



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**  
PROGRAMA ÚNICO DE ESPECIALIZACION MÉDICAS  
FACULTAD DE MEDICINA

COMPARACIÓN ENTRE LAS TASAS DE EMBARAZO Y EMBARAZO CLÍNICO  
CON TRANSFERENCIA DE EMBRIONES VITRIFICADOS, SEGÚN EL GRADO  
DE CALIDAD EMBRIONARIA Y LA DOSIS DE HIPERESTIMULACION OVARICA  
CONTROLADA UTILIZADA.

TESIS  
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
SUBESPECIALISTA EN  
BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION

PRESENTA  
DR. LORENZO GONZALEZ BERCHELMANN

TUTOR  
DR. JULIO CESAR ROSALES DE LEÓN  
BIOLOGO DE LA REPRODUCCION

MONTERREY, NUEVO LEÓN A 23 DE FEBRERO 2015



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.

## Agradecimientos

Esta tesis representa la culminación de una etapa muy importante en mi vida y el parte aguas entre la vida de residente con la de la vida laboral como un médico sub-especialista. Haber logrado llegar hasta este punto en mi vida es algo que me tomo mucho tiempo, esfuerzo y dedicación, el cual sin duda no se hubiera logrado sin el apoyo de múltiples personas, imposible de nombrar a todas y cada una de ellas. Todas de estas personas merecen mis más sinceros agradecimientos que sin ellos no hubiera sido posible llegar hasta este punto.

A mi familia (padre, madre, hermana y abuelos) le agradezco su incondicional apoyo, su confianza y su guía a través de todo este largo camino, el cual aún no termina, pero sin duda alguna es un gran paso más.

A mi esposa la cual se que sin ella no hubiera concluido esta etapa tan importante en mi vida, dándome siempre apoyo. Sus consejos y su paciencia me han logrado guiar mis ideas, siendo un aporte invaluable, no solo en esta tesis pero también en mi formación como profesionista y como ser humano.

Muchos son mis maestros que me ayudaron a salir adelante en esta etapa de mi vida, por lo que les agradezco por su gran apoyo y enseñanza. A todos mis compañeros y la gente que me rodeó, los cuales merecen mi agradecimiento pero que se que si los nombraría sería un sin fin de hojas, ellos saben quienes son y les agradezco por haber plasmado esa huella en mi persona

Se que siempre contare con todas estas personas para alguna orientación, algún consejo, alguna enseñanza, no solo de medicina pero de la vida, así como para simplemente una buena charla. Solo me queda decir mis más sinceras gracias.

## Índice

Tema	Página
1.0 Justificación	4
2.0 Marco teórico	12
3.0 Planteamiento del problema	23
4.0 Hipótesis	26
5.0 Objetivo	27
5.1 Objetivo general	
5.2 Objetivo específico	
6.0 Materiales y métodos	28
6.1 Diseño del estudio	
6.2 Población y muestra	
6.3 Grupos de estudio	
7.0 Criterios de selección	31
7.1 Criterios de inclusión	
7.2 Criterios de exclusión	
7.3 Criterios de eliminación	
8.0 Instrumentos y procedimientos	33
9.0 Resultados	34
10.0 Discusión	50
11.0 Conclusión	54
12.0 Bibliografía	55

## 1.0 JUSTIFICACIÓN

El motivo del presente trabajo de investigación es debido a que el tratamiento de fertilización in vitro (FIV) requiere una hiperestimulación ovárica controlada (HOC), la cual se puede realizar mediante protocolos de agonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) para lograr la supresión hipofisaria o mediante protocolos de antagonistas de la GnRH, esto aunado al tratamiento mediante gonadotropinas.<sup>1</sup> Las primeras gonadotropinas utilizadas para dicha estimulación provenían de mujeres postmenopáusicas (hMG), y se caracterizan por una baja actividad específica, es decir con una pureza relativamente baja (<5% de hormona folículo estimulante (FSH, por sus siglas en inglés), y presencia de hormona luteinizante (LH).<sup>2,3</sup>

Conforme pasaron los años y avanzó la tecnología, la pureza de dichas menotropinas también mejoró, siendo ahora preparados urinarios de FSH altamente purificados (FSHu,) en los cuales el 95% de la proteína era propiamente FSH con un contenido de LH menor o residual, siendo esta inferior a 0.1 unidades internacionales (UI) por 1,000 UI de FSH.<sup>4</sup> Posteriormente, y con la llegada de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se logró un desarrollo revolucionario en el campo de la reproducción asistida, al lograr desarrollar la FSH recombinante (FSH-r) la cual más del 99% es de FSH pura, sin poseer actividad propia de LH, siendo prácticamente idéntica a la FSH endógena.<sup>5</sup>

Una de las propiedades únicas de esta FSHr es la bioactividad que posee siendo superior a la hMG, esto tanto in vivo como in vitro.<sup>6,7</sup> Diversos estudios realizados hasta la fecha han logrado demostrar que la FSHr es más potente que la FSHu, esto al tener en cuenta el número de ovocitos recuperados mediante la aspiración, el número de óvulos fertilizados y divididos así como en la dosis total

utilizada.<sup>8</sup> Se han utilizado dosis bajas de FSHr en tratamientos de FIV obteniendo buenos resultados y observando que un aumento de la dosis de FSHr no mejora significativamente los resultados; sin embargo no existe un claro panorama en lo que respecta a si la dosis de FSHr utilizada posee un impacto directo con la calidad de ovocitos fertilizados y divididos, así como los resultados subsiguientes de embarazo bioquímico, clínico y nacido vivo.<sup>9</sup>

El primer embarazo humano posterior a la criopreservación y desvitrificación de un embrión fue dado en el año de 1983 por el Biol. Alan Trounson y la Dra. Linda Mohr. El advenimiento en las técnicas de vitrificación durante las últimas tres décadas, ha dado como resultado una notoria mejoría en los resultados reproductivos mediante la utilización de óvulos y embriones criopreservados.

A la fecha, y con lo anteriormente mencionado, la calidad de embriones congelados, el potencial de implantación, las tasas de embarazo así como las de nacidos vivos son prácticamente similares a las observadas con embriones utilizados en fresco.<sup>1</sup> Durante los últimos diez años, diversos autores, a través de distintas publicaciones de alto impacto, se han dedicado a comparar los resultados reproductivos entre los ciclos en fresco y los ciclos con embriones desvitrificados (FET), mostrando una ligera mejoría en la tendencia de los ciclos de embriones desvitrificados.<sup>10</sup>

Como es bien sabido, una de las etapas de mayor importancia e impacto es la de la implantación, esto en cuanto al éxito de las técnicas de reproducción asistida (TRA) se refiere. Dicha etapa tiene un periodo, llamada la ventana de implantación, la cual es auto limitada, bien definida y en donde el endometrio ya ha adquirido una morfología tanto adecuada como funcional, para lograr así la tan esperada implantación.

La falla en esto último, la implantación, tiene una presentación común dentro de los ciclos de fertilización in vitro (FIV). El éxito en este tipo específicos de procedimientos depende de la sincronía entre un embrión viable y un endometrio receptivo. En el caso de que la sincronía no se dé, se producirá una falla en la implantación.

La hiperestimulación ovárica controlada (HOC) es utilizada, rutinariamente, para lograr obtener un número mayor de ovocitos, en comparación, esto en comparación con los ciclos naturales. Sin embargo, la HOC esta también asociada con una alteración en el desarrollo endometrial, es decir un desarrollo avanzado del endometrio y la receptividad endometrial alterada. Estudios recientes han sugerido que la HOC afecta adversamente la receptividad endometrial en los ciclos de reproducción asistida.<sup>11</sup>

En la actualidad, en las TRA, las mayores tasas de embarazo son logradas utilizando ciclos con embriones en fresco y mediante la donación de ovocitos, considerados los óvulos de mejor calidad. En dichos ciclos el endometrio receptor es artificialmente estimulado para posteriormente lograr realizar la transferencia de los embriones en un ambiente, considerado libre de niveles supra-fisiológicos de estrógenos, como lo ocurrido en la HOC. Similar a los antes mencionado, en ciclos con embriones vitrificados (FET), la estimulación endometrial puede ser alcanzada mediante el uso de estrógenos y posteriormente de progesterona, logrando así tener mayor control que en los ciclos de HOC mediante el uso de gonadotropinas.<sup>12</sup>

En la mayoría de los estudios comparativos entre embriones frescos y embriones desvitrificados, el embrión con la mejor calidad primeramente es escogido para su transferencia en los ciclos en fresco, a pesar de esto, los

resultados son similares entre ambos grupos. Estudios en donde se realiza una vitrificación completa de todos los embriones, debido principalmente a un riesgo elevado de un síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO), los resultados en las tasas de embarazo y de nacido vivo han sido cada vez más alentadores. Por lo anterior, se infiere que al seleccionar la mejor calidad ovocitaria para un FET y si la receptividad endometrial puede ser mejorada, por ende, uno podría esperar mejores tasa de embarazo en las TRA.<sup>10</sup>

En el 2005, en la revista *Human Reproduction*®, Papanikolaou y colaboradores publicaron un trabajo en donde tuvieron como objetivo principal la valoración del efecto de la HOC en el endometrio. Dicho efecto se valoraría como la expresión histológica endometrial pre-ovulatoria de los receptores esteroideos para estrógenos y para progesterona. El estudio fue realizado en protocolos de antagonistas y fue de tipo prospectivo, cruzado y con una N de 12 pacientes.

Las características de las pacientes incluidas fueron las siguientes: 39 años de edad, normo-regladas, con diagnóstico de infertilidad de causa masculina o por un factor tubario, presentaban una FSH basal de 10 mUI/mL y con antecedente de más de tres ciclos previos fallidos de FIV. A cada una de las pacientes se les practicaron dos biopsias, la primera tomada en un ciclo natural y previo al inicio del pico de LH y la segunda en un ciclo de HOC, previo a la aplicación de la GCh.<sup>13</sup>

El resultado obtenido fue que los niveles séricos fueron mayores en los ciclos estimulados en comparación con los naturales, aunque en ambos grupos estaban dentro del rango normal, si presento una P estadísticamente significativa. En cuanto a la histología endometrial, en ninguno de los dos grupos se encontró diferencia significativa alguna y ambos endometrios se presentaron dentro de una etapa proliferativa tardía.

Los resultados indican que previo a la administración de la gonadotropina coriónica humana (GCh), en pacientes del programa de FIV, los protocolos no inducen cambios secretorios en el endometrio, sin embargo niveles hormonales supra-fisiológicos si provocan una expresión mayor, a nivel glandular y estromal del endometrio, indicando que la maduración endometrial se esta llevando a cabo.<sup>13</sup>

Con lo antes mencionado, Papanikolaou y cols. concluyeron que los niveles supra-fisiológicos modulan la receptividad esteroidea del receptor, asemejándose a la de la fase lútea por lo que el desarrollo endometrial en los ciclos estimulados se encuentra ya en vías de evolución para el disparo de GCh, esto a pesar de la ausencia de transformación en si a la etapa temprana secretoria.<sup>13</sup>

Varios años después, Houzi y cols. publicaron un estudio en la misma revista en el cual tuvieron como objetivo el comparar e identificar la expresión de distintos genes responsables de la maduración endometrial. Dicho estudio se realizó en perfiles endometriales de la misma paciente, es decir, tomado el primero en un ciclo natural y el segundo en un ciclo subsecuente pero bajo HOC.<sup>14</sup>

La muestra del estudio fue de 21 pacientes y por lo tanto de 84 biopsias, correspondiendo a una biopsia en etapa pre-receptiva (LH+2), otra en etapa receptiva (LH + 7), la tercera en el día de la aspiración ovocitaria (GCh +2) y la última en el día de la transferencia embrionaria (GCh + 5). Dichas biopsias fueron estudiadas mediante micro arreglos de ácido desoxirribonucleico (ADN).<sup>14</sup>

Los resultados obtenidos por Houzi y cols. muestran que el tratamiento mediante gonadotropinas en ciclos de HOC, alteran la receptividad endometrial en comparación con los de los ciclos naturales. Los perfiles receptivos de los endometrios sometidos a una HOC tuvieron una menor función biológica del factor

de crecimiento tumoral- $\beta$  (TGF- $\beta$ , por sus siglas en inglés) así como también de una menor migración trans-endotelial del leucocitos y en general, de todo el ciclo celular, logrando concluir que la HOC conlleva a una disrupción de la actividad transcriptómica de los genes involucrados en la receptividad endometrial.<sup>14</sup>

De esta forma, dejando ahora de lado las alteraciones endometriales y su receptividad, a continuación se discutirá sobre algunos estudios clínicos y un meta-análisis, que versan sobre los diferentes resultados obtenidos con la comparación de las tasas de embarazo, las de embarazo clínico y las de nacido vivo, entre transferencias en fresco y FET.

El primero de estos estudios a comentar fue el publicado en el 2011 por Shapiro y cols. en la revista *Fertility & Sterility*®, el cual fue de tipo aleatorizado y tuvo como objetivo principal el comparar las tasas de embarazos clínicos entre los ciclos de FIV transferidos en fresco y los FET posterior a una preparación endometrial. El estudio tuvo un total de 103 pacientes, las cuales entraron por primera vez al programa de FIV y presentaron los siguientes criterios para su inclusión: edad < a los 41 años, FSH en día 3 < 10 mUI/mL así como la presencia de entre 8 y 15 folículos antrales. Posteriormente las pacientes fueron divididas en dos grupos, 53 de ellas dentro del grupo de transferencias de blastocisto en fresco y 50 al grupo del FET.<sup>11</sup>

Los resultados fueron los siguientes: para el grupo FET una tasa de embarazo por transferencia de 84.0%, tasa de implantación de 70.8% y una tasa de embarazo en curso de 78.0%, mientras que para el grupo en fresco fue de 54.7%, 38.9% y 50.9%, respectivamente. Shapiro y cols. llegaron a concluir que los resultados sugieren fuertemente una alteración en la receptividad endometrial en los ciclos en fresco y posterior a la HOC.<sup>11</sup>

Durante el presente año en la revista *Fertility & Sterility*®, Shapiro y cols. nuevamente publicaron un estudio el cual conto con una muestra de 93 pacientes y en donde tuvieron como objetivo el poder discernir el efecto que la estimulación ovárica tiene en las tasas de implantación, entre transferencias de blastocistos en fresco y FET de blastocistos en congelado, esto dentro de la misma cohorte de blastocistos.<sup>15</sup>

Los resultados obtenidos en el estudio mostraron una tasa, ligeramente mayor, de embarazo en los ciclos de FET comparado con los de fresco para transferencias realizadas en día 6 (54.3% vs 17,1% respectivamente) pero no en las transferencias realizadas día 5 (60.9% vs 56.5%, respectivamente). Estos resultados hicieron que la tasa global de embarazos en curso para los embriones previamente vitrificados fuera significativamente mayor que en los de fresco (55.9% vs 26.9%, respectivamente).<sup>15</sup>

Con lo antes mencionado, concluyeron que los blastocisto autólogos vitrificados, transferidos en día 6 tienen mayor tasa de embarazo que los transferidos el mismo día pero en fresco. Esto debido aparentemente, y como se ha mencionado anteriormente, a una asincronía entre el embrión y el endometrio.<sup>15</sup>

Roque y cols., *Fertility & Sterility*®, publicaron este año un meta-análisis con el objetivo de examinar la evidencia disponible para valorar si la criopreservación de todos los embriones y su posterior desvitrificación y transferencia resulta en mejores resultados comparándolo con las de en fresco. Se incluyeron un total de 633 ciclos de mujeres entre los 27 y los 33 años. Los datos demostraron que los ciclos de FET resultaron en una tasa significativamente mayor de embarazo y de embarazo en curso. Con estos datos, lograron concluir que existe evidencia en

que los resultados de las TRA pueden mejorar al realizar FET en comparación con fresco, siendo explicado por una mejor sincronía embrión-endometrio.<sup>10</sup>

Actualmente, en nuestro centro, no existe un estudio el cual logre relacionar directamente la dosis utilizada para la HOC con la calidad embrionaria y la transferencia embrionaria. Debido a lo anteriormente mencionado, resulta de utilidad el lograr comparar, o relacionar esto para si poder mejorar el pronóstico y exponer un porcentaje adecuado de embarazos.

## 2.0 MARCO TEÓRICO

### Introducción

La FIV se ha consolidado a través de los años y actualmente es practicado alrededor del mundo como una opción de tratamiento en parejas con problemas de esterilidad/fertilidad; actualmente, cerca de dos millones de niños en todo el mundo han nacido como resultado de opción terapéutica.<sup>1</sup> A pesar de estos incontables resultados exitosos, aun existen una serie de preocupaciones en cuanto a esta terapéutica, como lo es el impacto en la calidad embrionaria y sus resultados en cuanto a la estimulación hormonal utilizada se refiere.<sup>2-4</sup> Debido a lo anterior, en la actualidad parte de las distintas investigaciones están dirigidas a buscar técnicas o alternativas para lograr fortalecer y homologar la clasificación morfológica y la calidad embrionaria, esto con el fin de poder lograr transferir un único embrión con buen potencial reproductivo deseado, el nacido vivo.<sup>5-7</sup>

### Calidad embrionaria

Para lograr clasificar a los embriones, es decir poder darles una calidad embrionaria adecuada, es necesario tomar en cuenta los siguientes criterios, basándose en las estructuras y las cualidades de un embrión de óptima calidad, basándose en la clasificación de Betteridge y colaboradores:<sup>16</sup>

- Forma esferoide
- Simetría de los blastómeros
- Apariencia clara y neta de los blastómeros
- Tonalidad oscura y uniforme

- Uniformidad de la membrana celular
- Proporcionalidad entre el embrión y el espacio peri vitelino
- Integridad de la zona pelúcida
- Ausencia de vacuolas en el embrión y bridas celulares en el espacio peri vitelino
- Ausencia de detritus celulares adheridos a la zona pelúcida
- Compactación de los blastómeros entre si

### **Grados de calidad**

Los diferentes grados de calidad embrionaria son determinados, con la ayuda de un lente estereoscópico (0.7-6.4x) y mediante la observación microscópica de la morfología embrionaria.<sup>12</sup> A la fecha, existen distintas escalas de calidad embrionaria, las cuales han sido desarrolladas por distintos equipos de trabajo. Lamentablemente, aun no existe una clasificación objetiva, tanto la observación per se, como la diferenciación entre un grado y otro es subjetiva, dependiendo, casi en su totalidad, de la experiencia del operador.<sup>13</sup> A continuación se enlistan los distintos grados embrionarios en etapa de clivaje, así como las características de cada uno de estos, según Kauffold y colaboradores.<sup>20,21</sup>

- Grado I o *Excelente*: el desarrollo corresponde al día de la recolección. No existen defectos visibles. Los blastómeros son claramente visibles, de color y estructura uniformes, simétricos, de forma esferoide y la zona pelúcida se encuentra intacta.
- Grado II o *Bueno*: el embrión tiene muy pocos blastómeros desprendidos de la masa celular y/o posee una pequeña cantidad de detritus celulares. Su forma puede ser ligeramente irregular.

- Grado III o *Regular*: el embrión posee varios defectos como detritus celulares, forma irregular, tonalidad oscura o muy clara, ligeramente agrietado de la zona pelúcida.
- Grado IV o *Malo*: el embrión posee muchos defectos como los correspondientes al G III más desarrollo retardado, seria ruptura de la zona pelúcida -el embrión puede encontrarse parcialmente fuera de ella-, forma muy asimétrica, tendencia a la desintegración como granulación o vacuolización de los blastómeros. Incluye también a los estadios hasta 8 células y la clara degeneración. Esta categoría es considerada como no transferible.

La determinación del grado de calidad embrionaria permite caracterizar en términos cuantitativos la posibilidad de desarrollo y posteriormente el nacido vivo a partir del embrión transferido, mismo que se ilustra en la Tabla #1.<sup>17</sup>

**Tabla 1: Tasas de embarazo (n) obtenidas en 5 estudios diferentes con embriones clasificados morfológicamente en distintas categorías. Revisión de Betteridge y cols. (1989).**

Calidad	Elsden y cols. (1978)	Shea (1981)	Linder y Wrigth (1983)	Hasler y cols. (1987)	Halser y cols. (1987)
<b>A</b>	64 (173/275)	71 (5/7)	45 (130/292)	73 (4073/5521)	83 (451/542)
<b>B</b>	58 (88/152)	56 (576/672)	44 (128/292)	60 (181/304)	75 (307/408)
<b>C</b>	31 (14/42)	44 (57/130)	27 (40/149)	41 (31/76)	63 (135/214)
<b>D</b>	12 (5/42)		20 (10/50)		46 (6/13)

En 1988, Kuzan y colaboradores, calificaron a los embriones en 6 distintos grados. Los primeros 3 grados coinciden con las de la lista anteriormente mencionada, mientras que el grado IV caracteriza a los embriones de baja calidad que aún son considerados transferibles, el grado V a los degenerados y el grado restante, es decir el grado VI a los ovocitos sin fertilizar o a las zonas pelúcidas vacías. Un bajo número de blastómeros libres no afecta la capacidad de desarrollo del embrión, sin embargo más de 5 blastómeros separados de la masa celular o degenerados si disminuyen la capacidad de sobrevivencia o clivaje.<sup>22,23</sup>

En nuestro centro de fertilidad, la calidad embrionaria esta clasificada según los criterios de la asociación para el estudio de la biología reproductiva (ASEBIR) del 2007, la cual consta de tres categorías para los embriones en día 3 (D+3) dentro de las cuales se clasifican los embriones antes de su transferencia. Dicha clasificación se basa en los resultados obtenidos de estudios multicéntricos realizados en centro de reproducción asistida así como en la literatura publicada. Basándose en esta clasificación las categorías son las siguientes, las cuales se representan en la figura subsiguiente (Figura 1).

- Grado 1: Embrión con menos del 10% de fragmentación, simetría celular y sin multinucleación. Es considerado un embrión de buena calidad con máxima capacidad de implantación.
- Grado 2: Embrión con un 10 a 25% de fragmentación, simetría en la mayor parte de las células y sin evidencia de multinucleación. Es considerado un embrión de calidad regular con buena capacidad de implantación.
- Grado 3: Embrión con severa fragmentación (> 25%), sin simetría celular alguna y con evidencia de multinucleación. Es considerado un embrión de mala calidad con muy pocas posibilidades de implantación.

**Figura 1. Representación gráfica de los grados o categorías embrionarias.**



Para los embriones denominados blastocisto, es decir los de día 5 o 6 (D+5 o D+6), la clasificación que es utilizada en el Centro de Fertilidad IECH, basada en el nuevo consenso de la ESHRE, mismo que esta plasmado por García Villafaña en la Revista Mexicana de Reproducción de Octubre - Diciembre del 2013 y demostrado en la siguiente tabla (Tabla 2).

**Tabla 2: Clasificación de blastocisto.**

	Grado	Categoría	Descripción
<b>Etapa de desarrollo</b>	1		Temprano
	2		Blastocisto
	3		Expandido
	4		Eclosionado
<b>Masa celular interna</b>	1	Bueno	Prominente, fácil de identificar, con muchas celular compactas y estrechamente adheridas entre si.
	2	Regular	Fácil de identificar, con muchas células que están libremente agrupadas.
	3	Malo	Difícil de identificar, con pocas células.
<b>Trofo-ectodermo</b>	1	Bueno	Muchas células que forman epitelio cohesivo.
	2	Regular	Pocas células que forman epitelio malo.
	3	Malo	Muy pocas células.

Mediante lo antes mencionados, y basándonos en la clasificación de la ASEBIR, los embriones se pueden clasificar en grado I al IV seguidos de dos letras, la primera para la masa celular interna la cual va de la A la C y la segunda para el trofoectodermo la cual también va de la A la C.

El éxito de la técnica depende, entre muchos otros factores, de una propia evaluación y manipulación del embrión, basado esto en la experiencia del manipulador. Óvulos fertilizados y divididos, los cuales son clasificados como excelentes o buenos, es decir grado I o II, tienen una mayor probabilidad de éxito para lograr la implantación y el subsiguiente embarazo, con tasas que pueden ir de un 60 a 70%, dependiendo del centro.<sup>24</sup> Embriones calificados como dudosos, o grado III, pueden ser cultivados durante unas horas más, para así evaluar su desarrollo y posteriormente valorar su transferencia, según el criterio del biólogo y los medios de cultivos disponibles, número de embriones obtenidos, entre otros factores más, los cuales no son el tema a tratar. No obstante en la correcta evaluación de los embriones obtenidos, es importante tener en cuenta que existen casos en los cuales embriones clasificados como grado I y que son transferidos sin complicación, o calidad de transferencia tipo A, no logran culminar en un embarazo, mientras que embriones de menor calidad y los cuales son transferidos con dificultad, o calidad de transferencia tipo C, si logran concluir en un embarazo bioquímico, embarazo clínico y/ nacidos vivos.<sup>19, 24</sup>

Para lograr tasas de éxito adecuadas, uno de los pasos más importantes es la evaluación morfológica adecuada de los embriones, esto en cuanto al programa de transferencia embrionaria. Aun así, determinar la transferencia de un embrión exclusivamente a través de sus cualidades morfológicas es, sin embargo, una equivocación.<sup>26</sup> Otros factores a tomar en cuenta, en la decisión para transferir embriones, es el valor del embriionario como tal, así como la disponibilidad adecuada de la receptora. Es conveniente además recalcar que una selección

estricta de los embriones, mediante la evaluación morfológica aumenta la tasas de embarazo por embrión transferido.<sup>10</sup>

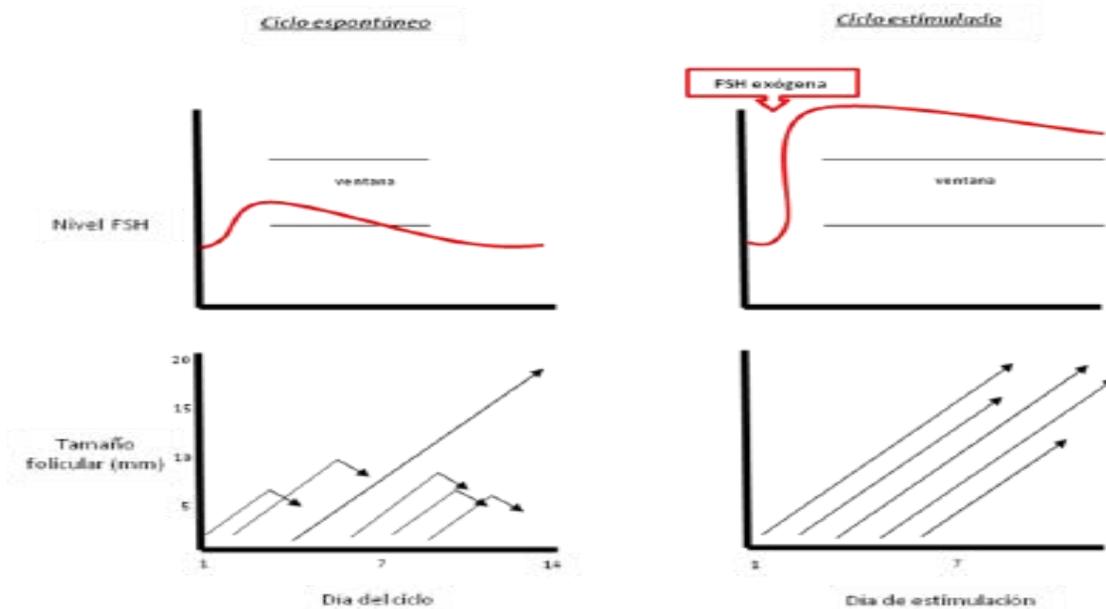
### **Hiperestimulación ovárica controlada (HOC)**

La calidad embrionaria y la hiperestimulación ovárica controlada, como mencionado anteriormente, son datos que, según estudios recientes, cada vez tienen mayor estrechez y vinculación entre si. Los primeros tratamientos de FIV se llevaron a cabo mediante ciclos naturales, es decir sin estimulación ovárica alguna y los cuales culminaron con el nacimiento del primer “bebe probeta”, Louise Brown, en el trabajo realizado por Patrick Steptoe y Robert G. Edwards en el año de 1978. Dicho evento histórico y supuso la consolidación de los primeros pasos en esta nueva disciplina, la biología de la reproducción humana. Dicha nueva disciplina fue recientemente reconocida con el premio Nobel de Fisiología y Medicina en el año 2010 para Sir. Robert G. Edwards *“por haber hecho posible el tratamiento de la infertilidad, un problema médico que afecta a una parte importante de la humanidad, incluyendo a más del 10% de las parejas del planeta”* según fue explicado durante el anuncio del galardón por parte del Instituto Karolinska de Estocolmo.

A pesar de este hito médico, rápidamente se concluyó que los ciclos naturales suponían una metodología de trabajo que con llevaba grandes esfuerzos a cambio de escasas posibilidades de éxito, esto teniendo como objetivo la consecución de un nacido vivo, motivo por el cual el la FIV sin estimulación ovárica fue reemplazada por HOC. Dicha HOC nos permite obtener un mayor número de folículos, primordialmente maduros, y por ende óvulos capaces de ser fertilizados.<sup>27,28</sup>

El concepto de umbral para FSH propuesto por Brown en el año de 1978 supone que todos los folículos con potencial para alcanzar el estadio pre-ovulatorio necesitan de un nivel mínimo de FSH que es ligeramente distinto para cada uno. Por encima de este umbral, se permitirá el desarrollo folicular misma que se muestra en el siguiente esquema (Figura 2).<sup>29</sup> Así, en el transcurso de un ciclo natural, el folículo con menores requerimientos de FSH formará el microambiente hiperestrogénico adecuado y se convertirá en el folículo dominante, el cual llegará a la ovulación. Visto esto a un nivel celular, las células de la granulosa del folículo dominante son más sensibles a la FSH, lo cual conduce a una expresión precoz del receptor de la LH junto con una mayor actividad enzima aromatasa.<sup>30</sup> Dicha sensibilidad a la FSH, permitirá continuar con la producción hormonal estrogénica cuando las concentraciones plasmáticas de FSH comienzan su descenso, mientras que el resto de los folículos, con un mayor umbral para la FSH y una respuesta a la LH más limitada, empiezan el camino que los llevará a la atresia, mismo que fue propuesto por Zeleznik and Hillier en el año de 1984.

Figura 2. Representación del desarrollo folicular durante ciclo espontáneo y estimulado.

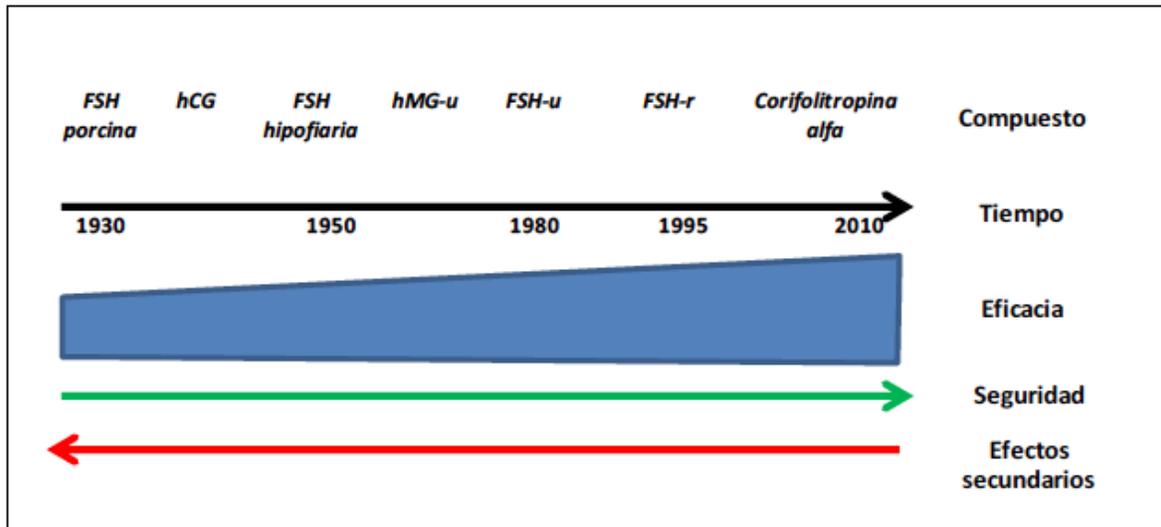


Durante los ciclos de HOC el objetivo es el lograr evitar el proceso de dominancia folicular, mediante el empleo exógeno elevado de niveles de gonadotropinas los cuales deben de superar el umbral de requerimientos del denominado “pool” de folículos antrales, los cuales ya han comenzado su crecimiento, permitiéndose así su desarrollo hasta el estadio pre-ovulatorio.<sup>31</sup> Es este el momento donde se deberá de realizar la punción ovárica con la subsiguiente aspiración ovocitaria. Al realizar el proceso de este modo, se logra proporcionar un número mayor de embriones disponibles para ser transferidos y supuso, por tanto, un incremento en las tasas de éxito de las técnicas de reproducción asistida (TRA).

### **FSH recombinante (FSHr)**

Los medicamentos disponibles para la HOC, es decir la farmacología, de la reproducción ha experimentado una rápida evolución de sus compuestos, los cuales permiten cada vez emplear preparados con una calidad creciente, como se ilustra en la siguiente figura (Figura 3). En los inicios de estas técnicas, los fármacos más frecuentemente utilizados para la estimulación ovárica eran las gonadotrofinas urinarias y los anti estrógenos, uno de los cuales se hablará en la sección posterior. Como se menciona en una sección anterior, las gonadotrofinas son obtenidas de la orina de mujeres post menopáusicas a través de técnicas de ultra filtrado y de purificación. Dicho proceso nos ha permitido disponer de la gonadotrofina menopáusica humana (hMG), con proporción fija y equiparable de FSH y LH, e isoformas urinarias de FSH.<sup>32</sup>

**Figura 3. Representación gráfica de la evolución histórica de los compuestos farmacológicos empleados en reproducción asistida.**



El representante tradicional de los anti estrógenos ha sido el citrato de clomifeno (CC), el cual posee una acción mixta, es decir como agonista y antagonista, el cual aumenta la secreción endógena de la FSH y la LH. A mediados de los años noventa, se introdujeron en el mercado formas de FSH obtenidas por técnicas recombinantes (FSHr) que son idénticas en su secuencia de aminoácidos a la hormona humana o endógena. Estas nuevas hormonas ofrecen como principio una alta efectividad, una buena tolerancia y amplios márgenes de seguridad, teniendo como punto negativo el alto costo, siendo muy superior a las formas urinarias.

Algunas de las ventajas de la FSHr es el de ser un producto más puro, esto en comparación con las urinarias, con un menor riesgo de reacciones secundarias como lo son las inmunológicas e infecciosas, estas últimas sobre todo propagadas por virus denominado lentos, proporcionando, además, una mayor estabilidad y homogeneidad entre las presentaciones.<sup>33</sup> Esto último favorece a una mayor precisión en el manejo de la estimulación ovárica junto con

una menor incidencia de efectos no deseados como lo describió Gleicher y colaboradores en el 2003. Sin embargo, la evidencia científica en favor de estas ventajas, en su momentos, es decir a priori esperables, era escasa y la elección de la gonadotrofina a administrar se basa, en la mayoría de los casos, en la preferencia del médico tratante, como lo describió puntualmente Checa y colaboradores en el 2007 en el *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*.

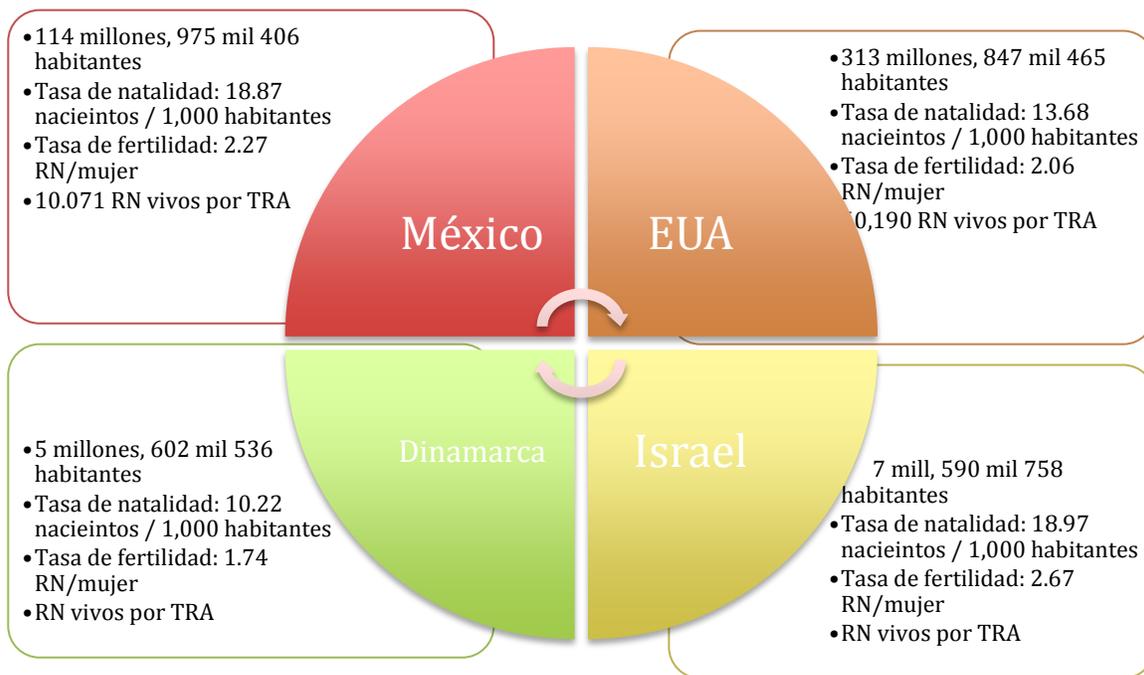
### **3.0 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En la actualidad, la esterilidad/infertilidad se ha convertido en un problema relativamente común, el cual tiene repercusiones a nivel mundial, sin predominio de raza. En España, según la sociedad española de fertilidad, como se menciono en secciones anteriores, dicha patología afecta entre un 15 a un 25% de las parejas de ese país, las cuales no tiene posibilidades de embarazo mediante técnicas naturales, lo que ha provocado un aumento de la demanda de las TRA.

Según el Comité Internacional para el monitoreo de la TRA (ICMART) a nivel mundial se realizan alrededor de 1.5 millones de los ciclos de TRA por año, produciendo alrededor de 350,000 bebés. Este número va cada vez en ascenso, los dos países más activos a nivel mundial son EUA y Japón, pero la región mas active por lejos es Europa.

La tasa de disponibilidad de TRA en Europa es de alrededor de 1,000 ciclos/millón de habitantes, aunque esto varia ampliamente entre los países de esta unión, aun así la accesibilidad a estos servicios en Europa es mayor que en los EUA, pero mucho menor que en otros lados del mundo como lo es Australia. En la siguiente figura (Figura 4) se observan datos sobre las TRA en 4 diferentes países, donde se logra incluir México.

**Figura 4. Representación gráfica de las estadísticas de las TRA en diferentes países, incluyendo México.**



El estudio del embrión in vitro, esto previo a la transferencia del mismo al útero es un paso clave para así lograr aumentar las probabilidades de embarazo y como subsiguiente el nacido vivo en mujeres las cuales son sometidas a TRA. En concreto, la FIV requiere del análisis de la calidad y la viabilidad embrionaria, es decir, la identificación de aquellos embriones obtenidos tras la fertilización que, por sus características morfológicas, tienen mayores posibilidades de dar lugar a una vida.

La viabilidad del embrión depende, como es bien sabido, de diversos factores; como son las características morfológicas (número de células, tamaño, forma, simetría, entre otras características), el día de la transferencia embrionaria, morfología del cigoto, clivaje, entre otros factores más. Además, la tasa de embarazo está sujeta a otras variables a partir de las cuales se puede predecir el

éxito o el fracaso de la reproducción asistida. De todas ellas, la valoración de la calidad embrionaria es el que constituye uno de los mejores predictores de embarazo.<sup>16</sup>

Sin embargo, como ya lo mencionamos en secciones anteriores, el uso de FSHr como método de estimulación ovárica controlada ha sido ampliamente evaluada y es aceptado como uno de los fármacos por excelencia, no existen diversos estudios en los que se evalúe el impacto de la dosis de FSHr utilizada con la calidad final de los embriones y si esto correlaciona o no con la presencia clínica y química del embarazo, aunque recientemente dicho campo ha ido ganando más auge en sus investigaciones.

El objetivo del presente estudio es el de evaluar el impacto que tiene la dosis de utilizada de FSHr con la calidad embrionaria obtenida y los cuales han sido previamente vitrificados, para eliminar el factor de impacto de la estimulación en el endometrio, además poder determinar si existe o no alguna relación en las tasas de embarazo, embarazo clínico y de nacido vivo.

#### **4.0 HIPÓTESIS**

Existe una correlación significativamente negativa entre dosis alta en la HOC utilizada y el aumento en la calidad embonaría, es decir a menor dosis mejor calidad embrionaria y por ende mayor tasa de embarazo, esto en pacientes que acudieron al centro de fertilidad IECH, entre los años del 2009 y el 2012, mismos que fue cuando se introdujo la técnica de vitrificación, y las cuales fueron sometidas a una FIV con la criopreservación de embriones y su subsiguiente transferencia en un ciclo alterno.

## **5.0 OBJETIVOS**

### **5.1 Objetivo General**

El objetivo general del presente estudio es el lograr establecer la presencia o en si la ausencia de una correlación significativa entre los valores utilizados para la estimulación, con la calidad embrionaria obtenida en lo concerniente a los embriones, así como con la generación de un embarazo bioquímico y clínico satisfactorio, en la población de paciente sometidas a una fertilización in vitro con su subsiguiente criopreservación de embriones, en el Centro de Fertilidad IECH, en el período comprendido entre 2009 y 2012.

### **5.2 Objetivos Específicos**

- Determinar las variables sociodemográficas y clínicas de las pacientes.
- Determinar el perfil bioquímico de las pacientes.
- Establecer la calidad de los embriones generados en los días 3 y 5.
- Analizar los resultados finales del procedimiento en lo concerniente a la tasa de embarazo
- Correlacionar los resultados arrojados de los objetivos anteriores para así lograr determinar el impacto que tiene la dosis de FSHr en la calidad de los embriones y la tasa de embarazo y embarazo bioquímico.

## **6.0 MATERIALES Y MÉTODOS**

### **6.1 Diseño del Estudio**

El presente estudio es de tipo observacional, transversal, retrospectivo, analítico y comparativo en la población de paciente sometidas a una FIV con su subsiguiente criopreservación de embriones, en el Centro de Fertilidad IECH, en el período comprendido entre 2009 y 2012.

Durante el procedimiento, se logro realizar una HOC mediante la aplicación de FSHr y/o de menotropinas a dosis variables con su monitoreo folicular correspondiente. Una vez alcanzados los folículos un diámetro promedio de 18mm, se le aplico a la paciente la gonadotropina coriónica humana por vía intramuscular, esto como señalizador para la etapa final de la maduración ovocitaria. Al transcurrir 34 a 36 horas, se realizó la aspiración de los folículos para posteriormente ponerse en contacto los óvulos con los o el espermatozoide. Pasadas 24 horas, se valoró la fertilización y una vez fertilizados los óvulos y divididos, se paso a crio preservar estos mediante la técnica de vitrificación. Dichos embriones criopreservados provenían de ciclos en donde eran sobrantes de la transferencia en fresco o en algunos casos de criopreservación total de embriones.

En un ciclo subsiguiente, o alterno, se realizó una preparación endometrial mediante estrógenos, logrando este alcanzar una medida promedio de 8mm y una calidad endometrial buena, es decir trilaminar. Posteriormente se realizó la desvitrificación de los óvulos divididos y fertilizados, o embriones, y se les dio un valor de calidad embrionaria y se realizó la transferencia embrionaria. La calidad embrionaria otorgada se dividió en dos grupos para cada día de transferencia, en

donde la calidad embrionaria 1 era en donde mínimo se transfirió 1 embrión de buena calidad y la calidad embrionaria 2, en donde no se logro transferir ningún embrión de buena calidad embrionaria. Se consideró embriones de buena calidad para el día 3 los de calidad I ó II y para los blastocisto los de calidad A o B.

Pasadas dos semanas posteriores a la transferencia embrionaria, se solicito realizar una prueba de gonadotropina coriónica humana sérica de tipo cuantitativa y se tomo como positiva valores igual o por encima de 50 mUI/mL, mientras que negativa valores < 50 mUI/mL. En las pacientes con una prueba inmunológica positiva, se realizó una ultrasonografía endovaginal a las 4 semanas post transferencia embrionaria y en caso de observar frecuencia cardiaca fetal (FCF), se tomo como positivo para un embarazo clínico.

De las pacientes que lograron congelar embriones y posteriormente utilizarlos en un ciclo alterno se les evaluó si lograron tener un embarazo bioquímico (prueba de embarazo positiva), un embarazo clínico (donde se identificó por ultrasonido endovaginal la frecuencia cardiaca fetal) así como el nacido vivo, mismos cortes de medición en donde se evaluó la dosis de en la HOC y la calidad de los embriones los cuales se transfirieron en dos grupos, el primero grupo los embriones transferidos en día 3 de vida y el segundo grupo los blastocisto, es decir, los transferidos en día 5 o 6 de vida.

Esto se realizó con el fin de lograr establecer la posible existencia de relación entre la dosis de estimulación utilizada en el ciclo en fresco y la calidad del embrión y la resultante final deseada. Lo que generaría un probable predictor para embarazo para cuando se transfieran embriones vitrificados según el grado y la dosis que se utilizo.

## **6.2 Población y Muestra**

El presente estudio se llevó a cabo entre el periodo comprendido entre el 2009 y el 2012, en la población de paciente sometidas a una FIV con su subsiguiente criopreservación de embriones y su transferencia embrionaria en un ciclo alterno con preparación endometrial, en el Centro de Fertilidad IECH. El tamaño de la muestra no aplica en este tipo de estudio debido a que es un estudio de tipo poblacional.

## **6.3 Grupos de Estudio**

El presente estudio incluye a cuatro grupos.

Grupo 1: Siendo el general, en donde se agrupan los grupos 2, 3 y 4, sin embargo los datos se evaluarán y contrastarán según las calidades observadas y los resultados (clínicos y bioquímicos) asociados al embarazo obtenidos.

Grupo 2: Siendo el de FIV a FET con óvulos homólogos, es decir no se incluyen la donación de óvulos y en donde todas las pacientes cumplan con los criterios de selección, posteriormente mencionados y en donde los datos se evaluarán y contrastarán según las calidades observadas y los resultados (clínicos y bioquímicos) asociados al embarazo obtenidos.

Grupo 3: Siendo el de FIV a FET con óvulos donados y en donde todas las pacientes cumplan con los criterios de selección, posteriormente mencionados y en donde los datos se evaluarán y contrastarán según las calidades observadas y los resultados (clínicos y bioquímicos) asociados al embarazo obtenidos.

## **7.0 CRITERIOS DE SELECCION**

### **7.1 Criterios de Inclusión**

- Pacientes femeninas sometidas a una FIV.
- Pacientes con su subsiguiente criopreservación de embriones.
- Pacientes con su subsiguiente transferencia de embrión previamente criopreservado en un ciclo alterno.
- Pacientes atendidas en el Centro de Fertilidad IECH.
- Pacientes que asistieron al Centro en el período comprendido entre 2009 y 2012.

### **7.2 Criterios de Exclusión**

- Ausencia de los datos primordiales a evaluar, siendo estos los niveles de FSHr utilizados, la calidad embrionaria a los días 3 ó 5, así como los resultados bioquímicos y clínicos relacionados con el embarazo.
- Ausencia de transferencia embrionaria en un ciclo posterior.
- Presencia de enfermedades concomitantes, identificadas posteriormente al tratamiento, que dificulten aún mas la posibilidad de embarazo.

### **7.3 Criterios de Eliminación**

- Pacientes las cuales no acudieron a su revisión posterior a la transferencia embrionaria, es decir para valoración de la prueba inmunológica de embarazo y/o valoración ultrasonográfica.

COMPARACIÓN ENTRE LAS TASAS DE EMBARAZO Y EMBARAZO CLÍNICO CON TRANSFERENCIA DE EMBRIONES VITRIFICADOS, SEGÚN EL GRADO DE CALIDAD EMBRIONARIA Y LA DOSIS DE HIPERESTIMULACION OVARICA CONTROLADA UTILIZADA.

- Expediente extraviados
- Expediente ilegibles
- Expediente incompletos

## 8.0 INSTRUMENTOS Y PROCEDIMIENTOS

Se logró realizar de manera manual la captura de todas las variables en estudio, siendo estas las relacionadas con el perfil sociodemográfico y clínico de las pacientes; los datos fueron capturados en una base de datos desarrollada en Excel para posteriormente ser analizados en el programa Graph Pad y IBM SPSS Statistics.

Se obtuvieron los datos estadísticos descriptivos tradicionales, tales como las medidas de tendencia central (media, mediana y moda), medidas de dispersión (varianza, desviación estándar y coeficiente de variación) y medidas de posición para las variables de tipo cuantitativas, así como las frecuencias observadas en las variables de tipo cualitativas.

Los valores de estudio serán contrastados según las calidades embrionarias y la presencia o ausencia de embarazo bioquímico y clínico, mediante pruebas de hipótesis para medias y proporciones (variables cuantitativas y cualitativas respectivamente) a una confiabilidad del 95%. La presencia o ausencia de asociación y correlación en variables cuantitativas o cualitativas se realizará mediante las pruebas de *t* de Student, prueba de hipótesis de proporciones, Chi cuadrado, estadístico exacto de Fisher y la correlación de Pearson; todo lo anterior basándonos en un índice de confiabilidad del 95% y tomando como P estadística lo menor a 0.05.

## 9.0 RESULTADOS

Inicialmente, se logro contar con una muestra (N) de 305 pacientes. En las siguientes dos tablas (Tabla 3 y tabla 4), se muestran las variables descriptivas para los datos demográficos (Edad, FSH en día 3, LH en día 3, Estradiol sérico en día 3 y el índice de masa corporal) y los datos de la estimulación ovárica (Unidades de HOC utilizadas, Estradiol en Día 10, día de aspiración, día de transferencia) respectivamente, eso para las pacientes del primer grupo (Grupo 1), es decir donde se incluye el total de todas las pacientes.

**Tabla 3: Datos demográficos de las pacientes**

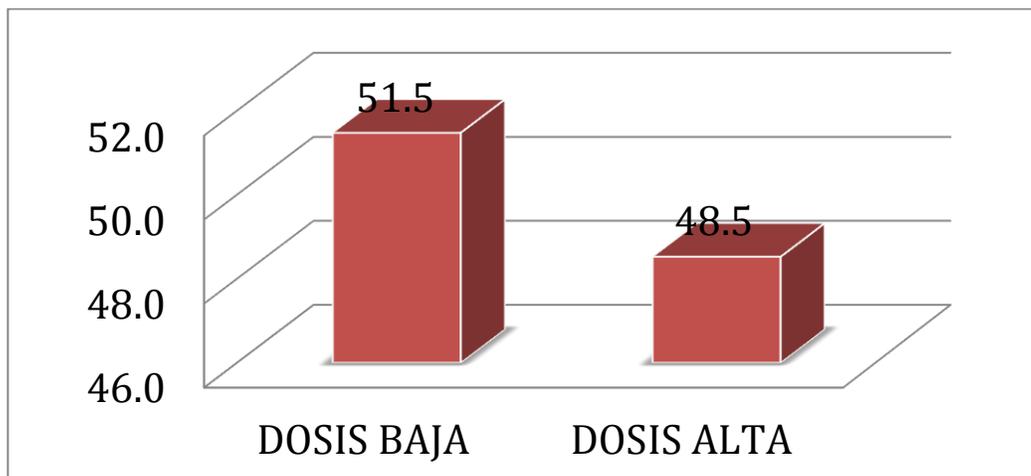
	<b>Edad (años)</b>	<b>FSH en día 3 (mUI/mL)</b>	<b>LH en día 3 (mUI/mL)</b>	<b>E2 en día 3 (pg/mL)</b>	<b>IMC (Peso/Talla<sup>2</sup>)</b>
<b>Media</b>	35.239	6.2462	6.0339	42.6009	25.07
<b>D.E.</b>	5.4506	2.33348	5.90361	20.65231	4.97
<b>Valor mínimo</b>	18.0	1.80	.20	3.68	15.63
<b>Valor máximo</b>	49.0	14.98	35.90	117.40	40.09

**Tabla 4: Datos sobre la hiperestimulación ovárica**

	Media	D.E.	Valor mínimo	Valor máximo
Unidades totales utilizadas en la HOC (UI)	2,179.42	874.46	750.0	6,075.0
Unidades diarias utilizadas en la HOC (UI)	242.15	97.16	75	675
E2 en día 10 (pg/mL)	3,182.727	2,361.21	132.0	2,1378.0
Día de aspiración	12.127	.8838	9.0	14.0
No. de embriones transferidos	1.984	.85	0.0	4.0
Día de transferencia	296	5.0	3.0	5.

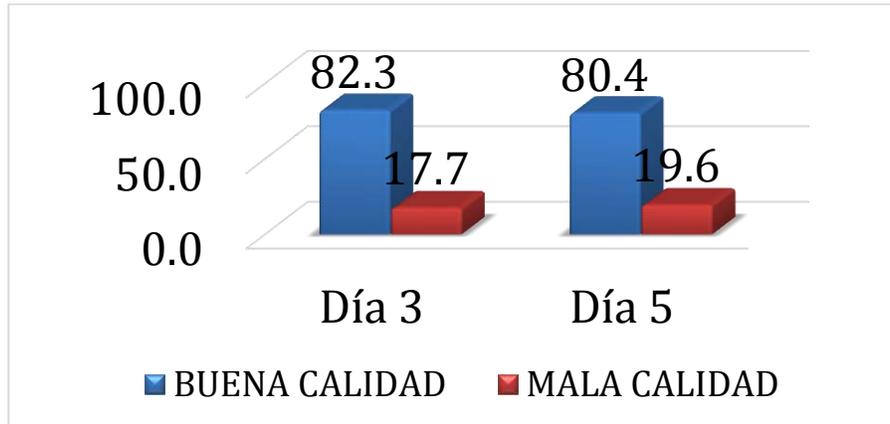
Una vez estudiadas las pacientes descriptivamente, se realizó un análisis de frecuencia para ver los datos de la estimulación y sus resultados, esto con el fin de lograr ver como esta el panorama de las estimulaciones en nuestro centro de fertilidad y sus resultados en grandes rasgos, mismos que se analizarán mas a detalle en una sección posterior. En la siguiente figura (Figura 5) se comparó la frecuencia con la que se utiliza la estimulación con dosis baja en comparación con la estimulación a dosis alta, diferenciadas en si como se menciono anteriormente, teniendo como punto de corte la utilización de 225 UI por día.

**Figura 5. Frecuencia del tipo de estimulación (dosis baja vs dosis alta)**



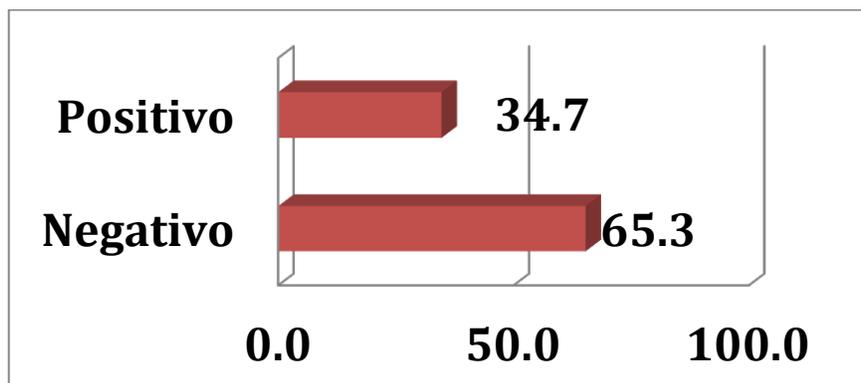
Se observó una ligera tendencia hacia la estimulación con dosis baja, siendo de 51.5% en comparación con el 48.5% de la dosis baja. En la próxima figura (Figura 6), se valoraron los grados de calidad embrionaria según el día de evolución, es decir día 3 y día 5.

**Figura 6. Grado de calidad embrionaria según el día de evolución (Día 3 vs día 5)**



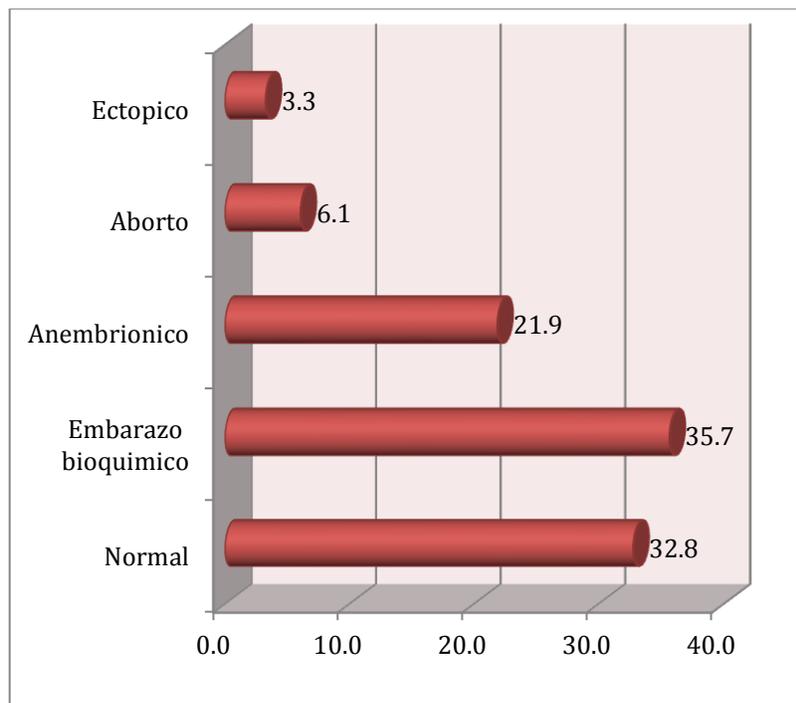
En la figura anterior se observa como en ambos casos, es decir día 5 y día 6, se observa una tendencia hacia los valores superiores, o de buena calidad, de los embriones, tanto en día 3 como en día 5. Cabe recordar que dentro de esta valoración, se considera como transferencia de embriones de buena calidad, en donde existe por lo menos 1 embrión de buena calidad, es decir con un embrión de grado I ó II para el día 3 y para blastocisto con la transferencia embrionaria en donde existe ausencia del grado C. En la próxima figura (Figura 7), se muestran los resultados de la hiperestimulación ovárica controlada

**Figura 7. Resultados de la hiperestimulación ovárica controlada.**



En la Figura 7, se logra observar las frecuencias de las pruebas de embarazo a los 15 días post transferencia, en donde mas de la mitad (65.3%) corresponde a una prueba de embarazo negativa, mientras que el resto (34.7%) corresponde a una prueba de embarazo positiva. En la siguiente figura (Figura 8) se observan la evolución que se tuvo del total de las pruebas de embarazo positivas, es decir: embarazo normal (nacido vivo), embarazo bioquímico, embarazo anembriónico y el embarazo ectópico.

**Figura 8. Resultados de las pruebas de embarazo positivas.**



En la figura 8, se observa como de las pacientes que el porcentaje mayor consiste en embarazos bioquímicos (35.7%), es decir en donde se observó una prueba positiva pero posteriormente en la consulta de control ultrasonográfico a las dos semanas, no se observó frecuencia cardíaca fetal. El segundo de mayor frecuencia es el embarazo normal, o nacido vivo, el cual corresponde a casi un tercio de este rubro de pacientes (32.8%). El anembriónico, el aborto y el ectópico

tuvieron menores porcentajes que los anteriores (21.9%, 6.1% y 3.3% respectivamente).

Una vez establecidos estas descripciones, así como las frecuencias para el grupo 1, se realizó una prueba de la *t* de Student para lograr contrastar los promedios obtenidos según el grado de estimulación, es decir estimulación baja ( $\leq 225$  UI por día) o alta ( $> 225$  UI por día). Estos datos son expuestos en la siguiente tabla (Tabla 5). Las variables y los valores en negritas son los que proporcionaron una diferencia estadísticamente significativa, es decir  $p = < 0.05$ .

**Tabla 5: Datos sobre la hiperestimulación ovárica**

Variable	Dosis	Media	D.E.	p
Edad	Baja	35.344	5.6388	.733
	Alta	35.129	5.2633	
FSH D3	Baja	6.3091	2.39575	.722
	Alta	6.1924	2.28837	
<b>IMC</b>	<b>Baja</b>	<b>26.25</b>	<b>5.27</b>	<b>.012</b>
	<b>Alta</b>	<b>23.77</b>	<b>4.29</b>	
E2 D10	Baja	3166.181	1937.0799	.930
	Alta	3198.157	2708.6829	
<b>Día de aspiración</b>	<b>Baja</b>	<b>11.976</b>	<b>.8245</b>	<b>.005</b>
	<b>Alta</b>	<b>12.305</b>	<b>.9212</b>	
Ovocitos totales	Baja	14.794	5.8082	.189
	Alta	13.802	6.3863	
Tasa de fertilización	Baja	8.210	3.3428	.384
	Alta	7.855	3.4207	
Numero total de embriones	Baja	3.102	2.1638	.291
	Alta	2.851	1.9635	
Numero de embriones transferidos	Baja	1.975	.7922	.849
	Alta	1.993	.9147	
<b>Día promedio de transferencia</b>	<b>Baja</b>	<b>4.333</b>	<b>.9459</b>	<b>.004</b>
	<b>Alta</b>	<b>4.007</b>	<b>1.0035</b>	
Sacos gestacionales	Baja	1.27	.517	.361
	Alta	1.17	.379	

Mediante esta prueba de  $t$  de Student, se observan tres valores con diferencia estadísticamente significativa (IMC, día de aspiración y día promedio de la transferencia embrionaria). El primer valor con diferencia estadísticamente significativa es el IMC, donde se utilizó, en promedio, menor de dosis de estimulación con un IMC elevado (Dosis baja = 26.25, dosis alta = 23.77,  $p=0.012$ ), mientras que el otro valor, día promedio de la recuperación ovocitaria, se observó un aumento en el día promedio conforme se observa también un aumento en la dosis (Dosis baja = 11.9, dosis alta = 12.3,  $p=0.005$ ). El último dato con diferencia estadísticamente significativa en esta prueba de la  $t$  de Student es el día promedio de transferencia embrionaria, el cuál también disminuyó conforme aumentaba la dosis de la estimulación (Dosis baja = 4.33, dosis alta = 4.00,  $p=0.004$ ), es decir a menor dosis el día promedio de transferencia embrionaria aumentaba o progresaba hacia una etapa de blastocisto.

La prueba de hipótesis para proporciones, se realizó al obtener los datos estadísticos pasados, esto con el fin de lograr contrastar los porcentajes obtenidos según el día de transferencia para lo que es la calidad embrionaria, el resultado de la prueba de embarazo así como su propia evolución del embarazo. En la siguiente tabla (Tabla 6) se muestran la prueba de hipótesis para proporciones, en donde nuevamente con se marcan en negritas los valores que proporcionaron una diferencia estadísticamente significativa.

**Tabla 6: Datos sobre la hiperestimulación ovárica**

	<b>Calidad embrionaria</b>	<b>Dosis baja</b>	<b>Dosis alta</b>	<b>P</b>
Día 3	Buena calidad	80.0%	83.8%	>0.05
	Mala calidad	20.0%	16.2%	>0.05
Día 5	Buena calidad	77.1%	85.1%	>0.05
	Mala calidad	22.9%	14.9%	>0.05
Prueba de embarazo	No transferencia	0.0%	.7%	>0.05
	Negativo	61.8%	63.3%	>0.05
	Positivo	35.7%	32.7%	>0.05
Evolución	<b>Normal</b>	<b>40.0%</b>	<b>24.1%</b>	<b>&lt;0.05</b>
	<b>Embarazo bioquímico</b>	<b>71.4%</b>	<b>36.4%</b>	<b>&lt;0.05</b>
	Anembriónico	23.8%	40.9%	>0.05
	Aborto	4.8%	13.6%	>0.05
	Ectópico	0.0%	9.1%	>0.05
	Otro	0.0%	0.0%	>0.05

Mediante esta prueba de hipótesis se logró observar una tasa mayor de embarazo bioquímico en las pacientes con dosis bajas en comparación con las dosis altas (71.4% vs 36.4%, respectivamente,  $p = <0.05$ ) así como también una tasa mayor de embarazo normal o nacido vivo (40.0% vs 24.1%,  $p = <0.05$ ), mientras que el resto de los datos no arrojaron diferencia estadística alguna.

La prueba de la Chi cuadrada ( $X^2$ ) con el estadístico exacto de Fisher se utilizó para determinar si existe alguna asociación significativa entre las dosis

utilizadas en la hiperestimulación ovárica y la calidad embrionaria, tanto para los de día 3 (Tabla 7) y día 5 (Tabla 8).

**Tabla 7: Chi cuadrada y estadístico exacto de Fisher comparando la dosis de HOC y la calidad embrionaria en día 3.**

	Valor	p	p Corregida
<b>Chi-cuadrado de Pearson</b>	0.128	.720	
<b>Corrección por continuidad</b>	0.000	1.000	
<b>Razón de verosimilitudes</b>	.127	.722	
<b>Estadístico exacto de Fisher</b>			.728
<b>Asociación lineal por lineal</b>	.126	.722	
<b>N de casos válidos</b>	57		

**Tabla 8: Chi cuadrada y estadístico exacto de Fisher comparando la dosis de HOC y la calidad embrionaria en día 5.**

	Valor	p	p Corregida
<b>Chi-cuadrado de Pearson</b>	1,129	.288	
<b>Corrección por continuidad</b>	.681	.409	
<b>Razón de verosimilitudes</b>	1.160	.282	
<b>Estadístico exacto de Fisher</b>			.348
<b>Asociación lineal por lineal</b>	1.119	.290	
<b>N de casos válidos</b>	117		

En ninguna de las dos tablas anteriores se observaron diferencia alguna con la p corregida para el estadístico de Fisher, esto entre la dosis utilizada en la hiperestimulación ovárica controlada y la calidad embrionaria según el día (Día 3  $p= 0.728$  y día 5  $p= .348$ ). Esta misma prueba se realizó para comparar y lograr observar la asociación significativa que existe entre las dosis utilizadas en la hiperestimulación ovárica y el resultado de la prueba de embarazo (Tabla 9).

**Tabla 9: Chi cuadrada y estadístico exacto de Fisher comparando la dosis de HOC y el resultado de la prueba inmunológica de embarazo.**

	Valor	p	p Corregida
<b>Chi-cuadrado de Pearson</b>	.355	.551	
<b>Corrección por continuidad</b>	.226	.635	
<b>Razón de verosimilitudes</b>	.355	.551	
<b>Estadístico exacto de Fisher</b>			.629
<b>Asociación lineal por lineal</b>	.354	.552	
<b>N de casos válidos</b>	305		

Según los resultados obtenidos en la tabla 9, tampoco se logro observar, al igual que en la tabla 7 y 8, asociación significativa alguna entre las dosis utilizadas para la hiperestimulación ovárica controlada y el resultado de la prueba inmunológica de embarazo.

La última prueba estadísticas realizada a las pacientes del grupo 1 fue la del coeficiente de correlación lineal de Pearson. Dicho coeficiente es útil para tener como objetivo el lograr relacionar variables cualitativas con variables

cuantitativas, como lo son las unidades utilizadas en la hiperestimulación ovárica y la calidad embrionaria, fundamental para el estudio. El coeficiente de correlación lineal de Pearson se utilizó tanto para los embriones transferidos en día 3 como para los transferidos en día 5 así como también para la prueba inmunológica de embarazo. Los datos obtenidos son mostrados en la siguiente tabla (Tabla 10), en donde nuevamente los valores en negrita son los que mostraron diferencia estadísticamente significativa.

**Tabla 10: Prueba de Pearson para correlacionar la cantidad de unidades utilizadas en la HOC y la calidad embrionaria.**

		Calidad embrionaria (Día 3)	Calidad embrionaria (Día 5)	PIE (+)
UI en la HOC	r	-.115	<b>-.200</b>	-.003
	p	.393	<b>.031</b>	.960
	N	57	<b>117</b>	305

**r = Correlación de Pesaron, p Estadística, N = Número de casos**

Mediante la prueba de correlación lineal de Pearson, se observa que existe una correlación negativa entre lo que es la buena calidad embrionaria en día 5 y la concentración de UI utilizadas en la hiperestimulación ovárica controlada ( $r = -0.20$ ,  $p = 0.003$ ). Con esta correlación negativa ( $r = -0.20$ ) se deduce que para lograr embriones en día 5 de buena calidad es necesario utilizar una dosis menor en un 20%. Mientras que para los embriones en día 3 no existió esta relación estadísticamente significativa ( $p=.393$ ) en lo que es dosis utilizada y calidad embrionaria.

Una vez obtenidos los datos estadísticos para las pacientes del grupo 1, se analizó a las pacientes tanto del segundo como las del tercer grupo, dividiendo los resultados nuevamente en embriones de buena calidad y embriones de mala

COMPARACIÓN ENTRE LAS TASAS DE EMBARAZO Y EMBARAZO CLÍNICO CON TRANSFERENCIA DE EMBRIONES VITRIFICADOS, SEGÚN EL GRADO DE CALIDAD EMBRIONARIA Y LA DOSIS DE HIPERESTIMULACION OVARICA CONTROLADA UTILIZADA.

calidad, así como en la dosis de hiperestimulación ovárica utilizada siendo la dosis baja a las que se les aplico  $\leq 225$  UI por día y las de dosis alta de estimulación a las que se les aplico  $>$  de 225 UI por día.

Para las pacientes del grupo 2 (criopreservación de embriones y su posterior transferencia provenientes de óvulos de tipo homólogos), se conto con una N de 204, en este grupo de pacientes se realizó, nuevamente, la prueba de Chi cuadrado y el estadístico exacto de Fisher, con el fin de poder valorar la dosis utilizada en la hiperestimulación ovárica controlada y la calidad embrionaria en día 3 (tabla 11) y en día 5 (tabla 12).

**Tabla 11: Prueba de Chi cuadrado y estadístico exacto de Fisher para correlacionar dosis de hiperestimulación ovárica controlada y calidad embrionaria en día 3.**

	Valor	p	p Corregida
<b>Chi-cuadrado de Pearson</b>	1,021	.312	
<b>Corrección por continuidad</b>	.302	.583	
<b>Razón de verosimilitudes</b>	.946	.331	
<b>Estadístico exacto de Fisher</b>			.369
<b>Asociación lineal por lineal</b>	.997	.318	
<b>N de casos válidos</b>	42		

**Tabla 12: Prueba de Chi cuadrado y estadístico exacto de Fisher para correlacionar dosis de hiperestimulación ovárica controlada y calidad embrionaria en día 5.**

	Valor	p	p Corregida
<b>Chi-cuadrado de Pearson</b>	2,934	.087	
<b>Corrección por continuidad</b>	2.002	.157	
<b>Razón de verosimilitudes</b>	3.138	.076	
<b>Estadístico exacto de Fisher</b>			.136
<b>Asociación lineal por lineal</b>	2.897	.089	
<b>N de casos válidos</b>	81		

Tanto en la tabla 11, como en la 12, no se logro observar diferencia alguna entre la calidad embrionaria en día 3 y la calidad embrionaria en día 5 comparándola con la dosis de hiperestimulación ovárica ( $p = .369$  y  $p = .136$ , respectivamente). En la siguiente tabla (Tabla 13) se realiza el mismo estudio pero para relacionar la dosis de la HOC y la prueba inmunológica de embarazo.

**Tabla 13: Prueba de Chi cuadrado y estadístico exacto de Fisher para correlacionar dosis de hiperestimulación ovárica controlada y prueba inmunológica de embarazo.**

	Valor	p	p Corregida
<b>Chi-cuadrado de Pearson</b>	,012	.913	
<b>Corrección por continuidad</b>	0.000	1.000	
<b>Razón de verosimilitudes</b>	.012	.913	
<b>Estadístico exacto de Fisher</b>			1.000
<b>Asociación lineal por lineal</b>	.012	.913	
<b>N de casos válidos</b>	202		

En la tabla 13 no se logro observar diferencia alguna entre la dosis de estimulación y las pruebas de embarazo ( $p$  corregida = 1.000). La prueba del coeficiente de correlación lineal de Pearson, también se realizó en este segundo grupo de pacientes. Se comparó la dosis utilizada en la hiperestimulación ovárica con los embriones tanto en día 3 como en día 5. Los datos son los mostrados en la siguiente tabla (Tabla 14), en donde los valores en negrita son los que mostraron diferencia estadísticamente significativa.

**Tabla 14. Prueba de Pearson para correlacionar la cantidad de unidades utilizadas en la HOC y la calidad embrionaria.**

		Calidad embrionaria (Día 3)	Calidad embrionaria (Día 5)	PIE (+)
UI en la HOC	r	-.192	<b>-0.262</b>	-.061
	p	.224	<b>.018</b>	.387
	N	42	<b>81</b>	202

**r = Correlación de Pearson, p Estadística, N = Número de casos**

Mediante la presente prueba de correlación de Pearson, podemos observar que existe una correlación negativa entre la buena calidad de embriones en día 5 y la concentración de UI utilizadas en la hiperestimulación ovárica controlada ( $r = -0.262$ ,  $p = 0.018$ ). Con esta correlación negativa, al igual que en el grupo 1, y con una  $r$  de  $-0.262$  se deduce que para lograr embriones en día 5 de buena calidad es necesario utilizar una dosis menor en un 26%. Mientras que para los embriones en día 3 no existió esta relación en dosis utilizada y calidad embrionaria.

Para las pacientes del grupo 3 (transferencia de embriones vitrificados con óvulos provenientes de donadoras). Se conto con una N de 67, se realizaron las mismas pruebas estadísticas que las del grupo 2, es decir, la prueba de la Chi cuadrada y el estadístico exacto de Fisher, esto con el fin de poder valorar la dosis

utilizada en la hiperestimulación ovárica controlada y la calidad embrionaria en día 3 (tabla 15) y en día 5 (tabla 16).

**Tabla 15: Prueba de Chi cuadrado y estadístico exacto de Fisher para correlacionar dosis de hiperestimulación ovárica controlada y calidad embrionaria en día 3.**

	Valor	p	p Corregida
<b>Chi-cuadrado de Pearson</b>	,476	.490	
<b>Corrección por continuidad</b>	0.000	1.000	
<b>Razón de verosimilitudes</b>	.447	.504	
<b>Estadístico exacto de Fisher</b>			1.000
<b>Asociación lineal por lineal</b>	.429	.513	
<b>N de casos válidos</b>	10		

**Tabla 16: Prueba de Chi cuadrado y estadístico exacto de Fisher para correlacionar dosis de hiperestimulación ovárica controlada y calidad embrionaria en día 5.**

	Valor	p	p Corregida
<b>Chi-cuadrado de Pearson</b>	,200	.655	
<b>Corrección por continuidad</b>	.002	.962	
<b>Razón de verosimilitudes</b>	.198	.657	
<b>Estadístico exacto de Fisher</b>			.704
<b>Asociación lineal por lineal</b>	.194	.660	
<b>N de casos válidos</b>	34		

Tanto en la tabla 15, como en la 16, no se logro observar diferencia alguna entre la calidad embrionaria en día 3 y la calidad embrionaria en día 5 comparándola con la dosis de hiperestimulación ovárica ( $p = .1.000$  y  $p = .704$ , respectivamente). En la siguiente tabla (Tabla 17) se realiza la misma prueba estadística, pero con el objetivo de valorar ahora como resultado la prueba inmunológica de embarazo.

**Tabla 17: Prueba de Chi cuadrado y estadístico exacto de Fisher para correlacionar dosis de hiperestimulación ovárica controlada y prueba inmunológica de embarazo.**

	Valor	p	p Corregida
<b>Chi-cuadrado de Pearson</b>	.295 <sup>a</sup>	.587	
<b>Corrección por continuidad</b>	.074	.786	
<b>Razón de verosimilitudes</b>	.292	.589	
<b>Estadístico exacto de Fisher</b>			.599
<b>Asociación lineal por lineal</b>	.290	.590	
<b>N de casos válidos</b>	66		

En la tabla 17, se observa que no existe diferencia alguna entre la dosis de estimulación y las pruebas de embarazo ( $p$  corregida = .599). Como ultima prueba estadística realizada a este segundo grupo, esta la prueba del coeficiente de correlación lineal de Pearson. En dicha prueba se comparó la dosis utilizada en la hiperestimulación ovárica y los embriones tanto en día 3 como en día 5. Los datos son los mostrados en la siguiente tabla (Tabla 18).

**Tabla 18. Prueba de Pearson para correlacionar la cantidad de unidades utilizadas en la HOC y la calidad embrionaria.**

		Calidad embrionaria (Día 3)	Calidad embrionaria (Día 5)	PIE (+)
UI en la HOC	r	.172	-.062	-.018
	p	.634	.727	.885
	N	10	34	66

**r = Correlación de Pesaron, p Estadística, N = Número de casos**

Mediante la presente prueba de correlación de Pearson, podemos observar que no existe una correlación alguna entre la buena calidad de embriones en día 3 y 5 y la concentración de UI utilizadas en la hiperestimulación ovárica controlada en las pacientes del grupo 3 ( $p = .634$  y  $p = 0.727$ , respectivamente).

## 10.0 DISCUSIÓN

Dentro de los estudios y la bibliografía analizada, no se logro encontrar estudio alguno en donde se valorará el impacto directo que tiene la dosis utilizada en la hiperestimulación ovárica con la calidad embrionaria y el resultado de la prueba de embarazo. Uno de los criterios de inclusión fue el analizar los resultados de pacientes en las cuales el proceso de la transferencia fuera mediante embriones vitrificados, como mencionado por diversos autores, esto evitaría el sesgo del impacto de la receptividad endometrial debido a la estimulación ovárica.<sup>10,11, 15</sup>

El objetivo general de establecer la presencia o ausencia de una correlación significativa entre los valores utilizados para la estimulación, con la calidad embrionaria y sus resultados en la prueba de embarazo, fue alcanzado, como se mencionara más adelante. Se logró observar, mediante diversos estudios estadísticos, que no existe relación alguna entre la dosis de estimulación ovárica utilizada, la calidad embrionaria y el resultado de la prueba de embarazo en los ciclos de transferencia de embriones vitrificados.

Aun así, que el objetivo general no demostró diferencias significativas, si se logro determinar diversos puntos interesantes. Uno de estos es que para las pacientes del grupo de óvulos homólogos (grupo 1) existe una correlación negativa entre la dosis utilizada en la estimulación ovárica y el desarrollo de embriones a una etapa de blastocisto. Esta correlación negativa nos habla de que se logran la misma calidad de embriones con una dosis menor de estimulación. Estos hallazgos son correspondientes a los ya descritos por varios autores, como lo fue Brown en 1978 y Devroey en 1998, los cuales hablan del umbral de la FSH, mismo que se representa en la figura 2.<sup>9</sup>

Otros datos interesantes, en cuanto a la estimulación ovárica se refiere son los que se muestran en la tabla 5. En esa tabla se observa como existe una diferencia, estadísticamente significativa, entre el IMC y la dosis utilizada. Dicha diferencia tiene preferencia hacia que a un IMC menor, mayor la estimulación que se utiliza, contrario a lo que esperaríamos encontrar y contradictorio a algunas de las publicaciones como lo es la de Out y cols. en la revista *Human Reproduction*.<sup>8</sup>

Un segundo punto interesante es el que se refiere al día promedio de la captura ovocitaria. En la tabla podemos observar que a menor dosis utilizada para la estimulación ovárica, se logra una captura ovocitaria más temprana y viceversa, lo cuál nos podría hablar sobre la selección probablemente no óptima de las pacientes para la estimulación ovárica, siendo un ejemplo de estas las pacientes bajas respondedoras. En esa misma tabla, podemos observar un último dato importante y que cabe mencionar. Este punto importante es el grado de desarrollo embrionario obtenido, esto comparando estimulaciones bajas contra estimulaciones altas, el cual lo podemos deducir al ver que existe una transferencia de día promedio mayor en las pacientes con una estimulación baja en comparación con las de una estimulación elevada. Mediante esto, vemos que a menor dosis, más embriones logran llegar a una etapa de blastocisto, lo que concuerda con lo ya descrito por varios autores sobre la dosis y la relación con la calidad embrionaria.<sup>9</sup>

Al igual que lo hallado en la literatura, podemos ver como la frecuencia con la que se utiliza la estimulación con dosis baja en nuestro centro, es mayor que la estimulación con dosis alta, misma tendencia que se observa en la literatura actual, como la expuesta por Hammoud & Gibson en el 2007, sobre la mínima estimulación en los ciclos de FIV. Si nos basáramos estrictamente en las definiciones de Hammoud & Gibson para lo que ellos consideran ciclos de la estimulación mínima, probablemente no entrarían muchas pacientes, pero si se

observa la tendencia a una estimulación menor en nuestro centro lo que va en sincronía con las tendencias a nivel mundial. También se logró observar la evolución que tienen las pacientes en las cuales les resultó una prueba de embarazo positiva, teniendo una tendencia tanto hacia el embarazo bioquímico como hacia el nacido vivo, en los cuales en ambos se presentó una diferencia estadísticamente significativa, esto en los ciclos en que se utilizó una dosis menor.

Mediante la utilización de las pruebas estadísticas, Chi cuadrada y el estadístico de Fisher, no se logró correlacionar entre la buena calidad embrionaria, los resultados de las pruebas de embarazo y la dosis utilizada en la estimulación ovárica, sin embargo mediante la realización de la correlación lineal de Pearson, si logramos obtener una relación lineal, estadísticamente significativa, en donde vemos que para lograr embriones de buena calidad en día 5 es suficiente el utilizar dosis menores de estimulación en un 20% para el grupo 1 y hasta en un 26% para el grupo 2.

Dicha relación nos deduce de que no es necesaria una estimulación tan elevada, o mayor, para lograr los mismos resultados que la estimulación menor, como lo descrito por La Marca & Sunkara en el *Human Reproduction* de este año. Mismo hecho que nos ayudaría a reducir complicaciones propias de la utilización de dosis altas de estimulantes ováricos, así como los costos mismos de la fertilización in vitro.

Para lo que al grupo 3 de pacientes se refiere, y realizando la misma prueba de la correlación lineal de Pearson, no se logro observar, a diferencia del grupo 1 y 2, diferencia estadísticamente significativa entre la estimulación ovárica y la calidad embrionaria, tanto en día 3 como en día 5. Estos datos encontrados nos habla sobre la calidad, por decirlo de esa forma, de la estimulación ovárica, siendo hasta cierto punto buena en este grupo de pacientes. Las pacientes del grupo 3,

COMPARACIÓN ENTRE LAS TASAS DE EMBARAZO Y EMBARAZO CLÍNICO CON TRANSFERENCIA DE EMBRIONES VITRIFICADOS, SEGÚN EL GRADO DE CALIDAD EMBRIONARIA Y LA DOSIS DE HIPERESTIMULACION OVARICA CONTROLADA UTILIZADA.

son las pertenecientes al programa de la ovo-donación, sabiendo a priori, que son pacientes jóvenes, sanas y sin patología aparente alguna, lo cual crea un panorama totalmente diferente en comparación con las del grupo 2.

## 11.0 CONCLUSIÓN

Durante el desarrollo del presente estudio de investigación, se realizó una revisión exhaustiva del impacto, negativo o positivo, que tiene la cantidad de dosis utilizada en la estimulación ovárica en paciente de los programas de reproducción asistida. El efecto que esta tiene sobre la calidad embrionaria y su subsiguiente tasa de embarazos es aún controversial. Muchos son los factores presentes para poder deducir este en su totalidad. Se trato de homologar las pacientes en cuanto a las dosis utilizada (estimulación con dosis altas y estimulación con dosis bajas), así como en los grupos correspondientes (óvulos homólogos o donación ovocitaria). Una variable que también se utilizó, a diferencia de otros estudios es el hecho de la vitrificación de los embriones, lo cual nos ayuda para la homogeneidad del factor endometrial.

Es de suma importancia poder determinar con exactitud el impacto que tiene la estimulación ovárica en sus múltiples etapas a través de la fertilización in vitro, teniendo como objetivo final el nacido vivo. Sería de utilidad el poder inferir a través de la dosis que se utilizó, o aun más la dosis que se propondría, para tener así tasas prediseñadas de embarazo según la dosis y los esquemas.

Se requieren aun más estudios para poder llegar a este objetivo, estudios en donde se cuenten con una mayor muestra de pacientes y con mayor homogeneidad de las mismas, como por ejemplo donde a todas las pacientes se les realice una histeroscopia diagnóstica en un ciclo previo, donde todas tengan diagnóstico de infertilidad o de esterilidad. No obstante, queda claro que no es necesaria una estimulación ovárica agresiva debido a que logramos observar que los mismos resultados se logran a dosis menores en la estimulación ovárica controlada en las pacientes convencionales o de óvulos homólogos.

## 12.0 BIBLIOGRAFIA

1. Porter RN, Smith W & Craft IL.: *Induction of ovulation for in vitro fertilization using buserelin and gonadotrophins*. Lancet 1984; 2: 1284-1285
2. Breckwoldt M & Zahradnik HP.: *Induction of ovulation with human gonadotropins*. In Coelingh Bennink HJT, Vemer HM, Van Keep PA (eds): *Chronic Hyperandrogenic Anovulation*. Parthenon Publishing Group 1991, Carnforth, UK.
3. Vandervorst M & Devroey P.: *Recombinant FSH: results in assisted reproduction*. In Filicori M, Flamigni C (eds): *Ovulation Induction: Update '98: the Proceedings of the 2nd World Conference on Ovulation Induction*. Parthenon Publishing Group 1997, Carnforth, UK.
4. Flamigni C, Venturoli S, Dal Prato L & Porcu E.: *Purified FSH: characteristics and applications*. In Filicori M, Flamigni, C (eds): *Ovulation induction: Basic Science and Clinical Advances*. Elsevier Science 1994, Amsterdam, Holland.
5. Olijve W, Boer de W, Mulders JWM & Van Weezenbeek PMGF: *Molecular biology and biochemistry of human recombinant follicle stimulating hormone (Puregon)*. Hum Reprod 1996; 2: 371-382.
6. Matikainen T, Leeuw de R, Mannaerts B & Huthaniemi I.: *Circulating bioactive and immunoreactive recombinant follicle stimulating hormone (Org 32489) after administration to gonadotropin deficient volunteers*. Fertil Steril 1994; 61: 62-69.
7. Lambert A, Rodgers M, Mitchell R, Wood AM, Wardle C, Hilton B & Robertson WR.: *In-vitro biopotency of glycoform distribution of recombinant human follicle*

*stimulating hormone* (Org 32489), Metrodin and Metrodin-HP. Hum Reprod 1995; 10: 1928-1935.

8. Out HT, Mannaerts BMJL, Driessen SGAJ & Coelingh Bennink HJT.: *A prospective, randomised, assessor-blind, multicentre study comparing recombinant and urinary follicle stimulating hormone (Puregon® versus Metrodin®) in in-vitro fertilization.* Hum Reprod 1995; 10: 2534-2540.

9. Devroey P, Tournaye H, Van Steirteghem A, Hendrix P & Out HJ.: *The use of a 100 IU starting dose of recombinant FSH (Puregon) in in-vitro fertilization.* Hum Reprod 1998; 13: 565-566.

10. Roque; M., Lattes K., Serra S. & Sol I. *Fresh embryo transfer versus frozen embryo transfer in in vitro fertilization cycles: a systematic review and meta-analysis.* Fertil Steril (2013) Vol 99 (1) pág. 156 – 162

11. 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 frozenthawed embryo transfer in normal responders.* Fertil Steril 2011;96:344–8.

12. Richter KS, Shipley SK, McVeary I, Tucker MJ, Widra EA. *Cryopreserved embryo transfers suggest that endometrial receptivity may contribute to reduced success rates of later developing embryos.* Fertil Steril 2006;86:862–6.

13. Papanikolaoul E., Bourgain C., Kolibianakis E., Tournaye H & Devroey P. *Steroid receptor expression in late follicular phase endometrium in GnRH antagonist IVF cycles is already altered, indicating initiation of early luteal phase*

*transformation in the absence of secretory changes.* Human Reprod, 2005; 20 (6): 1541 – 1547

14. Haouzi D., Assou S., Mahmoud K., Tondeur S., Reme T., et al. *Gene expression profile of human endometrial receptivity: comparison between natural and stimulated cycles for the same patients.* Human Reprod 2009; 24 (6): 1436 – 1445.

15. Shapiro B., Daneshmand S., Restrepo H, Garner F. Aguirre M and Hudson C. *Matched-cohort comparison of single-embryo transfers in fresh and frozen-thawed embryo transfer cycles.* Fertil Steril 2013; 99(2): 389 – 392.

16. Betteridge K., King W., & Rieger D., *Bovine embryo development from conception to collection.* En: *Proceedings of the 8th annual Convention.* American embryo transfer Asociation. 1989; 83-97.

17. Callensen, H., Greve, T. & Hyttel, P. *Preovulatory endocrinology and oocyte maturation insuperovulated cattle.* Theriogenology (1986) 25: 71-76.

18. Dietl, J. *Struktur und Funktion der Zona Pellucida.* En: Ferdinand Enke Verlag (ed.), Stuttgart (1986) 1-184.

19. Elsdén, R. & Seidel, G., Jr. En: *Evaluation of embryos. Procedures for recovery, bisection, freezing and transfer of bovine embryos.* Animal Reproduction and Biotechnology Laboratory. Colorado State University, 1990; 13-16

20. Greve, T. & Lehn-Jensen, H. *Current Status of embryotransplantation in Denmark.* Theriogenology, 1979; 11: 99.

21. Kauffold, P., Thamm, I., Alm, H., et al. Die Zustandsbeurteilung von Rinderembryonen. *t t t -Rostock der Akademie der Landwirtschafts-wissenschaften der DDR, 1985; 3-47.*
22. Kusters, G. *t t*  
*cksichtigung der Anwendungsmethoden.* Hannover, Tierärztliche Hochschule, Diss. 1983; 1-66.
23. Kuzan, F. *Classification of embryos prior to freezing.* Procedures for recovery, bisection, freezing and Transfer of bovine embryos. Animal Reproduction and Biotechnology Laboratory. Bulletin No 2. 1988; 34-45.
24. Leibo, S. *The embryology of embryo transfer. Embryo transfer in cattle.* Lloyd Donaldson (Ed.). 1985; 32-53
25. Lindner, G., Wright, R. *Bovine embryo morphology and evaluation.* *Theriogenology* 1983; 20 (4): 407-416.
26. Mappletoft, J. Bovine embryo transfer. En: Morrow, D.A.: *Current therapy in Theriogenology* 2. W.B. Saunders Company (Ed.). 1986.
27. Albertini D, Sanfins A and Combelles C. *Origins and manifestations of oocyte maturation competencies.* *Reprod Biomed Online* 2003; 6,410–415.
28. Alfarawati S, Fragouli E, Colls P, Stevens J, et al. *The relationship between blastocyst morphology, chromosomal abnormality, and embryo gender.* *Fertil Steril* 2011; 95(2):520-4

29. Alikani M, Calderon G, Tomkin G, et al. *Cleavage anomalies in early human embryos and survival after prolonged culture in vitro*. Hum Reprod 2000; 15:2634–43.
30. Alikani M, Schimmel T & Willadsen SM. *Cytoplasmic fragmentation in activated eggs occurs in the cytokinetic phase of the cell cycle, in lieu of normal cytokinesis, and in response to cytoskeletal disorder*. Hum Reprod 2005; 11(5):335-44.
31. Al-Inany H & Aboulghar M. *GnRH antagonist in assisted reproduction: a Cochrane review*. Hum Reprod 2012; 17:874–885
32. Aytoz A, Van den Abbeel E, Bonduelle M, Camus M., et al. *Obstetric outcome of pregnancies after the transfer of cryopreserved and fresh embryos obtained by conventional in-vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection*. Hum Reprod 1999; 10:2619–24
33. Baart E, Martini E, Van den Berg I, et al. *Preimplantation genetic screening reveals a high incidence of aneuploidy and mosaicism in embryos from young women undergoing IVF*. Hum Reprod 2006; 21:223–233