



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES
DE LOS TRABAJADORES DEL ESTADO

Transferencia de embriones en clivaje versus
blastocisto en ciclos de reproducción asistida en
descongelados.

TESIS
Que para obtener el título de
**Médico Especialista en Biología de la Reproducción
Humana**

P R E S E N T A
Dr. Bry'an Adan Oliveros Galeana

DIRECTOR DE TESIS
Dra. Zoé Gloria Sondón García

Facultad de Medicina

Ciudad Universitaria, Cd. México, 2018





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AUTORIZACIONES



Dr. Mauricio di Silvio López
Subdirector de enseñanza e investigación

Dr. José Modesto Alfredo Góngora Rodríguez
Profesor titular del curso universitario de posgrado de
Biología de la Reproducción Humana

Dra. Zoé Gloria Sondón García
Encargada del Servicio de Reproducción
Humana y Director de Tesis

Dr. Bry'an Adan Oliveros Galeana
Médico Residente

ÍNDICE	Página
Resumen	4
Marco Teórico	5
Introducción	5
Antecedentes	5
Planteamiento del problema	7
Hipótesis	7
Justificación	7
Objetivos	8
Material y Método	8
Definición operacional de las variables	10
Aspectos éticos	11
Recursos humanos y materiales	12
Resultados	12
Tabla 1. Características demográficas y basales de los dos grupos	12
Tabla 2. Resultados reproductivos: tasa de implantación, embarazo clínico, aborto y recién nacido vivo.	13
Discusión	13
Conclusión	14
Referencias bibliográficas	15

RESUMEN

Transferencia de embriones en clivaje versus blastocisto en ciclos de reproducción asistida en descongelados.

Antecedentes:

La criopreservación de embriones se ha convertido en una estrategia terapéutica esencial en las técnicas de reproducción asistida (TRA), ya que permite lograr varios embarazos a partir de un único ciclo de estimulación ovárica controlada (EOC) lo que contribuye a un aumento del resultado acumulativo de embarazo. Además, permite la transferencia de embriones individuales, minimizando los riesgos.

Se ha visto que transferir embriones en ciclos descongelados es una alternativa en pacientes con riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica, necesidad de pruebas genéticas a embriones, síndrome de ovario poliquístico y pacientes de edad avanzada, mejorando las probabilidades de resultados reproductivos y menores riesgos perinatales, al transferir embriones descongelados en clivaje o en blastocisto.

Varios investigadores han descrito los resultados de embarazo clínico, embarazo en curso y recién nacido vivo en ciclos de transferencia de embriones descongelados; los resultados son controversiales, sin embargo la mayoría reporta que no hay diferencias significativas entre transferir embriones descongelados en clivaje o en blastocisto. Algunos autores reportan menores riesgos y complicaciones al tener la posibilidad de transferir un solo embrión en etapa de blastocisto, por el mayor potencial de implantación y un ambiente más fisiológico a nivel endometrial y ovárico.

Objetivo General: comparar los resultados reproductivos de la transferencia de embriones en clivaje versus blastocisto en ciclos de descongelados.

Material y Métodos: Estudio transversal y analítico. Se evaluarán los expedientes electrónicos, resultados de laboratorio y bitácoras de preparación endometrial de los ciclos de reproducción asistida realizados en el servicio de Biología de la Reproducción Humana del Centro Médico Nacional "20 de Noviembre" en el periodo de enero de 2012 a mayo 2018. fertilización in vitro, reproducción asistida.

Resultados: En relación a las variables demográficas y de la estimulación ovárica sin diferencias significativas, a excepción de que se transfieren menor número de embriones en el grupo de blastocisto, La tasa de embarazo clínico corresponde a 38.8% y 41.6% en el grupo de transferencias en clivaje y en blastocisto respectivamente, la tasa de implantación del grupo de clivaje fue de 35.5% y en el grupo de blastocisto de 40%, tasa de recién nacido vivo de 38% en el grupo de clivaje y de 40% en el grupo de blastocisto, y tasa de aborto reportada de 4.9 y 8.3% para el grupo de clivaje y blastocisto respectivamente; sin encontrar significancia estadística en lo anterior mencionado entre ambos grupos.

Conclusiones: La evidencia muestra que no hay superioridad en ciclos de descongelados de transferir blastocisto en comparación con la transferencia del embrión en la etapa de escisión en la práctica clínica en relación a resultados reproductivos. La transferencia en blastocisto requiere menores embriones a transferir, para obtener un recién nacido vivo, lo que se traduce en menores complicaciones perinatales.

Palabras clave: transferencia, descongelados, clivaje, blastocisto, fertilización in vitro, ICSI.

MARCO TEÓRICO

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, los especialistas en tratamiento de la infertilidad recomiendan cada vez más la congelación de todos los embriones de buena calidad disponibles y programan a los pacientes para la transferencia embrionaria diferida en descongelados durante ciclos más controlados y endocrinológicamente más fisiológicos. Hay preguntas persistentes que necesitan respuestas antes de que se adopte universalmente un enfoque de congelación solamente, en una publicación en el 2013 en la revista *Fertility and Sterility* (7), reporta los resultados sobre la tasa de embarazos en curso después transferir blastocistos descongelados fue de (54,3%) similares a la transferencia de blastocistos en frescos de (56.5%), que pone en duda la conclusión de que las transferencias en fresco son potencialmente peores que los congelados.

La incidencia de resultados perinatales adversos (parto prematuro, pequeño para la edad gestacional, bajo peso al nacer, mortalidad perinatal) y otras complicaciones (hemorragia anteparto) después de la transferencia de embriones frescos versus congelados también han respaldado el enfoque de congelación solamente. Múltiples estudios clínicos no aleatorizados y un metaanálisis (8) muestran una reducción en dichos resultados perinatales adversos después de los ciclos de transferencia de embriones congelados.

En pacientes jóvenes, se ha demostrado que la transferencia en descongelados en blastocisto embrión único es clínicamente superior a la transferencia en etapa de escisión (11). Sin embargo, las tasas acumulativas de embarazo clínico derivadas de ciclos frescos y de criopreservados no mostraron este beneficio a favor de la transferencia de blastocisto (12).

Hasta ahora, es bien aceptado que el uso de la transferencia de blastocisto único tiene la ventaja de una mejor sincronización entre el endometrio y el embrión, permitiendo la autoselección de embriones y por lo tanto resulta en mayores tasas de nacidos vivos (13).

La criopreservación de embriones se ha convertido en una estrategia terapéutica esencial en las técnicas de reproducción asistida (TRA), ya que permite lograr varios embarazos a partir de un único ciclo de estimulación ovárica controlada (EOC) lo que contribuye a un aumento del resultado acumulativo de embarazo. Además, permite la transferencia de embriones individuales, minimizando los riesgos.

ANTECEDENTES

El primer embarazo exitoso resultante de la transferencia de un embrión humano enfriado lentamente se informó en 1983 (1). Dos años después, Lassalle et al. introdujo algunas modificaciones al protocolo con el uso de 1,2-propanodiol y sacarosa como crioprotectores (CPA) (2), lo que condujo al establecimiento de un método estándar que se ha aplicado ampliamente en centros de FIV en todo el mundo. Desde entonces, este protocolo ha sufrido muy pocas modificaciones, con miles de bebés que nacieron como resultado del procedimiento original.

Actualmente, la vitrificación rápida se aplica cada vez más a los embriones en etapa temprana de escisión y blastocisto. La vitrificación se aplicó por primera vez en embriología con el uso de embriones de ratón hace casi 30 años (3), con vitrificación exitosa en 1991 por Kono et al. (4) El primer embarazo humano y el parto de un bebé como resultado de la vitrificación del blastocito se publicó en 2001 (5).

La tasa de supervivencia fue del 95%. El porcentaje de embriones intactos al descongelar muestran una supervivencia del 100% de blastocitos; 93% (IC del 95%: 90,1% -95,3%) para embriones en día 2 y del 95% (IC del 95%: 94,3% -95,7%) para embriones en día 3. La implantación general, el embarazo clínico, el embarazo continuo y las tasas de nacidos vivos por ciclo de descongelación fueron 35.5% (IC 95% 33.5% -38.5%), 41.7% (IC 95% 39.9% -43.4%), 32.6% (IC 95% 31.0 % -34.2%) y 38.1% (IC 95% 36.4% -39.8%) respectivamente. Éste estudio concluye que la criopreservación con éxito de todas las etapas de desarrollo embrionario es posible con el uso del sistema Cryotop. (6)

Aunque la conclusión de algunos autores es que los ciclos de congelación se asocian con tasas de embarazo e implantación significativamente más altas, los resultados reales no respaldan la justificación de un cambio en la práctica para todos los pacientes. A partir de agosto de 2017 y en base a la evidencia actual, es razonable recomendar un enfoque de solo congelamiento para pacientes en riesgo de desarrollar SHO; pacientes cuyos embriones serán sometidos a biopsia de trofoectodermo para pruebas genéticas; pacientes con síndrome de ovario poliquístico; y pacientes con elevación prematura de progesterona sérica. Además, publicaciones recientes sugieren que un estradiol elevado puede contribuir a los resultados perinatales adversos; las pacientes de mayor edad podrían beneficiarse de un enfoque de congelación, tal como se sugiere, pero no se ha demostrado. (9)

En un estudio realizado por Nulsen et al. No encontraron diferencias significativas en la supervivencia post-descongelación y las tasas de implantación. La tasa de embarazo clínico fue mayor en el grupo de embriones en clivaje, esto puede explicarse por la transferencia de más embriones y la tasa de embarazo clínico por transferencia en clivaje fue de 61.1% vs transferencia de blastocisto 48% ($p = 0.02$). La tasa de embarazo en curso fue de 51.4% vs 38% sin significancia estadística. Se observa mayor tasa de embarazo porque se transfirió el mayor número de embriones en el grupo de clivaje: 2.1 ± 0.4 vs 1.5 ± 0.5 ($p < 0.001$). Los autores concluyen que el potencial de implantación de los embriones descongelados no se ve afectado por el proceso de congelación. Los embriones en etapa de escisión que no cumplen con los criterios embriológicos para la congelación el día 3 deben permitir el progreso y criopreservarse si se desarrollan como buenos blastocitos en relación a su morfología. (10)

Algunos investigadores no lograron mostrar una diferencia significativa en términos de tasas acumulativas de embarazo en curso entre blastocitos y embriones en estadio de escisión (56.8% versus 43.3%, $P = 0.174$). (14)

En términos de las tasas de nacidos vivos después de transferencia en descongelados entre embriones en estadio de escisión y blastocisto fue de 20.7% versus 21.5%, respectivamente ($P = 0.785$). (15).

En una revisión Cochrane del 2016 los autores informaron que no hay diferencia en las tasas de embarazo acumulativo entre transferencia de embriones en etapa de escisión y transferencia de blastocitos 48.9% versus 52.0%. (16)

En un estudio clínico prospectivo en el 2012, se evaluaron 134 ciclos de tratamiento ART para la infertilidad. La tasa de implantación fue significativamente mayor en el grupo de blastocitos (30%) en comparación con el grupo embriones en etapa de escisión (17%). No se informaron diferencias estadísticas en las tasas de embarazo clínico entre los grupos. La tasa de embarazos en curso fue significativamente mayor en el grupo de blastocitos en comparación con el grupo de escisión 42.9 vs. 24.6%. (17)

La principal desventaja de la transferencia de embriones en la etapa de escisión a la transferencia de blastocitos se debe a las controversias sobre la selección de embriones. Los criterios morfológicos para la selección de embriones en el tercer día son muy subjetivos y están menos correlacionados con la calidad genética de los embriones. La selección del embrión para la transferencia en la etapa de escisión puede aumentar la posibilidad de transferir un embrión genéticamente anormal. (18)

En ciclos recientes, los riesgos perinatales fueron comparables cuando se incluyeron ciclos congelados en el análisis de embriones en clivaje contra blastocisto. Los partos de fetos grandes para edad gestacional fueron más frecuentes en la transferencia de embriones en estadios de escisión y blastocitos con ciclos congelados. Los partos de pequeños para la edad gestacional fueron significativamente menores al transferir blastocistos que embriones en etapa de escisión en ciclos frescos y se observó una tendencia similar, aunque no estadísticamente significativa, en ciclos congelados. No se observaron diferencias con respecto al bajo peso al nacer, el peso muy bajo al nacer y las anomalías congénitas, independientemente del procedimiento de criopreservación. Solo un estudio informó un mayor riesgo de mortalidad perinatal en el estadio de blastocisto frente a los embarazos en etapa de escisión en ciclos congelados. (19)

En un estudio realizado en Japón basado en registros sobre el resultado materno y neonatal del embarazo después de transferencia de embrión único mostró que en descongelados se asoció con resultados mejorados de neonatos con respecto a las tasas de parto pretérmino, peso grande para edad gestacional y pequeño para edad gestacional en comparación con transferencias frescas. La

transferencia de embrión único en descongelados no pareció tener resultados diferentes de la transferencia en fresco para la placenta previa y la desprendimiento de placenta, pero se asoció con a OR más alto estadísticamente significativa de la placenta acreta y la hipertensión en el embarazo. La transferencia de un solo embrión en blastocisto se asoció con menores probabilidades de fetos pequeños para la edad gestacional en comparación con la transferencia de embriones en clivaje. No se encontró asociación entre la transferencia de un solo blastocisto y la transferencia de un embrión en escisión para la placenta previa, desprendimiento de placenta, acretismo placentario e hipertensión gestacional. (20)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La infertilidad es un problema de salud pública, establecido por la OMS desde el 2008. Se define como la falla para concebir en una pareja en edad reproductiva después de 12 meses o más de coitos regulares sin anticoncepción. Los reportes epidemiológicos de infertilidad reportan que una de cada 6 parejas no logran un embarazo espontáneamente. En México hay aproximadamente 1.5 millones de parejas que padecen infertilidad, y un tercio requerirán alguna técnica de reproducción asistida; las tasas reportadas en estudios con las mejores condiciones y en pacientes menores de 35 años, son del 29 a 33% de tasa de éxito por transferencia; y la tasa de embarazo y recién nacido vivo en ciclos de descongelados oscilan entre 35-50% en los estudios publicados. La posible asociación de mejor pronóstico en ciclos de fertilización *in vitro* con transferencia de embriones en descongelados, se relaciona con niveles mas fisiológicos hormonales, con mejores condiciones en endometrio para una adecuada implantación. Los estudios son controversiales, puesto que las tasas de embarazo y de recién nacido vivo reportadas al transferir embriones en clivaje es de 48% y 20% y de transferir embriones en día 5 (blastocisto) en ciclos de descongelados es de 52% y 21%, y en otros estudios concluyen que la transferencia de blastocistos tiene mejores resultados.

En nuestra población no contamos con un estudio previo en relación a ello, por lo que el presente estudio planteó comparar los resultados de embarazo y recién nacido vivo de transferir embriones en clivaje vs en blastocisto en ciclos de descongelados.

JUSTIFICACIÓN

La infertilidad es un problema de salud que afecta al 15% de la población. En México existen aproximadamente 29 millones de mujeres en edad reproductiva, de las cuáles, 1.7 millones son infértiles; el Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” I.S.S.S.T.E., es un centro de referencia Nacional, donde se atienden en promedio 745 parejas infértiles al año de primera vez y el doble de parejas subsecuentes. La tendencia en técnicas de reproducción asistida es hacia congelar todo, para tener condiciones optimas hormonales y que no impacten en las características endometriales, y por ende en la implantación, con una mejor sincronización embrión-endometrio y menores complicaciones obstétricas y perinatales; por lo anterior, en los últimos años, se ha incrementado la transferencia embrionaria en descongelados, y la revisión de la bibliografía reporta mejores tasas de embarazo en transferencia en descongelados de embriones en estado de blastocisto, sin embargo no existe un estudio en nuestra población que comparen los resultados reproductivos de transferir en estado de clivaje versus blastocisto; por lo que este estudio nos permitió comparar los resultados de lo anterior mencionado en el servicio de Reproducción Humana del CMN “20 de Noviembre”, en el periodo de Enero del 2012 a mayo del 2018, ya que como Biólogos de la Reproducción Humana debemos de informar de los resultados del tratamiento con técnicas de reproducción asistida a las parejas, tomando en cuenta varios factores y entre ellos, decidir el día de la transferencia, ya que es pieza clave y fundamental para mejorar los resultados reproductivos y se eviten riesgos asociados.

HIPÓTESIS

La transferencia de embriones descongelados en estado de blastocisto tendrán mejores resultados reproductivos en comparación con la transferencia en estado de clivaje.

OBJETIVO GENERAL

Comparar los resultados reproductivos de la transferencia de embriones descongelados en estado de blastocisto versus la transferencia de embriones descongelados en estado de clivaje.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar la transferencia de embriones descongelados en estado de blastocisto versus clivaje sobre la tasa de embarazo clínico.
- Comparar la transferencia de embriones descongelados en estado de blastocisto versus clivaje sobre la tasa de implantación.
- Comparar la transferencia de embriones descongelados en estado de blastocisto versus clivaje sobre la tasa de aborto.
- Comparar la transferencia de embriones descongelados en estado de blastocisto versus clivaje sobre la tasa de recién nacido vivo.

MATERIAL Y MÉTODO

DISEÑO Y TIPO DE ESTUDIO

Estudio transversal, analítico, de ciclos de reproducción asistida realizadas en el servicio de Biología de la Reproducción Humana del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre de enero de 2012 a mayo 2018.

Tamaño de la muestra: 167 pacientes

Estimulación ovárica controlada y técnica de transferencia embrionaria.

Todas las pacientes que accedieron a los programas de fertilización In-Vitro fueron citadas en el segundo o tercer día de su ciclo, donde se solicitaron análisis hormonales basales, ultrasonografía basal y se inició estimulación ovárica controlada con protocolos convencionales con antagonista flexible, protocolos largos con agonista en el día 21 del ciclo previo, ciclos de mínima estimulación; todos ellos fueron seleccionados de acuerdo a las características clínicas de cada paciente. Se emplearon gonadotropinas recombinantes (Gonal f, Merck Serono), agonistas (Lucrin Kit, Abbott), antagonista (Cetrotide), inhibidor de aromatasa (Letrozol).

El seguimiento folicular se llevó a cabo por medio de ultrasonografía transvaginal iniciando en el día 6 día de estimulación ovárica controlada y partir de entonces cada 24 o 48 horas según respuesta individual de cada paciente, y la maduración ovocitaria final se realizó al obtener dos o más ovocitos de 18mm o más con Coriogonadotropina (Ovidrel 250ug) o Gonadotropina Coriónica Humana (Choriomon 5.000 – 10.000), realizando recuperación ovocitaria 34 horas posteriores, y se decidió vitrificar embriones según las características del ciclo.

Se citó nuevamente a las pacientes a preparación endometrial en los 3 primeros días del ciclo, se inició valerato de estradiol esquema ascendente de 4mg a 12 mg; o esquema fijo 4mg, 6 mg u 8 mg, se realizó seguimiento ultrasonográfico para valorar forma y medir endometrio; al contar con endometrio de 8 mm o mayor, y completando al menos 12 días de valerato de estradiol, se inició luteinización con progesterona micronizada vía vaginal (Geslutin, Asofarma), iniciando 600 mg el primer día y posterior 800 mg por 3 días más, si la transferencia fue de embrión en día 3; o por 5 días más si la transferencia fue de embrión en estado blastocisto. Se continuó con soporte de fase lútea con progesterona micronizada por vía vaginal 800mg hasta la décima semana de gestación.

La calidad embrionaria fue definida según la clasificación de Lucinda-Veeck, se transfirieron de 1-3 embriones en estadio de clivaje (día 3) o en blastocisto (en día 5) acorde a las características clínicas de cada paciente (edad, número y calidad embrionaria disponible para transferencia embrionaria). Todas se realizaron en posición de litotomía, colocación de espéculo vaginal y lavado cervical con solución salina al 0.9% retirando el exceso de moco cervical con gasas. Así mismo todos los procedimientos fueron asistidos con ultrasonido transabdominal con transductor convexo 5-2 MHz (EnVisor, Philips) y vejiga llena. Se utilizaron catéteres de transferencia (Wallace, Smiths Medical International) y se clasificaron como técnica de transferencia directa (introducir solo la vaina interior del catéter con los embriones en un solo tiempo) y como técnica de transferencia postcarga descrita a la técnica descrita por Neithardt y cols.

Los embriones fueron cargados en el catéter con la técnica de cargado con aire y fueron depositados a 15 mm del fondo uterino retirando el catéter inmediatamente y entregándose al biólogo para descartar retención de embriones a través de microscopía óptica 400x, una vez descartada esta situación, se retiraba el espéculo vaginal y se dejaba a la paciente en posición supina por 15 minutos.

El resultado primario fue evaluar los resultados reproductivos desglosado en tasa de embarazo clínico (definido como la presencia de saco gestacional con embrión en su interior con frecuencia cardíaca audible); tasa de implantación (definido como número de sacos gestacionales observados, dividido por el número de embriones transferidos); tasa de aborto (definido como la pérdida de un embarazo clínico menor a 20 semanas de edad gestacional) y tasa de nacido vivo (interrupción de la concepción con producto mayor 24 semanas de edad gestacional que respira y llora al nacer).

POBLACION DE ESTUDIO

Se estudiaron a todas las pacientes sometidas a ciclos de transferencia embrionaria en descongelados en el Servicio de Reproducción Humana del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre durante el periodo de enero de 2012 a mayo 2018.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Todas aquellas pacientes sometidas a ciclos de preparación endometrial a quienes se les realizó transferencia embrionaria en ciclos en descongelados.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Pacientes no sometidas a transferencia embrionaria secundario a cancelación del ciclo de preparación endometrial, carecer de embriones viables al descongelar o al cultivar a blastocisto un embrión descongelado en día 3. Pacientes con expedientes incompletos. Pacientes que no cuenten con información de las variables de análisis en el expediente.

GRUPO CONTROL

Las pacientes se dividirán en 2 grupos distintos de acuerdo a la transferencia en estado de clivaje o en estado de blastocisto; el grupo control será el grupo de pacientes en quienes la transferencia se realizó en día 5 o estado de blastocisto. Se evaluarán los datos obtenidos a través de los expedientes electrónicos y bitácoras de preparación endometrial de los ciclos de transferencia en descongelados del Centro Médico Nacional "20 de Noviembre", en el periodo de enero de 2012 a mayo 2018.

GRUPO A INTERVENIR

El grupo de estudio será el grupo 2 con transferencia de embriones descongelados en estado de

clivaje o día 3. Se evaluarán los datos obtenidos a través de los expedientes electrónicos y bitácoras de preparación endometrial de los ciclos de transferencia en descongelados del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”, en el periodo de enero de 2012 a mayo 2018.

DEFINICIÓN OPERACIONAL DE LAS VARIABLES

Variable	Definición conceptual	Tipo de variable	Unidad de medida/ categoría	Herramienta para medir
IMC	Índice de Masa Corporal, índice sobre la relación entre el peso y la altura, generalmente utilizado para clasificar el peso insuficiente, el peso excesivo y la obesidad en los adultos. Se calcula dividiendo el peso en kilogramos por el cuadrado de la altura en metros (kg/m ²).	Cuantitativa, Continua	Kg/m ²	Báscula Cinta métrica Calculadora
Edad	Años cumplidos de la paciente al momento de la transferencia embrionaria.	Cuantitativa, Continua	años	Expediente clínico
FSH basal	Valor sérico de la hormona folículo estimulante en día 3 del ciclo menstrual.	Cuantitativa, Continua	UI/ml	Cuantificación sérica en laboratorio.
E ₂ basal	Valor sérico del estradiol sérico en día 3 del ciclo menstrual.	Cuantitativa, Continua	pg/ml	Cuantificación sérica en laboratorio
Progesterona el día de inicio de luteinización	Valor sérico de la progesterona en el día de inicio de la luteinización.	Cuantitativa, Continua	ng/ml	Cuantificación sérica en laboratorio
RFA basal	Número de folículos presentes en ambos ovarios observados a través de ultrasonido endovaginal en día 3 del ciclo menstrual.	Cuantitativa, Continua	Folículos Antrales	Ultrasonido transductor endovaginal 5-2 MHz (EnVisor, Philips)
Grosor endometrial el día de la luteinización	Distancia máxima entre las interfaces ecogénicas del miometrio cuando es medida en un plano longitudinal del útero en día 3 del ciclo.	Cuantitativa, Continua	mm	Ultrasonido con transductor endovaginal 5-2 MHz (EnVisor, Philips)
Ovocitos capturados	Cantidad de ovocitos maduros recuperados con la punción folicular.	Cuantitativa continua	Número de ovocitos	Bitácora de ciclos de reproducción asistida
Tipo de fertilización	Fertilización de los ovocitos por medio de FIV convencional o ICSI.	cualitativa	Porcentaje	Bitácora de ciclos de reproducción asistida
Dosis total de gonadotropinas	Cantidad de folitropina administrada durante el ciclo de estimulación ovárica	Cuantitativa continua	Unidades internacionales (UI)	Bitácora de ciclos de reproducción asistida
Número de embriones transferidos	Colocación intrauterina de uno o más embriones en día 3 de buena calidad producto de un ciclo de fertilización in vitro o ICSI.	Cuantitativa, Continua	Número de embriones	Bitácora de ciclos de reproducción asistida
Tasa de embarazo clínico	Número de embarazos diagnosticados por la detección de saco gestacional por ciclo de transferencia embrionaria, divididos entre 100 ciclos iniciados.	Cualitativa, Nominal	Porcentaje	Bitácora de ciclos de reproducción asistida
Tasa de	Pérdida espontánea de un embarazo	Cualitativa,	Porcentaje	Bitácora de ciclos de

Aborto	antes de las 20 semanas de gestación entre el número de embarazos clínicos, multiplicados por cien.	Nominal		reproducción asistida
Tasa de recién Nacido Vivo	El número de partos de nacido vivo expresados por 100 ciclos iniciados, ciclos de aspiración o ciclos de TE. **Se debe especificar el denominador (iniciado, aspirado o ciclos de transferencia de embriones). Sólo Incluye entregas que resultaron en el nacimiento de uno o más nacidos vivos.	Cualitativa, Nominal	Porcentaje	Bitácora de ciclos de reproducción asistida
Tasa de implantación	El número de sacos gestacionales observados dividido por el número de embriones transferidos.	Cualitativa, Nominal	Porcentaje	Bitácora de ciclos de reproducción asistida

PROCESAMIENTO Y ANALISIS ESTADISTICO

Los resultados se procesaron con el programa GraphPad Prism versión 6 para macOS. Las pacientes se dividirán en 2 grupos distintos de acuerdo a la transferencia embrionaria en descongelados día 3 versus día 5. Se analizará el comportamiento de los datos a través de pruebas de normalidad. Se utilizará estadística descriptiva, medidas de tendencia central y de dispersión para las variables cuantitativas y frecuencias para las variables cualitativas. Se realizará análisis univariado para identificar diferencias en la distribución de las variables cuantitativas mediante T de Student o U de Mann- Whitney; mientras que para establecer diferencias en la frecuencia de las variables cualitativas se utilizará Chi cuadrada o exacta de Fisher. Se consideraron significativas las diferencias con una $p < 0.05$.

ASPECTOS ÉTICOS

De acuerdo con los Artículos 16, 17 y 23 del CAPÍTULO I, TÍTULO SEGUNDO: De los Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos, del REGLAMENTO de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud. El presente proyecto es retrospectivo, documental sin riesgo, que estrictamente no amerita del Consentimiento Informado.

Los investigadores confirmamos que la revisión de los antecedentes científicos del proyecto justifican su realización, que contamos con la capacidad para llevarlo a buen término, nos comprometemos a mantener un estándar científico elevado que permita obtener información útil para la sociedad, a salvaguardar la confidencialidad de los datos personales de los participantes en el estudio, pondremos el bienestar y la seguridad de los pacientes sujetos de investigación por encima de cualquier otro objetivo, y nos conduciremos de acuerdo a los estándares éticos aceptados nacional e internacionalmente según lo establecido por la Ley General de Salud, Las Pautas Éticas Internacionales Para la Investigación y Experimentación Biomédica en Seres Humanos de la OMS, así como la Declaración de Helsinki.

RECURSOS HUMANOS

- Dra. Sondón García, Zoé Gloria Encargada de Servicio de Reproducción Humana del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”. Se encargará de asesorar cada actividad en el desarrollo del presente trabajo y del análisis e interpretación de resultados obtenidos.
- Dr. Oliveros Galeana, Bry’an Adan Residente de segundo año de Reproducción Humana del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”, ISSSTE.
- Regalado Hernández, Miguel Ángel Biólogo adscrito al Servicio de Reproducción Humana del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”, ISSSTE.
- Dr. Góngora Rodríguez, José Modesto Alfredo Coordinador de Ginecología y Obstetricia del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”, ISSSTE.

RECURSOS MATERIALES

- Expediente electrónico y físico.
- Bitácora de ciclos de reproducción asistida.
- Laboratorio de Reproducción Asistida.
- Computadora con software estadístico.

RESULTADOS

El presente estudio incluyó 181 ciclos de transferencia de embriones en descongelados; 60 transferencias en estado de blastocisto (día 5) y 121 (día 3) transferencias en estado de clivaje, todas las pacientes fueron preparadas con valerato de estradiol y luteinización con progesterona micronizada vía vaginal. El promedio de edad de las pacientes fue de 34 años sin significancia estadística, así mismo sin diferencias entre los grupos en índice de masa corporal, hormonales basales, grosor endometrial, recuento de folículos antrales, ovocitos capturados, dosis total de gonadotropinas y tipo de fertilización. El número de embriones transferidos fue mayor en el grupo de clivaje, lo que significa que en blastocisto, existe mayor porcentaje de transferencia única de embrión. (tabla 1).

Tabla 1. Características demográficas y de la estimulación ovárica			
	BLASTOCISTO (n=60)	CLIVAJE (n=121)	P
Edad pareja femenina^a (años)	34.57 ± 4.2	34.55 ± 4.7	0.9272 ^a
IMC	25.73 ± 3.6	25.97 ± 3.0	0.9621 ^a
FSH basal	7.054 ± 3.48	5.802 ± 2.636	0.2018 ^a
LH basal	6.054 ± 3.48	4.802 ± 2.636	0.3018 ^a
Estradiol basal	40.82 ± 38.09	50.02 ± 35.42	0.0478 ^a
Progesterona basal	0.803 ± 0.37	0.760 ± 2.779	0.4357 ^a
RFA basal	10.20 ± 4.64	11.39 ± 4.387	0.2881 ^a
Grosor Endometrial	10.478 ± 2.13	10.727 ± 2.035	0.7572 ^a
Ovocitos metafase II^a (n)	5.3 ± 3.75	7.57 ± 6.1	0.0213 ^a
Embriones transferidos^a	2.33 ± 1.3	1.89 ± 1.1	0.4955 ^{a*}
Dosis total de gonadotropinas	2201 ± 781.7	2082 ± 625.8	0.1668 ^a
FIV	53 (76%)	28 (84%)	0.4378 ^b
ICSI	16 (23%)	5 (15%)	0.4378 ^b

^a Valores expresados como medias y desviaciones estándar y analizados por t de student.
^b Valores expresados número (n/N) y porcentaje (%) y analizados por exacta de Fisher.
* p<0.005 significancia estadística

En la tabla 2 se resumen los resultados reproductivos de las técnicas de reproducción asistida. La tasa de embarazo clínico corresponde a 38.8% y 41.6% en el grupo de transferencias en clivaje y en blastocisto respectivamente (OR 1.08 IC 95% 0.43-2.74), la tasa de implantación del grupo de clivaje fue de 35.5% y en el grupo de blastocisto de 40% (OR 1.6 IC 95% 0.98-2.84) y se reporta una tasa de recién nacido vivo de 38% en el grupo de clivaje y de 40% en el grupo de blastocisto (OR 1.08 IC 95% 0.43-2.74), con tasa de aborto reportada de 4.9 y 8.3% para el grupo de clivaje y blastocisto respectivamente; sin encontrar significancia estadística en lo anterior mencionado entre ambos grupos.

Tabla 2. Resultados reproductivos			
	Clivaje	Blastocisto	P
Tasa de Embarazo clínico por transferencia	47/121 (38.8)	25/60 (41.6)	>0.9999
Tasa de implantación	43/121 (35.5)	24/60 (40)	>0.9999
Tasa de aborto	6/121 (4.9)	5/60 (8.3)	>0.9999
Tasa de recién nacido vivo por transferencia	46/121 (38)	24/60 (40)	>0.9999
<i>Valores expresados número (n/N) y porcentaje (%) y analizados por exacta de Fisher. *p<0.005 significancia estadística</i>			

DISCUSIÓN

La criopreservación de embriones se ha convertido en una estrategia terapéutica esencial en las técnicas de reproducción asistida (TRA), ya que permite lograr varios embarazos a partir de un único ciclo de estimulación ovárica controlada (EOC) lo que contribuye a un aumento del resultado acumulativo de embarazo. Además, permite la transferencia de embriones individuales, minimizando los riesgos.

Existe un debate en curso sobre los beneficios de la transferencia de blastocisto. Además de que en pacientes de pobre pronóstico la tasa de cultivo a blastocisto es muy baja y automáticamente se tienen menos transferencias en blastocisto. La vitrificación permite una buena tasa de supervivencia similar para los embriones en etapa de escisión y blastocito cuando se descongelan, además de que los autores concluyen que el potencial de implantación de los embriones descongelados no se ve afectado por el proceso de congelación.

En un metaanálisis que compararon los resultados clínicos de las transferencias de embriones en estadio de escisión vitrificado y blastocistos en pacientes sometidos a tratamiento con ART demostró que la transferencia en blastocisto se asocia con una mayor tasa de implantación que las transferencias de embriones en etapa de escisión. Y que la transferencia en blastocisto aumentó la tasa de aborto espontáneo en comparación con la transferencia de embriones en etapa de escisión. Esta revisión sistemática mostró que no hubo diferencias significativas en la tasa de embarazo clínico, embarazo múltiple, nacimiento vivo y embarazo en curso, estudio que es comparable con nuestros resultados.

En un estudio clínico prospectivo mostraron que la tasa de implantación fue significativamente mayor en el grupo de transferencia de blastocitos descongelados (30%) en comparación con el grupo embriones en etapa de escisión (17%). No se informaron diferencias estadísticas en las tasas de embarazo clínico entre los grupos. La tasa de embarazos en curso fue significativamente mayor en el grupo de blastocitos en comparación con el grupo de escisión 42.9 vs. 24.6%. (17)

Con el fin de explicar los resultados clínicos entre la etapa de clivaje y la etapa de blastocisto en los ciclos de vitrificación, hay una variedad de factores a considerar. Hay estudios que muestran

una tasa de implantación más alta con la transferencia de blastocitos que la transferencia de la etapa de escisión, como han informado estudios previos, esto puede deberse a una serie de razones; la vitrificación de blastocisto tiene una tasa de supervivencia extremadamente alta, por lo que la gran mayoría de los ciclos de descongelados dan lugar a la colocación de embriones, y la tasa cancelación de la transferencia es bastante baja, la transferencia de blastocisto aumenta la sincronización del endometrio y permite la selección de embriones más avanzados, que son más adecuados para la transferencia en comparación con la transferencia de la etapa de escisión [22, 23].

La fortaleza del estudio, es que se incluyeron embriones en clivaje en día 3 y de blastocisto buena calidad que fueron clasificados por el mismo biólogo, así como el procedimiento de congelación-descongelación no tuvo diferencias en relación al operador.

Las deficiencias de este estudio es que es un estudio retrospectivo, en el futuro, se necesita un ensayo prospectivo controlado aleatorizado. Hay muchos factores que pueden influir en la tasa de embarazo, como el médico que realiza la transferencia, la dificultad para insertar el catéter de transferencia y el grosor endometrial.

Sin lugar a dudas, la transferencia de blastocitos seguirá siendo una opción favorable y prometedora para los ciclos de reproducción asistida, al emplear como resultado final la tasa acumulativa de embarazo, podemos obtener mejores resultados en relación a ciclos en fresco, tomando en cuenta que no hay diferencias en relación a transferir en descongelados en etapa de clivaje o en blastocisto, algunos autores (24) recomiendan el cultivo de blastocitos y la transferencia en descongelados debe ofrecerse principalmente a los pacientes más jóvenes (menores de 35 años de edad) con un mejor pronóstico para obtener mejores resultados, pues to que las tasas óptimas de criosupervivencia de ovocitos / embriones / blastocitos y los resultados clínicos logrados con el uso de vitrificación tienen implicaciones clínicas importantes, que en conjunto permiten un enfoque personalizado en el cuidado de diferentes poblaciones de pacientes.

CONCLUSIÓN

La evidencia muestra que no hay superioridad en ciclos de descongelados de transferir blastocisto en comparación con la transferencia del embrión en la etapa de escisión en la práctica clínica en relación a resultados reproductivos. La transferencia en blastocisto requiere menores embriones a transferir, para obtener un recién nacido vivo, lo que se traduce en menores complicaciones perinatales.

BIBLIOGRAFÍA

1. Trounson A, Mohr L. Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature* 1983;305:707-9.
2. Lassalle B, Testart J, Renard JP. Human embryo features that influence the success of cryopreservation with the use of 1,2 propanediol. *Fertil Steril* 1985;44:645-51.
3. Rall WF, Fahy GM. Ice-free cryopreservation of mouse embryos at -196°C by vitrification. *Nature* 1985;313:573-5.
4. Kono T, Kwon OY, Nakahara T. Development of vitrified mouse oocytes after in vitro fertilization. *Cryobiology* 1991;28:50-4.
5. Mukaida T, Nakamura S, Tomiyama T, Wada S, Kasai M, Takahashi K. Successful birth after transfer of vitrified human blastocysts with use of a cryo-loop containerless technique. *Fertil Steril* 2001;76:618-20.
6. Cobo A, de los Santos MJ, Castellò D, Gámiz P, Campos P, Remohí J. Outcomes of vitrified early cleavage-stage and blastocyst-stage embryos in a cryopreservation program: evaluation of 3,150 warming cycles. *Fertil Steril*. 2012 Nov;98(5):1138-46.e1.
7. Shapiro BS, Daneshmand ST, Garner FC, Aguirre M, Hudson C. Clinical rationale for cryopreservation of entire embryo cohorts in lieu of fresh transfer. *Fertil Steril* 2014;102:3-9.
8. Maheshwari A, Pandey S, Shetty A, Hamilton M, Bhattacharya S. Obstetric and perinatal outcomes in singleton pregnancies resulting from the transfer of frozen thawed versus fresh embryos generated through in vitro fertilization treatment: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 2012;98:368-77.
9. Coutifaris C. Freeze-only in vitro fertilization cycles for all? *Fertil Steril* 2017;108(2):233-234.
10. Elassar A, Benadiva A, Kummer N, Diliuigi A, et al. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in frozen-thawed assisted conception cycles. *Fertil Steril* 2010; 94(4):S174.
11. Papanikolaou EG, Kolibianakis EM, Tournaye H, Venetis CA, Fatemi H, Tarlatzis B, Devroey P. Live birth rates after transfer of equal number of blastocysts or cleavage-stage embryos in IVF. A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod* 2008;23:91-99.
12. Guerif F, Lemseffer M, Bidault R, Gasnier O, Sausseureau MH, Cadoret V, Jamet C, Royere D. Single day 2 embryo versus blastocyst-stage transfer: a prospective study integrating fresh and frozen embryo transfers. *Hum Reprod* 2009;24:1051-1058.
13. Glujovsky D, Blake D, Farguhar C, Bardach A. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev* 2012.
14. Fernandez-Shaw S, Cercas R, Brana C, Villas C, Pons I. Ongoing and cumulative pregnancy rate after cleavage-stage versus blastocyst-stage embryo transfer using vitrification for cryopreservation: impact of age on the results. *J Assist Reprod Genet* 2015;32:177-184.
15. De Vos A, Van Landuyt L, Santos-Ribeiro S, Camus M. Cumulative live birth rates after fresh and vitrified cleavage-stage versus blastocyst-stage embryo transfer in the first treatment cycle. *Hum Reprod*. 2016 Nov;31(11):2442-2449.
16. Glujovsky D, Farquhar C, Quinteiro Retamar AM, Alvarez Sedo CR, Blake D. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2016, Issue 6. Art. No.: CD002118.
17. Eftekhari M, Aflatoonian A, Mohammadian F, Tabibnejad N. Transfer of blastocysts derived from frozen-thawed cleavage stage embryos improved ongoing pregnancy.
18. Papanikolaou EG, Camus M, Kolibianakis EM, Van Landuyt L, Van Steirteghem A, Devroey P. In vitro fertilization with single blastocyst-stage versus single cleavage-stage embryos. *N Engl J Med* 2006;354:1139-1146
19. Alviggi C, Conforti A, Carbone IF, Borrelli R, de Placido G, Guerriero S. Influence of cryopreservation on perinatal outcome after blastocyst vs cleavage stage embryo transfer: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2018 Jan;51(1):54-63
20. Ishihara O, Araki R, Kuwahara A, Itakura A, Saito H, Adamson GD. Impact of frozen-thawed single blastocyst transfer on maternal and neonatal outcome: an analysis of 277,042

- single embryo transfer cycles from 2008 to 2010 in Japan. *Fertil Steril*. 2014;101(1):128-33.
21. Zeng M, Su S, Li L. Comparison of pregnancy outcomes after vitrification at the cleavage and blastocyst stage: a meta-analysis. *J Assist Reprod Genet* 2017.
 22. Han AR, et al. Blastocyst transfer in frozen-thawed cycles. *Clin Exp Reprod Med*. 2012;39(3):114–7.
 23. SILLS ES, Palermo DG. Human blastocyst culture in IVF: current laboratory applications in reproductive medicine practice. *Morphol Embryol*. 2010;51(3):441–5.
 24. Tong GQ, et al. Clinical outcome of fresh and vitrified-warmed blastocyst and cleavage-stage embryo transfers in ethnic Chinese ART patients. *J Ovarian Res*. 2012;5:27.