,0000000$. No obstante, si analizamos la columna correspondiente a los embarazos con TRA y comparamos casos con controles, también obtenemos un riesgo muy significativo para par-

tos múltiples, y lo mismo se observa en la columna en la que todos los embarazos fueron biológicos. Es más, el riesgo para una relación entre partos múltiples y niños con defectos congénitos, independiente de si el embarazo fue con TRA o biológico es de $OR_{M-H}=2,38$ veces más que en los embarazos de niños sanos ($p=0,0000000$). Por tanto, esta tabla nos indica que tanto las TRA como la presencia de malformaciones fetales se asocian a embarazos múltiples. En consecuencia este tipo de embarazos múltiples es un factor de confusión para los estudios relacionando las TRA con defectos congénitos en los niños.

Por último, en la Tabla 13 se observa que las cesáreas son mucho más frecuentes entre las madres que siguieron una TRA. De hecho, cuando comparamos las madres con TRA

GRÁFICA 3
PORCENTAJE DE PARTOS MÚLTIPLES
EN MADRES CON TRA Y SIN TRA QUE
TUVIERON NIÑOS CON DEFECTOS
CONGÉNITOS A LO LARGO DEL TIEMPO
(Período: 1.01.1991 / 31.12.2007)



entre casos y controles en los tres periodos, las diferencias no son significativas. Sin embargo, es de destacar que entre las madres que tuvieron embarazos biológicos, el porcentaje de cesáreas ha aumentado en el último periodo de tiempo que, en controles, es de casi el 25%.

Discusión

Está generalmente aceptado que las parejas que deciden utilizar TRA, aparte del propio problema de fertilidad y sus causas, muestran algunas características que las diferencian de las que tienen hijos de forma natural. Entre éstas se incluyen mayor edad de las mujeres, y mayores problemas de salud como diabetes, hipertensión, entre otros¹⁰⁻¹². No obstante, en la actualidad, las pautas reproductivas que siguen las personas de distintas poblaciones muestran variaciones influidas por diferentes motivos, entre los que podemos enumerar los siguientes: la incorporación de la mujer al trabajo fuera de casa, diferencias en las posibilidades de conciliar el trabajo con la vida familiar, la decisión de posponer la maternidad por motivos individuales, entre

otros. Por ello, es importante estudiar las potenciales diferencias entre las mujeres que obtienen un embarazo por TRA y las que no, en cada población. Además, alguna de esas diferencias también podría estar relacionada con la aparición de defectos congénitos y, si esto no se tiene en cuenta en los análisis sobre los potenciales efectos de las TRA, las conclusiones sobre los resultados podrían no ser adecuadas.

En la mayoría de los estudios también se considera que las mujeres que siguen TRA, tienen un mayor riesgo de partos múltiples¹⁰⁻¹². Sin embargo, son pocos los trabajos realizados para confirmar específicamente las características maternas que difieren entre las madres que siguen TRA y las que tienen los embarazos por vía normal. De hecho, el que nos parece más adecuado por el sistema de diseño, es uno realizado en Suecia¹³. Aunque en ese trabajo no se analizaron las mismas variables que hemos estudiado en éste, sí incluyen algunas de las que hemos estudiado. Esos autores observaron que las madres suecas que siguieron TRA tenían más edad, más cesáreas, más partos múltiples, mayor IMC, y fumaban menos, que las madres con embarazos biológicos.

En el análisis que hemos realizado sobre los datos de España, hemos podido determinar que las mujeres que siguieron TRA, al igual que ocurría en Suecia¹³, se diferencian de las que tuvieron embarazos biológicos en que tienen: edades mayores, más cesáreas, y más partos múltiples. Además, en nuestro trabajo observamos que también tienen mayor nivel cultural, más enfermedades crónicas en forma global, mayor frecuencia de diabetes gestacional, y más infecciones (de cualquier tipo) durante el embarazo.

En nuestros datos, contrariamente a lo observado por Källén y cols.¹³, la frecuencia de mujeres que fumaron durante el embarazo es menor en las que siguieron TRA, no tienen más frecuencia de diabetes mellitus, ni de hipertensión crónica. Todos estos resultados se observan tanto en las madres que tuvieron el hijo con defectos congénitos como en las que lo tuvieron sano. También identificamos una mayor frecuencia de diabetes gestacional en madres que siguieron TRA, tanto entre los casos como entre los controles, pero esa diferencia desaparece cuando analizamos casos y controles, todos con TRA. Esto podría deberse a que sea más estricto el control del embarazo de las mujeres que siguen TRA, pero como la diabetes gestacional también se ha relacionado con defectos congénitos¹⁴⁻¹⁵, debe ser considerada como factor de confusión para los estudios de los efectos de las TRA sobre el embrión y feto. En cuanto al IMC, no observamos una clara relación con los valores más altos. Aunque, en realidad, en los distintos estratos y grupos la proporción de mujeres con valores de IMC más altos, es mayor en madres que siguieron TRA, pero no llegan a alcanzar

TABLA 7

DISTRIBUCIÓN DE MADRES DE CASOS Y CONTROLES SEGÚN SI TENÍA O NO HIPERTENSIÓN, CONCEPCIÓN MEDIANTE TRA O BIOLÓGICA Y DOS PERIODOS DE TIEMPO

HIPERTENSIÓN MATERNA CRÓNICA		Todo el periodo 1991-2007				En dos periodos								Valor de P del test de la χ^2
		TRA SI		TRA NO		1991-1999				2000-2007				
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	
CASOS	SI	6	0,85	147	0,76	0	0,00	76	0,69	6	1,45	71	0,85	P= 0,03
	NO	701	99,15	19170	99,24	292	100.-	10868	99,31	409	98,55	8302	99,15	
Ji-cuadrado con 1 g.l.	0,07; P>0,78													
TOTAL		707	100.-	19317	100.-	292	100.-	10944	100.-	415	100.-	8373	100.-	
CONTROLES	SI	4	0,86	116	0,62	2	0,99	64	0,60	2	0,77	52	0,64	P< 1,00
	NO	459	99,14	18690	99,38	200	99,01	10567	99,40	259	99,23	8123	99,36	
Ji-cuadrado con 1 g.l.	0,45; P> 0,53													
TOTAL		463	100.-	18806	100.-	202	100.-	10631	100.-	261	100.-	8175	100.-	
		P=1,00 (NS)				P>0,16 (NS)				P>0,71 (NS)				

TABLA 8

DISTRIBUCIÓN DE MADRES DE CASOS Y CONTROLES SEGÚN SI TENÍA O NO HIPERTENSIÓN, CONCEPCIÓN MEDIANTE TRA O BIOLÓGICA Y DOS PERIODOS DE TIEMPO

DIABETES GESTACIONAL		Todo el periodo 1991-2007				En dos periodos								Valor de P del test de la χ^2
		TRA SI		TRA NO		1991-1999				2000-2007				
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	
CASOS	SI	59	8,40	858	4,50	18	6,12	378	3,49	41	10,05	480	5,83	P=0,03
	NO	643	91,60	18202	95,50	276	93,88	10442	96,51	367	89,95	7760	94,17	
Ji-cuadrado con 1 g.l.	23,31 P< 0,000001													
TOTAL		702	100.-	19060	100.-	294	100.-	10820	100.-	408	100.-	8240	100.-	P>0,21
CONTROLES	SI	44	9,69	693	3,73	15	7,58	303	2,89	29	11,33	390	4,84	P>0,21
	NO	410	90,31	17864	96,3	183	92,42	10192	97,11	227	88,67	7672	95,16	
Ji-cuadrado con 1 g.l.	42,20 P< 0,000000													
TOTAL		454	100.-	18557	100.-	198	100.-	10495	100.-	256	100.-	8062	100.-	
		P>0,44 (NS)				P>0,53 (NS)				P>0,59 (NS)				

TABLA 9

DISTRIBUCIÓN DE MADRES DE CASOS Y CONTROLES SEGÚN SI TUVO O NO INFECCIONES DURANTE EL EMBARAZO, CONCEPCIÓN MEDIANTE TRA O BIOLÓGICA Y DOS PERIODOS DE TIEMPO

INFECCIONES MATERNAS DURANTE EL EMBARAZO		Todo el periodo 1991-2007				En dos periodos								Valor de P del test de la χ^2
		TRA SI		TRA NO		1991-1999				2000-2007				
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	
CASOS	SI	284	40,06	8253	43,22	128	43,54	4751	43,91	156	37,59	3502	42,33	P=0,00003
	NO	425	59,94	10842	56,78	166	56,46	6070	56,09	259	62,41	4772	57,67	
Ji-cuadrado con 1 g.l.	2,79; P> 0,08													
TOTAL		709	100.-	19095	100.-	294	100.-	10821	100.-	415	100.-	8274	100.-	
CONTROLES	SI	177	39,25	7264	39,09	81	40,91	4097	39,04	96	37,94	3167	39,16	P<0,005
	NO	274	60,75	11319	60,91	117	59,09	6398	60,96	157	62,06	4921	60,84	
Ji-cuadrado con 1 g.l.	0,00 P> 0,94													
TOTAL		451	100.-	18583	100.-	198	100.-	10495	100.-	253	100.-	8088	100.-	
		P>0,77 (NS)				P>0,55 (NS)				P> 0,92 (NS)				

TABLA 10

DISTRIBUCIÓN DE MADRES DE CASOS Y CONTROLES SEGÚN SI FUMARON O NO DURANTE EL EMBARAZO, CONCEPCIÓN MEDIANTE TRA O BIOLÓGICA Y DOS PERIODOS DE TIEMPO

TABACO		Todo el periodo 1991-2007				En dos periodos								Valor de P del test de la χ^2
		1991-1999		2000-2007		1991-1999		2000-2007		2000-2007				
		TRA SI	TRA NO	TRA SI	TRA NO	TRA SI	TRA NO	TRA SI	TRA NO	TRA SI	TRA NO			
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	
CASOS	SI	163	23,02	5541	28,59	70	23,89	3386	30,80	93	22,41	2155	25,70	P= 0,000003
	NO	545	76,98	13837	71,41	223	76,11	7607	69,20	322	77,59	6230	74,30	
Ji-cuadrado con 1 g.l.		10,43; P< 0,001				6,42; P< 0,01				2,25; P> 0,12				
TOTAL		708	100.-	19378	100.-	293	100.-	10993	100.-	415	100.-	8385	100.-	
CONTROLES	SI	100	21,65	5427	28,78	56	28,00	3272	30,63	44	16,79	2155	26,36	P>0,37 (NS)
	NO	362	78,35	13432	71,22	144	72,00	7411	69,37	218	83,21	6021	73,64	
Ji-cuadrado con 1 g.l.		11,23; P= 0,0008				0,64; P> 0,41				12,05; P< 0,0005				
TOTAL		462	100.-	18859	100.-	200	100.-	10683	100.-	262	100.-	8176	100.-	
		P>0,57 (NS)				P>0,30 (NS)				P>0,07 (NS)				

TABLA 11

DISTRIBUCIÓN DE MADRES DE CASOS Y CONTROLES SEGÚN SI INGERIERON BEBIDAS ALCOHÓLICAS O NO, DURANTE EL EMBARAZO, CONCEPCIÓN MEDIANTE TRA O BIOLÓGICA Y DOS PERIODOS DE TIEMPO

ALCOHOL		Todo el periodo 1991-2007				En dos periodos								Valor de P del test de la χ^2
		1991-1999		2000-2007		1991-1999		2000-2007		2000-2007				
		TRA SI	TRA NO	TRA SI	TRA NO	TRA SI	TRA NO	TRA SI	TRA NO	TRA SI	TRA NO			
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	
CASOS	SI	70	9,90	2135	11,06	37	12,63	1381	12,60	33	7,97	754	9,03	P<0,04
	NO	637	90,10	17176	88,94	256	87,37	9582	87,40	381	92,03	7594	90,97	
Ji-cuadrado con 1 g.l.		0,91; P< 0,33 (NS)				0,00; P< 0,98 (NS)				0,54; P< 0,46 (NS)				
TOTAL		707	100.-	19311	100.-	293	100.-	10963	100.-	414	100.-	8348	100.-	
CONTROLES	SI	42	9,07	1893	10,06	26	12,94	1182	11,09	16	6,11	711	8,71	P>0,93 (NS)
	NO	421	90,93	16925	89,94	175	87,06	9474	88,91	246	93,89	7451	91,29	
Ji-cuadrado con 1 g.l.		0,49; P< 0,48 (NS)				0,68; P< 0,41 (NS)				2,18; P< 0,14 (NS)				
TOTAL		463	100.-	18818	100.-	201	100.-	10656	100.-	262	100.-	8162	100.-	
		P>0,63 (NS)				P>0,91 (NS)				P>0,36 (NS)				

TABLA 12

DISTRIBUCIÓN DE MADRES DE CASOS Y CONTROLES SEGÚN SI TUVIERON O NO, PARTOS MÚLTIPLES, CONCEPCIÓN MEDIANTE TRA O BIOLÓGICA Y DOS PERIODOS DE TIEMPO

PARTOS MÚLTIPLES		Todo el periodo 1991-2007		Valor del OR (IC 95%) y valor de P
		TRA SI	TRA NO	
CASOS	SI	164	450	12,91 (10,54-15,82)
	NO	534	18921	P= 0,000000
CONTROLES	SI	66	172	18,18 (13,30-24,81)
	NO	394	18668	P<0,000000
Valor del OR (IC 95%) y valor de P		1,83 (1,32-2,54) P= 0,0001	2,58 (2,15-3,09) P=0,000000	OR _{M-H} = 14,11 (12,04-16,90) P=0,000000
		OR _{M-H} = 2,38 (2,04-2,79) P=0,000000		

TABLA 13

DISTRIBUCIÓN DE MADRES DE CASOS Y CONTROLES SEGÚN TUVIERON O NO, UN PARTO POR CESÁREA, CONCEPCIÓN MEDIANTE TRA O BIOLÓGICA Y DOS PERIODOS DE TIEMPO

	CESAREAS	1991-2007				1991-1999				2000-2007			
		TRA SI		TRA NO		TRA SI		TRA NO		TRA SI		TRA NO	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
CASOS	SI	346	48,46	5290	27,67	131	44,26	2759	25,52	215	51,44	2531	30,48
	NO	368	51,54	13828	72,33	165	55,74	8054	74,48	203	48,56	5774	69,52
Ji-cuadrado con 1 g.l.		146,23; P=0,0000000				52,58; P=0,0000000				81,05; P=0,0000000			
TOTAL		714	100.-	19118	100.-	296	100.-	10813	100.-	418	100.-	8305	100.-
CONTROLES	SI	215	46,44	4190	22,50	83	41,50	2186	20,74	132	50,19	2004	24,81
	NO	248	53,56	14430	77,50	117	58,50	8355	79,26	131	49,81	6075	75,19
Ji-cuadrado con 1 g.l.		145,75; P=0,0000000				50,78; P=0,0000000				86,16; P=0,0000000			
TOTAL		463	100.-	18620	100.-	200	100.-	10541	100.-	263	100.-	8079	100.-
		0,46; P=0,50				0,37; P=0,54				0,10; P=0,75			

el nivel de significación estadística establecido. Sin embargo, sí observamos una estadísticamente significativa mayor frecuencia de mujeres con IMC<25 entre las que siguieron TRA, tanto en las madres de casos como en las de controles.

Por otra parte, aunque no se muestran los datos, hemos podido constatar que en el último periodo de tiempo estudiado (2000-2007), no se observan diferencias entre las mujeres que siguieron TRA y las que no siguieron estas técnicas, en cuanto a la frecuencia de mujeres que trabajan fuera de casa, tanto en las madres de casos como en las de controles. Este hallazgo difiere de los datos de Suecia, posiblemente en relación con las diferencias en las estructuras sociales de ambos países.

Por último, hay un resultado de nuestro estudio que queremos comentar porque resulta preocupante. Se trata de que un 8% de las madres que siguieron TRA y un 9% las que tuvieron un embarazo natural (que no difieren significativamente), ingirieron bebidas alcohólicas. Por tanto, es necesario insistir, y difundir entre las madres, pero también entre los profesionales sanitarios, que no existen dosis mínimas de alcohol que puedan considerarse seguras. Es más, hay trabajos, incluso en nuestra población¹⁶, que muestran efectos sobre el desarrollo embrionario y fetal, con dosis muy bajas. Es pues necesario tener muy claro que la única dosis de alcohol segura es CERO, y es esta dosis la que se debe seguir desde que se planea un embarazo hasta que finaliza el periodo de lactancia.

Tanto los resultados de otros estudios, como los nuestros indican que la mayoría de las variables estudiadas pueden ser factores de confusión para los estudios enfocados a determinar potenciales efectos adversos del las TRA sobre el desarrollo embrionario y fetal. Esto hace necesario que

esos estudios se aborden con técnicas de análisis múltiples que permitan el control de todas ellas al mismo tiempo.

Por último, resaltar que algunas características maternas pueden ser reflejo de ciertos aspectos socio-culturales de los distintos países y grupos de población. Por ello, es fundamental conocer su comportamiento en nuestra población, para poder interpretar nuestros estudios a la luz de nuestras propias características culturales, sociales y sanitarias. Por ello, nos parece importante mostrar estos datos, ya que pueden ser de gran utilidad para entender algunos resultados, y también para otros investigadores.

Referencias

1. Ericson A, Kallen B. Congenital malformations in infants born after IVF: a population-based study. *Hum Reprod.* 2001; 16: 504-509.
2. Hansen M, Kurinczuk JJ, Bower C, Webb S. The risk of major birth defects after intracytoplasmic sperm injection and in vitro fertilization. *N Engl J Med.* 2000; 346:725-730.
3. Schieve LA, Meikle SF, Ferre C, Peterson HB, Jeng G, Wilcox LS. Low and very low birth weight in infants conceived with use of assisted reproductive technology. *N Engl J Med.* 2002;346:731-737.
4. Maher ER, Afnan M, Barratt CL. Epigenetic risks related to assisted reproductive technologies: epigenetics, imprinting, ART and icebergs? *Hum Reprod.* 2003; 18: 2508-2511.
5. Green NS. Risks of birth defects and other adverse outcomes associated with assisted reproductive technology. *Pediatrics.* 2004; 114: 256-259.
6. Hansen M, Bower C, Milne E, de Klerk N, Kurinczuk JJ. Assisted reproductive technologies and the risk of birth defects—a systematic review. *Hum Reprod.* 2005; 20:328-338.
7. Maher ER. Imprinting and assisted reproductive technology. *Hum Mol Genet.* 2005; 14: Spec No 1:R133-138.
8. Pinborg A, Loft A, Nyboe Andersen A. Neonatal outcome in a Danish national cohort of 8602 children born after in vitro fertili-

- zation or intracytoplasmic sperm injection: the role of twin pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2004; 83: 1071-1078.
9. Mitchell AA. Infertility treatment-more risks and challenges (Editorial). *N Engl J Med* 2002; 346: 769-770.
 10. Allen C, Bowdin S, Harrison RF, Sutcliffe AG, Brueton L, Kirby G, Kirkman-Brown J, Barrett C, Reardon W, Maher E. Pregnancy and perinatal outcomes after assisted reproduction: a comparative study. *Ir J Med Sci.* 2008; 177: 233-241.
 11. Buckett WM, Chian RC, Holzer H, Dean N, Usher R, Tan SL. Obstetric outcomes and congenital abnormalities after in vitro maturation, in vitro fertilization, and intracytoplasmic sperm injection. *Obstet Gynecol.* 2007; 110: 885-891.
 12. Van Voorhis BJ. Outcomes from assisted reproductive technology. *Obstet Gynecol.* 2006; 107: 183-200. Review.
 13. Källén B, Finnström O, Nygren KG, Otterblad Olausson P. In vitro fertilization in Sweden: maternal characteristics. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2005; 84:1185-1191.
 14. Martínez-Frías ML, Frías JP, Bermejo E, Rodríguez-Pinilla E, Prieto L, Frías JL. Pre-gestational maternal body mass index predicts an increased risk of congenital malformations in infants of mothers with gestational diabetes. *Diabet Med.* 2005; 22: 775-781.
 15. Martínez-Frías ML, Bermejo E, Rodríguez-Pinilla E, Prieto L, Frías JL. Epidemiological analysis of outcomes of pregnancy in gestational diabetic mothers. *Am J Med Genet.* 1998; 78: 140-145.
 16. Martínez-Frías ML, Bermejo E, Rodríguez-Pinilla E, Frías JL. Risk for congenital anomalies associated with different sporadic and daily doses of alcohol consumption during pregnancy: a case-control study. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2004; 70: 194-200.