



11204

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

CLINICA DE REPRODUCCION Y GENETICA AGN Y ASOCIADOS
HOSPITAL ANGELES DEL PEDREGAL

INFLUENCIA DE LA TRANSFERENCIA EMBRIONARIA EN DIA 2 ó 3 DE
DESARROLLO VERSUS BLASTOCISTO EN EL ÉXITO DE LOS CICLOS DE
FERTILIZACION IN VITRO / INYECCION INTRACITOPLASMATICA DE
ESPERMA (FIV / ICSI) EN LA CLINICA DE REPRODUCCION Y GENETICA DEL
HOSPITAL ANGELES DEL PEDREGAL

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALIDAD EN:

BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN HUMANA

P R E S E N T A :

DR. RUBEN MURAIRA HEREDIA

TUTOR DE TESIS:
DR. ALFONSO GUTIERREZ NAJAR
DRA. MILAGROS PACHECO TELLEZ



MÉXICO, D.F.

SEPTIEMBRE DE 2005

M352305



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

CLINICA DE REPRODUCCION Y GENETICA AGN Y ASOCIADOS
HOSPITAL ANGELES DEL PEDREGAL

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALIDAD EN :

BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION HUMANA

PRESENTA:

DR. RUBEN MURAIRA HEREDIA

MEXICO, D.F.

SEPTIEMBRE 2005

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCION	3
ANTECEDENTES CIENTIFICOS	5
MATERIAL Y METODOS	16
RESULTADOS	19
ANALISIS DE RESULTADOS	25
DISCUSION	27
CONCLUSIONES	29
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	30

RESUMEN

TITULO: Influencia de la transferencia embrionaria en día 2 ó 3 de desarrollo versus blastocisto en el éxito de los ciclos de Fertilización In Vitro / Inyección Intracitoplasmática de Esperma (FIV / ICSI) en la Clínica de Reproducción y Genética del Hospital Angeles del Pedregal.

OBJETIVO: Determinar si la transferencia de embriones en estadio de blastocisto produce tasas de embarazo satisfactoriamente más altas que la transferencia de embriones en el día 2 ó 3 de desarrollo en los ciclos de Fertilización In vitro / Inyección Intracitoplasmática de Esperma (FIV / ICSI), llevados a cabo en la Clínica de Reproducción y Genética del Hospital Angeles del Pedregal.

MATERIAL Y METODOS: Se realizó un estudio retrospectivo y comparativo y se estudiaron 191 parejas con infertilidad, incluidas en programas de reproducción asistida de FIV / ICSI.

Se incluyeron mujeres con edad menor o igual a 40 años.

Se dividieron a las pacientes en 2 grupos, el primero conformado por 132 mujeres en las que se llevó a cabo transferencia embrionaria (TE) en día 2 ó 3 de desarrollo. El segundo grupo conformado por 59 mujeres en que se llevó a cabo a cabo TE en estadio de blastocisto (quinto día de desarrollo).

El éxito del tratamiento se confirmó en base a la presencia de embarazo clínico, mediante cuantificación de de fracción beta de HCG 12 días posteriores a la TE, ultrasonografía vaginal con presencia de saco gestacional y embrión con actividad cardíaca.

Se calculó la tasa de embarazo e implantación para cada grupo.

El análisis estadístico se realizó mediante chi – cuadrada.

RESULTADOS: Se incluyeron 191 parejas con diagnóstico de infertilidad. En el grupo de pacientes en que se realizó TE en día 2 ó 3 de desarrollo se encontró embarazo clínico en 41 casos (31.06%), embarazo anormal en 8 casos (6.06%) y no se logró embarazo en 83 casos (62.8%).

En el grupo de pacientes en los que se realizó Te en blastocisto (quinto día de desarrollo), se encontró embarazo clínico en 11 casos (18.64%), embarazo anormal en 4 casos (6.77%) y no se logró embarazo en 44 casos (74.60%).

La tasa de implantación fue de 13.41% para el primer grupo y de 9.39% para el segundo.

No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los grupos $p > 0.05$.

CONCLUSION: La tasa de embarazo no es mejor cuando se transfiere en blastocisto, en comparación a la TE en día 2 ó 3 de desarrollo.

PALABRAS CLAVE: Transferencia embrionaria, blastocisto.

INTRODUCCION

Mejorar las tasas de implantación y disminuir las tasas de embarazo múltiple es preocupación constante de todos los centro de Reproducción Asistida.

La meta final de los tratamientos de Fertilización In Vitro y cultivo de embriones es obtener embriones de calidad capaces de continuar su desarrollo normal hasta el nacimiento.

Por lo tanto, es de vital importancia para las Técnicas de Reproducción Asistida identificar los mejores embriones para transferir.

Cada vez se desarrollan mejores parámetros para pronosticar cuáles embriones tendrán mayores oportunidades de llegar a etapa de blastocisto y evitar la pérdida excesiva de embriones destinada a no tolerar el cultivo prolongado.

La implantación no solo se debe al embrión sino también a la receptividad uterina.

En lo referente al embrión, había observaciones previas de que los embriones de cinco o seis días en etapa de blastocisto presentan tasas de implantación mejores, solo que eran muy bajas las posibilidades de los laboratorios de lograr blastocistos viables.

A partir de 1997, con mejores medios de cultivo, secuenciales y cocultivos, empiezan a producirse comunicaciones de mejores índices de embriones que llegan viables a la etapa de blastocisto y que las tasas de embarazo se incrementan de manera notable.

El cultivo de blastocistos es una alternativa útil en centros de Reproducción Asistida, pero no debe utilizarse indiscriminadamente sin analizar cuáles pacientes y embriones obtendrán beneficios reales de su aplicación.

ANTECEDENTES CIENTIFICOS

El ovocito fecundado avanza durante sus tres primeros días de vida por la trompa, mientras se producen sucesivas divisiones celulares. En el estadio de mórula alcanza el útero y allí continúa su desarrollo hasta el estadio de blastocisto, implantándose entre el quinto y sexto día de desarrollo.

Los embriones en estadio de 8 células se van dividiendo y diferenciando hasta alcanzar el estadio de blastocisto, en el que se pueden distinguir 2 líneas celulares. (1)

El blastocisto es un embrión que ha llegado a un estadio en donde se identifican 2 diferentes tipos celulares y una cavidad central llena de líquido. Las células superficiales llamadas trofoectodermo darán origen a la placenta y la masa celular interna dará origen al embrión. La formación del blastocisto en el humano ocurre al quinto día de fertilización.(1)

La regulación del tipo y el número de células durante el desarrollo embrionario de los mamíferos generalmente está regulado por los procesos de división, diferenciación y muerte celular o apoptosis. (2)

La apoptosis se produce en los blastocistos por primera vez, predominantemente en la masa celular interna.

En condiciones de cultivo no óptimas, se produce un aumento del número de células apoptóticas observando, lo que hace pensar que la apoptosis está regulada por factores de supervivencia, secretados tanto por el embrión, como por el tracto reproductor materno.

La división celular, la diferenciación y la apoptosis de los embriones están reguladas en parte por factores de crecimiento.

El desarrollo embrionario preimplantatorio in vitro se produce más despacio y con menos éxito que en el útero.

La maduración del blastocisto se produce por el delicado equilibrio entre las señales de supervivencia y de muerte en el ambiente uterino.

Watson y cols (2004) en un estudio realizado en el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Calgary, consideran que la formación del blastocisto es regulada por una Na/K ATP asa, que genera un gradiente iónico en el trofoectodermo que promueve la acumulación de agua a través del epitelio, que aunado a otros mecanismos moleculares, culmina con la expansión del blastocisto.

Estos eventos conocidos como canales de agua o acuaporos, son los mediadores fisiológicos del movimiento de los fluidos a través del trofoectodermo.(3)

La finalidad de las técnicas de fecundación in vitro (FIV) y el cultivo embrionario es conseguir embriones de buena calidad capaces de desarrollarse e implantar, lo que daría lugar a nacimientos viables.

A pesar de los esfuerzos, siempre se ha observado in vitro un desarrollo embrionario lento, que conlleva una detención del desarrollo en el momento de la activación genómica. (3)

El metabolismo del embrión está disminuido in vitro, mientras que el intercambio proteico se acelera. Asimismo, se ha observado un descenso de la viabilidad y número de células, como consecuencia de las condiciones de cultivo subóptimas.

Por esta razón, durante muchos años se han transferido embriones durante los estadios de células, ya que no se sabía lo suficiente como para poder prolongar el cultivo más allá de estos estadios.

Nueber y cols. realizaron un estudio en 191 pacientes bajo ciclos de FIV/ICSI en el Centro de Medicina Reproductiva e Infertilidad de la Universidad de Yale y determinaron que la evaluación temprana de marcadores es un indicador pronóstico de buen desarrollo a blastocisto. Los marcadores estudiados fueron: presencia de 2 pro núcleos, orientación de los 2 pro núcleos respecto a los cuerpos polares, simetría de los pro núcleos y la calidad del citoplasma. (4)

El entorno del embrión evidentemente sufre cambios durante su recorrido a lo largo de la trompa hasta el útero. La formación correcta del blastocisto es un indicador temprano de la calidad del embrión, aunque el indicador determinante es, por supuesto, la tasa de recién nacidos vivos por transferencia.

Sabemos que la fecundación se produce rápidamente tras la inseminación. Unas pocas horas de contacto ovocito-espermatozoide son suficientes para provocar la serie de acontecimientos que se observan tras la inseminación durante toda la noche.

Si la inseminación se realiza a las 11 a.m. el día 0 (procedimiento habitual si la punción folicular comienza a las 8 a.m.), el segundo corpúsculo polar es extruido unas 6 horas después de la inseminación (PI). La aparición de los 2 pro núcleos se puede observar 17-20horas PI y se alcanza el estadio de 2 células aproximadamente 30 horas PI (antes de ICSI). El estadio de 4 células se alcanza 40-50 horas PI. En este estadio, comienza el ciclo de activación genómica, que requiere 24 horas para completarse. Los "mejores" embriones suelen llegar al estado de mórula compactando (unas 32 células) a las 96 horas PI. En la mañana del día 5, ya ha comenzado la diferenciación del blastocisto: el número de células puede variar considerablemente, de 50 a 100-120 en el caso de los blastocistos que comiencen a expandir. Estos blastocistos pueden eclosionar en la mañana del día 6, aunque este proceso normalmente se observa el día 7. (2)

Debemos tener en cuenta que la eclosión (hatching) in vivo es un proceso dual que conlleva la lisis, no solo por el trofoectodermo, sino también por secreciones uterinas mediante enzimas proteolíticas como la quimotripsina. (2)

Con el uso del cocultivo o de los medios secuenciales, se espera una tasa media de formación de blastocisto del 45-50% en la población general. (2)

El desarrollo hasta blastocisto puede verse afectado por :

Factores maternos: la edad materna puede retrasar el desarrollo inicial del blastocisto.

Factores paternos: una calidad espermática comprometida reduce considerablemente la tasa de formación de blastocisto.

Factores epigenéticos y genéticos.

Factores citogenéticos: la manipulación in vitro de los gametos aumenta el riesgo de anomalías citogenéticas, que son responsables del bloqueo de al menos la mitad de los embriones.(2)

Las explicaciones de por qué los blastocistos presentan mayores posibilidades de implantación que los embriones en etapas iniciales de desarrollo son las siguientes:

- Las condiciones del útero y del oviducto son diferentes y como la jornada del óvulo fecundado al útero es de 4-6 días, la transferencia de embriones de segundo o tercer día tienen menos posibilidades de implantación que la de aquellos que alcanzan el día 5 ó 6.
- La estimulación ovárica controlada altera el ambiente materno, de donde resulta que , aunque éste sea el ambiente natural, en ocasiones es mucho más benéfico proporcionar las condiciones ideales in vitro.
- El cultivo a blastocisto selecciona a los embriones de mejor potencial, puesto que un mínimo de 25% de los embriones presenta anomalías cromosómicas y esta cifra aumenta con la edad.
- El desarrollo de embriones a blastocisto les proporciona la oportunidad de la activación postgenómica y expresar todo su potencial.
- Las contracciones uterinas aumentan el día de la aspiración de los ovocitos y persisten hasta 3 días después, por lo que transferirlos en el día 5 ó 6 disminuye las posibilidades de expulsión embrionaria.(5)

A pesar de los numerosos adelantos en el área de la fertilización in vitro (FIV), muchas de las técnicas de cultivo de embriones y tasas de implantación posteriores ampliamente aplicadas, continúan siendo las mismas, desde el primer tratamiento realizado a mediados de los años setenta.

La razón fundamental del cultivo de blastocistos es mejorar la sincronidad del desarrollo uterino y embrional y proporcionar un mecanismo para la autoselección de los embriones viables.

La introducción mundial de esta técnica se debe a numerosos informes sobre los beneficios clínicos del cultivo de blastocistos, a pesar de pruebas definitivas deficientes que la justifiquen. (5)

Gardner y cols. señalan un aumento en la eficiencia de los programas de reproducción asistida con el uso de medios secuenciales.

Utiliza medios S1/G1 para las primeras 48 ó 72 horas de cultivo y el S2/G2 hasta el día 5 ó 6. (6)

Kosasa y cols. en un estudio retrospectivo de 61 pacientes, realizado de enero de 2002 a diciembre de 2003, encontraron que los embriones criopreservados provenientes de medios de cultivo secuenciales y descongelados para la transferencia embrionaria, presentaron tasa de embarazo del 66%. (7)

Blake y cols. (2005) después de una revisión de 10 ensayos controlados aleatorios hasta la fecha se ha demostrado poca diferencia entre los principales parámetros de resultado entre la transferencia temprana de embriones y el cultivo de blastocistos. (8)

Utsunomiya y cols en un estudio prospectivo realizado en Japón, compararon los índices de embarazo e implantación comparando la transferencia embrionaria en día 3 versus blastocisto en eclosión. Analizaron un total de 480 pacientes sometidas a ciclos de FIV sin encontrar diferencias estadísticamente significativas en ambos grupos. (9)

Hreinsson y cols en un estudio prospectivo realizado en Estocolmo, Suecia, compararon los índices de implantación y embarazo después de la transferencia embrionaria en estadio de clivaje (día 2 ó 3), y en estadio de blastocisto (día 5 ó 6) con un máximo de 2 embriones transferidos. Estudiaron 144 pacientes, en 80 se realizó transferencia embrionaria en día 2 ó 3 y en 64 transferencia embrionaria en día 5 ó 6 de desarrollo.

No encontraron diferencias estadísticamente significativas en la tasa de implantación (21.1 v.s. 20.9%, respectivamente), ni en la tasa de embarazo (36.7 v.s. 32.5%, respectivamente) en ambos grupos.

El índice de embarazo entre aquellos sujetos que tuvieron menos de un embrión de buena calidad al día de la transferencia fue de 37.5% para TE en día 2 ó 3 y de 60% para día 5 ó 6, lo que indica que la TE en blastocisto es una buena alternativa para parejas con embriones de buena calidad en día 2 post- inseminación. (10)

Una de las cuestiones más importantes a resolver en las pacientes sometidas a fertilización in vitro es poder elegir que embriones transferir sin disminuir la oportunidad de embarazo y a su vez evitando el embarazo múltiple.

Hoy en día se eligen los embriones de acuerdo a su apariencia. A pesar de que se sabe que los embriones de buen aspecto tienen mayor oportunidad de implantar que los que poseen fragmentos o están dañados, sólo un 20% de ellos van a lograr implantarse. Además no hay garantía de que los embriones de buen aspecto sean genéticamente normales.

Un embrión que se desarrolla normalmente hasta estadio de blastocisto, tiene mejor oportunidad de implantar. Las primeras divisiones del embrión están controladas por los genes maternos y no por la combinación genética heredada por el mismo. Los genes embrionarios comienzan a funcionar cuando se llega al estadio de 4-8 células. Muchos embriones ya fueron transferidos en esa etapa del desarrollo momento en el cual son pluripotenciales, es decir, que tienen la capacidad de desarrollar cualquier tipo de célula.

El hecho de que un embrión llegue a estadio de blastocisto, significa que sobrevivió en cultivo por 5-6 días, que tiene una gran cantidad de células y que tiene los genes activos ya que el desarrollo de 2 tipos de células nos da esa pauta. Se vio que un 15-20% de los pacientes que tienen embriones con un clivaje temprano, no van a tener embriones en estadio de blastocisto para transferir.

En aquellos pacientes en que los embriones no llegan a estadio de blastocisto, se vio que el 10% lograría un embarazo si se hubiera realizado la transferencia en estadios más iniciales de clivaje. (10)

Para las parejas con varios fracasos transfiriendo embriones de buena calidad en estadios tempranos de clivaje, la transferencia de blastocistos les asegura que los embriones a transferir tienen un alto potencial. Si los embriones no llegan a estadio de blastocisto se puede considerar que la falla de esta pareja estaría en la falta de desarrollo del potencial.

La habilidad de seleccionar los embriones es una gran ventaja en las pacientes con alto riesgo de embarazo múltiple, como es el caso de las pacientes jóvenes. Esto es de suma importancia ya que el embarazo múltiple trae aparejado muchas complicaciones de índole no sólo médica sino que también cuestiones sociales y económicas.

Wilson y cols., llevaron a cabo un estudio retrospectivo realizado en Kansas City donde determinaron que cultivar embriones hasta día 5 antes de la transferencia, reduce el número de embriones transferidos y los embarazos de alto orden fetal.

Compararon la TE en mujeres bajo tratamiento con FIV de embriones expandiendo (blastocisto) y sin expansión (blastocisto temprano y mórula), ambos transferidos en día 5, encontrando mejores tasas de embarazo e implantación en los primeros.

Esta selección de embriones con alto potencial de implantación produce índices aceptables de embarazo, sin necesidad de transferir más de 2 embriones. (11)

Schwarzler y cols. mediante un estudio de cohorte retrospectivo llevado a cabo en la Universidad de Innsbruck, Austria evaluaron las diferencias en los resultados del embarazo después de la transferencia en blastocisto, en comparación con la transferencia embrionaria en clivaje temprano.

Estudiaron un total de 1259 ciclos de FIV y 500 recién nacidos. La tasa de embarazo fue de 44% para el grupo en estadio de blastocisto v.s. 28% para el grupo en estadio de clivaje, pero con mayor número de embarazo múltiple y parto pretérmino.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los resultados neonatales.(12)

Los blastocistos, al igual que los embriones en estadios más tempranos pueden criopreservarse.

Las tasas de embarazo con blastocistos de buena calidad es la misma que transfiriendo en fresco. Los embriones descongelados en pro núcleo o en estadios tempranos pueden llevarse a estadio de blastocisto para mejorar la selección a transferir.(13)

Edgar, Archer y cols. (2004) en un estudio realizado en Australia, demostraron que los embriones criopreservados en estadios tempranos y que sobreviven a la congelación y descongelación, tienen un desarrollo potencial equivalente al de embriones en fresco, por lo que la pérdida de blastómeras está directamente relacionada a la pérdida del subsecuente potencial de implantación en embriones descongelados. Esto sugiere que la lisis de las blastómeras durante el proceso de congelación y descongelación no ocurre en blastómeras no viables.

Cuando la pérdida de las blastómeras ocurre como consecuencia de congelación, el desarrollo de los embriones a la descongelación tanto de los estadios tempranos, como de los blastocistos empeora con una reducción del contenido total de sus células.

La pérdida de blastómeras es más frecuente en embriones que han sido biopsiados para diagnóstico genético preimplantación pero incrementa la sensibilidad alrededor de las modificaciones de los estándares de los protocolos de criopreservación. (14)

Smith y cols. mediante reporte de un caso, concluyen que los blastocistos humanos pueden ser congelados y descongelados y producir el nacimiento de un bebé sano después de la TE, aunque se requieren más estudios para determinar la supervivencia, implantación e índice de nacidos vivos con blastocistos humanos sometidos a congelación/descongelación. (15)

MATERIAL Y METODOS

Mediante estudio retrospectivo y comparativo, se estudiaron parejas con diagnóstico de infertilidad, incluidas en programas de reproducción asistida de fertilización in vitro (FIV) e inyección intracitoplasmática de esperma (ICSI) y protocolos de preparación endometrial para transferencia de embriones (PE-TE) con embriones criopreservados, en la Clínica de Reproducción y Genética del Hospital Ángeles del Pedregal, del 01 de enero del 2002 al 30 de junio del 2005.

Criterios de inclusión:

- Infertilidad primaria, definiendo a ésta como ausencia de embarazo posterior a 12 meses de relaciones sexuales, sin utilización de método anticonceptivo.
- Infertilidad secundaria, definiendo a ésta como ausencia de embarazo posterior a 12 meses de relaciones sexuales, sin utilización de método anticonceptivo, cuando se produjo un embarazo previo (sin importar su culminación) , luego del cual después de intentar una nueva gestación hay imposibilidad para lograrla.
- Edad menor o igual a 40 años.
- Cavidad uterina normal.

Criterios de exclusión:

- Contraindicación para la gestación.
- Ciclos de ovodonación.
- Signos clínicos y de laboratorio de hiperestimulación ovárica severa.
- Aquellos casos que requirieron interrupción o cancelación del ciclo por falta de respuesta al tratamiento.

Las pacientes que cumplieron con los criterios de ingreso se dividieron en 2 grupos:

El primer grupo lo conformaron pacientes en que se llevó a cabo transferencia embrionaria en día 2 ó 3 de desarrollo.

El segundo grupo lo conformaron pacientes en que se llevó a cabo transferencia embrionaria en estadio de blastocisto (quinto día de desarrollo).

El embarazo clínico se confirmó mediante cuantificación de fracción beta HCG a los 12 días posteriores a la transferencia embrionaria, ultrasonografía vaginal con presencia de saco gestacional y embrión con actividad cardíaca y se calculó la tasa de embarazo y de implantación para cada grupo.

Tasa de embarazo = $\frac{\text{No. de embarazos}}{\text{No. de ciclos transferidos}} \times 100$

Tasa de implantación = $\frac{\text{No. de sacos por USG}}{\text{No. Embriones transferidos}} \times 100$

El análisis estadístico se realizó mediante chi-cuadrada.

RESULTADOS

Se incluyeron 191 parejas con diagnóstico de infertilidad, de las cuales 129 (67.54%) cursaron infertilidad primaria y 62 (32.46%) infertilidad secundaria (cuadro No. 1).

Las pacientes que cumplieron con los criterios de ingreso, se dividieron en 2 grupos de acuerdo al día de la transferencia embrionaria (TE).

En el primer grupo se incluyeron 132 pacientes (69.11%) en las que se llevó a cabo TE en día 2 ó 3 de desarrollo (Cuadro No. 2).

La edad promedio en este grupo fue de 33.2 años, con un rango de 23 a 39 años.

En el segundo grupo se incluyeron 59 pacientes (30.89%) en donde se llevó a cabo TE en blastocisto (quinto día de desarrollo) (Cuadro No. 2).

La edad promedio en este grupo fue de 35.6 años, con un rango de 23 a 39 años.

Se realizaron 134 ciclos de Fertilización In Vitro / Inyección Intracitoplasmática de Esperma (FIV/ICSI) y 57 ciclos de Preparación Endometrial para Transferencia Embrionaria de embriones criopreservados (PE-TE).

En el primer grupo donde se llevó a cabo TE en día 2 ó 3 de desarrollo se logró embarazo clínico confirmado con cuantificación de fracción beta de HCG a los 12 días posteriores a la TE y ultrasonografía vaginal con presencia de saco gestacional y embrión con actividad cardíaca en 41 casos (31.06%).

Se observó embarazo anormal, incluyendo aborto, ectópico y bioquímico en 8 casos (6.06%) y no se logró embarazo en 83 casos (62.88%) (Cuadro No. 3, Gráfica No. 1).

En el segundo grupo en donde se llevó a cabo TE en blastocisto (quinto día de desarrollo) se logró embarazo clínico confirmado con cuantificación de fracción beta de HCG a los 12 días posteriores a la TE y ultrasonografía vaginal con presencia de saco gestacional y embrión con actividad cardiaca en 11 casos (18.64%).

Se observó embarazo anormal, incluyendo aborto, ectópico y bioquímico en 4 casos (6.78%) y no se logró embarazo en 44 pacientes (74.58%) (Cuadro No. 4, Gráfica No. 1).

El número de embriones transferidos en el primer grupo (día 2 ó 3 de desarrollo) fue de 425 y en el segundo grupo (TE en blastocisto) fue de 149.

En ninguno de los grupos se llevó a cabo TE de más de 5 embriones por ciclo.

La tasa de embarazo global para ambos grupos fue de 27.22 de cada 100.

La tasa de implantación global para ambos grupos fue de 12.36 por cada 100.

La tasa de embarazo para el primer grupo en donde se llevó a cabo TE en día 2 ó 3 de desarrollo fue de 31.06 de cada 100.

La tasa de implantación para este grupo fue de 13.41 de cada 100 (Cuadro No.5, Gráfica No.2).

La tasa de embarazo para el segundo grupo en donde se llevó a cabo TE en blastocisto (quinto día de desarrollo) fue de 18.64 de cada 100.

La tasa de implantación para este grupo fue de 9.39 de cada 100 (Cuadro No.5, Gráfica No. 2).

CUADRO NO. 1

Población observada según infertilidad en la Clínica de Reproducción y Genética del Hospital Angeles del Pedregal. 2002 - 2005

PAREJAS	FRECUENCIA	%
INFERTILIDAD PRIMARIA	129	67.54
INFERTILIDAD SECUNDARIA	62	32.46
TOTAL	191	100.00

FUENTE: Base de datos de FIV. Clínica de Reproducción y Genética del Hospital Angeles del Pedregal. 2002 – 2005

CUADRO No. 2

Población observada según día de la TE en la Clínica de Reproducción y Genética del Hospital Angeles del Pedregal.
2002 - 2005

GRUPO	FRECUENCIA	%
TE DÍA 2 ó 3 DE DESARROLLO	132	69.11
TE BLASTOCISTO	59	30.89
TOTAL	191	100.00

FUENTE: Base de datos de FIV. Clínica de Reproducción y Genética del Hospital Angeles del Pedregal. 2002 – 2005

CUADRO No. 3

Resultados de la TE en día 2 ó 3 de desarrollo en la Clínica de Reproducción y Genética del Hospital Angeles del Pedregal.
2002 - 2005

RESULTADO	FRECUENCIA	%
EMBARAZO CLINICO	41	31.06
EMBARAZO ANORMAL	8	6.06
AUSENCIA DE EMBARAZO	83	62.88
TOTAL	132	100.00

FUENTE: Base de datos de FIV. Clínica de Reproducción y Genética del Hospital Angeles del Pedregal. 2002 - 2005

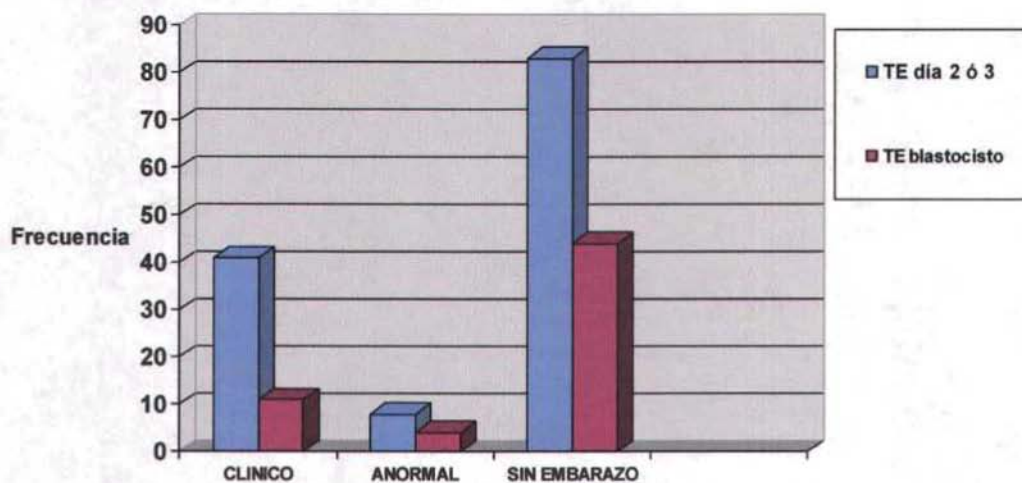
CUADRO No. 4

Resultados de la TE en blastocisto en la Clínica de Reproducción y Genética del Hospital Angeles del Pedregal. 2002 - 2005

RESULTADO	FRECUENCIA	%
EMBARAZO CLINICO	11	18.64
EMBARAZO ANORMAL	4	6.78
AUSENCIA DE EMBARAZO	44	74.58
TOTAL	59	100.00

FUENTE: Base de datos de FIV. Clínica de Reproducción y Genética del Hospital Angeles del Pedregal. 2002 - 2005

Gráfico No.1 Resultado de la TE en día 2 o 3 de desarrollo v.s. Blastocisto en Clínica de Rep&Gen HAP 2002-2005



Fuente: base de datos FIV Rep&Gen HAP 2002-2005

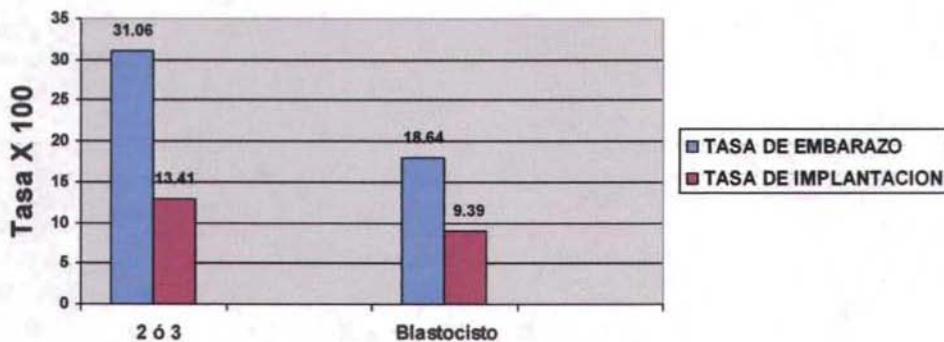
CUADRO No. 5

Tasas de embarazo e implantación en la población observada según día de la TE en la Clínica de Reproducción y Genética del Hospital Angeles del Pedregal. 2002 - 2005

GRUPO	TASA DE EMBARAZO X 100	TASA DE IMPLANTACION X 100
TE DÍA 2 ó 3 DE DESARROLLO	31.06	13.41
TE BLASTOCISTO	18.64	9.39

FUENTE: Base de datos de FIV. Clínica de Reproducción y Genética del Hospital Angeles del Pedregal. 2002 - 2005

Gráfica No.2 Tasas de embarazo e implantación según día de la TE en Clínica de Rep&Gen HAP 2002-2005



Día de la Transferencia Embrionaria
Fuente: Base de datos FIV Clínica Rep&Gen HAP. 2002-2005

ANALISIS DE RESULTADOS

En el estudio realizado la tasa de embarazo en el primer grupo en donde se llevó a cabo TE en día 2 ó 3 de desarrollo es mayor a la tasa de embarazo global de ambos grupos 31.06 v.s. 27.22 de cada 100, respectivamente.

La tasa de implantación encontrada en este grupo es similar a la tasa global de implantación de ambos grupos 13.41 v.s. 12.36 de cada 100, respectivamente.

En el estudio realizado la tasa de embarazo en el segundo grupo en donde se llevó a cabo TE en estadio de blastocisto es menor que la tasa global de embarazo para ambos grupos 18.64 v.s. 27.22 de cada 100, respectivamente.

La tasa de implantación encontrada en este grupo también es menor que la tasa global de implantación para ambos grupos 9.39 v.s. 12.36 de cada 100, respectivamente.

La tasa de embarazo en el primer grupo (TE día 2 ó 3 de desarrollo) es mayor que la encontrada para el segundo grupo en donde se llevó a cabo TE en estadio de blastocisto 31.06 v.s. 18.64 de cada 100, respectivamente.

La tasa de implantación en el grupo en donde se llevó a cabo TE en día 2 ó 3 de desarrollo es mayor que la encontrada para el grupo en donde se llevó a cabo TE en estadio de blastocisto 13.41 v.s. 9.39 de cada 100, respectivamente.

Se realizó la prueba estadística de chi – cuadrada (X^2) al estudio en donde:

$$X^2 = \sum \frac{(e - O)^2}{e}$$

S = Sumatoria

e = Valor esperado

O = Valor observado

Obteniéndose $p = 0.9$ lo cual no es estadísticamente significativo, ya que p debe ser < 0.05 . No existe diferencia estadísticamente significativa cuando se realiza transferencia embrionaria (TE) en estadio de blastocisto, que cuando se realiza TE en división (día 2 ó 3 de desarrollo), por lo tanto se deberá ampliar la muestra para obtener resultados con significancia estadística.

DISCUSION

Uno de los factores determinantes para el éxito de las Técnicas de Reproducción Asistida radica en la tasa de implantación por embrión y es baja en transferencias de segundo y tercer día en comparación con las tasas de implantación espontáneas.

Una de las maneras más sencillas de lograr mejores tasas de embarazo ha sido transferir más embriones, práctica que ha llevado a un incremento notable en la incidencia de embarazos múltiples, con mayores repercusiones maternas, fetales, económicas y sociales (13).

Posteriormente con el uso de medios de cultivo secuenciales y cocultivos, se logra que las tasas de embarazo se incrementen de manera notable (6).

Aunque efectivamente había mejoría en las tasas de implantación, también había un alto índice de pérdida de embriones en su desarrollo a blastocisto e incluso ciclos en los que se terminaba sin embriones que transferir (6).

Nuestros resultados son similares a los observados por algunos investigadores (8, 10), que no han encontrado diferencias estadísticamente significativas en el éxito de Tratamientos de Reproducción Asistida, llevados a cabo con transferencia embrionaria (TE) en estadio de división (día 2 ó 3 de desarrollo), que cuando se realiza en blastocisto (quinto día de desarrollo).

En nuestro estudio encontramos que no existe diferencia estadísticamente significativa entre la TE en día 2 Ó 3 de desarrollo y la TE en estadio de blastocisto, por lo que esta última es una alternativa útil, pero no debe utilizarse sin analizar cuáles pacientes y embriones obtendrán beneficios reales de su aplicación.

CONCLUSIONES

1.- La tasa de embarazo no es mejor cuando se realiza transferencia embrionaria (TE) en estadio de blastocisto, en comparación a la TE en día 2 ó 3 de desarrollo.

2.- La tasa de implantación no es mejor cuando se realiza TE en estadio de blastocisto, en comparación a la TE en día 2 ó 3 de desarrollo.

3.- La validación estadística por medio de chi – cuadrada (χ^2) nos da obliga a obtener una mayor muestra y dar significancia estadística a las conclusiones.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Gardner DK, Vella P, Lane M, Wayley L, Schlenker T, Schollcraft WB. Culture and transfer of human blastocysts increases implantation rates and reduces the need for multiple embryo transfers. *Steril* 1998; 69: 84-8.
- 2.- Remohi J, et al. Reproducción humana. 2ª ed. México: Mc Graw Hill 2002. 401-412.
- 3.- Watson A, Natale DR, Barcroft RC. Molecular regulation of blastocyst formation. *Anim Reprod Sci* 2004; 82: 583-92.
- 4.- Neuber E, Rinaudo P, Trimarchi JR, Sakkas D. Secuential assessment of individually cultured human embryos as an indicator of subsequent good quality blastocyst development. *Hum Reprod* 2003; 18: 1307-12.
- 5.- Pérez PE. Atención integral de la infertilidad. 1ª ed. México: Mc Graw Hill 2003. 533-53.
- 6.- Gardner DK, Lane M, Schoolcraft WB. Culture and transfer of viable blastocyst: a feasible proposition for human IVF. *Steril* 2000; 15: 9-23.

7.- Kosasa TS, Mc Namee PI, Morten C, Huang TT. Pregnancy rates after transfer of cryopreserved blastocyst cultured in a sequential media. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 192: 2035-9.

8.- Blake D, Proctor M, Johnson N, Olive D. Revisión Cochrane. Biblioteca Cochrane Plus 2005; 1.

9.- Utsunomiya T, Ito H, Nagaki M, Sato J. A prospective, randomized study: day 3 versus hatching blastocyst stage. *Hum Reprod* 2004; 19: 1598-603.

10.- Hreinsson J, Rosehlund B, et al. Embryo transfer is equally effective at cleavage stage and blastocyst stage: a randomized prospective study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004; 117: 194-200.

11.- Wilson M, Hartke K, Kiehl M, Rodgers J, Brabec C, Lyles R. Transfer of blastocysts and morulae on day 5. *Fertil Steril* 2004; 82: 327-33.

12.- Schwarzler, P, Zech H, et al. Pregnancy outcome after blastocyst transfer as compared to early cleavage stage embryo transfer. *Hum Reprod* 2004; 19: 2097-102.

13.- Geller M. Fertilización in vitro. Transferencia en estadio de blastocisto. Una alternativa para disminuir los embarazos múltiples. *Obgyn Esp* 2000.

14.- Edgar DH, Archer J, Gook DA, et al. Survival and developmental potencial of stored human early cleavage stage embryos. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004; 115: 8-11.

15.- Smith LK, Roots EH, Dorsett MJ. Live birth of a normalhealthy baby after a frozen embryo transfer with blastocyst that were frozen and thawed twice. *Fertil Steril* 2005; 83: 198-200.