



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
CENTRO DE FERTILIDAD - IECH**

**ASOCIACIÓN DEL SCORE MITOCONDRIAL CON LOS RESULTADOS
DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA COMPLEJA
EN UN CENTRO DE REPRODUCCIÓN PRIVADO
DEL NORESTE DE MÉXICO**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL:

TÍTULO DE SUB-ESPECIALISTA

EN:

BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN HUMANA

PRESENTA:

DR. DANIEL ALBERTO PIÑA CRUZ

DIRECTOR DE TESIS:

DR. JULIO CÉSAR ROSALES DE LEÓN



MONTERREY, NUEVO LEÓN, MÉXICO. FEBRERO 2023



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 más de formación profesional, sin embargo, son muchas personas que me brindaron su apoyo en diferentes aspectos para poder realizarla y estas palabras no serán suficiente para expresar el profundo cariño y agradecimiento que les tengo.

Agradezco a mis padres⁺⁺, su ejemplo y enseñanzas siempre guiaron mi camino y perdurarán en mi vida, a mis hermanas, que me inspiran a superarme, por su amor y ser mi soporte en las dificultades. A mi abuelita⁺ y mis tías por su apoyo incondicional y afecto.

Agradezco al Dr. Pedro Galache Vega por su confianza y por la dedicación de formarme como profesional con calidez y empatía, sus enseñanzas, consejos y por inspirarme a tener espíritu de servicio, siempre maestro.

Agradezco al Dr. Roberto Santos Haliscak por su ejemplo de dedicación, búsqueda del conocimiento y aprendizaje constante, su trato profesional y amabilidad.

Agradezco a la doctora Mónica Ruy Sánchez el interés por el proyecto, su coordinación como directora de tesis, por siempre brindarme un consejo o enseñanza que mejore mi atención como médico. Al doctor Julio César Rosales de León por su infinita paciencia, impulsarme a rotar en el extranjero y su esfuerzo en mejorar la enseñanza en el instituto.

Agradezco a mis profesores, Dr. Pablo Díaz, Dr. Alberto Dávila, Dr. Iram Obeso, Dra. Ashanti Aguilar por ser un ejemplo de excelencia y calidad profesional, su docencia y disposición. Son un ejemplo de trabajo en equipo. Siempre les agradeceré en permitirme ser parte de la familia IECH.

Especial agradecimiento al Biólogo Genaro García Villafaña y la Lic. María de Lourdes González Rodríguez, sin la información brindada este trabajo no fuera posible, por su apoyo, consejos y aprecio.

A mis compañeros de residencia por su amistad y hacer que estos años de trabajo y aprendizaje fueran mejores.

INDICE DE CONTENIDO

INTRODUCCION	3
MARCO TEÓRICO	5
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	14
JUSTIFICACIÓN	16
HIPÓTESIS	17
OBJETIVOS	18
MATERIALES Y MÉTODOS	19
Diseño del estudio	19
Población y muestra	19
CRITERIOS DE SELECCIÓN	20
INSTRUMENTOS Y PROCEDIMIENTOS	21
Variables de estudio	23
Procesos y métodos de confiabilidad en el análisis estadístico	26
Aspectos éticos	27
RESULTADOS	28
Tablas	30
DISCUSIÓN	36
CONCLUSIÓN	39
REFERENCIAS	40
ANEXOS	43

INTRODUCCION

Las mitocondrias son bien conocidas como "las centrales eléctricas de la célula". Son responsables de la producción de más del 90% del adenosín trifosfato (ATP) necesario para la función celular mediante la fosforilación oxidativa (OXPHOS). La OXPHOS utiliza cinco grandes complejos multienzimáticos que se encuentran en las cristas de la membrana mitocondrial interna y que constituyen la cadena de transporte de electrones (ETC), y la ATP sintasa, que permite sintetizar ATP por fosforilación utilizando la energía generada por la translocación de protones a través de la membrana interna.

El funcionamiento de la OXPHOS produce la mayor parte de las especies reactivas de oxígeno (ROS) endógenas, aproximadamente el 90%, que están implicadas en muchas vías de regulación celular, pero pueden llegar a ser tóxicas cuando se acumulan. Además de su papel crucial en la producción de energía, las mitocondrias desempeñan una función esencial en la biosíntesis de compuestos orgánicos, la apoptosis, la homeostasis del calcio y la termogénesis, así como en las vías de señalización celular y la expresión génica (1).

La competencia en el desarrollo de los ovocitos y la capacidad de apoyar el desarrollo embrionario se han vinculado durante mucho tiempo a la bioenergética mitocondrial y a la producción de ATP resultante. La producción de ATP mitocondrial es fundamental en los ovocitos y en los embriones tempranos, ya que existe un bloqueo de la glucólisis que termina en la transición mórula-blastocisto (2).

Un enfoque relativamente nuevo para la evaluación de embriones se conoce como score mitocondrial (Mitoscore). Mitoscore es un valor que representa la cantidad normalizada de ADN mitocondrial (ADNmt) en embriones (3). Se ha estimado que los ovocitos maduros tienen más de 150 mil copias de ADNmt. Aunque los ovocitos maduros con menos de 4000 copias de ADNmt pueden fertilizarse y normalmente desarrollarse hasta la etapa de blastocisto, se necesita el umbral de 40 - 50 mil copias de ADNmt para el desarrollo posterior a la implantación de ovocitos maduros. La mayoría de los embriones en etapa de escisión con un bajo número de copias de ADNmt no pueden completar el desarrollo posterior a la implantación (4).

Se ha informado una correlación negativa entre la edad materna y el número de copias de ADNmt en ovocitos humanos, y la mala calidad de los ovocitos en la insuficiencia ovárica también se ha correlacionado con un Mitoscore bajo (5-9). Por lo tanto, este último podría ofrecer

información valiosa sobre los resultados de la Fertilización in vitro / Inyección intracitoplasmática de espermatozoide (FIV/ICSI).

Se ha sugerido que Mitoscore es un nuevo biomarcador potencial para el tratamiento de FIV/ICSI, que revela la capacidad de un blastocisto con cromosomas normales para producir un embarazo viable. Sin embargo, existen resultados contradictorios sobre la validez de Mito score como predictor de la implantación embrionaria, embarazo clínico y nacido vivo. Comprender los factores que afectan el resultado de la FIV puede ser útil para predecir los resultados y conducir al desarrollo de estrategias efectivas para mejorar la tasa de éxito del tratamiento de FIV/ICSI.

Para responder a la pregunta de si Mitoscore puede ayudar o no a predecir los resultados de la FIV, así como para determinar la relación entre Mitoscore para determinar el éxito de las TRA, este estudio se buscó determinar si el score mitocondrial mayor a 2 se asocia con mayor frecuencia de embarazo clínico en las pacientes sometidas a FIV/ICSI con Test Genético Preimplantacional (PGT).

MARCO TEÓRICO

DNA mitocondrial

En los seres humanos, las mitocondrias y el ADNmt se heredan exclusivamente por vía materna. Esto es consecuencia de dos acontecimientos principales: primero, el ADNmt paterno se elimina a través de varios mecanismos: una disminución drástica del número de mitocondrias durante la espermatogénesis y una destrucción activa de las mitocondrias y/o del ADNmt paterno durante la embriogénesis temprana (1).

Las mitocondrias tienen su propio genoma que se replica independientemente del genoma nuclear. El ADNmt humano tiene una longitud de 16.6 kbp y codifica 13 péptidos que contribuyen a todos los complejos necesarios para la OXPHOS. El proceso de preimplantación e implantación del embrión en el ser humano es un proceso que exige mucha energía y que implica una serie de procesos celulares energéticos que requieren cantidades significativas de ATP. Por lo tanto, las mitocondrias deben desempeñar un papel crucial en la correcta fecundación y embriogénesis (10).

Distribución mitocondrial en ovocitos y embriones humanos

La dependencia absoluta de los ovocitos y los embriones en etapa de preimplantación de la producción de ATP mitocondrial parece, en principio, contraria a la estructura relativamente "inmadura" de las mitocondrias de los ovocitos, que son relativamente pequeñas (0.5-1.0 μm) y a menudo vacuoladas. Además, las cristas, responsables de albergar los componentes de la Cadena de Transporte de Electrones (ETC), están poco desarrolladas y sólo empiezan a adoptar una estructura alargada y madura clásica cuando empiezan a surgir los primeros linajes embrionarios en el estadio de 8-16 células (2).

Por otro lado, se produce una amplificación global del pool mitocondrial durante la oogénesis, produciendo varios cientos de miles de copias de ADNmt, lo que convierte al ovocito maduro en la célula con mayor número de mitocondrias del organismo, en todas las especies. En el ovocito humano, el número medio de copias de ADNmt se ha estimado en unas 250.000 (1).

Tras la fecundación, las mitocondrias del ovocito se segregan de forma asimétrica. Parece que un ovocito recién fecundado ajusta la densidad mitocondrial a diferentes regiones intracelulares; sin embargo, su significado funcional sigue siendo desconocido. Es posible que la agrupación mitocondrial sirva para suministrar energía directa y rápidamente al núcleo. Esta suposición se basa en el gran tamaño del ovocito y en la hipótesis de que el tiempo necesario para

que el ATP se difunda por el citoplasma podría ser demasiado lento para proporcionar energía. Además, se ha informado de que las mitocondrias se distribuyen de forma desproporcionada entre los blastómeros formados de los embriones en desarrollo, aunque también se desconoce la importancia de este fenómeno (10).

La importancia del pool mitocondrial para el inicio del desarrollo embrionario

La embriogénesis tiene sus raíces en la oogénesis, y en particular en el pool mitocondrial del ovocito, que representa el 30% del volumen del ovocito y es esencial para el inicio del desarrollo embrionario. El ADNmt no se replica hasta la fase de blastocisto, durante ese tiempo, el metabolismo del ovocito y del embrión en fase de clivaje es oxidativo y depende principalmente del piruvato, del lactato y los aminoácidos. En esta fase las mitocondrias están poco diferenciadas, tienen un bajo consumo de oxígeno y una baja producción de ATP. Por lo tanto, la masa mitocondrial en el ovocito debe ser suficiente para repartirse entre los diferentes blastómeros y permitirles tener sus propias mitocondrias produciendo suficiente ATP y metabolitos esenciales para su funcionamiento y desarrollo hasta que se inicie de nuevo la biogénesis mitocondrial (1).

Además, las mitocondrias tienen la capacidad de posicionarse en las regiones citoplasmáticas con mayor demanda energética. Cabe destacar que la reubicación de las mitocondrias con baja producción de ATP durante la embriogénesis en ciertas zonas específicas podría tener como objetivo permitirles cumplir funciones distintas de la producción de energía.

Los estudios han relacionado que el defecto en la distribución de las mitocondrias en la fase de cigoto podría dar lugar a una herencia desproporcionada entre los blastómeros, lo que puede conducir a una producción insuficiente de ATP y a una incapacidad para proseguir la división en los blastómeros con un bajo número de copias de ADNmt. De hecho, un bajo contenido de ADNmt en los ovocitos se ha asociado a fallos de fecundación y a desarrollos embrionarios anormales en humanos (1).

El papel importante de la glucosa comienza en la fase de blastocisto. Aunque la glucosa contribuye de forma moderada a la producción de ATP, se convierte en un sustrato crucial en este punto del desarrollo. Debido al aumento de la glucosa como sustrato, así como a la compactación de las cristas y al inicio de la replicación, la respiración aeróbica parece aumentar en esta fase. Se estima que solo 10% de la glucosa se metaboliza a través de la respiración aeróbica en las primeras etapas del desarrollo y que aumenta hasta el 85% en etapa de blastocisto. Mientras que la eliminación de piruvato disminuye drásticamente con el ritmo de desarrollo del embrión, no se observa tal efecto para la eliminación de glucosa o lactato. Aunque la respiración aeróbica no se

considere tan esencial como la anaeróbica, esta última no puede ser únicamente suficiente. Por lo tanto, ambas son necesarias para el correcto desarrollo del embrión (10).

El contenido insuficiente de ATP se ha relacionado con el fracaso de la fecundación y el desarrollo anormal del embrión. se requieren cantidades adecuadas de mitocondrias para proporcionar la descarga de actividad esencial hasta la fase de blastocisto. Así, la disfunción mitocondrial se revela cuando desciende por debajo del umbral necesario.

No obstante, la actividad mitocondrial no debe interpretarse únicamente a través del número de copias, ya que está estrictamente regulada por las señales nucleares, las concentraciones de iones intracelulares y la disponibilidad de sustratos. En un estudio in vitro se demostró que la respuesta metabólica embrionaria puede ser bastante heterogénea en función de los fenotipos tempranos y de la composición de los medios de cultivo que rodean a los embriones. Se demostró la capacidad de cambiar a otros sustratos si es necesario y de modular la maquinaria molecular, asegurando su supervivencia incluso en condiciones externas adversas (10).

Impacto de la insuficiencia mitocondrial en la fertilidad

El ADNmt puede ser más susceptible de sufrir daños que el ADN nuclear (ADNn) debido a su proximidad con la cadena respiratoria de los radicales libres, la falta de histonas protectoras, la menor eficacia de la polimerasa y mitocondrial (POLG) y los limitados mecanismos de reparación. El estrés oxidativo se considera uno de los factores que influyen negativamente en el ADNmt. El mecanismo hipotético implica el daño inducido por las ROS, un subproducto de la OXPHOS, que puede comprometer la integridad de la cadena respiratoria y provocar un envejecimiento dependiente de las mitocondrias. Se sabe que las ROS reaccionan con las proteínas del entorno, los lípidos y el ADN, lo que provoca mutaciones y daños en las macromoléculas. Su mutagenicidad se encuentra en la modificación de las bases del ADN. Se ha demostrado que las mutaciones somáticas del ADNmt de los sujetos de edad avanzada se caracterizan por una fuerte preferencia de mutación G>A. Además, la formación de roturas de doble cadena de ADNmt inducida por ROS parece estar implicada en la generación de deleciones somáticas de ADNmt (10).

También se ha informado de la relación que existe entre la obesidad y la insuficiencia mitocondrial, debido a la ingesta excesiva de nutrientes, las mitocondrias se sobrecargan de ácidos grasos y glucosa, lo que provoca un aumento de la producción de Acetil-CoA. Esto lleva a la producción de Nicotinamida adenina dinucleótido reducido (NADH) en el ciclo de Krebs, lo que promueve el aumento de electrones que entran en el espacio intermembranoso mitocondrial y, en consecuencia, la sobreproducción de ROS induciendo el estrés oxidativo. Posteriormente, el estrés

oxidativo activa varios factores de transcripción, incluido el principal mediador de la respuesta inflamatoria (10).

La reducción del número de copias del ADNmt del ovocito relacionada con el envejecimiento es la razón de los niveles insuficientes de ATP que conducen a la infertilidad y al desarrollo anormal del embrión. La mala calidad de los ovocitos no es el único efecto de la disminución del contenido de ADNmt. Con la disminución del número de mitocondrias, la proporción de ADNmt mutante/de tipo salvaje en el ovocito puede aumentar y no permitir el correcto desarrollo del embrión. La disminución de los niveles de ATP en el ovocito puede estar asociada al alto riesgo de aneuploidía relacionado con la edad. El correcto posicionamiento y segregación de los cromosomas depende del ensamblaje y desensamblaje de los microtúbulos, que es uno de los procesos que más energía demandan dentro del ovocito. Cuando los ovocitos envejecen, su capacidad de producir microtúbulos de huso adecuados disminuye, lo que en consecuencia conduce a una mayor incidencia de aneuploidía (10).

¿Existe alguna relación entre el número de copias de ADNmt y la capacidad del embrión para implantarse y desarrollarse con éxito?

En los tejidos reproductivos y en los gametos, las mitocondrias están recibiendo una atención cada vez mayor, ya que su actividad está vinculada a la gametogénesis temprana y es necesaria para el correcto desarrollo del embrión. En este contexto, la producción de energía no parece ser la función principal de las mitocondrias, que tienen un patrón de activación muy peculiar y una producción limitada de ATP. La razón de estas bajas tasas metabólicas está siendo debatida, pero diferentes estudios muestran que puede ser la necesidad de una baja exposición a ROS (11).

En las tecnologías de reproducción asistida (TRA), las pacientes reciben una estimulación hormonal no fisiológica, sus gametos se cultivan in vitro y los embriones se dejan desarrollar durante 3-5 días después de la fecundación dentro de una incubadora. Se sabe que todos estos procesos provocan un cierto estrés celular y varios investigadores han intentado evaluar los posibles daños producidos (11).

Cuando los blastómeros comienzan a polarizarse y el blastocisto empieza a formarse, la OXPHOS aumenta significativamente, especialmente en las células trofoectodérmicas, que tienen mayores necesidades energéticas ya que están proliferando y deben "prepararse" para la implantación. La masa celular interna (MCI) aumenta sus niveles de OXPHOS más tarde, cuando las células comienzan a diferenciarse y avanzan hacia la gastrulación (11).

Actualmente, uno de los aspectos con mayor relevancia para el éxito de las TRA es la selección de embriones. El sistema de puntuación morfológica de los embriones para predecir su calidad es la herramienta más utilizada. Sin embargo, la precisión de este método es baja, ya que al menos el 40% de los embriones calificados como de morfología normal presentan anomalías cromosómicas, que se sabe que están implicadas en los fallos de implantación y las pérdidas de embarazos. Sin embargo, aunque la selección de embriones mediante el PGT redujo las tasas de fallos de implantación y de pérdidas de embarazos, muchos embriones euploides seguían sin implantarse (12).

La cuantificación del ADN mitocondrial en el trofoectodermo (TE) y la MCI también se ha propuesto como un marcador de selección embrionaria adjunto a la selección embrionaria mediante el PGT, que se supone refleja el estado metabólico de todo el embrión. La suposición preclínica para la cuantificación del número de copias de ADNmt se basa principalmente en el estado metabólico energético único de la oogénesis y la embriogénesis y en la evidencia de que la fisiopatología da lugar a una reducción del número de copias de ADNmt; como la que se produce durante el envejecimiento femenino. En los ovocitos de mujeres de edad avanzada se encontró un número menor de copias de ADNmt en comparación con el de los ovocitos de mujeres más jóvenes y, por consiguiente, también en los embriones en fase de clivaje temprano, sin embargo, paradójicamente se observó lo contrario en los embriones en fase de blastocisto.

Se ha sugerido que la hiperproliferación mitocondrial es un mecanismo compensatorio del estrés metabólico intracelular, en el que los blastómeros que experimentan un agotamiento energético reactivan prematuramente la replicación para compensar el déficit energético. Sin embargo, la replicación anormal y desordenada no necesariamente resulta en una mejor producción de ATP, ya que se cree que lo más probable es que estas mitocondrias sean disfuncionales. Se ha sugerido que los niveles elevados de ADNmt en esta fase concreta están en consonancia con la "hipótesis del embrión tranquilo", según la cual se cree que los embriones viables tienen un metabolismo tranquilo, mientras que los que están sometidos a estrés y tienen un potencial de desarrollo reducido, tienen una mayor actividad metabólica (12).

El parámetro, comúnmente llamado score mitocondrial, se definió como la relación entre el número de copias de ADN mitocondrial/nuclear. Sin embargo, casi todos los grupos de estudio han calculado su valor de forma diferente y han llegado a resultados contradictorios (10) (Tabla 1).

Table 1. Comparison of results obtained by several study groups evaluating the relationship of mtDNA content in trophoectoderm biopsy (TE) or blastomeres (B) with embryos' features as aneuploidy, morphology, implantation, live birth and maternal age. Legend: N sample size, ● positive correlation, ● negative correlation, ● no statistically significant correlation, - parameter not assessed.

	Material	N	Aneuploidy	Morphology	Implantation	Live Birth	Maternal Age
Ritu et al., 2019	TE	287	●	●	●	●	●
Scott et al., 2020	TE	615	-	●	●	●	●
Wu et al., 2021	TE	1301	-	●	●	-	●
El-Damen et al., 2021	TE	355	-	●/●	●	●	●
Lee et al., 2019	B	39	●	-	-	-	-
	TE	998	●	-	●	-	●
De Munk et al., 2021	B	112	●	-	-	-	●
	TE	112	●	-	-	-	●
Diez-Juan et al., 2015	B	205	-	●	●	-	-
	TE	65	-	●	●	-	●
Arnanz et al., 2020	TE	504	●	●	-	-	-
Boynukalin et al., 2020	TE	707	-	-	-	●	-
Du et al., 2021	TE	246	●	●	●	-	-
Wang et al., 2021	TE	769	-	●	●	●	●
Klimczak et al., 2018	TE	1510	-	●	●	-	●
de Los Santos et al., 2018	TE	465	●	●	-	-	●
Victor et al., 2017	TE	1396	●	-	●	-	●
	B	39	-	-	-	-	●
Fragouli et al., 2015	TE	340	●	-	●	-	●
	TE	199	-	-	-	-	●
Ravichandran et al., 2017	TE	1505	-	●	●	-	●
Treff et al., 2017	TE	374	-	●	●	-	●
Shang et al., 2018	B	149	●	●	●	-	●
	TE	250	-	-	-	-	-
Podolak et al., 2022	B	314	●	●	●	●	●

Tabla 1. Comparación de resultados obtenidos de varios grupos de estudio que evalúan la relación entre el contenido de ADNmt en biopsia de trofoectodermo (TE) o blastómeras (B) con características embrionarias como aneuploidia (aneuploidy), morfología (morphology), implantación (implantation), nacido vivo (live birth) y edad materna (maternal age). Leyendas: N tamaño de la muestra, verde es correlación positiva, rojo es correlación negativa, azul es no significancia estadística, - es parámetro no evaluado.

Score mitocondrial: El debate sobre su utilidad como marcador de selección de embriones

Los primeros estudios sobre el tema mostraron que, en el embrión en estado de clivaje, el contenido de ADNmt era notablemente mayor en los embriones de buena calidad y en aquellos de provenientes de ovocitos de pacientes jóvenes en comparación con los de pacientes de mayor edad (la calidad del ovocito está relacionada con la edad materna). Sin embargo, otros estudios no confirmaron estos resultados, y algunos incluso mostraron lo contrario. Los resultados discordantes

pueden explicarse por la gran variabilidad interembrionaria e interblastomérica del contenido de ADNmt en un estadio determinado.

En el caso de los embriones en fase de blastocisto, un nivel elevado de ADNmt en el trofotodermo parece indicar una mala calidad del embrión. De hecho, los blastocistos aneuploides y los procedentes de mujeres de edad avanzada presentan niveles elevados de ADNmt. El potencial de implantación de un embrión euploide parece estar inversamente correlacionado con el contenido de ADNmt de las células del trofotodermo.

Este hallazgo fue reportado en varios estudios retrospectivos: Fragouli et al. en 2015 (131 blastocistos), Díez-Juan et al. en 2015 (65 blastocistos), Ravichandran et al. en 2017 (1505 blastocistos) y posteriormente se confirmó de forma prospectiva (199 blastocistos). Se ha sugerido que la cantidad de ADNmt en una biopsia de trofotodermo refleja el estrés embrionario que podría afectar al potencial de implantación. Por lo tanto, un nivel elevado de ADNmt podría reflejar una activación mitocondrial anormal debido a las necesidades energéticas relacionadas con las anomalías en el desarrollo del embrión.

Este mecanismo ya se ha confirmado en embriones portadores de mutaciones patógenas en el ADNmt. Estos embriones tienen niveles significativamente más altos de ADNmt en comparación con los controles, lo que sugiere un mecanismo replicativo compensatorio para aumentar el número de copias normales necesarias para el desarrollo del embrión. Sin embargo, los resultados antes mencionados de que cuanto menor sea el contenido de ADNmt, mejor han sido refutados por otros autores, que no encontraron ninguna diferencia entre los blastocistos, independientemente de la ploidía, la edad de la mujer o el potencial de implantación (1,10).

Tanto Wang et al. como Du et al. utilizaron NGS (Secuenciación de Siguiete Generación) para evaluar el contenido de ADNmt en la fase de desarrollo del blastocisto. Wang et al. aplicaron la fórmula propuesta por Víctor et al., teniendo en cuenta variables como el estado de ploidía y el sexo genético del embrión y encontraron una diferencia estadísticamente significativa de los valores del score mitocondrial en función de la tasa de implantación y la tasa de nacidos vivos. Sin embargo, esta relación sólo se observó en los embriones biopsiados en el día 5 y no se informó de ninguna correlación en los blastocistos biopsiados en el día 6. Además, se dudó que el score mitocondrial fuera un marcador independiente de selección de embriones debido a los resultados del análisis de la curva (ROC), realizado para evaluar el potencial valor predictivo del contenido de ADNmt en los resultados de implantación de embriones y nacidos vivos. Por el contrario, Du et al., que aplicaron la fórmula propuesta por Shang et al., consideraron los resultados del análisis ROC como un valor altamente predictivo (10).

Por otro lado, Wu et al., que utilizaron el software analizador MitoCalc dedicado al análisis de la cobertura de secuenciación, encontraron una correlación positiva del score mitocondrial con la tasa de implantación. De hecho, los resultados obtenidos pueden diferir según el día de la biopsia de los embriones evaluados. Se ha informado de que los blastocistos biopsiados el día 5 tienen un mayor contenido de ADNmt en comparación con los embriones biopsiados el día 6. Por lo tanto, el día de biopsia puede influir en los resultados obtenidos. Aparte de los mencionados anteriormente, el resto de los grupos de estudio enumerados no encontraron ninguna significación estadística de la puntuación mitocondrial en el contexto de la evaluación del potencial de implantación (13)

¿Cómo es posible que aún no tengamos una respuesta segura?

En primer lugar, los resultados contradictorios pueden deberse a los diferentes enfoques técnicos sobre la detección del contenido de ADNmt y a las fórmulas utilizadas para calcularlo. Algunos equipos de estudio tienen en cuenta el estado de ploidía, mientras que otros no. Los enfoques técnicos parecen desempeñar un papel crucial, ya que incluso los grupos de estudio que utilizaron la misma fórmula obtuvieron resultados contradictorios (Victor et al. frente a Wang et al. o Shang et al. frente a Du et al). Por ejemplo, hay varios protocolos de amplificación del genoma completo (WGA) que influyen de forma diferente en la amplificación del ADNmt en comparación con el ADNn.

En segundo lugar, como se ha mencionado anteriormente, el día de la biopsia puede influir adicionalmente en los resultados obtenidos. Además, los protocolos de almacenamiento o los reactivos utilizados para el cultivo pueden afectar a la evaluación, ya que se ha informado de que la incidencia de blastocistos con ADNmt elevado varía mucho entre las clínicas en las que se realizó la fecundación in vitro. Por último, pero no por ello menos importante, el tamaño de las muestras varía entre las investigaciones realizadas, y en la mayoría de los casos es demasiado pequeño cuando se evalúan los blastómeros biopsiados de embriones en fase de clivaje; por lo tanto, no se pueden obtener resultados fiables (10).

A la luz de los resultados contradictorios, la falta de consenso sobre las plataformas de cuantificación del ADNmt fiables y las deficiencias inherentes a los estudios publicados, actualmente es incierto si el contenido de ADNmt será una prueba fiable y útil en la reproducción asistida (12).

En conclusión, las mitocondrias desempeñan un papel crucial en la fertilidad humana y en el desarrollo embrionario temprano, ya que tienen una gran contribución en varios procesos

vitales, el debate sigue abierto y se necesitan más estudios para evaluar plenamente la utilidad clínica de la cantidad y la función del ADNmt(1).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La infertilidad se define como la incapacidad de establecer un embarazo dentro de los 12 meses de relaciones sexuales regulares y sin protección (14). Los estudios actuales sugieren que aproximadamente el 8-12% de la población mundial se ve afectada por la infertilidad (15). En respuesta a estos problemas, las técnicas de reproducción asistida (TRA) han tenido un profundo impacto en el manejo terapéutico de la infertilidad. Sin embargo, las tasas de éxito de la fertilización in vitro (FIV) están confundidas por varios factores internos y externos. Los factores predictivos de un embarazo exitoso después de las TRA se han estudiado durante mucho tiempo (16).

Los factores que afectan la función ovárica, como la edad femenina, el número de ovocitos, la duración de la subfertilidad y la hormona estimulante del folículo (FSH) basal, se han identificado como predictores del éxito en la FIV. Además, algunos factores, incluidos un embarazo anterior, el diagnóstico después del estudio de fertilidad y el número de intentos fallidos de FIV anteriores, son predictores probables del éxito de la FIV (17). Sin embargo, incluso después de considerar estos aspectos, las tasas de éxito de la FIV se han mantenido bajas (18,19).

A nivel global existe un aumento en la realización de diagnóstico genético preimplantación mediante biopsia embrionaria de trofoectodermo, sobre todo en embriones de mujeres de edad avanzada por su relación con la aneuploidía embrionaria. A pesar del uso de esta herramienta, es una realidad que las tasas de implantación no han mejorado extraordinariamente, es por ello por lo que se ha realizado investigación sobre cuáles son los demás factores que pueden afectar el potencial de un embrión euploide en generar un nacido vivo.

La utilidad del score mitocondrial (Mitoscore), determinado por la cantidad de ADN mitocondrial, ha tomado interés en los últimos años por su implicación en la predicción de euploidia, así como, en el potencial de desarrollo e implantación embrionarios. Lo anterior resulta del aumento de organulogénesis mitocondrial como compensación por el microambiente adverso o por alteraciones genéticas como aneuploidia, principalmente en aquellas células con mayor demanda metabólica como el trofoectodermo.

Si bien se han realizado estudios donde se ha relacionado el score mitocondrial con la euploidia embrionaria y la edad materna, aun es controversial su potencial predictivo en los resultados en las terapias de reproducción asistida.

Por lo que surgió la pregunta de investigación:

¿Puede el score mitocondrial predecir el resultado de las terapias de reproducción asistida?

JUSTIFICACIÓN

En México como en otros países el uso de terapias de reproducción asistida por infertilidad ha aumentado, sin embargo, la tasa de embarazo clínico y la tasa de nacido vivo no ha aumentado significativamente en los últimos años a pesar de implementación de mejores insumos y tecnologías, una de ellas el diagnóstico genético preimplantación.

El score mitocondrial es una herramienta que indica la cantidad de ADN mitocondrial en las células obtenidas por biopsia del trofoectodermo para PGT y varía de acuerdo con nivel de estrés metabólico que tiene un blastocisto y la ploidía del mismo y eso podría predecir el potencial de desarrollo e implantación.

A pesar de la investigación el debate sigue abierto y se necesitan más estudios para evaluar plenamente la utilidad clínica de la cantidad y la función del ADNmt

Por lo tanto, este estudio permitió conocer si el score mitocondrial es una herramienta en la predicción de éxito en TRA y desarrollar estrategias dirigidas a mejorar el estado metabólico del embrión con el propósito de optimizar resultados de los tratamientos de pacientes con infertilidad.

HIPÓTESIS

Hipótesis

Los embriones euploides con mitoscore mayor a 2 tienen menor tasa de embarazo clínico.

Hipótesis Nula.

Los embriones euploides con mitoscore mayor a 2 no tienen menor tasa de embarazo clínico.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar si el score mitocondrial mayor a 2 se asocia con menor tasa de embarazo clínico en las pacientes sometidas a FIV/ICSI con PGT.

Objetivos específicos

- Determinar si existen diferencias en el score mitocondrial de acuerdo con los grupos de edad <35, 35-40 y >40 años.
- Conocer si el score mitocondrial representa un factor predictor que la morfología embrionaria.
- Identificar si el score mitocondrial mayor a 2 se asocia a mayor frecuencia de aneuploidia embrionaria.
- Determinar que score mitocondrial menor a 2 se asocia a mayor frecuencia nacido vivo.
- Determinar si el score mitocondrial mayor a 2 se asocia a mayor frecuencia de aborto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño del estudio

Estudio observacional, retrospectivo, transversal, analítico, realizado en un centro de fertilidad privado.

Población y muestra

Lugar donde se realizó el estudio: Centro de Fertilidad - IECH Monterrey

Se incluyeron todas las pacientes que se sometieron a ciclos de FIV/ICSI (homólogos o de donación) y que se realizó biopsia de trofoectodermo de al menos 1 embrión en día 5 o 6 con reporte de PGT y score mitocondrial en el Centro de Fertilidad IECH en Monterrey, Nuevo León.

Los datos se recabaron de forma retrospectiva.

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de inclusión

- Mujeres de 18 a 50 años con infertilidad
- Que se realice FIV/ICSI (homologa o donación) y PGT-A de al menos 1 embrión en día 5 o 6 con reporte de resultado genético y Mitoscore
- Paciente con seguimiento del resultado del tratamiento de reproducción asistida
- Pacientes con requisitos administrativos completos

Criterios de exclusión

- PGT de embriones en día 3
- Transferencia de dos embriones
- Enfermedad inmune o endócrina sin control

Criterios de eliminación

- Quienes no acepten participar en la investigación
- No haber realizado transferencia embrionaria
- Expedientes ilegibles
- Expedientes incompletos
- Expedientes extraviados

INSTRUMENTOS Y PROCEDIMIENTOS

Se realizó el presente estudio retrospectivo entre las pacientes mujeres de 18 a 50 años que fueron sometidos a ciclos de FIV/ICSI, biopsia embrionaria en día 5 o 6 y resultado de PGT-A con mitosure, en el centro de fertilidad IECH, Monterrey, en el periodo comprendido entre enero del 2019 y octubre del 2022.

Se recabó la información de expedientes clínicos físico y digital, así como base de laboratorio de embriones y laboratorio clínico de las pacientes que cumplieron los criterios de selección. Y se obtuvieron los datos demográficos, el diagnóstico clínico de infertilidad, el nivel de hormona antimülleriana (HAM), factor de infertilidad asociado (uterino, tubárico, ovárico, baja reserva, etc.), el antecedente de pérdida gestacional recurrente, endometriosis y otras comorbilidades.

Acerca del factor masculino, se recolectó información de datos demográficos, comorbilidades y diagnóstico seminal de manera categórica (considerando la presencia o no de oligozoospermia, astenozoospermia, teratozoospermia, azoospermia y sus combinaciones); el recuento de espermatozoides móviles poscapacitación (REM) y si el gameto masculino fue obtenido por eyaculado fresco, congelado o biopsia testicular (TESE).

Se recopiló información acerca del estado de la donación en cada ciclo de tratamiento, si se utilizaron óvulos donados o de la paciente, esperma y óvulos (donación total) o sólo esperma. Así mismo se determinó si los gametos utilizados en el FIV/ICSI fueron frescos, congelados o mixtos.

Los análisis de PGT-A se realizaron en un laboratorio de genética externo (Progenesis Inc.) por estudio de células obtenidas mediante biopsia del trofoectodermo en día 5 o 6. Y se utilizó tecnología de Secuenciación de siguiente generación (NGS) que ofrece alta cobertura, sensibilidad y precisión. Este laboratorio utilizó la puntuación de Mitosure como indicador de la carga mitocondrial y la puntuación se dividió en tres niveles para simplificar (0.2-1, 1-2 y >2).

Sobre el resultado de PGT-A, se documentó el día de la biopsia, el resultado de la ploidía, el sexo cromosómico y el mitoscore obtenido por cada embrión biopsiado. Se descartaron aquellos biopsiados en día 7, aneuploides, mosaicos y con resultado indeterminado, así como embriones no

transferidos. Se siguió a las pacientes desde la prueba de embarazo hasta el desenlace asociado al embarazo como aborto, muerte fetal o nacido vivo.

Variables de estudio

VARIABLE	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO Y CARACTERÍSTICA DE LA VARIABLE	UNIDADES
Edad	Tiempo transcurrido hasta la evaluación clínica.	Cuantitativa intervalo discreta	Años
Infertilidad	Incapacidad de lograr un embarazo espontáneo en 1 año mayor de 35 años y 6 meses mayor de 35 años	Cualitativo nominal dicotómico	Si No
Donación de gametos	Uso de gameto donado en TRA	Cualitativo nominal politómico	Óvulos Esperma Total No
Origen de óvulos	Si los óvulos fueron frescos, congelados o mixto	Cualitativo Nominal politómico	Frescos Congelados Mixto
Hormona Antimülleriana	Nivel sérico	Cuantitativa razón Continua	Valor sérico
Factor de infertilidad	Factor que impide el embarazo	Cualitativo nominal politómico	Edad Uterino Tubario Ovárico SOP Baja reserva Endometriosis Masculino

			Otro
Pérdida gestacional recurrente	Diagnóstico de pérdida gestacional recurrente definido como 2 o más de abortos consecutivos o alternados en la paciente.	Cualitativo nominal dicotómico	Si No
Comorbilidad	Enfermedad crónica concomitante	Cualitativo nominal politómico	Hipertensión arterial Diabetes Mellitus Hipotiroidismo Hiperprolactinemia Otra
Factor masculino	Causa de infertilidad en la pareja de la paciente.	Cualitativo nominal	Azoospermia Astenozoospermia Teratozoospermia Oligozoospermia Oligoastenoteratozoospermia Otro
Recuento de espermatozoides móviles poscapacitación	Cantidad de espermatozoides móviles obtenidos de muestra espermática capacitada	Cuantitativa razón continua	Valor reportado poscapacitación
PGT-A	Se realizó diagnóstico genético preimplantación mediante biopsia embrionaria de trofoectodermo día 5 y 6	Cualitativo nominal dicotómico	Si No

Plodia embrionaria	Resultado de PGT-A	Cualitativa nominal politómica	Euploide Aneuploide Mosaicismo No determinado
Score mitocondrial	Mitosure reportado en resultado de PGTA	Cuantitativa razón continua	Puntaje
Nacido vivo	Recién nacido obtenido por TRA compleja por transferencia de embrión euploide mayor de 20 semanas o mayor de 500g	Cualitativa nominal dicotómica	Si No
Embarazo clínico	Embarazo en curso de 1 o más embriones o fetos con frecuencia cardiaca	Cualitativa nominal dicotómica	Si No
Aborto	Perdida de los productos de la gestación antes de la semana 20 o menor a 500g; se incluye bioquímico	Cualitativa nominal dicotomica	Si No

Procesos y métodos de confiabilidad en el análisis estadístico

Herramientas

La captura de datos se realizó de manera manual, seleccionando las relacionadas con el perfil sociodemográfico y clínico de las pacientes; los datos fueron capturados en una base de datos desarrollada en MS Excel y posteriormente analizados en el programa estadístico IBM SPSS versión 25.

Análisis iniciales

En la estadística descriptiva se reportaron frecuencias y porcentajes para variables categóricas. Para las variables cuantitativas se reportaron medidas de tendencia central y dispersión (media/mediana; desviación estándar/rango intercuartil), previa valoración de la distribución de las variables por medio de la prueba de Kolmogórov-Smirnov.

Análisis de población

Se evaluaron datos demográficos y antecedentes que prevalecieron en la muestra que pudieran ser de interés.

Análisis comparativo e inferencial

Se realizó la comparación de las variables categóricas por medio de la prueba de chi cuadrada de Pearson. La comparación de variables numéricas se llevó a cabo por medio de la prueba de T de Student para muestras independientes o U de Mann-Whitney, dependiendo el tipo de distribución paramétrica o no paramétrica de las variables consideradas en la prueba de hipótesis. Esto se realizó entre pacientes con embarazo exitoso o no.

De haber sido posible y viable, para la obtención de un punto de corte asociado a score mitocondrial, se utilizaron curvas ROC y se calculó el área bajo la curva. Se recurrió a la obtención del índice de Youden más alto, que se relacionó con el rendimiento diagnóstico y predictor más elevado. Se calcularon parámetros de rendimiento diagnóstico del corte seleccionado: sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo, para la predicción de embarazo exitoso.

Se consideró un valor de $p < 0.05$ y un intervalo de confianza al 95% como estadísticamente significativo. Se utilizó el paquete estadístico SPSS versión 25.

Aspectos éticos

Los procedimientos propuestos están de acuerdo con las normas éticas, el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud y la Declaración de Helsinki de 2013, y códigos y normas internacionales vigentes de las buenas prácticas de la investigación clínica.

Este fue un estudio con riesgo nulo de acuerdo con el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, artículo 17, en este estudio retrospectivo se obtuvo la información del expediente sin contacto con el paciente. De acuerdo con el artículo 45 de este Reglamento, la investigación en esta población tuvo el objetivo de obtener conocimientos generalizables sobre el embarazo, no hubo riesgo para la mujer ni el embrión. Además, de acuerdo con los artículos 47, 48 y 49 de este mismo, el motivo de esta investigación no tuvo como finalidad la interrupción del embarazo fuera de indicación médica (madurez del embarazo) ni perjudicó la salud de la madre ni del embrión.

De acuerdo con los artículos 16, 17 y 18 de la Declaración de Helsinki, y el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, artículo 14, el desarrollo de este trabajo de investigación se ajustó a los principios científicos y éticos (fracción I) por su impacto en la obtención de información asociada a desenlaces y pronóstico en biología de la reproducción; fue fundamentada con hechos científicos previos (fracción II), expuestos en el marco conceptual; fue realizada por profesional de la salud con conocimiento y experiencia para cuidar la integridad del ser humano (en el área de ginecología y obstetricia/ biología de la reproducción humana), bajo la responsabilidad de una institución de atención a la salud que actuó bajo la supervisión de las autoridades sanitarias competentes y que cuenta con los recursos humanos y materiales necesarios, que garantizaron el bienestar del sujeto de la investigación (fracción VI y artículo 114 de este Reglamento), en este caso, bajo la supervisión del Centro de fertilidad-IECH; y contó con dictamen favorable el comité de ética institucional.

Los datos de los sujetos en investigación fueron resguardados por medio de las iniciales de los nombres de los paciente y un folio individual asignado a cada uno de ellos, salvaguardando la confidencialidad de estos y con acceso único por el equipo de investigación autorizado, de acuerdo con el artículo 116, fracciones III y IV, artículo 21, fracción VIII, artículo 112, y 120, y artículo 9 y 24 de la Declaración de Helsinki.

RESULTADOS

Se recolectaron datos de 583 embriones, de los cuales se eliminaron 173 que no contaban con medición de Mitosure, que tenían información incompleta o que tuvieron un resultado indeterminado. Se incluyeron por lo tanto un total de 410 embriones correspondientes a 122 pacientes. La mediana de edad de las pacientes fue de 38 (34-41) años. Del total, 63 (51.6%) tuvieron diagnóstico clínico de infertilidad primaria, 57 (46.7%) secundaria y 2 (1.6%) no presentaron diagnóstico de infertilidad.

Los principales factores asociados con la infertilidad fueron la edad en 30.3%, seguido del factor uterino en 29.5%, masculino en 29.5%, y baja reserva ovárica en 28.7% (tabla 1). La mediana de hormona antimülleriana de las pacientes fue de 1.73 (0.9-3.5) ng/ml. Las principales comorbilidades identificadas en las pacientes fueron hipotiroidismo en 26 (21.3%), seguido de hiperprolactinemia en 17 (13.9%), diabetes mellitus en 6 (4.9%) y resistencia a la insulina en 4 (3.3%) (tabla 2).

La mediana de edad del cónyuge fue de 40 (36-43) años. Las principales comorbilidades de estos individuos fueron: vasectomía en 13 (10.8%), estado de reversión quirúrgica de vasectomía en 3 (2.5%) e hipertensión arterial en 3 (2.5%). El resto de las comorbilidades se resumen en la tabla 3. Además, 112 tuvieron REM poscapacitación, de los cuales 16 (14.3%) tenían una medición <3 mill/ml y 96 (85.7%) >3 mill/ml.

Del total de los embriones, el origen de los gametos fue propios u homólogos en 340 (82.9%); en 56 (13.7%) se utilizaron óvulos donados, 5 (1.2%) muestra espermática donada o heteróloga y 9 (2.2%) donación total de gametos. Respecto al origen de los óvulos fueron frescos en 281 (68.5%), congelados en 24 (5.9%) y de origen mixto en 96 (23.4%). El día de la biopsia embrionaria fue el quinto día en 188 (45.9%) y el sexto día en 222 (54.1%) de los casos.

Respecto a la ploidía embrionaria 214 (52.2%) fueron euploides, 186 (45.4%) aneuploides y 10 (2.4%) mosaicismos. El sexo cromosómico de los embriones fue XY en 195 (47.6%), XX en 212 (51.7%) e indeterminado en 3 (0.7%). La mediana de mitoscore fue de 1.1 (0.73-1.53).

De 410 embriones, 151 (36.8%) fueron transferidos. Se reportó prueba de embarazo positiva en 75 (50.3%) de 149 pruebas reportadas. De los 75 casos, 61 (82.6%) tuvieron frecuencia cardíaca identificada (embarazo clínico) y de estos, los resultados reproductivos de estos fueron 32 (42.6%) nacidos vivos y 30 (40%) abortos (tabla 4).

Los embriones con Mitoscore igual o mayor a 2 fueron más frecuentemente anormales (74.5% vs. 41.6%, $p < 0.001$). No se asoció con la calidad morfológica embrionaria ($p = 0.416$). Los embriones con Mitoscore menor a 2 fueron más frecuentemente transferidos (41.6% vs. 18.6%, $p = 0.004$). No encontramos diferencias significativas en el corte de 2 de Mitoscore con el resultado positivo de la prueba de embarazo o embarazo clínico (frecuencia cardíaca embrionaria presente), pero si con mayor frecuencia de abortos (100% vs. 34.7%, $p = 0.024$) (tabla 5). Las pacientes del grupo de edad > 40 años tuvieron Mitoscore más elevado ($p < 0.001$, tabla 6).

Se realizó un análisis por curvas ROC para determinar el rendimiento diagnóstico del Mitoscore para transferencia y para nacimiento vivo del producto. Para el primero, se alcanzó un área bajo la curva (AUC) de 0.603 (IC 95% 0.546-0.660). Debido a que el AUC fue aceptable, se determinó el rendimiento diagnóstico de un corte de 2 para transferencia (Figura 1). Un corte de <2 de Mitoscore se asoció con una sensibilidad de 14.8% pero una especificidad de 94.7%.

En el caso del nacimiento vivo, se alcanzó un AUC = 0.591 (IC 95% 0.444-0.739). Debido que la curva no fue aceptable, no se realizó un análisis de puntos de corte (Figura 2).

Tablas

Tabla 1. Características y factor de infertilidad de las pacientes que se sometieron FIV/ICSI.

Variable	
Edad materna (años)	38 (34-41)
Infertilidad	
Primaria	63 (51.6%)
Secundaria	57 (46.7%)
Sin diagnóstico	2 (1.6%)
Factor	
Edad	37 (30.3%)
Uterino	36 (29.5%)
Masculino	36 (29.5%)
Baja reserva	35 (28.7%)
Tubárico	22 (18%)
Síndrome de ovario poliquístico	17 (13.9%)
Endometriosis	10 (8.2%)
Pérdida gestacional recurrente	8 (6.6%)
Ovárico	6 (4.9%)
Trombofilia	3 (2.5%)
Hiperprolactinemia	2 (1.6%)
Genético	1 (0.8%)
Peritoneal	1 (0.8%)
Otra	23 (18.9%)

Tabla 2. Comorbilidades de las pacientes que se sometieron a FIV/ICSI.

Variable	
Comorbilidad	
Hipotiroidismo	26 (21.3%)
Hiperprolactinemia	17 (13.9%)
Diabetes mellitus	6 (4.9%)
Resistencia a la insulina	4 (3.3%)
Obesidad	3 (2.5%)
Reumatológico	2 (1.6%)
Oncológico	2 (1.6%)
Trombofilia	2 (1.6%)
Asma	1 (0.8%)
Trombosis venosa profunda	1 (0.8%)
Talasemia	1 (0.8%)
Mosaico	1 (0.8%)
Síndrome antifosfolípidos	1 (0.8%)
Hipertensión arterial	1 (0.8%)

Tabla 3. Características y comorbilidades de las parejas de mujeres tratadas con FIV/ICSI.

Variable	
Edad del varón (años) (n=120)	40 (36-43)
Comorbilidad	
Vasectomía	13 (10.8%)
Reversión de vasectomía	3 (2.5%)
Hipertensión arterial	3 (2.5%)
Varicocele	2 (1.7%)
Cáncer	2 (1.7%)
Quiste de epidídimo	1 (0.8%)
Orquiectomía	1 (0.8%)
Síndrome de Leri Weill	1 (0.8%)
Síndrome de Klinefelter	1 (0.8%)
Criptorquidia	1 (0.8%)
Diabetes mellitus	1 (0.8%)
Fibrosis quística	1 (0.8%)

Tabla 4. Fertilización in vitro, transferencia de embriones y resultados de los embriones.

Variable	
Hormona antimülleriana	1.73 (0.9-3.5)
REM poscapacitación (n=112)	
<3 mill/ml	16 (14.3%)
>3 mill/ml	96 (85.7%)
Donación de gametos	-
Gametos homólogos	340 (82.9%)
Donación de óvulos	56 (13.7%)
Donación total (esperma y óvulos)	9 (2.2%)
Donación de esperma	5 (1.2%)
Origen de óvulos	-
Fresco	281 (68.5%)
Congelado	24 (5.9%)
Mixto	96 (23.4%)
ND	9 (2.2%)
Día de biopsia	-
Día 5	188 (45.9%)
Día 6	222 (54.1%)
Género	
Masculino	195 (47.6%)
Femenino	212 (51.7%)
Indeterminado	3 (0.7%)
Ploidia embrionaria	-
Euploide	214 (52.2%)
Aneuploide	186 (45.4%)
Mosaico	10 (2.4%)
Mitoscore	1.1 (0.73-1.53)
Transferencia (n=410)	-
Sí	151 (36.8%)
No	259 (63.2%)
Prueba de embarazo positiva (n=149)	-
Sí	75 (50.3%)
No	74 (49.7%)
Embarazo clínico (n=75)	62 (82.6%)
Nacido vivo (n=75)	32 (42.6%)
Aborto (n=75)	30 (40%)

Tabla 5. Asociación de un corte de <2 de Mitoscore con el estado del embrión y sus desenlaces.

Variable	Mitoscore <2	Mitoscore ≥2	P
Ploidia embrionaria			<0.001
Euploide	203 (55.9%)	11 (23.4%)	
Aneuploide	151 (41.6%)	35 (74.5%)	
Mosaico	9 (2.5%)	1 (2.1%)	
Calidad embrionaria			0.416
Buena (AA, AB, BA)	42 (11.6%)	4 (8.5%)	
Aceptable (BB, AC)	86 (23.7%)	8 (17%)	
Pobre (Otro)	235 (64.7%)	35 (74.5%)	
Transferencia (n=410)	-		0.004
Sí	143 (39.3%)	8 (17%)	
No	220 (60.7%)	39 (83%)	
Prueba de embarazo positiva (n=149)	-		0.641
Sí	71 (50.3%)	4 (50%)	
No	70 (49.7%)	4 (50%)	
Embarazo clínico (n=75)	-		0.14
Sí	60 (84.5%)	2 (50%)	
No	11 (15.5%)	2 (50%)	
Nacido vivo (n=75)	-		0.097
Sí	32 (45%)	0 (0%)	
No	39 (55%)	4 (100%)	
Aborto (n=75)			0.024
Sí	26 (34.7%)	4 (100%)	
No	45 (65.3%)	0 (0%)	

Tabla 6. Comparación de Mitoscore de acuerdo con el grupo de edad de las pacientes.

Variable	<35 años	35-40 años	>40 años	p
Mitoscore	0.95 (0.68-1.43)	0.99 (0.71-1.49)	1.2 (0.96-1.64)	<0.001

Figura 1. Curva ROC del Mitoscore para la predicción de transferencia de embrión.

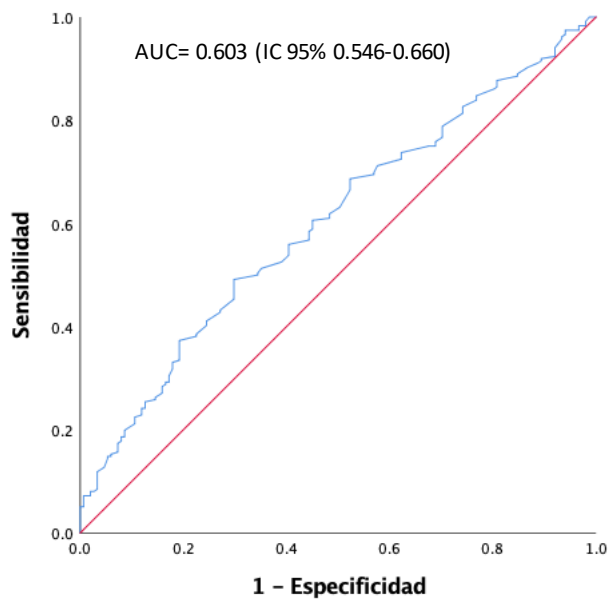
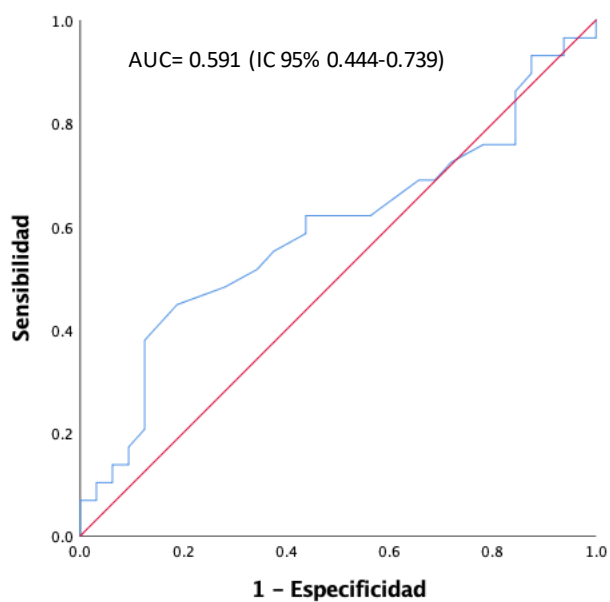


Figura 2. Curva ROC del Mitoscore para la predicción de nacimiento vivo de producto.



DISCUSIÓN

El número de copias del gen mitocondrial (ADNmt o "Mitoscóreo") puede reflejar el estrés del embrión y el suministro de energía, lo que puede afectar la implantación (20). El puntaje mitocondrial, o Mitoscóreo, es un valor que representa el contenido de ADN mitocondrial normalizado en un embrión, pero el valor predictivo de esta prueba todavía se considera experimental.

Para poder conocer la utilidad e impacto del Mitoscóreo en los resultados de las TRA, llevamos a cabo este estudio con el objetivo de determinar si el score mitocondrial mayor a 2 se asocia con menor tasa de embarazo clínico en las pacientes sometidas a FIV/ICSI con PGT-A. Se evaluaron un total de 410 embriones de nuestro centro que cumplieron los criterios de selección. La mediana de Mitoscóreo fue de 1.1 (0.73-1.53).

Un estudio de Arifova et al., en 2019 mostró que el Mitoscóreo predice el éxito del embarazo y afirmó que los resultados de este eran mejores con valores más bajos de Mitoscóreo (<25) con una tasa de embarazo significativamente mejorada en un 85.2%. De acuerdo con reportes previos, se ha visto que la adición del Mitoscóreo a los protocolos de criterios de selección de embrión puede aumentar la tasa de embarazos de 64.4% a 85.2% (21), lo cual resulta pudiera implicar un aumento significativo en los resultados de embarazo clínico. Otro estudio de Díez-Juan en 2015 con 270 embriones comparó el Mitoscóreo y las tasas de implantación en embriones biopsiados en día 3 y día 5, este estudio concluyó que una mayor cantidad de DNAm, como lo indica un Mitoscóreo más alto, está relacionado con tasas de implantación más bajas en embriones en ambos grupos (22).

En nuestro estudio, documentamos que un puntaje Mitoscóreo igual o mayor a 2 se asoció con mayor cantidad de embriones aneuploides, pero no con la calidad morfológica del embrión. Lo anterior difiere de lo encontrado por Collazo et al. quienes documentaron que el Mitoscóreo es significativamente diferente según la calidad del embrión (23).

En un estudio de De Los Santos et al., los embriones observados con menor calidad de trofoblasto presentaron una tendencia a presentar Mitoscóreo más elevado y concluyeron que las alteraciones en la biogénesis mitocondrial pueden afectar negativamente a la capacidad de proliferación del trofoblasto perjudicando la diferenciación posterior del trofoblasto necesaria para

los pasos de adhesión e invasión durante la implantación (24). En nuestro estudio, esto no fue significativo, ya que no se probó haber diferencias en el Mitoscore de acuerdo con la calidad embrionaria ni con la prueba de embarazo positiva posterior a la transferencia embrionaria.

Además, observamos que, de forma significativa, el Mitoscore menor a 2 se asoció con mayor cantidad de embriones transferidos, debido a una frecuencia mayor de euploidia de estos, pero no se asoció con embarazo clínico o nacido vivo. Un puntaje de Mitoscore de 2 puntos o menos tuvo una especificidad del 94.7% para transferencia, y un valor predictivo positivo de 14.8%. Respecto a esto, Bayram et al. observaron que el Mitoscore no fue diferente entre embriones euploides y aneuploides, con el mismo número de blastómeros en el momento de la biopsia (en día 3), sin embargo, de este estudio llama la atención el seguimiento de los embriones, donde la ausencia de cavitación a las 118 horas después de la inseminación se correlacionó con valores más altos de Mitoscore y una menor probabilidad de ser euploide 17.1% vs 47.4%; por lo que los autores concluyen que la blastulación está correlacionada con un menor contenido de ADNmt y una mayor probabilidad de euploidía (25), lo que concuerda con lo encontrado en nuestro estudio donde los embriones con Mitoscore <2 tuvieron una frecuencia de euploidia mayor.

El estudio de Ogur et al., no se encontraron diferencias significativas en el contenido de ADNmt entre los embriones implantados y los no implantados, sin embargo, los autores lo adjudicaron a un tamaño bajo de la muestra. Posteriormente, después de duplicar el número de pacientes, encontraron una diferencia estadísticamente significativa que sugiere algún valor para Mitoscore. No obstante, existen embriones con Mitoscore alto que se implantan, lo que genera algunas dudas sobre las afirmaciones de un valor predictivo negativo (26). Esta puede ser una razón que explica también nuestros hallazgos.

Tüfekçi, et al., realizaron un estudio en 2494 embriones con PGT-A y de acuerdo con sus resultados el Mitoscore no fue un biomarcador de éxito en implantación pero demostraron que este se elevaba en embriones de mujeres mayores y embriones aneuploides, similar a nuestros resultados con una diferencia significativa. Así mismo concluyen que una baja tasa de fosforilación oxidativa desde el cigoto a la fase de mórula limita la producción de especies reactivas de oxígeno y postulan que esto puede maximizar la viabilidad de los blastocistos euploides (27).

Finalmente, en un estudio de Zhou et al., se encontró que el contenido de DNAm no parece ser un biomarcador potencial para los resultados de la transferencia de embriones (implantación y nacido vivo) según las herramientas de prueba existentes (27). Estos resultados concuerdan con nuestros hallazgos, ya que, aunque si encontramos asociación con la transferencia del embrión, no

fue así con el embarazo clínico o nacido vivo. Sin embargo, existe los embriones con un contenido elevado de DNAm_t también tienen potencial de desarrollo para un nacimiento vivo exitoso (28).

Se deben considerar muchos factores para sugerir de manera confiable la importancia de Mitoscore como un factor determinante en el resultado de la técnica de reproducción asistida. Se están realizando más análisis de otros determinantes, como la edad, el diagnóstico de infertilidad y la tasa de implantación, para evaluar la importancia de Mitoscore para ayudar a elegir el embrión para obtener el resultado más exitoso (24).

Dentro de las fortalezas de este estudio destacan su realización en un centro con mismo control de calidad en los procedimientos como la técnica de FIV/ICSI, cultivo, criterios de clasificación morfológica y toma de biopsia embrionaria, procesamiento de muestra y reporte de resultados por un solo laboratorio, además del seguimiento de los resultados reproductivo de las pacientes.

Sobre las limitaciones del estudio fue que un Mitoscore menor a 2 se asoció a mayor proporción de embriones euploides y en consecuencia mayor transferencia embrionaria de este grupo, mientras que la muestra embriones con Mitoscore elevados (>2) fue reducida para determinar el impacto del Mitoscore sobre los desenlaces de estos, es necesario en un futuro realizar estudios con mayor tamaño muestral para demostrar el valor pronóstico del Mitoscore en los resultados de las TRA.

CONCLUSIÓN

En nuestro estudio, encontramos que un puntaje Mitoscore igual o mayor a 2 se asoció con mayor cantidad de embriones aneuploides, siendo esto significativo, y concordando con la mayoría de la estudios. sin embargo, la reducción del número de embriones euploides en el grupo con Mitoscore >2 resultó limitante para poder obtener un valor pronostico del Mitoscore sobre los resultados de TRA en este grupo.

Además, en este estudio no se demostró una relación del Mitoscore con la calidad morfológica del del embrión. Otro punto que destacar es que similar a otros estudios, el Mitoscore >2 fue más frecuente en el grupo de mujeres de >40 años, así también la frecuencia de aborto, pero el tamaño muestral de este grupo no permitió realizar análisis con mayor poder estadístico.

También, observamos que, de forma significativa, el Mitoscore menor a 2 se asoció con mayor cantidad de embriones euploides y en consecuencia mayor número de transferencias en este grupo, obteniendo una especificidad del 94.7% para transferencia embrionaria y un valor predictivo positivo de 14.8%. pero no se asoció con los desenlaces del embrión (embarazo clínico o nacimiento vivo).

El Mitoscore es una herramienta que pudiera dar un valor cuantitativo pronóstico de la ploidia embrionaria, pero no predice los resultados de las terapias de reproducción asistida. Además, faltan más estudios controlados con mayor tamaño muestral para poder establecer una utilidad en la predicción de los resultados de TRA.

REFERENCIAS

1. May-Panloup P, Boguenet M, Hachem H El, Bouet PE, Reynier P. Embryo and its mitochondria. *Antioxidants*. 2021;10(2):1–20.
2. Adhikari D, Lee IW, Yuen WS, Carroll J. Oocyte mitochondria-key regulators of oocyte function and potential therapeutic targets for improving fertility. *Biol Reprod*. 2022;106(2):366–77.
3. Bayram A, Elkhatib I, Arnanz A, Linan A, Ruiz F, Lawrenz B, Fatemi HM: What drives embryo development? Chromosomal normality or mitochondria?. *Case Rep Genet*. 2017, 2017:4397434. 10.1155/2017/4397434
4. Wai T, Ao A, Zhang X, Cyr D, Dufort D, Shoubridge EA: The role of mitochondrial DNA copy number in mammalian fertility. *Biol Reprod*. 2010, 83:52-62. 10.1095/biolreprod.109.080887
5. De Boer K, Jansen R, Leigh D, Mortimer D: Quantification of mtDNA copy number in the human secondary oocyte. *Hum Reprod*. 1991, 14:2419. 10.1093/humrep/14.9.2419a
6. May-Panloup P, Chrétien MF, Jacques C, Vasseur C, Malthiery Y, Reynier P: Low oocyte mitochondrial DNA content in ovarian insufficiency. *Hum Reprod*. 2005, 20:593-7. 10.1093/humrep/deh667
7. Fragouli E, Spath K, Alfarawati S, et al.: Altered levels of mitochondrial DNA are associated with female age, aneuploidy, and provide an independent measure of embryonic implantation potential. *PLoS Genet*. 2015, 11:e1005241. 10.1371/journal.pgen.1005241
8. Viotti M, Victor AR, Zouves CG, Barnes FL: Is mitochondrial DNA quantitation in blastocyst trophectoderm cells predictive of developmental competence and outcome in clinical IVF?. *J Assist Reprod Genet*. 2017, 34:1581-5. 10.1007/s10815-017-1072-6
9. Qublan HS, Malkawi HY, Tahat YA, et al.: In-vitro fertilisation treatment: factors affecting its results and outcome. *J Obstet Gynaecol*. 2005, 25:689-93. 10.1080/01443610500292353
10. Podolak A, Woclawek-Potocka I, Lukaszuk K. The Role of Mitochondria in Human Fertility and Early Embryo Development: What Can We Learn for Clinical Application of Assessing and Improving Mitochondrial DNA? *Cells*. 2022;11(5).

11. Almansa-Ordonez A, Bellido R, Vassena R, Barragan M, Zambelli F. Oxidative stress in reproduction: A mitochondrial perspective. *Biology (Basel)*. 2020;9(9):1–21.
12. Kristensen SG, Humaidan P, Coetzee K. Mitochondria and reproduction: Possibilities for testing and treatment. *Panminerva Med*. 2019;(March):82–96.
13. Cecchino GN, Seli E, Alves da Motta EL, García-Velasco JA. The role of mitochondrial activity in female fertility and assisted reproductive technologies: overview and current insights. *Reprod Biomed Online [Internet]*. 2018;36(6):686–97.
14. Vander Borgh M, Wyns C: Fertility and infertility: definition and epidemiology. *Clin Biochem*. 2018, 62:2-10. 10.1016/j.clinbiochem.2018.03.012
15. Agarwal A, Mulgund A, Hamada A, Chyatte MR: A unique view on male infertility around the globe. *Reprod Biol Endocrinol*. 2015, 13:37. 10.1186/s12958-015-0032-1
16. Boynukalin FK, Gultomruk M, Cavkaytar S, et al.: Parameters impacting the live birth rate per transfer after frozen single euploid blastocyst transfer. *PLoS One*. 2020, 15:e0227619. 10.1371/journal.pone.0227619
17. van Loendersloot LL, van Wely M, Limpens J, Bossuyt PM, Repping S, van der Veen F: Predictive factors in in vitro fertilization (IVF): a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2010, 16:577-89. 10.1093/humupd/dmq015
18. Ishihara O, Adamson GD, Dyer S, et al.: International committee for monitoring assisted reproductive technologies: world report on assisted reproductive technologies, 2007. *Fertil Steril*. 2015, 103:402-13.e11. 10.1016/j.fertnstert.2014.11.004
19. Kim J, Seli E: Mitochondria as a biomarker for IVF outcome. *Reproduction*. 2019, 157:R235-42. 10.1530/REP-18-0580
20. Bustillo M, Collazo I, Palmerola KL, et al. Obesity and mitoscore: determinant of art success?. *Fertility Sterility*. 2020;114(3 Suppl): E430-31.
21. Arifova M, Johnson D, Haimowitz Z, Akopians A, Danzer H, Barrit J. Assessing mitochondrial quantity and ranking (mitoscore) in euploid single embryo frozen transfers demonstrates a lower mitoscore is significantly better. *Reproduct BioMed Online*. 2019;39(Suppl 2):e2-e3.

22. Diez-Juan A, Rubio C, Marin C, et al. Mitochondrial DNA content as a viability score in human euploid embryos: less is better. *Fertility Sterility*. 2015;104(3):P534-41.
23. Collazo I, Bustillo M, Ricard J, Eisermann J, Hendon N, Arora H. Embryo morphologic grading and mitoscore: are they related?. *Fertility Sterility* 2018;110(4 Suppl):E371-2.
24. De Los Santos MJ, Mercader A, Delgado A, et al. *Reproductive BioMed Online*. 2018;36(Suppl. 1):E13.
25. Bayram A, De Munck N, Elkhatib I, Aranz A, Liñán A, Lawrenz B, et al. Cleavage stage mitochondrial DNA is correlated with preimplantation human embryo development and ploidy status. *J Assisted Reprod Genetics*. 2019;36:1847-54
26. Ogur C, Findikli N, Caferler J, Gultomruk M, Capar B, Griffin DK, Bahceci M. Mitochondrial DNA (mtDNA) counts correlate to maternal age, day of biopsy and implantation potential. *Reprod BioMed Online*. 2019;38(Suppl 1):e26-27.
27. Tüfekçi M, Pirkevi C, Kumtepe Y, et al., Mitochondrial DNA content is not related with pregnancy but with euploidy. *Reprod BioMed Online*. 2019;38(Suppl 1):e26.
28. Zhou X, Liu X, Shi W, Ye M, Chen S, Xu C. Mitochondrial DNA Content May Not Be a Reliable Screening Biomarker for Live Birth After Single Euploid Blastocyst Transfer. *Front Endocrinol*. 2021.

ANEXOS

1.CARTA CONSENTIMIENTO VOLUNTARIO

Título de Protocolo:

Asociación del score mitocondrial con los resultados de reproducción asistida compleja en un centro de reproducción privado del noreste de México.

Investigador Principal:

Dra. Mónica Ruy Sánchez Aguilar

Investigador Asociado

Dr. Daniel Alberto Piña Cruz

Nombre del Paciente:

A Usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como Consentimiento Informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que ayude a aclarar sus dudas al respecto. Una vez que haya comprendido el estudio y su usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento.

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.

El score mitocondrial es un valor que representa la cantidad normalizada de ADN mitocondrial (ADNmt) en embriones sometidos a biopsia embrionaria para estudio genético preimplantación (PGT).

El ADNmt se hereda exclusivamente por línea materna. Se ha estimado que los ovocitos maduros tienen más de 150.000 copias de ADNmt. Se necesita el umbral de 40 000-50 000 copias de mtDNA para el desarrollo posterior a la implantación de ovocitos maduros

Se ha sugerido que el score mitocondrial (MitoScore) es un nuevo biomarcador potencial para el tratamiento de FIV/ICSI, que revela la incapacidad de un blastocisto con cromosomas normales para producir un embarazo viable. Sin embargo, existen resultados contradictorios sobre la validez de MitoScore como predictor de la implantación embrionaria, embarazo clínico y nacido vivo.

En el centro de fertilidad IECH el PGT se realiza en un laboratorio de genética externo (Progenesis Inc) por análisis de células obtenidas mediante biopsia del trofoectodermo de embrión en día 5 o 6. Esta prueba utiliza tecnología de secuenciación de siguiente generación (NGS) y ofrece la alta cobertura, sensibilidad y precisión. Este laboratorio el utiliza la puntuación de Mitosure como indicador de la carga mitocondrial y la puntuación se divide en tres niveles para simplificar (0.2-1, 1-2, >2).

OBJETIVO DEL ESTUDIO.

A Usted se le está invitando a participar en un estudio de investigación que tiene como objetivo principal el determinar si el score mitocondrial mayor a 2 tiene afecto negativo en los resultados de las terapias de reproducción (FIV/ICSI con PGT), para poder ofrecer una consejería reproductiva mucho más asertiva y verás, aunado a la consulta de fertilidad.

Objetivos específicos

- Conocer si existen diferencias en el score mitocondrial de acuerdo con los grupos de edad <35, 35-40 y >40 años.
- Identificar si el score mitocondrial mayor a 2 se asocia a mayor frecuencia de aneuploidia embrionaria
- Determinar que score mitocondrial menor a 2 se asocia a mayor frecuencia nacido vivo
- Determinar si el score mitocondrial menor a 2 se asocia a mayor frecuencia de embarazo clínico
- Conocer si el score mitocondrial mayor a 2 se asocia a mayor frecuencia de aborto

BENEFICIOS DEL ESTUDIO.

Obtendrá el beneficio de conocer el valor de score mitocondrial del embrión(es) estudiado(s) y contribuirá en la ciencia para que en un futuro otros pacientes puedan ser clasificados con este marcador de una forma mucho más sensible y específica.

PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO.

En caso de aceptar participar en el estudio se recabará la información de su expediente físico y electrónico, así como el reporte del proceso del laboratorio de embriones y del laboratorio de genética.

RIESGOS ASOCIADOS CON EL ESTUDIO.

Este estudio no se asocia a ningún efecto adverso en usted o en su tratamiento de fertilidad.

ACLARACIONES.

- Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria.

- No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación.
- Si decide participar en el estudio, puede retirarse en el momento que lo desee, aún y cuando el Investigador responsable no se lo solicite, pudiendo informar o no, la razón de su decisión, la cuál será respetada en su integridad.
- No recibirá pago por su participación.
- La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores.
- Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la carta de consentimiento informado voluntario, que forma parte de este documento.

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.

Yo, _____, he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este Estudio de Investigación.

Firma del participante

Fecha

Testigo 1

Fecha

Testigo 2

Fecha

Esta parte debe ser completada por el Investigador o su representante:

He explicado al Sr. (a): _____ la naturaleza y los propósitos de la Investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en medida de lo posible y he preguntado si tienen alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella. Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

Firma del Investigador

Fecha

Datos para su localización:

Correo electrónico: _____

Celular: _____

CARTA DE REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO.

Título de Protocolo:

Asociación del score mitocondrial con los resultados de reproducción asistida compleja en un centro de reproducción privado del noreste de México.

Investigador Principal:

Dra. Mónica Ruy Sánchez Aguilar

Investigador Asociado

Dr. Daniel Alberto Piña Cruz

Nombre del Paciente:

Por este conducto deseo informar mi decisión de retirarme de este protocolo de investigación por las siguientes razones: (Este apartado es opcional y puede dejarse en blanco, si así lo desea el paciente).

Firma del participante

Fecha

Testigo 1

Fecha

Testigo 2

Fecha



Monterrey, Nuevo León a 01 de Noviembre 2022
Informe de Dictamen Favorable
Proyecto de investigación

Comité interno de Bioetica e investigación

Dr. Julio Cesar Rosales de León
Dr. Daniel Alberto Piña Cruz
Dra. Monica Ruy Sánchez Aguilar

Presente.

Por medio de este conducto queremos informar que el comité de bioetica en su reunion mensual del mes de Octubre del 2022, se llevo a cabo la revisión y analisis de el protocolo de investigacion titulado:

“Asociación del score mitocondrial con los resultados de reproducción asistida compleja en un centro de reproducción privado del noreste del México”

Al revisar el protocolo de forma detallada, así como su consentimiento informado claramente especificado, el comité de bioética no presenta impedimento para realizar dicho estudio ya que es retrospectivo, analítico y brinda un conocimiento mas amplio del el pronostico reproductivo.


Dr. Pablo Díaz Spíndola
Presidente de comité de Bioética

Atentamente


Dra. Rocio Meléndez Treviño
Vocal comité de bioética



2. CRONOGRAMA

	2022												2023											
ACTIVIDAD	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC
Búsqueda bibliográfica	X	X	X	X	X																			
Redacción de protocolo					X	X	X	X	X															
Realización de base de datos									X	X														
Captura de la información										X	X													
Análisis estadístico											X	X												
Redacción de resultados y conclusión												X	X											
Redacción de discusión													X	X										
Redacción final del trabajo														X										
Presentación de la tesis															X									
Presentación de la tesis en un foro																X								

