



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**INSTITUTO DE CIENCIAS EN REPRODUCCIÓN HUMANA**

**PREPARACIÓN ENDOMETRIAL PARA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES  
CONGELADOS EUPLOIDES, ¿QUE ES MEJOR? CICLO NATURAL  
MODIFICADO O CICLO ARTIFICIAL**

**T E S I S**

**PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:**

**ESPECIALISTA EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN HUMANA**

**PRESENTA**

**DR HÉCTOR JAIME JUÁREZ SANTACRUZ**

**ASESOR**

**DR. ANTONIO M. GUTIÉRREZ GUTIÉRREZ**

**LEÓN, GUANAJUATO, MEXICO, OCTUBRE 2021**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



## CARTA DE ACEPTACIÓN DEL TRABAJO DE TESIS

Por medio de la presente informamos que la C. Héctor Jaime Juárez Santacruz, residente de la subespecialidad en Biología de la Reproducción Humana ha concluido la escritura de su tesis “**Preparación Endometrial para transferencia de embriones congelados euploides, ¿Que es mejor? ciclo natural modificado o ciclo artificial**”, y otorgamos la autorización para la presentación y defensa de la misma.

---

**Dr. Antonio M. Gutiérrez Gutiérrez**

Director General Instituto de Ciencias en Reproducción Humana

---

**Dra. María Cristina Lanuza López**

Jefe de Enseñanza Instituto de Ciencias en Reproducción Humana

---

**Dr. Antonio M. Gutiérrez Gutiérrez**

Asesor clínico y metodológico de tesis

## **DEDICATORIA**

A mi esposa por su apoyo incondicional a lo largo de toda mi formación profesional ya que ha sido siempre mi apoyo, el pilar de todos y cada uno de mis logros personales y profesionales, de no ser por ella difícilmente estaría hoy en día donde estoy, por ser mi compañera y caminar junto a mí en este difícil y largo camino de la vida.

A mi hijo que es mi fuerza interna para seguirme superando día a día a ser mejor, y a quien espero inculcarle con el ejemplo, las bases de que una persona que se esfuerza y prepara constantemente es capaz de alcanzar todo aquello que se propone, a pesar que no siempre sea el camino más sencillo quiero que sepa que siempre estará lleno de alegrías y satisfacciones personales.

A mis padres quienes a pesar de la distancia se siguen preocupando por mis necesidades y festejando conmigo cada uno de los logros personales y profesionales, gracias por estar ahí siempre.

A mis profesores y compañeros, quienes con sus enseñanzas y ejemplo me han mostrado un campo de la medicina que parecía inalcanzable y me lo han mostrado de la manera mas humana, demostrando que además de ofrecer esperanza a las parejas infértiles, se les puede brindar algo más allá de la atención medica que es la calidez, trato humano y empatía por sus padecimientos, a todos gracias por ser parte de mi formación y brindarme su amistad.

Por último y no menos importante al Dr. Gutiérrez especial agradecimiento por confiar en mi y darme la oportunidad de aprender dentro del instituto y enseñarme el arte de las técnicas de reproducción asistida, gracias infinitas por hacerme crecer como persona y como profesionista, además de hacerme sentir siempre como en casa.

## ÍNDICE

<b>Tema</b>	<b>Página</b>
1. Dedicatoria.....	4
2. Resumen.....	8
3. Marco teórico.....	9
4. Planteamiento del problema.....	17
5. Pregunta de investigación.....	17
6. Justificación.....	18
7. Objetivos.....	19
8. Material y métodos.....	20
9. Consideras éticas y bioéticas.....	33
10. Resultados.....	34
11. Discusión.....	43
12. Conclusiones.....	52
13. Bibliografía.....	53

## INDICE DE TABLAS

TABLA	PAGINA
1. Variables independientes.....	22
2. Variables dependientes.....	23
3. Edad e indicación de <i>PGT-A</i> .....	35
4. Características de ambos grupos de estudio.....	37
5. Resultados clínicos.....	39
6. Comparación grosores endometriales .....	41
7. Grosor endometrial en ciclo artificial .....	42
8. Grosor endometrial en ciclo natural .....	42

## INDICE DE FIGURAS

<b>FIGURA</b>	<b>PAGINA</b>
1. Indicación PGT-A ciclo natural .....	36
2. Indicación PGT-A ciclo artificial .....	36
3. Medida de endometrio.....	38
4. Resultados ciclo natural vs ciclo artificial.....	40

## RESUMEN

Los tratamientos de reproducción asistida desde sus inicios han estado en constante evolución para lograr mejorar sus resultados, una de estos grandes avances fue el poder identificar los embriones que son euploides, logrando así mejorar los resultados dependientes de la calidad embrionaria, sin embargo la transferencia de embriones congelados es uno de los pasos más importantes para lograr el éxito en estos tratamientos, por lo que el conocer si existen beneficios tras el modo de preparación endometrial para la transferencia de embriones congelados euploides es fundamental para nuestro conocimiento actual. **Objetivo.** Determinar si existen diferencias significativas en los resultados reproductivos, dependiendo del método de preparación endometrial para transferencia de embriones euploides congelados ya sea con ciclo natural modificado comparado con ciclo artificial. **Material y métodos.** Estudio longitudinal, comparativo, observacional, retrospectivo de las transferencias de embriones congelados euploides de Instituto de Ciencias en Reproducción Humana, sede León, Guanajuato, analizados mediante *next generation sequencing*. **Resultados.** Las transferencias de embrión único fueron similares en ambos grupos de estudio 81.25% vs 75.32% ( $p=0.39$ ) en ciclo natural comparado a ciclo artificial, y se observan resultados similares en aquellas transferencias dobles 18.75% vs 24.67% ( $p=0.39$ ) respectivamente; no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la tasa de embarazo 51.56% vs 55.84% ( $p=0.61$ ), tasa de implantación 47.36% vs 48.95% ( $p=0.83$ ), tasa de abortos 12.12% vs 18.6% ( $p=0.44$ ), tasa de recién nacido vivo 39.06% vs 44.15% ( $p=0.54$ ) por otro lado la tasa de embarazo bioquímico fue de 6.06% vs 0% ( $p=0.10$ ). En ciclo artificial hay diferencias significativas a favor de grosor endometrial 8-9.9 mm, cuando se compara con el grupo de 10-12 mm donde encontramos menores tasas de embarazo. **Conclusiones.** Ambos métodos son igualmente efectivos para permitir el embarazo cuando se transfieren embriones euploides; si se toma en cuenta el grosor endometrial existen mejores resultados con endometrios entre 7 a 9.9 mm en ciclo artificial, con endometrios menores a 10 mm obtuvimos mejores resultados en ambas preparaciones endometriales.

Palabras clave: Transferencia de embriones congelados, embriones euploides, *next generation sequencing*, ciclo natural modificado, ciclo artificial.

## MARCO TEÓRICO

### ANTECEDENTES

Desde el inicio de la de reproducción asistida se ha buscado lograr los mejores resultados con las distintas técnicas de reproducción, es por ello que este campo de investigación clínica se ha mostrado desde sus inicios en constante desarrollo para poder optimizarlos.

Uno de los pioneros de la reproducción asistida el Dr. Patrick Christopher Steptoe fue un precursor del uso de la laparoscopia en la ginecología,<sup>1</sup> con lo que posterior a sus observaciones de los órganos pélvicos femeninos nace un interés especial por la ovulación y pronto desarrolla una técnica para obtener los óvulos mediante el uso de laparoscopia por visión directa del ovario <sup>2</sup>.

Por otro lado, el Dr. Robert Geoffrey Edwards quien en un principio trabajo con ovocitos de ratón, posteriormente enfoco sus estudios en el desarrollo de los ovocitos humanos y la posibilidad de lograr su fertilización de manera exógena con técnicas *in vitro*,<sup>3</sup> sin embargo para esos tiempos no era una tarea fácil obtener ovocitos humanos para su estudio y más aún para su uso en el campo de la fertilización, desde 1968 el Dr. Edwards trabaja conjuntamente con el Dr. Steptoe y se convierten en los pioneros de la reproducción asistida y técnicas de fertilización *in vitro*. Durante los años siguientes escriben importantes documentos donde describen sus avances en reproducción y analizan el espermatozoide,<sup>4</sup> la técnica de recuperación ovocitaria en folículos preovulatorios,<sup>5</sup> y los primeros tratamientos con fertilización tubaria <sup>6</sup> entre otros.

Hacia 1972 comenzaron a realizar sus primeras transferencias embrionarias y después de intentarlo en 40 pacientes sin resultados favorables, no fue sino hasta 1976 cuando lograron el primer embarazo mediante esta técnica, el cual fue decepcionante al conocer que se trataba de un embarazo ectópico<sup>7</sup>, y así, tras el fracaso de 102 embriones y un embarazo ectópico fue que finalmente Leslie Brown logró un embarazo al transferírsele

un embrión de 8 células el cual tras un embarazo con múltiples dificultades culminó con el nacimiento exitoso de Louise Brown el 25 de Julio de 1978 <sup>8</sup>.

A pesar de ese primer embarazo en sus inicios la fertilización *in vitro* no era una técnica que tuviera tasas de embarazo elevadas, sin embargo, pronto se implantaron mejoras en la técnica y así fue que pasaron de 16.5 % a 30 % en los primeros años,<sup>9</sup> y esto se fue dando gracias a una mejor eficiencia en el desarrollo de la técnica.

Los protocolos de inducción de la ovulación fueron progresando a través de los tiempos, desde el ciclo natural en los primeros tratamientos de fertilización *in vitro*, pasando por la inducción con citrato de clomifeno y el uso de gonadotropinas urinarias,<sup>10</sup> después a mediados de 1980's aparecen los protocolos con agonistas de la GnRH,<sup>11</sup> y posteriormente se contó con el desarrollo gonadotropinas altamente purificadas y recombinantes a principios de los 1990's, y hacia finales de esa década el desarrollo de los antagonistas de la GnRH<sup>12</sup>.

La captura de los ovocitos también ha tenido una evolución importante desde sus inicios cuando se realizaba de manera laparoscópica<sup>5</sup>, pasando por vías transabdominales-transvesicales,<sup>13</sup> peruretral-transvesical,<sup>14</sup> hasta poderlos obtener vía trasvaginal guiada por ultrasonido,<sup>15</sup> logrando que la obtención de los folículos fuera un procedimiento menos traumático, con menor morbilidad, con menores tiempos quirúrgicos, menos equipo médico y costos más accesibles comparados con la vía laparoscópica, además de lograr mejor aceptación y tolerancia en la pacientes sometidas a este tipo de procedimientos.

El factor masculino se consideraba uno de los factores que tenía mayor efecto adverso sobre los tratamientos de infertilidad por lo que el desarrollo de la inyección intracitoplasmática de espermatozoides descrito por Palermo en 1992 <sup>16</sup> significó avances importantes en esta materia mejorando las tasas de fertilización *in vitro* en este tipo de pacientes.

Tras aumentar la cantidad de ovocitos que se podían obtener por ciclo con el desarrollo de nuevos y mejores medicamentos para la estimulación ovárica y

mejorar la captura ovocitaria, surgió la necesidad de poder conservar los embriones obtenidos por ciclo iniciado. Trounson en 1983 desarrolla técnicas de congelación<sup>17</sup> que permiten preservar embriones más allá del ciclo de estimulación y además disminuir la morbilidad por la transferencia de múltiples embriones.

Estas técnicas de congelación también han sufrido modificaciones pasando de congelación lenta a vitrificación descrita por Kuwayama en 2007,<sup>18</sup> que persiste hasta nuestros días y se ha convertido en el gold estándar para los ciclos de congelación embrionaria a nivel global.

Además de esto, tras los avances ya descritos se logró identificar que posterior a los tratamientos de estimulación ovárica el incremento suprafisiológico del estradiol produce un efecto deletéreo sobre el endometrio afectando de esta manera los resultados derivados de ciclos de fertilización *in vitro*<sup>19</sup>, además de aumentar el riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica en las pacientes altas respondedoras<sup>20</sup>.

Como podemos ver la evolución que se ha presentado hasta nuestros días ha modificado gran parte de los procedimientos realizados al inicio de la era de reproducción asistida y esto solo por mencionar algunos avances que se han llevado a cabo para buscar ese equilibrio embrión/endometrio que nos lleve al éxito reproductivo.

En la búsqueda de ese equilibrio, la selección del embrión con mayor potencial de implantación se ha estudiado a través de múltiples parámetros, desde la extracción del ovocito hasta su inyección se han establecido evaluaciones que nos puedan ayudar a seleccionar al mejor. Uno de los más empleados es su evaluación morfológica en estado de clivaje y su evolución mediante cultivo prolongado a blastocisto donde se ha observado que su morfología y su asociación a viabilidad, puede variar dependiendo de la edad de la paciente y esto también se relaciona al número correcto de cromosomas.<sup>21,22</sup>

Se ha evaluado también mediante el empleo de tecnología como time lapse imaging donde se evalúa la morfocinética de su desarrollo embrionario,<sup>23</sup> otras técnicas de

estudio son la proteómica <sup>24</sup> y la metabolómica embrionaria,<sup>25</sup> todas estas empleadas como prácticas de evaluación no invasivas al embrión.

Por otro lado, se encuentran las técnicas invasivas embrionarias desarrolladas tras esa necesidad de seleccionar al mejor embrión, debido a que estudios han demostrado que la aneuploidía embrionaria se asocia fuertemente como una causa de falla de implantación,<sup>26,27</sup> por lo que el desarrollo del diagnóstico preimplantacional para aneuploidías (*PGT-A*) surge como una herramienta más de evaluación embrionaria.

Esta evaluación se realiza mediante la biopsia de células embrionarias las cuales también han estado evolucionando a través del tiempo. Para identificación de estas alteraciones genéticas se utilizó (*FISH*) *fluorescence in situ hybridization*, la cual consiste en la extracción de 1 a 2 células del embrión a las cuales se les produce lisis celular y se fija en un portaobjetos donde se añade el fluorocromo con el marcaje específico de los cromosomas a analizar.

Inicialmente se realizó el marcaje de sondas con fluorescencia para identificar alteraciones de los cromosomas 13, 18, 21, X, Y,<sup>28</sup> posteriormente se sumaron las sondas para identificar los cromosomas 15, 16, 17, 22,<sup>29</sup> y finalmente el 8, 14, 20.<sup>30</sup> Tras el aumento en el número de cromosomas de estudio se observó a su vez un incremento en detección de embriones mosaico, por lo que se da más importancia al potencial de implantación y efectos en la descendencia de este tipo de embriones.

Este análisis embrionario se realizaba con embriones en estadio de clivaje en día 3 y se observó que los resultados comparados con embriones no biopsiados eran menores en su tasa de embarazo en curso y recién nacido vivo, por lo que se determina que la biopsia embrionaria en estadio de clivaje embrionario presentaba un efecto detrimental en el embrión, cambiando de esta manera la perspectiva de estudio hacia embriones en estadio de blastocisto donde este comportamiento no se observaba.<sup>26</sup>

Sin embargo, la falta de análisis de todos los cromosomas y el número limitado de células analizadas donde podían encontrarse embriones con mosaicismos, dio lugar

al desarrollo de otras técnicas que cubrieran esas deficiencias.<sup>26</sup> Debido a esto surgen diversas plataformas de análisis genético que desarrollaron la capacidad de poder analizar los 24 cromosomas y han permitido hasta nuestros días una mayor capacidad en la selección y detección del mejor embrión.

El análisis por *Hibridación Genómica comparativa (CGH array)* compara el ADN del embrión con un ADN de referencia mediante hibridación fluorescente in situ tras su desnaturalización para volverlo monocatenario y la hibridación de las dos muestras resultantes, de tal manera que detecta ganancias o pérdidas del genoma.<sup>31</sup>

Los *polimorfismos de un solo nucleótido (SNP array)* permiten determinar alteraciones en el número de copias de una región genómica determinada mediante la emisión de fluorescencia con sondas de referencia y su comparación con muestras de ADN control y el ADN analizado.<sup>30</sup>

El análisis por *Reacción de Cadena de Polimerasa (PCRa)* amplifica la secuencia específica de ADN de la muestra y realiza la comparación de esta con el ADN control.<sup>30</sup>

La *secuenciación de nueva generación (Next Generation Sequencing NGS)*, secuencía millones de bases a partir de fragmentos de ADN cortos con la finalidad de estudiar genomas completos y complejos.<sup>30</sup> Esta se ha posicionado por encima de las otras tecnologías de análisis genómico como la principal herramienta en el diagnóstico genético preimplantacional para aneuploidías debido a que a diferencia de las otras plataformas de análisis permite la detección de traslocaciones no balanceadas, aneuploidías parciales, poliploidías y la detección de grados de mosaicismo más bajos en comparación con *CGHa*, y el resto de las plataformas.<sup>30</sup>

El empleo de nuevas tecnologías y en lo particular del *NGS* ha demostrado ser un adecuado método para determinar aquellos embriones que son euploides<sup>30</sup> y de esta manera nos permita usarlos para optimizar los resultados de la transferencia embrionaria, por lo que el empleo de este tipo de tecnologías intenta disminuir las fallas de implantación dependientes del embrión en aquellas pacientes que se someten a tratamientos de fertilidad.

Sin embargo, debemos recalcar que durante la búsqueda de ese embrión euploide los protocolos de estimulación ovárica controlada buscarán poder generar una cantidad elevada de ovocitos para poder obtener al menos un embrión euploide, por lo que el uso de estos protocolos genera niveles elevados de estradiol y progesterona, que pueden causar efectos deletéreos en la receptividad endometrial.<sup>19</sup>

En ese sentido el desarrollo de las más recientes técnicas de vitrificación ha sido un avance que ha permitido postergar y almacenar embriones en sus diferentes estadios de desarrollo para su posterior uso,<sup>18</sup> evitando de esta manera el efecto adverso del estradiol sobre el endometrio con excelentes tasas de recuperación tras su desvitrificación, lo cual ha beneficiado y revolucionado los tratamientos de reproducción asistida ya que ha permitido preservar, almacenar y postergar el uso de los embriones hasta el momento deseado, como en el caso de aquellos que serán destinados a diagnóstico preimplantacional.<sup>32</sup>

A pesar de todos los avances y mejoras descritas hay que recordar que, si bien la selección del mejor embrión es primordial para lograr buenos resultados, en mismo grado de importancia se encuentra la evaluación endometrial, ya que debemos de transferir un embrión en un endometrio que sea receptivo.

Las investigaciones que se han realizado con embriones euploides nos han mostrado tasas de embarazo en curso que van desde 45% en la población con infertilidad <sup>33,34</sup> y de 60% en embriones donados<sup>35</sup> lo que sugiere que existen factores independientes del embrión que determinaran el éxito en la implantación.

Debido a esto ha adquirido más importancia la manera de preparación endometrial durante los últimos años desde la evaluación de la llamada ventana de implantación que se ha definido como el periodo de receptividad del endometrio para la implantación embrionaria,<sup>36</sup> donde se sabe que durante este periodo se desarrollan y expresan múltiples marcadores bioquímicos que deben estar presentes para que el proceso de implantación se pueda completar.

Debido a esto no solo los criterios de evaluación ultrasonográfica que describen morfología y grosor endometrial<sup>37</sup> o la compactación endometrial,<sup>38</sup> deben de tomarse en cuenta al momento de preparar la transferencia embrionaria.

Los marcadores bioquímicos y genéticos se han evaluado con el objetivo de individualizar la transferencia embrionaria y realizarla en un endometrio receptivo que sea valorado mediante diferentes medios como la biopsia endometrial o la medición en la expresión de genes asociados a la receptividad endometrial;<sup>39,40</sup> todos estos grandes esfuerzos han sido realizados con el único objetivo de poder obtener mayores tasas de éxito en los tratamientos de reproducción.

Las evaluaciones endometriales mencionadas inician a partir de la preparación endometrial la cual se lleva a cabo mediante ciclo natural o ciclo artificial, los cuales se pueden realizar mediante distintos protocolos de preparación; ciclo natural, ciclo natural modificado, ciclo sustituido con o sin empleo de agonistas de la Hormona Liberadora de Gonadotropinas (agonistas *GnRH*).

En el ciclo natural el endometrio se desarrolla bajo el estímulo hormonal endógeno y el tiempo de transferencia se determina mediante la elevación de la hormona luteinizante (*LH*).<sup>41</sup> En el ciclo natural modificado el endometrio es monitorizado mediante seguimiento ultrasonográfico y la transferencia es programada tras la inducción de la ovulación y la administración de progesterona.<sup>40</sup>

Durante el empleo del ciclo artificial o sustituido, se administran estrógenos hasta alcanzar un engrosamiento endometrial adecuado con la posterior administración de progesterona simulando el ciclo endometrial, esta preparación se puede realizar con inhibición de la señalización del eje hipotálamo-hipófisis-ovario mediante el empleo de agonistas de la *GnRH* en fase lútea media del ciclo previo, el cual inhibe estas señales mediante la supresión de los pulsos de *GnRH* para su función adecuada.<sup>40</sup>

El ciclo artificial sin uso de agonistas de la *GnRH* realiza la inhibición del eje hipotálamo-hipófisis- ovario mediante retroalimentación negativa tras la

administración de estradiol en dosis elevadas después del inicio de la menstruación y posteriormente se administra la progesterona para simular el ciclo endometrial.<sup>40</sup>

Las ventajas de utilizar protocolos en ciclo natural van enfocadas a evitar el uso de medicamentos, sin embargo, se requiere de vigilancia ultrasonográfica, disponibilidad de la paciente o del centro de fertilidad para los seguimientos, ya que de no tener esta disponibilidad puede incrementar las tasas de cancelación. En cambio, los ciclos artificiales ofrecen mejor control de los tiempos del ciclo minimizando los riesgos de cancelación, aunque persiste el uso de medicamentos que eleva los costos del tratamiento.

La tendencia cada vez mayor a nivel global de realizar transferencia de embriones congelados ha llevado a profundizar más en la manera en cómo realizamos la preparación endometrial de nuestras pacientes. Los datos disponibles con respecto a tasa de implantación, embarazo en curso y tasa de recién nacido vivo no sugieren diferencias en lo que respecta a embriones congelados transferidos en ciclo natural comparados con ciclos artificiales.<sup>40,42,43</sup>

Sin embargo, existen aún pocos estudios con transferencia de embriones euploides y sus resultados dependientes del modo de preparación endometrial, ya sea con ciclo natural comparado con ciclo artificial,<sup>44,45</sup> en donde el factor embrionario queda en teoría minimizado.

Greco et al. muestra resultados no concluyentes ya que no evidencía diferencias significativas entre los protocolos de preparación endometrial,<sup>43</sup> mientras que Melnick et al. sugiere mejores resultados estadísticamente significativos en el empleo de ciclo natural modificado.<sup>44</sup>

Debido a que existen datos limitados para sugerir cuál de los dos métodos de preparación endometrial pudiera ofrecer mejores resultados, durante este estudio se comparó ambos tipos de preparación endometrial midiendo sus tasas de éxito en base a tasa de embarazo, tasa de implantación, tasa de aborto y tasa de recién nacidos vivo, para poder establecer si es que alguno de los métodos de preparación endometrial es superior al otro.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

El éxito de los tratamientos de reproducción asistida es medido en base a los resultados de embarazos y recién nacido vivos en aquellas parejas que se someten a este tipo de manejos médicos; es por ello que los esfuerzos e innovaciones en materia reproductiva van encaminados no solo a mejorar la tasa de fertilización, desarrollo y/o calidad embrionaria, sino también mediante distintos medios lograr esa sincronización efectiva embrión-endometrio.

Una de estas innovaciones nos ha ayudado a identificar la euploidia en los embriones la cual ha sido directamente relacionada como una causa importante de falla en los tratamientos de reproducción asistida.<sup>9,10</sup>

De este modo, surge la necesidad de conocer cuáles son los factores que pueden favorecer el éxito de implantación de estos embriones y su adecuado desarrollo gestacional.

Es por esto que debemos de buscar la mejor manera de optimizar el endometrio de las pacientes y que este a su vez se encuentre receptivo, determinando si existe un impacto positivo o deletéreo dependiente del modo de preparación endometrial para la transferencia de embriones congelados euploides, que a su vez nos aporte datos para poder mejorar los tratamientos de reproducción asistida.

El planteamiento anterior es la base para la siguiente pregunta de investigación:

¿Existen mejores tasas de embarazo en transferencia de embriones euploides congelados, dependiendo de la preparación endometrial en ciclo natural modificado comparado con ciclo artificial?

## **JUSTIFICACIÓN**

Hasta el día de hoy existe poca información disponible en la literatura acerca del impacto de la preparación endometrial en el éxito de la transferencia de embriones congelados euploides.

El éxito reproductivo se basa en el equilibrio embrión/endometrio; en lo que respecta al embrión como parte de esta ecuación se ha logrado disminuir esa brecha de error mediante el uso de diagnóstico genético preimplantacional ya que nos da la certeza de que el embrión tras ser euploide no será un factor deletéreo como previamente se mencionaba sobre todo en aquellos casos de falla de implantación, por lo tanto, en el otro componente de ese equilibrio que es el endometrio recae todo el peso del éxito de los tratamientos por lo que es importante conocer y determinar todos los factores que puedan mejorar o desequilibrar la receptividad endometrial.

La manera de preparar el endometrio previo a la transferencia embrionaria es una de las variables fundamentales que debemos de conocer para poder determinar si existen beneficios o perjuicios dependientes de la manera de preparación endometrial ya sea por ciclo natural modificado o ciclo artificial, y así contribuir a nuestro conocimiento en búsqueda de mejores resultados reproductivos.

## OBJETIVOS

- *GENERAL*
  - Determinar si existen diferencias significativas en los resultados reproductivos, dependiendo del método de preparación endometrial para transferencia de embriones euploides congelados ya sea con ciclo natural modificado comparado con ciclo artificial.
  
- *ESPECÍFICOS*
  - Comparar los resultados reproductivos entre ambos protocolos de preparación endometrial, ciclo natural modificado y ciclo artificial:
    - Tasa de embarazo
    - Tasa de implantación
    - Tasa de embarazo bioquímico
    - Tasa de aborto
    - Tasa de recién nacido vivo

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### *TIPO Y DISEÑO DE ESTUDIO*

Estudio longitudinal, comparativo, observacional, retrospectivo de las transferencias de embriones congelados euploides de Instituto de Ciencias en Reproducción Humana, sede León, Guanajuato en el periodo comprendido de enero de 2017 a diciembre 2020

### *POBLACIÓN*

#### **Selección de participantes**

Pacientes sometidas a tratamiento de reproducción asistida mediante fertilización *in vitro* (FIV), con inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), y diagnóstico genético preimplantacional para aneuploidías (PGT-A), en Instituto de Ciencias en Reproducción Humana en la ciudad de León Guanajuato, México, en el periodo comprendido entre enero 2017 a diciembre de 2020 y que cuente con al menos un embrión euploide congelado el cual será transferido mediante protocolos de preparación endometrial que serán asignados en base a regularidad en los ciclos de la paciente, dificultad para asistir a seguimientos foliculares o por decisión de médico tratante.

#### **Criterios de Inclusión**

Pacientes de cualquier edad que cuenten con al menos un embrión euploide obtenido mediante FIV-ICSI y posterior análisis con PGT-A mediante *Next Generation Sequencing*, incluyendo óvulos propios u óvulos donados, transferencia embrionaria de 1 o 2 embriones euploides, cavidad uterina normal previa revisión endometrial realizada mediante histeroscopia, independientemente del origen de infertilidad e indicación de estudio genético preimplantacional.

## **Criterios de exclusión**

Endometrios subóptimos menores a 7 mm, transferencias embrionarias traumáticas o reportadas como difíciles, transferencias embrionarias con mala visualización por ultrasonido, pacientes que cuenten con información incompleta para el análisis del estudio.

## ***VARIABLES DE ESTUDIO***

### Variables Independientes

- Ciclo Natural
- Ciclo Artificial

### Variables dependientes

- Tasa de embarazo
- Tasa de implantación
- Tasa de embarazo bioquímico
- Tasa de aborto
- Tasa de recién nacido vivo por transferencia realizada

**Tabla 1. Variables Independientes**

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	ESCALA DE MEDICION	ESCALA Y UNIDAD DE MEDICION
<b>Ciclo Natural Modificado</b>	Preparación endometrial, que se realiza bajo estímulo hormonal endógeno, con inducción de la ovulación mediante HCG.	Preparación endometrial sin estímulo endógeno que requiere folículo al menos de 16 mm, con valores séricos de estradiol >120 pg/mL, LH <10 mUI/mL, progesterona <1ng/mL	Cuantitativa, continua	Grosor endometrial, Milímetros
<b>Ciclo Artificial con agonista de la GnRH</b>	Preparación endometrial, que se realiza bajo inhibición del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, con agonista de GnRH en fase lútea media de ciclo previo, tras inicio de menstruación se administra valerato de estradiol de manera escalonada	Preparación endometrial con ingesta de valerato de estradiol escalonada por 12 días donde se valora grosor endometrial y ausencia de folículo en desarrollo.	Cuantitativa, continua	Grosor endometrial, Milímetros

**Tabla 2. Variables Dependientes**

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE SEGÚN SU NATURALEZA	MEDICIÓN
<b>Tasa de embarazo</b>	Presencia de saco gestacional donde se observe embrión y latido cardiaco fetal después de la semana 6 de gestación,	Evidencia por ultrasonido de saco gestacional con presencia de embrión latido cardiaco fetal después de la semana 6 de gestación.	Cuantitativa, continua	Porcentaje
<b>Tasa de implantación</b>	Presencia de sacos gestacionales observados mediante ultrasonido en relación al número de embriones transferidos	Número de sacos gestacionales dividido sobre el número total de embriones transferidos	Cuantitativa, continua	Porcentaje

<b>Tasa de embarazo bioquímico</b>	Evidencia de embarazo solo mediante la detección de fracción beta de gonadotropina coriónica humana mayor a 20 mUI/mL sin evidencia por ultrasonido de saco gestacional	Prueba de embarazo positiva mayor de 20 mUI/mL sin evidencia de saco gestacional por ultrasonido.	Cuantitativa, continua	Porcentaje
<b>Tasa de aborto</b>	Pérdida espontánea del embarazo antes de la semana 20 de gestación	Perdida de embarazo antes de la semana 20 de gestación en relación al número de pruebas positivas.	Cuantitativa, continua	Porcentaje
<b>Tasa de recién nacido vivo por transferencia realizada</b>	Número de eventos obstétricos que resultaron en al menos un nacimiento de un recién nacido vivo sobre el número de transferencias realizadas	Número de eventos obstétricos con nacimiento de un recién nacido vivo en relación al número de transferencias realizadas	Cuantitativa, continua	Porcentaje

<b>Euploidia</b>	Condición en la que una célula tiene sus cromosomas en un múltiplo exacto del número haploide 23 cromosomas; en el humano este múltiplo es dos. Por tanto, un embrión normal euploide se considera portador de 46 cromosomas un número diploide.	Embrión con presencia de 46 cromosomas, diploide.	Cualitativa	Nominal
------------------	--	---	-------------	---------

## **DESCRIPCIÓN OPERATIVA DEL ESTUDIO**

Se incluyeron en el estudio a un total de 116 pacientes las cuales se sometieron a tratamientos de *FIV-ICSI-PGT-A* de los cuales se excluyeron 5 pacientes debido a datos incompletos en expediente (4) y un paciente con endometrio subóptimo menor de 7mm, incluyendo todas las causas de infertilidad (edad materna avanzada, pérdida gestacional recurrente, falla de implantación, selección de sexo, por decisión electiva de la pareja, y se engloba como otras aquellas causas que diferían de las antes expuestas); transfiriéndose un total de 171 embriones euploides congelados. La elección del protocolo de preparación endometrial se realizó en base a la regularidad en los ciclos menstruales de la paciente, la dificultad por parte de la pareja para asistir a los seguimientos foliculares debido a su lugar de origen distinto al del lugar donde se realiza el estudio o por decisión del médico tratante.

Todas las pacientes incluidas en el estudio firmaron consentimiento informado para procedimientos de fertilización *in vitro* además de diagnóstico genético preimplantacional para aneuploidías.

### **Estimulación ovárica**

La estimulación ovárica controlada se realizó con el uso de gonadotropinas de origen recombinante, hormona folículo estimulante (FSHr), (*Gonal F, Merk Serono, Alemania*) con dosis que iban de 225 a 300 UI de acuerdo a los criterios de médico tratante, en las pacientes mayores de 35 años o con baja reserva ovárica se utilizó la combinación de FSH con LH en relación 2:1 (*Pergoveris, Merk, Serono, Alemania*).

Se utilizaron protocolos de estimulación flexible con antagonistas de la GnRH (acetato de Cetrorelix 0.25 mg, *Cetrotide, Merk Serono, Alemania*) una vez que se encontraban folículos con dominancia en 14mm. Al encontrarse por lo menos 3 folículos de 18 mm de diámetro se administraban hormona gonadotropina coriónica

humana (HCG) 10 000 UI, (*Choriomon, Corne, México*) vía intramuscular o 250 mcg de HCGr (*Ovidrel, Merk, Serono, Italia*) vía subcutánea.

En caso de riesgo de hiperestimulación ovárica la maduración ovocitaria se realizaba mediante agonista de la GnRH (Acetato de Triptorelina 0.2 mg, *Gonapeptyl Daily, Ferring, Kiel, Alemania*).

Después de 36 horas posterior a la administración de HCG se realiza la captura de ovocitos mediante punción trasvaginal guiada por ultrasonido.

### **ICSI, cultivo y biopsia embrionaria**

Previo al proceso de inyección intracitoplasmática, las placas fueron preparadas 24 hrs antes de la microinyección dentro de la cabina de flujo laminar y puestas dentro del incubador trigas *Miri™ (ESCO medical)* a 37° C a una concentración de 6 % de CO<sup>2</sup>, 5% de O<sup>2</sup> y un pH de 7.2-7.3 el cual fue analizado con gasómetro *Epoc™ (Siemens)*.

Tras decumulación ovocitaria se realiza fertilización de los ovocitos con inyección intracitoplasmática de espermatozoide descrita por Palermo (16), la fecundación fue evaluada de 16-20 hrs post inyección. El cultivo embrionario se realizó con medio continuo *Global Total LP (Life Global)* desde cigoto a blastocisto de día 5 y/o 6 en una atmósfera de 6.6% CO<sup>2</sup>, 5 % O<sup>2</sup> y un pH de 7.25. Además, en día 4 del desarrollo embrionario se llevó a cabo la perforación de la zona pelúcida en los embriones con el uso de laser *OCTAX Lasershot 2.2ms (20 m)*, para permitir la eclosión del trofoectodermo.

Para el estudio la biopsia embrionaria se llevó a cabo en embriones de día 5, 6 o 7, los embriones que fueron aptos para la biopsia fueron transferidos a una placa preparada el mismo día de la biopsia con medio *HTF Hepes* suplementado con suero albumina humana al 5 % en gotas independientes y cubiertas con Parafina líquida (*Life Global*) y las placas colocadas en una superficie caliente a 37° C. La biopsia embrionaria fue hecha sobre un microscopio invertido *IX70 Olympus* usando

manipuladores hidráulicos *Narashige (Tokio, Japón)* y *Eppendorf* en una superficie caliente a 37° C. Se tomaron de 5 a 10 células de trofoectodermo para llevar a cabo el análisis *PGT-A*, se realizaron 3 disparos con *OCTAX Lasershot* 3.2 milisegundos para después hacer el corte de las células frotando las pipetas entre sí, las células se depositaron en tubos para *PCR* y se enviaron al laboratorio *Vida Genetics (León, Guanajuato, México)* para su análisis. Todos los blastocistos biopsiados fueron vitrificados bajo la técnica de Kitazato descrita por Kuyawama en 2007,<sup>18</sup> de manera individual en espera del resultado del estudio.

Todas las biopsias embrionarias fueron analizadas mediante secuenciación masiva para la realización del *PGT-A*. El ADN de las biopsias embrionarias fue amplificado mediante la técnica de *Whole Genome Amplification (WGA)* con el uso del kit *Ion SingleSeq (Thermo Fisher Scientific, USA)*. Posteriormente, el ADN obtenido fue sometido a una amplificación isotermal y para la secuenciación se utilizó el secuenciador *Ion Torrent™ PGM* siguiendo las especificaciones del protocolo *Ion ReproSeq™ PGS Kits (Thermo Fisher Scientific, USA)*. El análisis del número de copias se realizó con el *Software Ion Reporter (versión 5.10.5) (Thermo Fisher Scientific, USA)* mediante el *Workflow ReproSeq Mosaic PGS w1.1*.

Una vez que se obtenía el resultado de la biopsia y al tener al menos un embrión euploide, se preparaba a la paciente para la transferencia embrionaria

### **Ciclo natural Modificado**

Se reviso a las pacientes dentro de los 10 a 12 días posteriores al inicio de su ciclo menstrual con la finalidad de valorar el desarrollo folicular además del grosor endometrial sin el efecto de gonadotropinas exógenas, y a partir de los hallazgos encontrados se establecía la pauta para revisiones subsecuentes cada 24-48 hrs según fuera necesario, o por otro lado realizar mediciones séricas de los niveles de estradiol, progesterona y hormona luteinizante (LH).

Los criterios para la administración de HCG fueron los siguientes: medida de folículo dominante al menos de 16 mm, endometrio de aspecto ultrasonográfico trilaminar mayor a 7 mm, progesterona sérica menor a 1 ng/ml, niveles de estradiol sérico mayor a 120 pg/mL, valor de LH menor de 10 mUI/mL.

Una vez cumplidos estos criterios se indujo la maduración ovocitaria con 5 000 UI de HCG (*Choriomon, Corne, México*) o 250 mcg de hCGr (*Ovidrel, Merk Serono, Italia*), solo se realizaban cancelaciones del ciclo en caso de presentar valores de progesterona sérica por encima de 1 ng/mL.

En caso de valor de LH menor a 10 mUI/mL la administración vaginal de progesterona se dio con 200 mg (*Endometrin, Ferring, Kiel, Alemania*) ó 400 mg de progesterona micronizada (*Geslutin, Asofarma, México*) 2 días después de la administración de HCG, la transferencia embrionaria se programó 6 días después del inicio de la administración de la progesterona, tras confirmar el embarazo la administración de progesterona se continuo hasta alcanzar la semana 12 de gestación.

En los casos en los que se encontraron valores séricos de LH por encima de 10 mUI/mL se consideró el pico espontaneo de ovulación por lo que en esos casos se indujo la maduración ovocitaria con 5000 UI de hCG (*Choriomon, Corne , México*) o 250 mcg de hCGr (*Ovidrel, Merk Serono, Italia*) el mismo día en que se encontraban esos valores séricos y se administraba progesterona 200 mg (*Endometrin, Ferring, , Kiel, Alemania*) ó 400 mg de progesterona micronizada (*Geslutin, Asofarma, México*) al día siguiente de la administración de hCG, la transferencia embrionaria se programó 6 días después del inicio de la administración de la progesterona, en caso de confirmar el embarazo la administración de progesterona se continuo hasta alcanzar la semana 12 de gestación .

## **Ciclo Artificial**

En todas las pacientes se realizó administración de agonista de la GnRH de depósito (acetato de Triptorelina, Gonapeptyl Depot 3.75 mg, Ferring, Kiel, Alemania) en el día 21 del ciclo previo a la preparación endometrial.

Tras el inicio de la menstruación se administró valerato de estradiol (*Primogyn 2 mg, Bayer Pharma, Weimar, Alemania*), en dosis escalonadas que inician con 4 mg vía oral cada 24 hrs con incrementos de 2 mg cada 3 a 4 días y hasta alcanzar una dosis de 8 mg cada 24 hrs, posterior se cita a valoración ultrasonográfica a los 12 días posterior al inicio del tratamiento, donde se realiza un chequeo ultrasonográfico y se corrobora la ausencia de folículo dominante ovárico, además del grosor endometrial alcanzado durante el tratamiento, en caso de no cumplir con criterios de grosor endometrial adecuado se revalora cada 48-72 hrs dependiendo de los hallazgos encontrados.

Para el inicio de administración de progesterona se tomaron como criterios: endometrio de aspecto ultrasonográfico trilaminar mayor a 7 mm, ausencia de desarrollo folicular ovárico. Se realizó cancelación de ciclo en caso de endometrio menor de 7 mm.

Se aplicó progesterona intramuscular (Progesterona en aceite 50 mg, *Actaris, EUA*) cada 24 horas una vez que se logran los criterios establecidos, la transferencia embrionaria se programa 6 días después del inicio de la progesterona, en caso de embarazo la administración de progesterona y valerato de estradiol se continúan hasta alcanzar la semana 12 de gestación.

## **Transferencia Embrionaria**

Todas las transferencias fueron realizadas mediante el apoyo guiado por ultrasonido transabdominal, para lo cual se les solicitó a las pacientes llenar vejiga previo a la transferencia embrionaria y generar una ventana acústica y así obtener una correcta visualización del útero, se colocó a la paciente en posición de litotomía, tras la

correcta visualización del cérvix con espejo vaginal, se realizó aseo con gasa estéril de la vagina y remoción de moco cervical en orificio cervical externo, para la transferencia embrionaria se utilizaron catéteres blandos *Wallace (Smiths Medical, Dublin, Irlanda)*, *Frydman (Laboratoire CCD, Paris, Francia)* o *Kitazato (Kitazato Corp. Fuji, Japón)*. Se realizó transferencia de embriones bajo visión guiada por ultrasonido abdominal a una distancia entre 1 a 2 cm del fondo de cavidad uterina (cuidando de no tocar el fondo uterino con el fin de evitar contractilidad uterina). Después de 1 minuto se retira el catéter y se verifica en microscopio estereoscópico que no exista retención embrionaria.

Se realizó prueba de embarazo mediante cuantificación de la fracción Beta de la HCG, a los 12 días posteriores a la transferencia para determinar embarazo y se citaron posteriormente dentro de los siguientes 7 a 10 días para verificar presencia de saco gestacional y posterior seguimiento de embarazo.

### **Equipo y recursos**

Equipamiento: Archivo clínico del Instituto de Ciencias en Reproducción Humana.

Lugar: Instituto de Ciencias en Reproducción Humana.

Materiales: Expedientes clínicos, hojas de reporte de laboratorio clínico, hojas de reporte de laboratorio de embriología y resultados de biopsias embrionarias de Vida Genetics.

Necesidad de apoyo financiero: No

## **Análisis estadístico**

Para el análisis estadístico se utilizó el *Statistics Package for the Social Sciences (SPSS versión 14.0, Chicago IL, USA)*. Para diferencias en grupo se utilizó la t de Student y para comparar las variables categóricas (tasa de embarazo, tasa implantación, tasa de aborto, tasa de recién nacido vivo, transferencia de embrión único, transferencia doble de embrión) la prueba de Chi cuadrada. Un valor menor a 0.05 fue considerado como significancia estadística.

## **Consideraciones éticas y bioéticas**

De acuerdo al reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud, en el Capítulo I de los Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos, en su artículo 17, el presente estudio se clasifica en:

1.- Investigación sin riesgo: Son estudios que emplean técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos y aquellos en los que no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de los individuos que participen en el estudio, entre los que se consideran: cuestionarios, entrevistas, revisión de expedientes clínicos y otros, en lo que no se le identifique ni se traten aspectos sensitivos de su conducta.

Al ser un estudio de tipo observacional, no se realizó intervención en la exposición y evolución del padecimiento estudiado. Este estudio está clasificado como una investigación sin riesgo.

## RESULTADOS

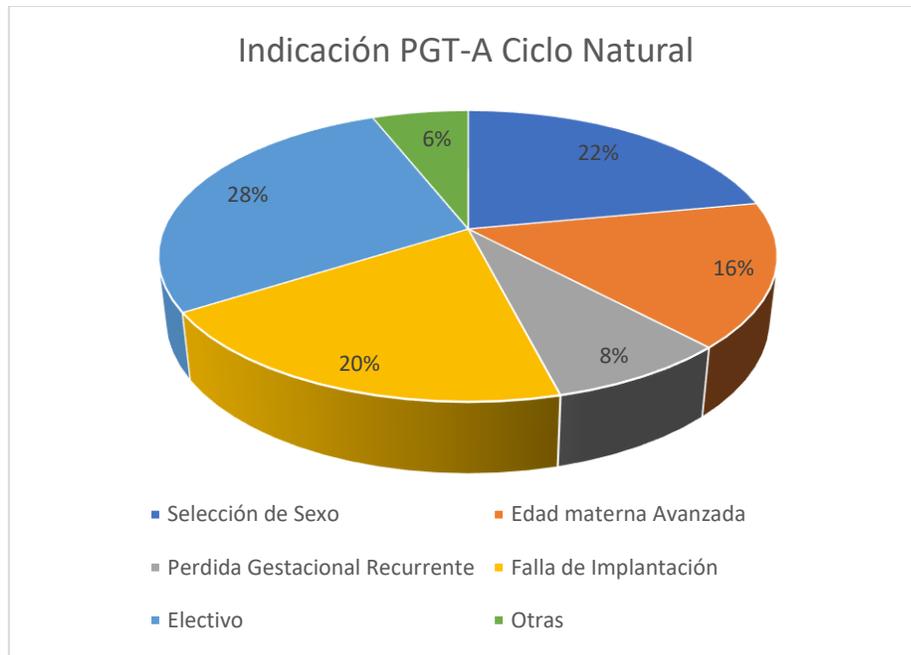
Se incluyeron un total de 116 pacientes de los cuales se excluyeron 5 pacientes debido a datos incompletos en expediente (4) y un paciente con endometrio subóptimo menor de 7mm; a los cuales se les realizó un total de 141 transferencias de embriones euploides, se realizaron 31 transferencias de embrión doble y 110 transferencias de embrión único, transfiriendo así un total de 172 embriones. De las 141 transferencias de embriones se realizaron 64 con preparación endometrial en ciclo natural, y 77 con preparación endometrial mediante ciclo artificial.

La tabla 1 nos muestra la distribución por edad y la indicación de *PGT-A* de nuestro estudio, la edad en ambos grupos fue similar ( $33.06 \pm 6.20$  vs  $31.79 \pm 7.01$ ), no existieron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en las indicaciones para realización del *PGT-A*, siendo la más frecuente la electiva en ambos grupos (28% en ciclo natural y 34% en ciclo artificial).

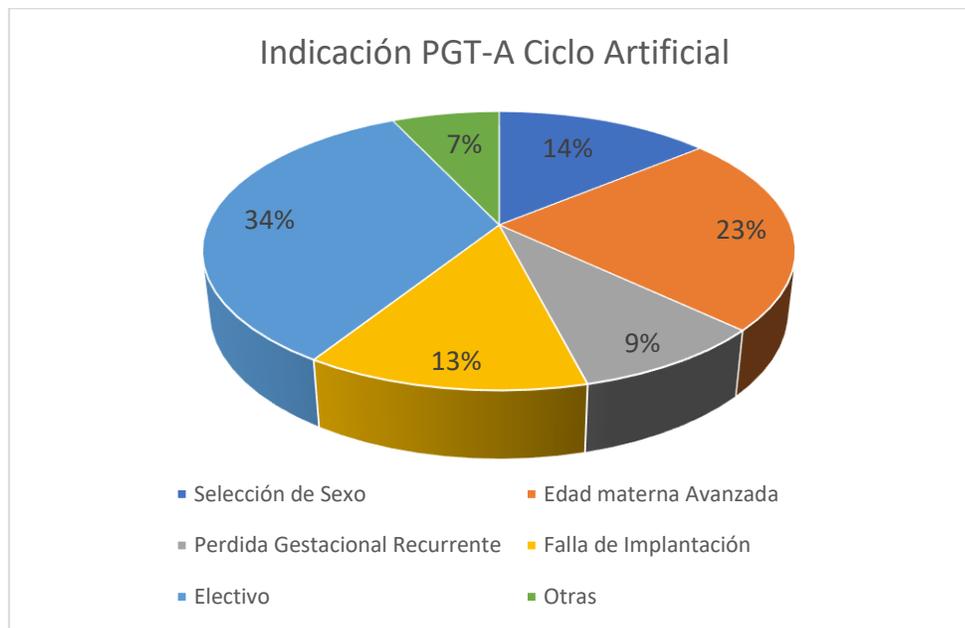
**Tabla 1** Edad e indicación de diagnóstico genético preimplantacional en ambos grupos de estudio en transferencia de embriones congelados euploides.

Indicación de PGT-A	CICLO NATURAL		CICLO ARTIFICIAL		VALOR DE <i>p</i>
	n=64	45.3%	n=77	54.6%	
<b>Edad</b>	33.1	±6.2	31.8	±7.0	0.26
<b>Selección de Sexo</b>	14	22%	11	14%	0.24
<b>Edad Materna Avanzada</b>	10	16%	18	23%	0.25
<b>Perdida Gestacional Recurrente</b>	5	8%	7	9%	0.78
<b>Falla de Implantación</b>	13	20%	10	13%	0.24
<b>Electivo</b>	18	28%	26	34%	0.47
<b>Otras</b>	4	6%	5	7%	0.95

NOTA: Los datos se presentan como media ± desviación estándar y porcentaje,  $p < 0.05$  estadísticamente significativa, y se expresan en relación a transferencia de congelados realizada.



**Figura 1** *Porcentaje por frecuencia de indicación en transferencia de embriones euploides con preparación endometrial en ciclo natural.*



**Figura 2** *Porcentaje por frecuencia de indicación en transferencia de embriones euploides con preparación endometrial en ciclo sustituido.*

En la figura 1 y 2 se observa el porcentaje de distribución de cada una de las indicaciones de PGT-A por el tipo de ciclo de preparación endometrial.

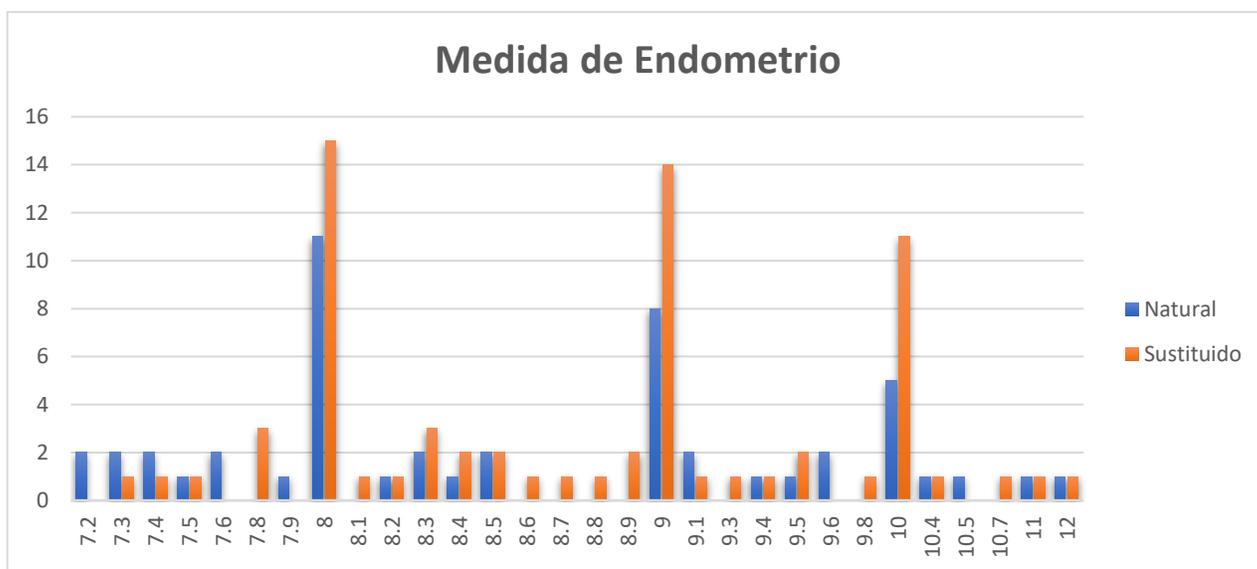
**Tabla 2.** Comparación de características de ambos grupos de estudio de acuerdo a su preparación endometrial en la transferencia de embriones congelados euploides.

	<b>CICLO NATURAL</b>	<b>CICLO ARTIFICIAL</b>	<b>VALOR DE <i>p</i></b>
<b>ENDOMETRIO</b>	8.7 (±1.0) mm	8.9 (±0.9) mm	0.27
<b>ESTRADIOL DIA DEL DISPARO CON HCG (pg/mL)</b>	212.1 (±111.3) pg/ml	NA	NA
<b>LH DIA DEL DISPARO CON HCG (mUI/mL)</b>	11.9 (±9.4) mUI/mL	NA	NA
<b>PROGESTERONA DIA DEL DISPARO CON HCG (ng/mL)</b>	0.3 (±0.2) ng/mL	NA	NA
<b>DIAMETRO DE FOLICULO DIA DE DISPARO HCG (mm)</b>	17.9 (±1.6) mm	NA	NA
<b>DIA DE DISPARO CON HCG (n)</b>	12.3 (±2.1)	NA	NA
<b>DIAS DE ESTRADIOL ANTES DE INICIO DE PROGESTERONA</b>	NA	13.3 (±3.5)	NA
<b>DIA DE INICIO DE PROGESTERONA (n)</b>	13.6 (±2.3)	14.2 (±3.5)	0.25
<b>DIA DE BIOPSIA EMBRIONARIA (n)</b>	5.1 (±0.3)	5.1 (±0.2)	0.75

NOTA: Los datos se presentan como media ± desviación estándar,  $p = <0.05$  estadísticamente significativa, y se expresan en relación a transferencia de congelados realizada.

La Tabla 2 muestra las características de ambos grupos de estudio durante su desarrollo. No existe diferencia entre ambos grupos en el caso de grosor endometrial ( $8.78 \text{ mm} \pm 1.03$  vs  $8.9 \text{ mm} \pm 0.92$   $p=0.27$ ), además se describen las características hormonales valoradas y medidas durante el ciclo natural y ciclo artificial, sin presentar diferencias significativas con respecto al día de inicio de progesterona ( $13.65 \pm 2.36$  vs  $14.25 \pm 3.50$ ,  $p=0.25$ ) y tampoco en el día de biopsia embrionaria ( $5.1 \pm 0.35$  vs  $5.09 \pm 0.28$ ,  $p=0.75$ ).

La figura 3 nos muestra la distribución de las medidas endometriales en cada tipo de preparación endometrial, en ambos grupos las medidas de 8, 9 y 10 mm fueron las más frecuentemente observadas durante el estudio.



**Figura 3.** Frecuencia de medida de grosor endometrial en ambos grupos de estudio de acuerdo a su preparación endometrial en transferencia de embriones congelados euploides.

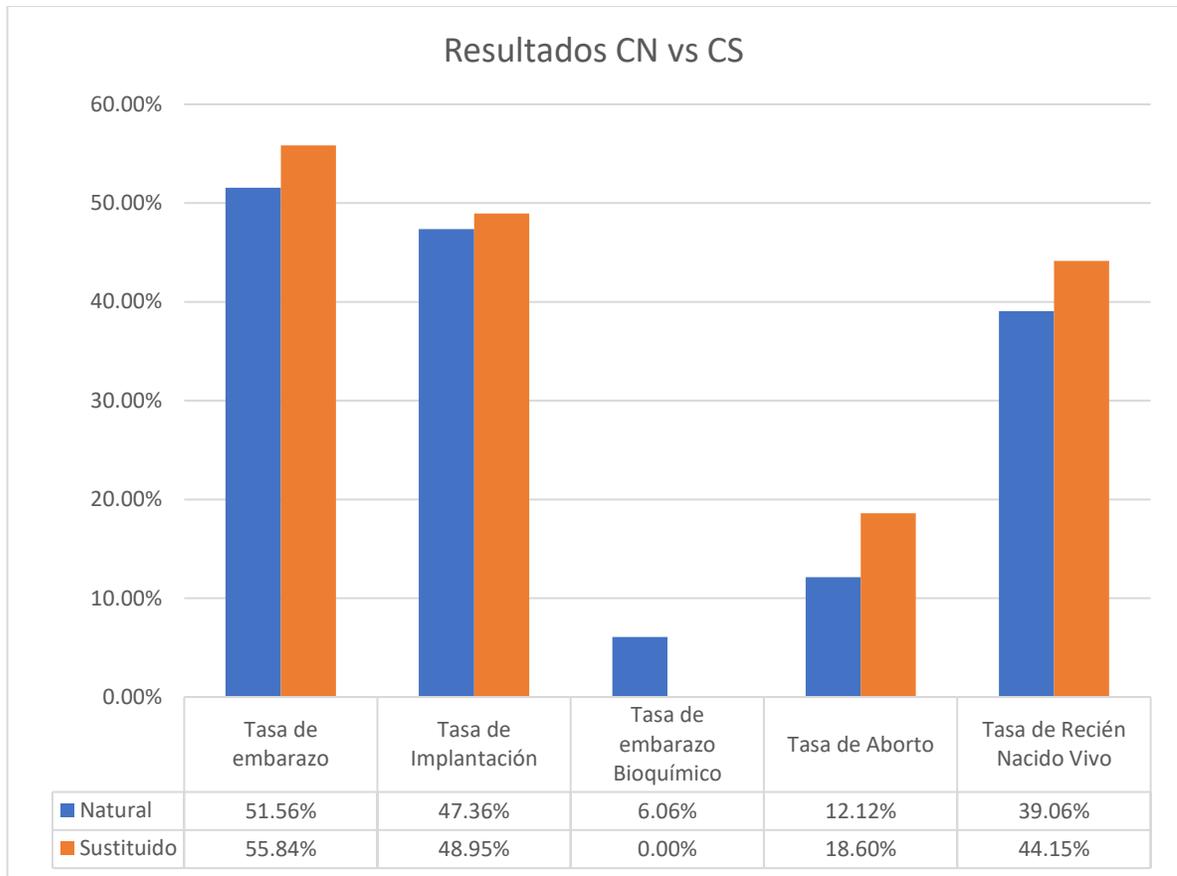
La tabla 3 nos muestra los resultados del objetivo general y específicos del estudio. Las transferencias de embrión único fueron similares en ambos grupos de estudio  $81.25\%$  vs  $75.32\%$  ( $p=0.39$ ) en ciclo natural comparado a ciclo artificial, y se observan resultados similares en aquellas transferencias dobles  $18.75\%$  vs  $24.67\%$  ( $p=0.39$ ) respectivamente; no se encontraron diferencias estadísticamente

significativas en la tasa de embarazo 51.56% vs 55.84% ( $p=0.61$ ), tasa de implantación 47.36% vs 48.95% ( $p=0.83$ ), tasa de abortos 12.12% vs 18.6% ( $p=0.44$ ), tasa de recién nacido vivo 39.06% vs 44.15% ( $p=0.54$ ) por otro lado la tasa de embarazo bioquímico fue de 6.06% vs 0 % ( $p=0.10$ ).

**Tabla 3** Resultados clínicos de la transferencia de embriones congelados euploides en ambos grupos de estudio.

<b>RESULTADOS REPRODUCTIVOS</b>	<b>CICLO NATURAL</b> n=64 (45.3%)	<b>CICLO ARTIFICIAL</b> n=77 (54.6%)	<b>Valor de p</b>
<b>Transferencia de embrión único</b>	52/64 (81.25%)	58/77 (75.32%)	0.39
<b>Transferencia doble de embrión</b>	12/64 (18.75%)	19/77 (24.67%)	0.39
<b>Tasa de embarazo</b>	33/64 (51.56%)	43/77 (55.84%)	0.61
<b>Tasa de implantación</b>	36/76 (47.36%)	47/96 (48.95%)	0.83
<b>Tasa de embarazo bioquímico</b>	2/33 (6.06%)	0 (0%)	0.10
<b>Tasa de aborto</b>	4/33 (12.12%)	8/43 (18.60%)	0.44
<b>Tasa de recién nacido vivo por transferencia realizada</b>	25/64 (39.06%)	34/77 (44.15%)	0.54
<b>Tasa de embarazos dobles por transferencia realizada</b>	5/33 (15.15%)	5/43 (11.62%)	0.65

NOTA: los datos se expresan como porcentaje,  $p= <0.05$  estadísticamente significativa, y se expresan en relación a transferencia de congelados realizada.



**Figura 4.** Comparación de los resultados clínicos de embriones congelados euploides en ambos grupos de estudio de acuerdo a su preparación endometrial.

Como análisis adicional a los objetivos primarios y secundarios del estudio se realizó un subanálisis de las tasas de embarazo en base a su grosor, en la tabla 4 se muestra que no existe diferencia significativa cuando se agrega el grosor endometrial y se compara entre ambos grupos, aunque es evidente que la tasa de embarazos es mas baja en el grupo de 10 a 12 mm con respecto a las otras medidas de endometrio.

**Tabla 4** Comparación de ambos grupos de estudio por grosor endometrial

Resultados	Medida de Endometrio			
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
	7-7.9 mm n=16	8-8.9 mm n=54	9-9.9 mm n=40	10-12 mm n=31
<b>Ciclo natural</b>	6/10 <b>(60%)</b>	12/23 <b>(52.17%)</b>	9/18 <b>(50%)</b>	6/13 <b>(46.1%)</b>
<b>Ciclo sustituido</b>	4/6 <b>(66.6%)</b>	19/31 <b>(61.24%)</b>	14/22 <b>(63.6%)</b>	7/18 <b>(38.9%)</b>
<b>p</b>	0.78	0.69	0.85	0.79

NOTA: los datos se expresan como porcentaje,  $p = <0.05$  estadísticamente significativa, y se expresan en relación a transferencia de congelados realizada

Sin embargo, cuando se analiza de manera separada cada grupo de estudio en base a su grosor endometrial podemos observar en la tabla 5 que en el grupo de ciclo artificial hay diferencias significativas a favor de los grupos 2 y 3 (8-8.9 y 9-9.9 mm respectivamente) cuando se compara con el grupo 4 (10-12 mm) donde encontramos menores tasas de embarazo, en la Tabla 6 con ciclo natural no se observan diferencias significativas entre las distintas medidas del endometrio.

**Tabla 5** Comparación de los diferentes grosores endometriales contra el grosor mayor de 10 mm en ciclo artificial

<b>Grosor endometrial</b>	<b>Embarazos grupo 1,2,3</b>	<b>Embarazos Grupo 4</b>	<b>p</b>
<b>7-7.9mm</b>	4/6 (66.6%)	7/18 (38.9%)	0.19
<b>8-8.9 mm</b>	19/31 (61.24%)	7/18 (38.9%)	0.02
<b>9-9.9 mm</b>	14/22 (63.6%)	7/18 (38.9%)	0.03

NOTA: los datos se expresan como porcentaje,  $p = <0.05$  estadísticamente significativa, y se expresan en relación a transferencia de congelados realizada

**Tabla 6** Comparación de resultados de los diferentes grosores endometriales contra el grosor mayor de 10 mm en ciclo natural

<b>Grosor endometrial</b>	<b>Embarazos grupo 1,2,3</b>	<b>Embarazos Grupo 4</b>	<b>p</b>
<b>7-7.9mm</b>	6/10 (60%)	6/13 (46.1%)	0.99
<b>8-8.9 mm</b>	12/23 (52.17%)	6/13 (46.1%)	0.84
<b>9-9.9 mm</b>	9/18 (50%)	6/13 (46.1%)	0.90

NOTA: los datos se expresan como porcentaje,  $p = <0.05$  estadísticamente significativa, y se expresan en relación a transferencia de congelados realizada

## DISCUSIÓN

La transferencia embrionaria es uno de los pasos más críticos dentro de las técnicas de reproducción asistida, ya que tras realizarlo se podrá conocer si el proceso fue exitoso o no. Este proceso dependerá no solo de la habilidad y destreza del médico al momento de realizar la transferencia embrionaria, sino que depende directamente de la calidad embrionaria, la receptividad endometrial y de una adecuada sincronización entre el embrión y el endometrio.

Además de su uso para congelar embriones excedentes de un ciclo de fertilización *in vitro* con transferencia embrionaria en fresco, la criopreservación embrionaria ha sido una herramienta indispensable en aquellos tratamientos en los cuales los niveles suprafisiológicos de estradiol derivados de la estimulación ovárica afectan la receptividad endometrial.<sup>19,46</sup> Los niveles estrogénicos elevados producen efectos adversos en caso de implantar, de tal manera que ocasionan alteraciones en la formación de la placenta y el desarrollo fetal.<sup>47</sup>

La utilidad de la criopreservación va más allá de solo esto ya que también ha permitido la congelación de embriones, gametos y tejidos para preservación de la fertilidad, además, tiene un papel fundamental en *PGT-A* ya que tras su biopsia de trofoblasto permite mantener en resguardo los embriones en espera de los resultados genéticos.

En un inicio la criopreservación se realizaba mediante congelación lenta, y presentaba el inconveniente de la formación de cristales en las células, los cuales a su vez ocasionaban daño en la integridad del huso meiótico, alineación de los cromosomas, y daño celular.<sup>48</sup>

Estos efectos deletéreos se han evitado gracias a la vitrificación de ovocitos y embriones, con buenos resultados tanto en su recuperación tras la desvitrificación, desarrollo embrionario y en los resultados reproductivos.<sup>49</sup>

Para valorar los resultados en pacientes con niveles hormonales elevados y la efectividad del método de vitrificación, Shapiro demostró desde 2011, que al

congelar los embriones de ciclos con luteinización prematura durante la estimulación ovárica, obtuvo mejores resultados en aquellos con transferencia diferida comparado contra aquellas transferencias realizadas en fresco con tasa de embarazo de 85.3% vs 57.4%, tasa de implantación 56.8% vs 26.9%, tasa de embarazo en curso por transferencia realizada de 70.5 % vs 35.2 %, siendo estos resultados estadísticamente significativos en favor de la vitrificación embrionaria,<sup>50</sup> presento también resultados similares en pacientes normorespondedoras donde se describió un OR de 2.83 para falla en la implantación en aquellos embriones transferidos en fresco en relación con los criopreservados.<sup>51</sup>

Para la mayoría de las parejas que se someten a tratamientos de FIV ICSI con diagnóstico genético preimplantacional la oportunidad de realizar esa transferencia puede ser irreplicable por las dificultades que implica el poder obtener ese embrión euploide independientemente de la causa de infertilidad. La manera de preparación endometrial es entonces parte esencial de ese anhelado éxito, por ello el conocer si existe una tendencia de mejores resultados con el empleo de uno u otro método es crucial para nuestro conocimiento.

En la literatura diversos textos han comparado los distintos métodos de preparación endometrial, sin embargo, estos resultados en su mayoría se limitan a la comparación de los diferentes protocolos, pero utilizando embriones vitrificados sin *PGT-A*, donde existen resultados a favor de uno u otro método de preparación.

En lo que respecta a ciclo natural varios autores apoyan resultados con su empleo, Chang et al. en 648 ciclos comparo el uso de ciclo natural, ciclo natural con inducción de la ovulación con HCG y ciclo artificial sin agonista de GnRH, se transfirieron solo embriones en estadio de blastocisto, obtuvo tasas de embarazo clínico de 41.9%, 41.8%, 30.4% respectivamente con resultados estadísticamente significativos a favor de ciclo natural, sin mostrar diferencias en la comparación de ciclo natural y ciclo natural con inducción con HCG 41.8 % vs 41.9 %, <sup>52</sup> esta información es importante para nuestro estudio debido a que nosotros realizamos inducción de la ovulación con HCG.

Levron et al. analizó los resultados de 12 años en 1235 ciclos comparando las transferencias de embriones congelados con preparación en ciclo natural y ciclo artificial, sin embargo en este estudio se utilizaron solo embriones vitrificados en estadio de clivaje mostrando tasas de embarazo e implantación de 17.5% y 6.47% respectivamente en ciclo natural comparado con 13.5% y 4.26% respectivamente en ciclo artificial, que son tasas bajas si comparamos con respecto a ciclos en estadio de blastocisto por lo que a pesar de contar con un gran número de embriones limita sus aportaciones al momento de tomarlo en cuenta para elegir un protocolo de preparación.<sup>53</sup>

Morozov et. al también encontró mejores resultados en ciclo natural comparado con artificial con tasas de embarazo de 36.7 % vs 22.9% en 242 ciclos de transferencia de embriones congelados, aunque solo emplearon embriones en estadio de clivaje, observaron un mayor grosor endometrial en aquellas pacientes en preparación en ciclo natural comparado con ciclo artificial, además asociaron un mayor número de embarazos en aquellas pacientes con niveles fisiológicos de estrógeno.<sup>54</sup>

La preparación en ciclo artificial se puede realizar con el empleo en ciclo previo de agonistas de GnRH para así obtener una supresión pituitaria, aunque también se puede realizar el mismo efecto ejerciendo una retroalimentación negativa con la administración de dosis altas de estrógenos tras el inicio del ciclo.

Hill et al. recolectó los resultados de 1391 transferencias de embriones congelados, observó que el ciclo artificial presentaba mejores resultados que el ciclo natural con un OR de 1.46 a favor del ciclo artificial con tasas de gestación de 49.7 % vs 39 %, en este estudio se incluyeron embriones en estadio de blastocisto, sin embargo el grupo de estudio de ciclo artificial era superior al de ciclo natural (1151 vs 240), además el número de embriones transferidos fue significativamente mayor en este grupo lo que pudo favorecer los resultados hacia el grupo con ciclo artificial, y aunque presento más embarazos, la tasa de embarazo bioquímico fue mayor en ciclo artificial.<sup>55</sup>

Zheng et al. comparo en 5414 pacientes con preparación en ciclo artificial sin uso de agonista, semi artificial y ciclo natural encontrando resultados más favorables en la tasa de gestación en aquellas pacientes bajo preparación artificial 48.7 % comparado con ciclo natural y semi artificial 42.7% y 36.1% respectivamente. Observó que en aquellas que presentaron ovulación a pesar de la retroalimentación negativa con estradiol obtuvo mejores resultados en las que no presentaron ovulación comparado con aquellas que ovularon 49.5 % vs 26.3%, durante su preparación en ciclo natural realizaron mediciones séricas de progesterona 3 días después de la ovulación que identificaban tras el aumento en los niveles séricos de LH, sin embargo esta elevación no tomaba en cuenta el valor de progesterona en ese momento sino hasta 3 días después donde tras encontrar valores de progesterona superiores a 5 ng/mL programaban la transferencia, esto pudo afectar de manera directa los resultados en ciclo natural, debido a una asincronía del embrión con el momento de la ovulación.<sup>56</sup>

Diversos autores realizaron estudios para poder determinar si el uso de los agonistas de la *GnRH* en fase lútea del ciclo previo proveía mejores resultados comparado con aquellos en que solo se empleaba dosis altas tras el inicio del ciclo, y encontraron que en los resultados de tasas de embarazo, implantación y aborto no se observaban diferencias significativas, además en aquellos casos en que no se empleaba el agonista de *GnRH*, la tasa de cancelación oscilaba alrededor del 4%.<sup>57,58,59</sup>

No obstante, los resultados a favor de uno u otro protocolo, la mayoría de los metaanálisis en la literatura no demuestran mayor efectividad de un método de preparación endometrial sobre otro, uno de ellos publicado por Groenewoud en el 2013 que incluye 8152 ciclos de 8 estudios de cohorte retrospectivos y un estudio randomizado aleatorizado con 111 ciclos no encuentra diferencias significativas en las tasas de embarazo y recién nacido vivo cuando compara ciclo natural contra ciclo artificial, con un OR de 1.2 para ambos resultados, además, compara ciclo natural con ciclo artificial con uso de agonistas de la *GnRH* donde incluye 4 estudios retrospectivos con 2485 ciclos y un estudio prospectivo *quasi* randomizado con 304

ciclos en los cuales no encuentra diferencias significativas entre ambos protocolos.<sup>41,42,60</sup>

Como ya se mencionó, existe literatura comparando los métodos de preparación endometrial con los diferentes protocolos, sin embargo, las diferencias entre los estudios en la transferencia de embriones en estado de clivaje o blastocisto y los diferentes criterios que toman en cuenta al momento de decidir la inducción de la ovulación en ciclo natural, hace que el conocimiento obtenido no sea suficiente al momento de decidir si existen diferencias entre estos, además son pocos los estudios que describen estos resultados con transferencia de embriones euploides,<sup>43,44</sup> donde el embrión tendrá un mayor potencial de implantación.

En nuestro estudio obtuvimos tasas de embarazo en ciclo natural y ciclo artificial de 51.56% vs 55.84%, sin mostrar diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.61$ ), que son comparables a las obtenidas en el estudio de Greco<sup>43</sup> et al. (54.1% vs 50.4%) respectivamente y en comparación al estudio de Melnick<sup>44</sup> et al. la tasa en ciclo natural fue superior a la nuestra con 66.2% y la de ciclo artificial menor a la nuestra con 43.18%.

En la tasa de implantación nuestros resultados en ciclo natural y ciclo artificial fueron de 47.36% vs 48.95%, sin mostrar diferencias estadísticamente significativas, hay que considerar que en nuestro estudio realizamos transferencias de embriones dobles a diferencia de los otros donde solo se realizó transferencia de embrión único; el estudio de Greco reporta 54.1% vs 50.4% respectivamente, Melnick obtuvo mayor tasa de implantación en ciclo natural 66% con respecto a ambos estudios, observándose menor tasa en ciclo artificial con 44% comparado a nuestro estudio y al de Greco.

Melnick atribuye sus mejores resultados en ciclo natural argumentando que son derivados de la existencia de un mejor medio hormonal en la preparación endometrial en ciclo natural, además propone un efecto benéfico al aumento gradual de progesterona tras la ovulación, ya que en ciclo artificial se somete a una exposición alta de progesterona desde un inicio. Las pacientes sometidas a ciclo

artificial eran pacientes anovulatorias, el autor considera que esto pudo influir de alguna manera en sus resultados debido al ambiente hormonal previo. Sin embargo, no comenta la manera de preparación de la cavidad uterina previa a la transferencia, ya que debido a la naturaleza de este grupo la presencia de alteraciones en su endometrio derivada de los ciclos anovulatorios pudo influir en mayor medida a sus resultados, donde desconocemos si realizaron histeroscopia previa.

En nuestro estudio obtuvimos solamente 2 embarazos bioquímicos en el grupo de ciclo natural que corresponden al 6.06 %, y en ciclo artificial no hubo embarazos bioquímicos, lo cual fue una tasa menor comparada con los estudios de Greco (ciclo natural 8.2% vs 11.4% ciclo artificial) y Melnick (ciclo natural 9.2% vs 14.6% ciclo artificial).

Estos resultados nos sugieren que en nuestro estudio tras ocurrir la implantación las condiciones endometriales y la sincronización embrión-endometrio, se dio de manera adecuada y se mantuvieron las condiciones ideales para que el desarrollo del embarazo continuara, a diferencia de los otros estudios donde se presentó en mayor número en el ciclo artificial, podríamos pensar que esto ocurrió debido a un mayor desequilibrio de estas condiciones en este tipo de preparación.

La tasa de aborto en nuestro estudio fue de 12.12% en ciclo natural y de 18.6% en ciclo artificial, en el estudio de Greco fue de 5.5% en ciclo natural y de 7 % en ciclo artificial, mientras que Melnik reporta 3.1% en ciclo natural y 6.2% en ciclo artificial, en ambos estudios se encontró por debajo de lo encontrado en nuestros resultados.

Para poder explicar el motivo por el cual se pierden los embarazos posteriores a análisis genético se ha determinado mediante estudios comparativos con *CGH array* y *Next generation sequencing (NGS)*, que la razón es debido a que mediante el uso de *CGH array* los casos de mosaicismos bajos y las triploidias no son detectadas por esta tecnología, y tras compararse con *NGS* se detectó que hasta un 36.8% de estos embriones eran realmente aneuploides, argumentando que esta pudo ser la razón que contribuyó a la pérdida temprana del embarazo.<sup>61</sup>

Entonces podemos decir que las líneas celulares en mosaico pueden estar distribuidas esporádicamente dentro de un embrión y, por lo tanto, pueden ser un indicador de un potencial reducido para nacidos vivos para aquellos embriones portadores.

Sin embargo, en nuestro estudio utilizamos *NGS* para la detección de aneuploidías por lo que podemos detectar estas alteraciones, así que es posible determinar que en nuestro estudio esto no es una causa que influya directamente en las pérdidas de los embarazos.

Otra causa relacionadas a las pérdidas de embarazos de transferencias de embriones euploides, es la asociación de los antecedentes reproductivos de la pareja, donde la edad es el componente más importante en este sentido ya que existen mejores resultados no solamente en la tasa de euploidia en pacientes más jóvenes sino también en las tasas de éxito.<sup>62</sup> Sin embargo, también se ha asociado a pérdida gestacional recurrente y falla de implantación, ambos diagnósticos considerados multifactoriales ya que involucran diversas etiologías, que aún no son claramente determinadas.<sup>62</sup>

Cimadomo en un estudio retrospectivo con 2676 ciclos describe los resultados de la primera transferencia de embriones euploides y su asociación con pérdidas gestacionales previas, reporta la tasa de aborto en pacientes sin pérdida gestacional (13%), comparada con aquellas pacientes con antecedente de 1 pérdida (15%) y con antecedente de más de 1 pérdida (15%), descartando una asociación directa relacionada con este diagnóstico.<sup>62</sup>

En ese mismo estudio relaciona los resultados en aquellas pacientes que contaban con antecedente de falla en transferencia de embriones, comparó pacientes sin falla previa, con pacientes con 1,2 o más fallas previas de transferencia embrionaria observando una menor tasa de implantación a mayor número de fallas 54%, 50%, 46%, 43% respectivamente, sin embargo, la tasa de aborto se mantuvo similar en todos los grupos 14%, 14%, 13%, 15% respectivamente.<sup>61</sup>

En nuestro estudio de las pacientes que presentaron aborto, 5 de ellas contaban con antecedente de falla de transferencia en ciclo de fertilización *in vitro* previo y 3 más presentaban edad materna avanzada, y aunque no existe evidencia contundente de que estos antecedentes contribuyeran a una mayor tasa de abortos, nuestra tasa de abortos es similar a la reportada por Cimadomo con embriones euploides.

Entonces podemos mencionar que a pesar de contar con embriones euploides, existen otros factores independientes al embrión que contribuyen a que se den las pérdidas de los embarazos, ya que el proceso de implantación es un proceso que involucra una interacción precisa entre un embrión competente y un endometrio receptivo que son regulados por una serie compleja de vías de señalización entre las células del embrión y endometrio, la cual a la fecha es pobremente entendida.<sup>63</sup>

La tasa de recién nacido vivo por transferencia realizada en nuestro estudio fue de 39.06% para ciclo natural y de 44.15 % para ciclo artificial, comparada con los estudios de Greco (45.8% vs 41.5%) respectivamente y en el de Melnick (63.1% vs 37.5% respectivamente), con mejor resultado en el estudio de Melnick esto asociado a su mayor tasa de embarazo e implantación.

En el subanálisis observamos que cuando se toma en cuenta el grosor endometrial no existen diferencias significativas cuando comparamos los diferentes tipos de preparación endometrial. Sin embargo, en el ciclo artificial encontramos diferencias significativas a favor cuando el grosor endometrial se encontraba entre 8 a 9.9 mm comparado con grosores mayores, además, parece existir un efecto deletéreo en relación a endometrios mayores de 10 mm sin importar el tipo de preparación endometrial, y aunque esto podría reflejar una pequeña tendencia a favor del ciclo artificial es necesario que estos resultados sean validados por otros estudios con mayor número de casos.

Nuestro estudio presenta limitaciones al ser un estudio retrospectivo y con un número de pacientes limitados, donde se concentra a todas nuestras pacientes sometidas a diagnóstico preimplantacional, incluyendo óvulos propios y donados, lo

cual puede ser considerado como un sesgo del estudio. Sin embargo, debido a la naturaleza del estudio con el uso de embriones euploides, compara si algún protocolo de preparación endometrial es superior independientemente del origen del ovocito, estamos valorando el resultado en función de su interacción con el endometrio y su adecuada sincronización, ya que existen factores adicionales a la euploidia que determinarán su adecuada implantación.

Dentro de las fortalezas de nuestro estudio la primera de ellas es usar solamente embriones euploides que elimina el sesgo por la edad materna avanzada como factor negativo en los resultados, además de equilibrar los resultados dependientes del factor embrionario independientemente del origen del ovocito. También está el empleo de la tecnología de *NGS* que como mencionamos previamente tiene la ventaja de detectar embriones con presencia de mosaicismos bajos y poliploidías, lo cual comparado con otras tecnologías ha dado como resultado una mayor detección de embriones con alteraciones genéticas, por lo tanto, las tasas de implantación encontradas son elevadas con respecto a *FIV* sin *PGT-A*, además en nuestro estudio tomamos en cuenta los valores séricos de progesterona asociados con la elevación de *LH*, con la finalidad de decidir el momento adecuado para la inducción de ovulación y así obtener una mejor sincronización del embrión y el tiempo de transferencia que es algo que no se describe en lo estudios previos con ciclo natural. El realizar histeroscopia a todas las pacientes previo a su transferencia es una mas de las fortalezas del estudio ya que con esto, el factor anatómico se descartó previamente como efecto negativo para nuestros resultados, además, debemos de mencionar también que es el primer estudio en México en el cual se comparan los resultados de los diferentes métodos de preparación endometrial con embriones euploides.

## CONCLUSIONES

La preparación endometrial para la transferencia de embriones euploides congelados es uno de los procesos más importantes dentro de las técnicas de reproducción asistida, no encontramos diferencias significativas en nuestros resultados entre ambos métodos de preparación endometrial por lo que concluimos que ambos métodos son igualmente efectivos para permitir el embarazo cuando se transfieren embriones euploides; si se toma en cuenta el grosor endometrial existen mejores resultados con endometrios entre 7 a 9.9 mm en ciclo artificial, y aunque hacen falta más estudios de manera prospectiva y con mayor número de pacientes que puedan validar nuestros resultados, el contar con endometrios menores a 10 mm en general nos dio mejores resultados en ambas preparaciones endometriales.

El endometrio y los métodos de preparación son solo uno de los campos que merecen un mayor conocimiento para obtener mejores resultados, sin embargo, los mecanismos que regulan la receptividad endometrial, las interacciones que se dan entre el embrión y endometrio, así como los mecanismos inmunológicos asociados a su preparación son un campo en el cual aún no hemos alcanzado los conocimientos suficientes para mejorar la eficiencia de la fertilización *in vitro*, por lo que lograr entender la interacción entre todos estos nos aportara las herramientas necesarias para poderlo llevar a cabo.

## BIBLIOGRAFIA

---

- <sup>1</sup> Steptoe, P.C. (1967). *Laparoscopy in gynaecology*, Edinburgh: E.&S. Livingstone.
- <sup>2</sup> Steptoe PC, Edwards RG. Laparoscopic recovery of preovulatory human oocytes after priming of ovaries with gonadotrophins. *Lancet*. 1970 Apr 4;1(7649):683-9. doi: 10.1016/s0140-6736(70)90923-2. PMID: 4190994.
- <sup>3</sup> Edwards RG. Maturation in vitro of human ovarian oocytes. *Lancet*. 1965 Nov 6;2(7419):926-9. doi: 10.1016/s0140-6736(65)92903-x. PMID: 4165802.
- <sup>4</sup> Bavister BD, Edwards RG, Steptoe PC. Identification of the midpiece and tail of the spermatozoon during fertilization of human eggs in vitro. *J Reprod Fertil*. 1969 Oct;20(1):159-60. doi: 10.1530/jrf.0.0200159. PMID: 4187926.
- <sup>5</sup> Steptoe PC, Edwards RG. Laparoscopic recovery of preovulatory human oocytes after priming of ovaries with gonadotrophins. *Lancet*. 1970 Apr 4;1(7649):683-9. doi: 10.1016/s0140-6736(70)90923-2. PMID: 4190994.
- <sup>6</sup> Edwards RG, Steptoe PC. Control of human ovulation, fertilization and implantation. *Proc R Soc Med*. 1974 Sep;67(9):932-6. PMID: 4473773; PMCID: PMC1645960.
- <sup>7</sup> Steptoe PC, Edwards RG. Reimplantation of a human embryo with subsequent tubal pregnancy. *Lancet*. 1976 Apr 24;1(7965):880-2. doi: 10.1016/s0140-6736(76)92096-1. PMID: 58146.
- <sup>8</sup> Steptoe PC, Edwards RG. Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet*. 1978 Aug 12;2(8085):366. doi: 10.1016/s0140-6736(78)92957-4. PMID: 79723.
- <sup>9</sup> Brinsden PR, Brinsden PR. Thirty years of IVF: the legacy of Patrick Steptoe and Robert Edwards. *Hum Fertil (Camb)*. 2009;12(3):137-43. doi: 10.1080/14647270903176773. PMID: 19925325.
- <sup>10</sup> Jones HW Jr, Jones GS, Andrews MC, Acosta A, Bundren C, Garcia J, Sandow B, Veeck L, Wilkes C, Witmyer J, Wortham JE, Wright G. The program for in vitro fertilization at Norfolk. *Fertil Steril*. 1982 Jul;38(1):14-21. PMID: 7095165.
- <sup>11</sup> Porter RN, Smith W, Craft IL, Abdulwahid NA, Jacobs HS. Induction of ovulation for in-vitro fertilisation using buserelin and gonadotropins. *Lancet*. 1984 Dec 1;2(8414):1284-5. doi: 10.1016/s0140-6736(84)92840-x. PMID: 6150318.

- 
- <sup>12</sup> Itskovitz-Eldor J, Kol S, Mannaerts B, Coelingh Bennink H. First established pregnancy after controlled ovarian hyperstimulation with recombinant follicle stimulating hormone and the gonadotrophin-releasing hormone antagonist ganirelix (Org 37462). *Hum Reprod.* 1998 Feb;13(2):294-5. doi: 10.1093/humrep/13.2.294. PMID: 9557825.
- <sup>13</sup> Lenz S, Lauritsen JG. Ultrasonically guided percutaneous aspiration of human follicles under local anesthesia: a new method of collecting oocytes for in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 1982 Dec;38(6):673-7. doi: 10.1016/s0015-0282(16)46692-6. PMID: 7141008.
- <sup>14</sup> Parsons J, Riddle A, Booker M, Sharma V, Goswamy R, Wilson L, Akkermans J, Whitehead M, Campbell S. Oocyte retrieval for in-vitro fertilisation by ultrasonically guided needle aspiration via the urethra. *Lancet.* 1985 May 11;1(8437):1076-7. doi: 10.1016/s0140-6736(85)92373-6. PMID: 2860290.
- <sup>15</sup> Dellenbach P, Nisand I, Moreau L, Feger B, Plumere C, Gerlinger P. Transvaginal sonographically controlled follicle puncture for oocyte retrieval. *Fertil Steril.* 1985 Nov;44(5):656-62. doi: 10.1016/s0015-0282(16)48983-1. PMID: 3932103.
- <sup>16</sup> Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet.* 1992 Jul 4;340(8810):17-8. doi: 10.1016/0140-6736(92)92425-f. PMID: 1351601.
- <sup>17</sup> Trounson A, Mohr L. Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature.* 1983 Oct 20-26;305(5936):707-9. doi: 10.1038/305707a0. PMID: 6633637
- <sup>18</sup> Kuwayama M. Highly efficient vitrification for cryopreservation of human oocytes and embryos: the Cryotop method. *Theriogenology.* 2007 Jan 1;67(1):73-80. doi: 10.1016/j.theriogenology.2006.09.014. Epub 2006 Oct 20. PMID: 17055564.
- <sup>19</sup> Weinerman R, Mainigi M. Why we should transfer frozen instead of fresh embryos: the translational rationale. *Fertil Steril.* 2014 Jul;102(1):10-8. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.05.019. Epub 2014 Jun 2. PMID: 24890274; PMCID: PMC4435545.
- <sup>20</sup> Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Electronic address: ASRM@asrm.org; Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Prevention and treatment of moderate and severe ovarian hyperstimulation syndrome: a guideline. *Fertil Steril.* 2016 Dec;106(7):1634-1647. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.08.048. Epub 2016 Sep 24. PMID: 27678032.

- 
- <sup>21</sup> Abeyta M, Behr B. Morphological assessment of embryo viability. *Semin Reprod Med.* 2014 Mar;32(2):114-26. doi: 10.1055/s-0033-1363553. Epub 2014 Feb 10. PMID: 24515906
- <sup>22</sup> Munné S, Lee A, Rosenwaks Z, Grifo J, Cohen J. Diagnosis of major chromosome aneuploidies in human preimplantation embryos. *Hum Reprod.* 1993 Dec;8(12):2185-91. doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a138001. PMID: 8150922.
- <sup>23</sup> Desai N, Ploskonka S, Goodman LR, Austin C, Goldberg J, Falcone T. Analysis of embryo morphokinetics, multinucleation and cleavage anomalies using continuous time-lapse monitoring in blastocyst transfer cycles. *Reprod Biol Endocrinol.* 2014 Jun 20;12:54. doi: 10.1186/1477-7827-12-54. PMID: 24951056; PMCID: PMC4074839.
- <sup>24</sup> Katz-Jaffe MG, McReynolds S. Embryology in the era of proteomics. *Fertil Steril.* 2013 Mar 15;99(4):1073-7. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.12.038. Epub 2013 Jan 30. PMID: 23375196.
- <sup>25</sup> Uyar A, Seli E. Metabolomic assessment of embryo viability. *Semin Reprod Med.* 2014 Mar;32(2):141-52. doi: 10.1055/s-0033-1363556. Epub 2014 Feb 10. PMID: 24515909; PMCID: PMC4109799
- <sup>26</sup> Dahdouh EM, Balayla J, García-Velasco JA. Impact of blastocyst biopsy and comprehensive chromosome screening technology on preimplantation genetic screening: a systematic review of randomized controlled trials. *Reprod Biomed Online.* 2015 Mar;30(3):281-9. doi: 10.1016/j.rbmo.2014.11.015. Epub 2014 Dec 11. PMID: 25599824.
- <sup>27</sup> Sahin L, Bozkurt M, Sahin H, Gürel A, Yumru AE. Is preimplantation genetic diagnosis the ideal embryo selection method in aneuploidy screening? *Kaohsiung J Med Sci.* 2014 Oct;30(10):491-8. doi: 10.1016/j.kjms.2014.05.008. Epub 2014 Jun 26. PMID: 25438679.
- <sup>28</sup> Munné S, Weier HU. Simultaneous enumeration of chromosomes 13, 18, 21, X, and Y in interphase cells for preimplantation genetic diagnosis of aneuploidy. *Cytogenet Cell Genet.* 1996;75(4):263-70. doi: 10.1159/000134497. PMID: 9067438.
- <sup>29</sup> Munné S, Magli C, Bahçe M, Fung J, Legator M, Morrison L, Cohert J, Gianaroli L. Preimplantation diagnosis of the aneuploidies most commonly found in spontaneous abortions and live births: XY, 13, 14, 15, 16, 18, 21, 22. *Prenat Diagn.* 1998 Dec;18(13):1459-66. doi: 10.1002/(sici)1097-0223(199812)18:13<1459::aid-pd514>3.0.co;2-v. PMID: 9949446.

- 
- <sup>30</sup> Colls P, Goodall N, Zheng X, Munné S. Increased efficiency of preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy by testing 12 chromosomes. *Reprod Biomed Online*. 2009 Oct;19(4):532-8. doi: 10.1016/j.rbmo.2009.05.002. PMID: 19909595.
- <sup>31</sup> Friedenthal J, Maxwell SM, Munné S, Kramer Y, McCulloh DH, McCaffrey C, Grifo JA. Next generation sequencing for preimplantation genetic screening improves pregnancy outcomes compared with array comparative genomic hybridization in single thawed euploid embryo transfer cycles. *Fertil Steril*. 2018 Apr;109(4):627-632. doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.12.017. Epub 2018 Mar 28. PMID: 29605407.
- <sup>32</sup> Lopes AS, Frederickx V, Van Kerkhoven G, Campo R, Puttemans P, Gordts S. Survival, re-expansion and cell survival of human blastocysts following vitrification and warming using two vitrification systems. *J Assist Reprod Genet*. 2015 Jan;32(1):83-90. doi: 10.1007/s10815-014-0373-2. Epub 2014 Nov 9. PMID: 25381622; PMCID: PMC4294875.
- <sup>33</sup> Cimadomo D, Soscia D, Vaiarelli A, Maggiulli R, Capalbo A, Ubaldi FM, Rienzi L. Looking past the appearance: a comprehensive description of the clinical contribution of poor-quality blastocysts to increase live birth rates during cycles with aneuploidy testing. *Hum Reprod*. 2019 Jul 8;34(7):1206-1214. doi: 10.1093/humrep/dez078. PMID: 31247100.
- <sup>34</sup> Munné S, Kaplan B, Frattarelli JL, Child T, Nakhuda G, Shamma FN, Silverberg K, Kalista T, Handyside AH, Katz-Jaffe M, Wells D, Gordon T, Stock-Myer S, Willman S; STAR Study Group. Preimplantation genetic testing for aneuploidy versus morphology as selection criteria for single frozen-thawed embryo transfer in good-prognosis patients: a multicenter randomized clinical trial. *Fertil Steril*. 2019 Dec;112(6):1071-1079.e7. doi: 10.1016/j.fertnstert.2019.07.1346. Epub 2019 Sep 21. PMID: 31551155.
- <sup>35</sup> Masbou AK, Friedenthal JB, McCulloh DH, McCaffrey C, Fino ME, Grifo JA, Licciardi F. A Comparison of Pregnancy Outcomes in Patients Undergoing Donor Egg Single Embryo Transfers With and Without Preimplantation Genetic Testing. *Reprod Sci*. 2019 Dec;26(12):1661-1665. doi: 10.1177/1933719118820474. Epub 2018 Dec 20. PMID: 30572797.
- <sup>36</sup> Bergh PA, Navot D. The impact of embryonic development and endometrial maturity on the timing of implantation. *Fertil Steril*. 1992 Sep;58(3):537-42. doi: 10.1016/s0015-0282(16)55259-5. PMID: 1521649.
- <sup>37</sup> Casper RF. Frozen embryo transfer: evidence-based markers for successful endometrial preparation. *Fertil Steril*. 2020 Feb;113(2):248-251. doi: 10.1016/j.fertnstert.2019.12.008. PMID: 32106971.

- 
- <sup>38</sup> Haas J, Smith R, Zilberberg E, Nayot D, Meriano J, Barzilay E, Casper RF. Endometrial compaction (decreased thickness) in response to progesterone results in optimal pregnancy outcome in frozen-thawed embryo transfers. *Fertil Steril*. 2019 Sep;112(3):503-509.e1. doi: 10.1016/j.fertnstert.2019.05.001. Epub 2019 Jun 24. PMID: 31248618.
- <sup>39</sup> Díaz-Gimeno P, Horcajadas JA, Martínez-Conejero JA, Esteban FJ, Alamá P, Pellicer A, Simón C. A genomic diagnostic tool for human endometrial receptivity based on the transcriptomic signature. *Fertil Steril*. 2011 Jan;95(1):50-60, 60.e1-15. doi: 10.1016/j.fertnstert.2010.04.063. Epub 2010 Jul 8. PMID: 20619403.
- <sup>40</sup> Ruiz-Alonso M, Blesa D, Díaz-Gimeno P, Gómez E, Fernández-Sánchez M, Carranza F, Carrera J, Vilella F, Pellicer A, Simón C. The endometrial receptivity array for diagnosis and personalized embryo transfer as a treatment for patients with repeated implantation failure. *Fertil Steril*. 2013 Sep;100(3):818-24. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.05.004. Epub 2013 Jun 4. PMID: 23756099.
- <sup>41</sup> Ghobara T, Gelbaya TA, Ayeleke RO. Cycle regimens for frozen-thawed embryo transfer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017 Jul 5;7(7):CD003414. doi: 10.1002/14651858.CD003414.pub3. PMID: 28675921; PMCID: PMC6483463.
- <sup>42</sup> Groenewoud ER, Cantineau AE, Kollen BJ, Macklon NS, Cohlen BJ. What is the optimal means of preparing the endometrium in frozen-thawed embryo transfer cycles? A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2013 Sep-Oct;19(5):458-70. doi: 10.1093/humupd/dmt030. Epub 2013 Jul 2. Erratum in: *Hum Reprod Update*. 2017 Mar 1;23(2):255-261. PMID: 23820515.
- <sup>43</sup> Mounce G, McVeigh E, Turner K, Child TJ. Randomized, controlled pilot trial of natural versus hormone replacement therapy cycles in frozen embryo replacement in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2015 Oct;104(4):915-920.e1. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.07.1131. Epub 2015 Aug 5. PMID: 26255087.
- <sup>44</sup> Greco E, Litwicka K, Arrivi C, Varricchio MT, Caragia A, Greco A, Minasi MG, Fiorentino F. The endometrial preparation for frozen-thawed euploid blastocyst transfer: a prospective randomized trial comparing clinical results from natural modified cycle and exogenous hormone stimulation with GnRH agonist. *J Assist Reprod Genet*. 2016 Jul;33(7):873-84. doi: 10.1007/s10815-016-0736-y. Epub 2016 May 24. PMID: 27221477; PMCID: PMC4930788.
- <sup>45</sup> Melnick AP, Setton R, Stone LD, Pereira N, Xu K, Rosenwaks Z, Spandorfer SD. Replacing single frozen-thawed euploid embryos in a natural cycle in ovulatory women may increase live birth rates compared to medicated cycles in anovulatory

---

women. *J Assist Reprod Genet.* 2017 Oct;34(10):1325-1331. doi: 10.1007/s10815-017-0983-6. Epub 2017 Jun 24. PMID: 28647784; PMCID: PMC5633571.

<sup>46</sup> Creus M, Ordi J, Fábregues F, Casamitjana R, Carmona F, Cardesa A, Vanrell JA, Balasch J. The effect of different hormone therapies on integrin expression and pinopode formation in the human endometrium: a controlled study. *Hum Reprod.* 2003 Apr;18(4):683-93. doi: 10.1093/humrep/deg177. PMID: 12660257.

<sup>47</sup> Cha J, Sun X, Dey SK. Mechanisms of implantation: strategies for successful pregnancy. *Nat Med.* 2012 Dec;18(12):1754-67. doi: 10.1038/nm.3012. PMID: 23223073; PMCID: PMC6322836.

<sup>48</sup> Cao YX, Xing Q, Li L, Cong L, Zhang ZG, Wei ZL, Zhou P. Comparison of survival and embryonic development in human oocytes cryopreserved by slow-freezing and vitrification. *Fertil Steril.* 2009 Oct;92(4):1306-1311. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.08.069. Epub 2008 Oct 18. PMID: 18930218.

<sup>49</sup> Hong SW, Sepilian V, Chung HM, Kim TJ. Cryopreserved human blastocysts after vitrification result in excellent implantation and clinical pregnancy rates. *Fertil Steril.* 2009 Dec;92(6):2062-4. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.06.008. Epub 2009 Jul 15. PMID: 19608166.

<sup>50</sup> Shapiro BS, Daneshmand ST, Garner FC, Aguirre M, Hudson C, Thomas S. Embryo cryopreservation rescues cycles with premature luteinization. *Fertil Steril.* 2010 Feb;93(2):636-41. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.01.134. Epub 2009 Mar 17. PMID: 19296941.

<sup>51</sup> Shapiro BS, Daneshmand ST, Garner FC, Aguirre M, Hudson C, Thomas S. Evidence of impaired endometrial receptivity after ovarian stimulation for in vitro fertilization: a prospective randomized trial comparing fresh and frozen-thawed embryo transfer in normal responders. *Fertil Steril.* 2011 Aug;96(2):344-8. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.05.050. Epub 2011 Jul 6. PMID: 21737072.

<sup>52</sup> Chang EM, Han JE, Kim YS, Lyu SW, Lee WS, Yoon TK. Use of the natural cycle and vitrification thawed blastocyst transfer results in better in-vitro fertilization outcomes : cycle regimens of vitrification thawed blastocyst transfer. *J Assist Reprod Genet.* 2011 Apr;28(4):369-74. doi: 10.1007/s10815-010-9530-4. Epub 2011 Jan 13. PMID: 21229386; PMCID: PMC3114968.

<sup>53</sup> Levron J, Yerushalmi GM, Brengauz M, Gat I, Katorza E. Comparison between two protocols for thawed embryo transfer: natural cycle versus exogenous hormone replacement. *Gynecol Endocrinol.* 2014 Jul;30(7):494-7. doi: 10.3109/09513590.2014.900032. Epub 2014 Mar 27. PMID: 24669825.

- 
- <sup>54</sup> Morozov V, Ruman J, Kenigsberg D, Moodie G, Brenner S. Natural cycle cryo-thaw transfer may improve pregnancy outcome. *J Assist Reprod Genet.* 2007 Apr;24(4):119-23. doi: 10.1007/s10815-006-9100-y. Epub 2007 Feb 16. PMID: 17450431; PMCID: PMC3455063.
- <sup>55</sup> Hill MJ, Miller KA, Frattarelli JL. A GnRH agonist and exogenous hormone stimulation protocol has a higher live-birth rate than a natural endogenous hormone protocol for frozen-thawed blastocyst-stage embryo transfer cycles: an analysis of 1391 cycles. *Fertil Steril.* 2010 Feb;93(2):416-22. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.11.027. Epub 2009 Jan 26. PMID: 19171338.
- <sup>56</sup> Zheng Y, Li Z, Xiong M, Luo T, Dong X, Huang B, Zhang H, Ai J. Hormonal replacement treatment improves clinical pregnancy in frozen-thawed embryos transfer cycles: a retrospective cohort study. *Am J Transl Res.* 2013 Dec 1;6(1):85-90. PMID: 24349625; PMCID: PMC3853428.
- <sup>57</sup> Queenan JT Jr, Ramey JW, Seltman HJ, Eure L, Veeck LL, Muasher SJ. Transfer of cryopreserved-thawed pre-embryos in a cycle using exogenous steroids without prior gonadotrophin-releasing hormone agonist suppression yields favourable pregnancy results. *Hum Reprod.* 1997 Jun;12(6):1176-80. doi: 10.1093/humrep/12.6.1176. PMID: 9221996
- <sup>58</sup> Simon A, Hurwitz A, Zentner BS, Bdolah Y, Laufer N. Transfer of frozen-thawed embryos in artificially prepared cycles with and without prior gonadotrophin-releasing hormone agonist suppression: a prospective randomized study. *Hum Reprod.* 1998 Oct;13(10):2712-7. doi: 10.1093/humrep/13.10.2712. PMID: 9804219.
- <sup>59</sup> Dal Prato L, Borini A, Cattoli M, Bonu MA, Sciajno R, Flamigni C. Endometrial preparation for frozen-thawed embryo transfer with or without pretreatment with gonadotropin-releasing hormone agonist. *Fertil Steril.* 2002 May;77(5):956-60. doi: 10.1016/s0015-0282(02)02960-6. PMID: 12009350.
- <sup>60</sup> Glujovsky D, Pesce R, Fiszbajn G, Sueldo C, Hart RJ, Ciapponi A. Endometrial preparation for women undergoing embryo transfer with frozen embryos or embryos derived from donor oocytes. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010 Jan 20;(1):CD006359. doi: 10.1002/14651858.CD006359.pub2. Update in: *Cochrane Database Syst Rev.* 2020 Oct 28;10:CD006359. PMID: 20091592.
- <sup>61</sup> Maxwell SM, Colls P, Hodes-Wertz B, McCulloh DH, McCaffrey C, Wells D, Munné S, Grifo JA. Why do euploid embryos miscarry? A case-control study comparing the rate of aneuploidy within presumed euploid embryos that resulted in miscarriage or live birth using next-generation sequencing. *Fertil Steril.* 2016 Nov;106(6):1414-

---

1419.e5. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.08.017. Epub 2016 Sep 28. PMID: 27692437.

<sup>62</sup> Cimadomo D, Capalbo A, Dovere L, Tacconi L, Soscia D, Giancani A, Scepi E, Maggiulli R, Vaiarelli A, Rienzi L, Ubaldi FM. Leave the past behind: women's reproductive history shows no association with blastocysts' euploidy and limited association with live birth rates after euploid embryo transfers. *Hum Reprod*. 2021 Mar 18;36(4):929-940. doi: 10.1093/humrep/deab014. PMID: 33608730

<sup>63</sup> Wang A, Kort J, Westphal L. Miscarriage history association with euploid embryo transfer outcomes. *Reprod Biomed Online*. 2019 Oct;39(4):617-623. doi: 10.1016/j.rbmo.2019.05.011. Epub 2019 May 21. PMID: 31395518.