



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE MEDICINA

TÍTULO:

NÚMERO NECESARIO DE ÓVULOS PARA OBTENER UN EMBRIÓN  
EUPLOIDE EN PACIENTES DE UN CENTRO DE FERTILIDAD PRIVADO EN  
EL NORESTE DE MÉXICO.

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

SUB-ESPECIALISTA EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN HUMANA

PRESENTA :

DRA. MARIANNA PÉREZ VARGAS

DIRECTOR DE TESIS:

DR. JULIO CÉSAR ROSALES DE LEÓN

GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

MONTERREY, NUEVO LEÓN. FEBRERO 2022





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.

## ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>MARCO TEÓRICO</b>	<b>2</b>
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>7</b>
<b>JUSTIFICACIÓN</b>	<b>8</b>
<b>HIPÓTESIS</b>	<b>9</b>
<i>Objetivos específicos</i>	<b>10</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>11</b>
<i>Criterios de inclusión</i>	<b>12</b>
<b>INSTRUMENTOS Y PROCEDIMIENTOS</b>	<b>12</b>
<b>ASPECTOS ÉTICOS</b>	<b>17</b>
<b>RESULTADOS</b>	<b>18</b>
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>33</b>
<b>CONCLUSIÓN</b>	<b>35</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>36</b>

## INTRODUCCIÓN

A través de los años y con ayuda de técnicas de reproducción asistida (TRA) se ha intentado que parejas con infertilidad logren un embarazo a través de las diferentes tecnologías que ofrece la medicina reproductiva.<sup>1</sup> Un aspecto crucial en esta búsqueda es el número de óvulos recolectados, el cual ha sido considerado como un factor pronóstico importante, por lo que los protocolos de FIV han intentado optimizar este desenlace.<sup>2</sup>

Los óvulos humanos frecuentemente contienen un número incorrecto de cromosomas, una condición denominada aneuploidía. La aneuploidía afecta aproximadamente a un 10 a 25 % de los óvulos en mujeres de poco más de 30 años y a más del 50 % de los óvulos de mujeres mayores de 40 años. La mayoría de los óvulos aneuploides no pueden desarrollarse a término tras la fecundación.<sup>3</sup>

El número de ovocitos debe combinarse con la edad de la mujer, ya que la probabilidad de lograr un nacido vivo entre pacientes con un rendimiento de ovocitos similar depende en gran medida de la edad de la paciente. Por lo tanto, lo anterior implica que la cantidad de ovocitos necesaria para maximizar el nacimiento debe individualizarse teniendo en cuenta la edad de la paciente y, lo que es más importante, deben utilizarse estrategias orientadas a cada paciente para lograr la cantidad de ovocitos individualizada estimada.<sup>4</sup>

En la detección de euploidia se ha observado que la edad femenina es el determinante más importante del estado genético del embrión y que las tasas de aneuploidía no difieren significativamente según el tamaño de la cohorte de embriones en mujeres de la misma edad. Y concluyen que la disminución en la probabilidad de euploidia del blastocisto no solo depende de la edad, sino que también su declive es progresivo con cada año de edad en la mujer.<sup>5</sup> Lo que sugiere que los ovocitos son intrínsecamente más propensos a errores que las células mitóticas que los espermatocitos.<sup>6</sup>

En la práctica clínica, la disponibilidad de blastocistos euploides para los pacientes es extremadamente importante, considerando que la tasa de éxito acumulativo de la propia FIV depende estrictamente de esta cifra.

Por ello, en este estudio el objetivo principal será determinar el número de ovocitos necesarios para la obtención de un embrión euploide en un grupo de pacientes tratadas en una clínica privada de reproducción asistida del noreste de México. Además se analizarán otros factores que pudieran afectar este número.

## MARCO TEÓRICO

Las técnicas de reproducción asistida (TRA) para pacientes con infertilidad se han desarrollado rápidamente y han experimentado un auge masivo en las últimas décadas con la finalidad de aliviar este problema. Las principales son la fertilización in vitro (FIV), y mas recientemente la inyección intracitoplasmática de esperma (ICSI), la cual en conjunto con el cribado genético preimplantacional (PGT) ha permitido estudiar el estado cromosómico de los embriones previo a su transferencia.<sup>7</sup>

Los embriones deberían heredar una copia de cada uno de los veintidós autosomas y un cromosoma sexual de cada progenitor, y la aneuploidía puede implicar la herencia de demasiados o muy pocos de estos cromosomas.<sup>8</sup> Muchos embriones humanos no se desarrollan a término porque tienen un número incorrecto de cromosomas.<sup>3</sup>

Estos datos sugieren que los embriones en etapa temprana sufren una amplia gama de anomalías cromosómicas, y que esta podría ser una de las principales causas de los resultados negativos después de la FIV. Durante muchos años, la selección del mejor embrión para transferir se basó en criterios morfológicos (número y tamaño de las células, así como la fragmentación). Sin embargo, con las nuevas tecnologías es posible comprender y evaluar el origen de las aneuploidías, un factor de gran importancia.<sup>3</sup>

Los ovocitos primordiales son las células progenitoras del óvulo, y las aneuploidías meióticas más comunes resultan de errores en la segregación cromosómica durante las divisiones meióticas del mismo. La meiosis del ovocito es un proceso extremadamente largo que comienza en el feto femenino<sup>6</sup>. Una vez que las células germinales primordiales han llegado a la cresta genital, se convierten en pequeños ovocitos primordiales que aún contienen un conjunto diploide de cromosomas. Estos pares de cromosomas homólogos luego se unen a través de quiasmas en un proceso denominado recombinación meiótica. Este par enlazado de cromosomas homólogos se denomina bivalente.<sup>6</sup>

Cuando existen errores durante la segregación cromosómica en la meiosis se da lugar a óvulos aneuploides. Si estos óvulos son fecundados, dan lugar a embriones aneuploides. La frecuencia de los errores de segregación cromosómica durante la meiosis aumenta a medida que la mujer envejece, por lo que es más frecuente que las mujeres mayores conciban embriones con un número incorrecto de cromosomas.<sup>9</sup>

La mayoría de las aneuploidías conducen a una disfunción celular grave, ya que cada cromosoma codifica hasta miles de genes. En consecuencia, los embriones aneuploides a menudo no logran convertirse en blastocistos funcionales y, por lo tanto, nunca se implantan. En casos menos graves de aneuploidía, puede formarse e implantarse un blastocisto funcional.<sup>10</sup> Sin embargo, las aneuploidías de la mayoría de los cromosomas provocan una letalidad embrionaria temprana y el embarazo suele terminar en el primer trimestre.<sup>11</sup> Sólo unas pocas aneuploidías son viables.<sup>6</sup>

Los ovocitos que se obtienen para la fecundación in vitro se encuentran en diferentes etapas de la meiosis. Generalmente, solo los ovocitos que han completado la segunda división meiótica con

un huso en metafase II, son los que se consideran óvulos maduros, y se utilizan para el tratamiento de FIV. Cuando estos son inmaduros no son adecuados para la fertilización, porque todavía contienen un conjunto completo de cromosomas no segregados.<sup>6</sup>

El número de óvulos recolectados ha sido considerado como un factor pronostico importante, por lo que los protocolos de FIV han intentado optimizar este desenlace. En los estudios donde se evalúan los regímenes de tratamiento de FIV y pruebas de reserva ovárica como la de la hormona antimülleriana (HAM) así como el recuento folicular antral, con frecuencia consideran el número de óvulos como un desenlace a tomar en cuenta, sin embargo, la relación entre el número de ovocitos y de nacimientos vivos ha sido pobremente estudiada.<sup>2</sup>

En estudios realizando matriz de hibridación genómica comparativa (aCGH) para detección de euploidia se ha observado que la edad femenina es el determinante más importante del estado genético del embrión y que las tasas de aneuploidía no difieren significativamente según el tamaño de la cohorte de embriones en mujeres de la misma edad. Y concluyen que la disminución en la probabilidad de euploidía del blastocisto no solo depende de la edad, sino que también su declive es progresivo con cada año de edad en la mujer.<sup>5</sup> Lo que sugiere que los ovocitos son intrínsecamente más propensos a errores que las células mitóticas que los espermatozoides.<sup>6</sup>

Siguiendo esta tendencia recientemente, el grupo POSEIDON propuso “la facultad para obtener el número de ovocitos para lograr al menos un embrión euploide para transferir en cada paciente” como medida del éxito de las TRA.<sup>12</sup>

Sin embargo, el número de ovocitos debe combinarse con la edad de la mujer, ya que la probabilidad de lograr un nacido vivo entre pacientes con un rendimiento de ovocitos similar depende en última instancia de la edad de la paciente. Por lo tanto, lo anterior implica que la cantidad de ovocitos necesaria para maximizar el nacimiento vivo debe individualizarse teniendo en cuenta la edad de la paciente y, lo que es más importante, deben utilizarse estrategias orientadas a la paciente para lograr la cantidad de ovocitos individualizada estimada.<sup>4</sup>

En el estudio realizado en el 2019 por Esteves, et al., en el que se evaluó la disminución de la probabilidad de que un embrión sea euploide, se llegó a la conclusión de que aumenta el riesgo de aneuploidía progresivamente con cada año de edad de la mujer, del 1.2% al 24.5% en mujeres de 28 a 44 años.<sup>12</sup>

Contradictoriamente, la aneuploidía afecta no solo afecta a los óvulos de mujeres mayores, sino también a los de mujeres más jóvenes, ya que estos, aún en los mejores años de potencial reproductivo, todavía suelen ser defectuosos. Los óvulos donados por mujeres jóvenes para FIV a menudo producen embriones con aneuploidía<sup>13</sup> y muchas personas con síndrome de Down nacen de madres menores de 35 años. Según el estudio, del 3 al 61 % de los ovocitos de mujeres menores de 30 años se ven afectados por aneuploidía.<sup>14</sup>

En un estudio realizado se encontró que la tasa de aneuploidías aumenta 10% por año de edad femenina, con 48.1%, 41.3%, 29.7% y 10.3% de blastocistos euploides en pacientes con edad media femenina 32, 33–36, 37–41 y 42 años, respectivamente.<sup>15</sup>

La calidad de los ovocitos es una característica más compleja de definir y medir de la reserva ovárica, más que la cantidad. Tanto los aspectos cuantitativos como cualitativos de la reserva ovárica

están inversamente relacionados con la edad; por lo tanto, la relación existente entre cantidad y calidad puede ser indirecta y debido a su fuerte relación con la tercera variable, la edad femenina. Sin embargo, existe la posibilidad de que también estén directamente relacionados, es decir, independientemente de la edad, una reserva ovárica reducida puede conducir a una calidad de ovocitos reducida. De hecho, evidencia en la literatura indica un vínculo directo entre la cantidad y la calidad de la reserva ovárica.<sup>16</sup> Una reducción la reserva ovárica puede estar asociada per se con un inicio acelerado de aneuploidía de ovocitos, lo que lleva a un aumento en la tasa de aneuploidía en embriones.<sup>17</sup>

La reserva ovárica ahora se puede medir con precisión in vivo midiendo los niveles circulantes de HAM. Esta hormona es producida y secretada por las células de la granulosa de los folículos primarios y principalmente secundarios hasta la etapa de 6-8 mm. Las concentraciones séricas de HAM están fuertemente relacionadas con el grupo de folículos primordiales y disminuyen con el avance de la edad femenina, volviéndose indetectables algunos años antes de la menopausia. Debido a la fuerte relación con la reserva ovárica, la medición de la HAM sérica puede permitir predecir la edad de la menopausia y el número de ovocitos recuperados.<sup>17</sup>

Existe la hipótesis de que la calidad y la cantidad de la cohorte folicular están directamente relacionadas, y se ha demostrado que los aspectos cualitativos y cuantitativos de la reserva ovárica están inversamente relacionados con la edad de la mujer.<sup>17</sup>

Independientemente de la edad, la selección de ovocitos puede verse afectada cuando hay pocos ovocitos disponibles o cuando las modificaciones fisiológicas secundarias a la pérdida de folículos pueden afectar la competencia de los estos. El hecho de que la HAM sérica esté relacionada con la euploidía de los blastocistos en los ciclos de FIV, independientemente de la edad de la mujer, podría explicar como puede tomarse este valor, como un predictor débil relacionado a la edad, pero estadísticamente significativo a los nacidos vivos en la FIV. Esto destaca el posible papel de la HAM sérica como un marcador cualitativo, no cuantitativo, de la reserva ovárica.<sup>17</sup>

En la práctica clínica, la disponibilidad de blastocistos euploides para los pacientes es extremadamente importante, considerando que la tasa de éxito acumulativo de la propia FIV depende estrictamente de esta cifra. Estudios muy recientes confirmaron claramente que el número de embriones criopreservados después de la transferencia de embriones en fresco está directamente relacionado con la tasa de nacidos vivos acumulada que resulta del éxito de las transferencias de embriones en fresco y las sucesivas congeladas.

Al analizar las tasas de euploidia, en cuanto mayor sea el número de ovocitos, mayor será el número de embriones euploides que se obtendrán. Esto confirma hallazgos anteriores de Ata et al.<sup>18</sup>, quienes encontraron que el número de embriones euploides en los ciclos de FIV/ICSI disminuyó significativamente con el aumento de la edad de la mujer y aumentó significativamente con cada embrión adicional disponible para el análisis. En el estudio realizado por La Marca et al<sup>17</sup>, calcularon la probabilidad de tener al menos un blastocisto euploide disponible en la transferencia para medir el tamaño del efecto de la asociación de los predictores (edad y antimülleriana) y encontraron que se redujo en un 16 % por cada año de edad femenina, aumentó en un 27 % por cada aumento de HAM de 1 ng/mL, y aumentó en un 9 % por cada ovocito maduro adicional.

En los ciclos de FIV, se ha demostrado que existe una fuerte correlación entre el número de ovocitos recuperados y la tasa de nacidos vivos<sup>19</sup>. Como tal, el número de ovocitos se puede utilizar como un resultado sólido para el éxito clínico. Aunque la relación no es lineal, la tasa de nacidos vivos aumenta con el número creciente de ovocitos recuperados, tomando como cifra ideal hasta 15 de estos. Para un resultado exitoso del PGT, también se ha demostrado que el número de complejos de ovocitos está significativamente asociado con el número de embriones a los que se realizó biopsia y el número de embriones aptos para transferir.<sup>20</sup>

Tras el análisis de más de 400.0000 ciclos de FIV, Sunkara et al.<sup>19</sup> demostraron una fuerte asociación entre el número de ovocitos recuperados y la tasa de nacidos vivos, donde aumentó la tasa con el número de ovocitos hasta 15, se estabilizó entre 15 y 20 y disminuyó constantemente más allá de los 20 ovocitos.

En el estudio realizado por Ben-Nagui, et al<sup>20</sup> se diseñó un modelo en el que, si la edad aumenta en un año, el número de blastocistos para biopsia y de embriones aptos para transferir disminuye en un 2% y un 6%, respectivamente. Además de concluir que la cantidad de blastocistos biopsiados tiene un impacto significativo en la cantidad de embriones aptos para transferir. Por cada biopsia de blastocisto adicional, existe un aumento del 61 % en la probabilidad de tener un embrión adecuado para transferir con un poder predictivo de 0.8.

En el análisis de todo el grupo, si se recuperan 10 ovocitos, la tasa de nacidos vivos fue de aproximadamente el 40 %. La probabilidad de un nacimiento vivo es aproximadamente de 65% cuando hay cuatro embriones adecuados disponibles para transferir y disminuye a poco menos del 50% cuando hay dos embriones adecuados disponibles para transferir.<sup>20</sup>

La estimulación hormonal para maximizar el número de óvulos y blastocistos para la biopsia. Dado que la mayoría de los centros de PGT han adoptado protocolos de congelación y biopsia de blastocisto, se puede adoptar un enfoque de estimulación más agresivo debido al menor riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica asociado con los ciclos congelados. Ya que existe una relación clara entre el resultado de PGT y la respuesta ovárica determinada por el número de ovocitos recuperados, blastocistos para biopsia y embriones adecuados para transferir.<sup>20</sup>

Franasiak, J et.al, sugieren que, para la aplicación clínica, el número mínimo de blastocistos biopsiados necesarios para obtener al menos un blastocisto euploide transferible es cuatro para parejas portadoras de translocaciones recíprocas, y tres para parejas que se someten a otros tipos de PGT.<sup>21</sup>

La tendencia global al utilizar este tipo de pruebas, como parte de su consulta genética antes del PGT, va enfocada en construir modelos matemáticos predictivos, para conocer la posibilidad de obtener un embrión transferible. Además de ayudar a comprender claramente que el riesgo de no se obtener embriones transferibles, es una posibilidad para algunas parejas.<sup>21</sup>

De esta forma, mientras más ovocitos maduros utilizados para ICSI tengamos, significa una mayor oportunidad de obtener blastocistos para biopsia. Por lo tanto, se podrá tener una mayor probabilidad de obtener blastocistos transferibles, aunque a expensas de un mayor riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica (SHEO) con la recolección de más ovocitos.<sup>22</sup> Se debe tomar en cuenta que el número de blastocistos biopsiados es un predictor clínico de la disponibilidad de un

blastocisto euploide y transferible en parejas sometidas a PGT, independientemente de las indicaciones. Este número de blastocistos será determinado de manera proporcional en gran medida de factores como el número de óvulos obtenidos en cada paciente, y se verá afectado drásticamente por la edad de la paciente.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El éxito clínico de las pruebas genéticas preimplantacionales depende de muchos factores, entre ellos la edad de la paciente y la reserva ovárica. Aunque la edad se ha estudiado extensamente, la probabilidad de encontrar al menos un embrión euploide basado en los ovocitos recuperados no se ha evaluado ampliamente en nuestra población.

Se ha visto que, con el paso de los años, sobre todo por encima de los 35 años, existe un mayor riesgo de obtención de ovocitos con alteraciones cromosómicas, que pueden asociarse a la obtención de embriones con aneuploidías, lo cual puede modificar la probabilidad de embarazo o el desenlace del producto.

Se han producido estudios previos tratando de evaluar la relación entre el número de ovocitos recolectados y las tasas de embarazo posterior al FIV, con resultados contradictorios.

Por lo anterior, se vuelve importante responder en nuestra población la pregunta:

¿Cuál es el número necesario de óvulos para obtener un embrión euploide en las pacientes de nuestro Centro de Fertilidad?

## JUSTIFICACIÓN

En las parejas con infertilidad la estrategia de estimulación ovárica controlada ha sido utilizada como una medida para solucionar este problema. Con el advenimiento de las nuevas tecnologías en técnicas de reproducción asistida, el objetivo se ha orientado a optimizar las estrategias de estimulación para obtener el número ideal de óvulos que generen al menos un embrión euploide.

El principal objetivo del tratamiento es alcanzar un nacimiento vivo y sano a término, por lo que la introducción de pruebas de cribado genético preimplantacional ha sido útil para aumentar estas tasas. Así mismo, al determinar cuál embrión es euploide, podemos generar un embarazo y una evolución a término favorable, sobretodo en pacientes de riesgo elevado de aneuploidía o aborto.

Actualmente, existen pocos trabajos bien diseñados que determinen el número de ovocitos mínimo requerido por paciente que nos permitan obtener un embrión euploide. De esta forma, existen diversos factores, además de la edad materna, que afectan el “numero ideal” de óvulos a obtener en la búsqueda del embrión euploide para transferencia. Por último, no existen en México estudios que analicen lo anterior, por lo que sería enriquecedor conocer la asociación de número de óvulos con euploidia embrionaria en nuestra población mexicana.

Finalmente, para poder ofrecer a la pareja un mejor panorama y consejería, sería ideal conocer la cantidad de óvulos necesarios que puede generar un embrión euploide en nuestra población y de esta manera aumentar la posibilidad de embarazo en pacientes con infertilidad.

De esta forma el objetivo de la presente investigación se basa en determinar el número de óvulos maduros necesarios para obtener un embrión euploide. Además, analizar el comportamiento que tiene este numero con respecto a la edad materna.

## HIPÓTESIS

### **Hipótesis de Investigación.**

Si la paciente tiene más de 35 años y cuenta con 15 óvulos maduros generará al menos un embrión euploide.

### **Hipótesis Nula.**

Si la paciente tiene más de 35 años y cuenta con 15 óvulos maduros no generará un embrión euploide.

### **Hipótesis de Alterna.**

El número de óvulos maduros en pacientes de mas de 35 años no es un factor determinante para obtener al menos un embrión euploide.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

Analizar la cantidad de óvulos maduros que fueron necesarios para obtener al menos un embrión euploide en el centro de fertilidad IECH.

### **Objetivos específicos**

- Determinar si la edad materna esta relacionada con la cantidad de óvulos maduros necesarios para generar un blastocisto.
- Determinar si la edad materna esta relacionada con la cantidad de óvulos maduros necesarios para generar un embrión euploide.
- Determinar cuantos blastocistos son necesarios para obtener un embrión euploide dividido por grupos de edad.
- Determinar si existe una asociación entre la calidad morfológica del blastocisto y la euploidia.
- Determinar la tasa de euploidia con relación a la edad de la paciente.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Diseño del estudio

Clasificación del estudio: Transversal.

Tipo de investigación: Analítico

Características del estudio (con relación al tiempo): retrospectivo.

### Población y muestra

Lugar donde se realizó el estudio: Se recabará información de las bases de datos y de los expedientes clínicos de pacientes que se sometieron a Diagnóstico Genético Preimplantacional en el centro de fertilidad IECH Monterrey en el periodo del 2016 al 2020.

Se incluirán todas las pacientes que cumplan los criterios de selección, por lo que se trata de un estudio poblacional y no se requiere cálculo de tamaño de muestra. Esto debido a la limitante de tener que recopilar información exclusivamente de pacientes que cuenten con el registro de la biopsia embrionaria, para poder evaluar el desenlace.

Los datos serán recabados de forma retrospectiva.

## CRITERIOS DE SELECCIÓN

### Criterios de inclusión

- Pacientes atendidas en el Centro de Fertilidad IECH Monterrey.
- Pacientes que asistieron al Centro de Fertilidad IECH, en el periodo comprendido de enero del 2016 a diciembre del 2020, que se sometieron a Diagnóstico Genético Preimplantacional
- Pacientes del programa de Ovodonación.
- Edad de 18 a 42 años

### Criterios de exclusión

- Pacientes con factor masculino de moderado a severo.
- No contar con el reporte de biopsia embrionaria.

### Criterios de eliminación •

Expedientes extraviados.

- Expedientes ilegibles.
- Expedientes incompletos.
- Incongruencia en la base de datos.

## INSTRUMENTOS Y PROCEDIMIENTOS

Se realizará el presente estudio retrospectivo entre los pacientes que fueron sometidos a ciclos de ICSI en el centro de fertilidad IECH, Monterrey, en el periodo comprendido entre enero del 2016 y diciembre del 2020.

Se incluirán mujeres de 18 a 42 años, las cuales se sometieron a híper estimulación ovárica controlada y se recuperaron ovocitos.

Este protocolo de estudio incluirá pacientes en que la hiperestimulación ovárica controlada se realizó con FSH recombinante (Gonal-F), Corneumon o hMG (Merional o Merapur), o Pergoveris con una dosis inicial que oscila entre 75 UI y 450 UI por día, según los parámetros hormonales, antropométricos. En estos protocolos, la dosis de gonadotropina se ajustó de acuerdo con la respuesta folicular individual y se usaron análogos de GnRH para evitar el aumento espontáneo de LH.

Los ovocitos se recuperaron transvaginalmente de 35 a 36 horas después de la administración de hCG (Choragon, Choreomon o Pregnyl), ovidrel o Leuprorelina (Lucrin) y se fertilizaron usando inyección intracitoplasmática de esperma (ICSI).

Se realizó la biopsia embrionaria y posteriormente los embriones se criopreservaron mediante la técnica de vitrificación.

## VARIABLES DE ESTUDIO

<b>Variable y tipo de variable</b>	<b>Definición conceptual</b>	<b>Definición operacional</b>	<b>Tipo de variable</b>	<b>Escala de medición</b>
Edad de la paciente	Lapso que transcurre desde el nacimiento Lapso de tiempo que transcurre desde el nacimiento hasta el momento de referencia hasta el momento de referencia.	Edad de la paciente al momento del procedimiento	Numérica discreta	Años

Tipo de procedimiento	La ICSI consiste en la microinyección de un espermatozoide en el interior de un ovocito, con la ayuda de un microscopio especial, el microinyector.	Tipo de procedimiento aplicado a la paciente	Categórica nominal	ICSI-PGS ICSI-PGS-D ICSI-PGT-A
Día de desarrollo	Día en el que se desarrolla el procedimiento.	Día en que se llevó a cabo el procedimiento.	Numérica discreta	Días

Número de ovocitos recolectados	Un ovocito es un gametocito hembra o célula germinal que participa en la reproducción. En otras palabras, es un precursor inmaduro del óvulo, o célula huevo. El ovocito se produce en el ovario del embrión durante la gametogénesis femenina.	Número de ovocitos recolectados al finalizar el procedimiento.	Numérica discreta	NA
Número de embriones biopsiados	El embrión es la etapa inicial del desarrollo de un ser vivo mientras se encuentra en el huevo o en el útero de la hembra.	Número de embriones biopsiados para análisis.	Numérica discreta	NA
Resultado de la biopsia	Una biopsia es un procedimiento diagnóstico que consiste en la extracción de una muestra total o parcial de tejido para ser	Resultado normal o anormal de la biopsia, o falla en la evaluación. En caso de reportar	Categórica nominal (variable dependiente)	NORMAL ANORMAL FALLA EN EVALUACIÓN
	examinada al microscopio por un médico anatomopatólogo.	alteraciones cromosómicas, se reportarán.		

Sexo del embrión	Es el conjunto de características biológicas que caracterizan a las especies animales en machos o hembras; diferencias que se hacen evidentes a través de los genitales externos o sistemas reproductores.	Sexo del embrión reportado en la biopsia.	Categórica nominal dicotómica	Masculino Femenino
------------------	--	---	-------------------------------	-----------------------

#### **Procesos y métodos de confiabilidad:**

#### **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 Excel Microsoft Office para posteriormente ser analizados en el programa estadístico seleccionado

#### **ANÁLISIS INICIALES**

En la estadística descriptiva se reportarán frecuencias y porcentajes para variables categóricas. Para las variables cuantitativas se reportarán 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 realizará la comparación de las variables categóricas por medio de la prueba de chi cuadrada de Pearson. La comparación de variables numéricas se llevará 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.

Para la obtención de un punto de corte asociado a la obtención de embrión genéticamente normal, se utilizarán curvas ROC y se calculará el área bajo la curva. Se recurrirá a la obtención del índice de Youden más alto, que se relacione con el rendimiento diagnóstico y predictor más elevado. Se calcularán parámetros de rendimiento diagnóstico del corte seleccionado: sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo.

Se considerará un valor de  $P < 0.05$  y un intervalo de confianza al 95% como estadísticamente significativo. Se utilizará 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 es un estudio con riesgo nulo de acuerdo con el artículo 17 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, artículo 17, en donde en este estudio retrospectivo se obtendrá la información del expediente sin contacto con el paciente. De acuerdo con el artículo 45 de este Reglamento, la investigación en esta población será con el objetivo de obtener conocimientos generalizables sobre el embarazo, no poseen un riesgo mayor al mínimo 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 tendrá como finalidad la interrupción del embarazo fuera de indicación médica (madurez del embarazo) ni perjudicará 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 ajustará a los principios científicos y éticos que la justifiquen (fracción I) por su impacto en la obtención de información asociada a desenlaces y pronóstico en biología de la reproducción; será fundamentada con hechos científicos previos (fracción II), fundamentados en el marco conceptual; será realizada por profesional de la salud con conocimiento y experiencia para cuidar la integridad del ser humano (en el área de ginecología y obstetricia), bajo la responsabilidad de una institución de atención a la salud que actúe bajo la supervisión de las autoridades sanitarias competentes y que cuenta con los recursos humanos y materiales necesarios, que garanticen 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 contará con dictamen favorable del comité de ética institucional.

Los datos del sujeto en investigación serán resguardados por medio de las iniciales del paciente y un folio individual asignado a cada uno de ellos, salvaguardando la confidencialidad de las pacientes, y con acceso único por 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

Los resultados del presente estudio constan de la información recabada de un total de 138 pacientes, las cuales se sometieron a técnicas de reproducción asistida con estimulación ovárica controlada mediante dosis individualizadas de gonadotropinas y análogos de la GnRH. Para la obtención de óvulos y su posterior fertilización por ICSI. Se realizó evaluación morfológica embrionaria, y posteriormente toma de biopsia en 376 embriones para diagnóstico genético preimplantacional en día 5 o 6 de evolución (etapa de blastocisto). Únicamente se realizó biopsia en aquellos embriones que cumplieron los criterios morfológicos para ser biopsiados.

Para la revisión y análisis se incluyeron a todas las pacientes que cumplieron los criterios de selección, el análisis de la población mostró los siguientes resultados:

En la tabla 1 se describen las variables demográficas y características generales del proceso de fertilización de las pacientes incluidas en el estudio. La mediana de edad de las pacientes fue de 36 (31-39) años. En cuanto a los parámetros bioquímicos que se pueden observar en la tabla 1, se obtuvo una mediana de hormona antimülleriana (AMH) fue de 2.67 (1.24-4.64) ng/ml, de hormona estimuladora de tiroides (TSH) de 1.7 (1.01-2.4) ng/ml y de prolactina (PRL) de 13.8 (8-18) ng/ml.

Durante el proceso de estimulación se obtuvieron una mediana de 12 (9-16) óvulos, de los cuales, 10 (6-13) fueron maduros y 6 (4-8) fertilizaron. La tasa de fertilización fue de 0.65 (0.5-0.8), la tasa de blastocistos fue de 0.28 (0.2-0.4) y la tasa de basculación fue de 0.5 (0.33-0.67). Se obtuvo una mediana de 3 (2-4) blastocistos, de estos 1 (0-2) fueron euploides posterior a la revisión genética de la biopsia, 1 (1-2) fue aneuploide y en 0 (0-1) no se identificó ADN. El total del embriones vitrificados fue de 2 (2-4).

De esta forma cuando se realizó la evaluación de euploidia, se obtuvieron las medianas de porcentaje de euploides con respecto al total de óvulos y óvulos maduros, que fueron de 7.1% (0%-13.3%) y 8.7% (0%-18.3%), respectivamente. La tasa de embriones euploides fue de 33 % (0-0.61), es decir, 0.33 embriones euploides por cada blastocisto, o 3.3 embriones euploides por cada 10 blastocistos.

Como objetivo secundario además se evaluó la mediana de porcentaje de embriones con respecto al total de óvulos maduros resultando en un de 28.5% (20%-40%). De esta forma se determinó que se requirieron 3.5 (2.5-5) óvulos maduros para generar un blastocisto y 7 (4.6-11) óvulos maduros para obtener un embrión euploide. Lo anterior sin considerar la edad de la paciente.

Tabla 1. Descripción general variables demográficas y características del proceso de fertilización.

<b>Variable</b>	<b>Global</b>
Edad (años)	36 (31-39)
Edad >35 años	63 (45.7%)
Donación	
Sí	16 (11.6%)
No	122 (88.4%)
Número de óvulos	12 (9-16)
Número de óvulos maduros	10 (6-13)
Número de óvulos fertilizados	6 (4-8)
Día 5	1 (0-3)
Día 6	1 (0-2)
Total de embriones previo a biopsia	3 (2-4)
Número de embriones euploides	1 (0-2)
Número de embriones aneuploides	1 (1-2)
ADN no detectado	0 (0-1)
Total de embriones vitrificados	2 (2-4)
Hormona antimülleriana	2.67 (1.24-4.64)
TSH	1.7 (1.01-2.4)
Prolactina	13.8 (8-18)
% embriones euploides del total de óvulos	7.1 (0-13.3)
% embriones euploides del total de óvulos maduros	8.7 (0-18.3)
Tasa de embriones euploides	0.33 (0-0.61)
% embriones del total de óvulos maduros	28.5 (20-40)
Óvulos maduros por embrión	3.5 (2.5-5)
Óvulos maduros por embrión euploide	7 (4.6-11)
Tasa de fertilización	0.65 (0.5-0.8)
Tasa de blastocistos	0.28 (0.2-0.4)
Tasa de blastulación	0.5 (0.33-0.67)

Se observó que en 90 (65.2%) de las pacientes se logró obtener al menos un embrión euploide. Al realizar una asociación entre tener o no un embrión euploide, se observó que existe asociación con una menor edad de la paciente (34 vs. 38.5,  $p=0.001$ ), mayor producción de óvulos (14 vs. 11,  $p=0.006$ ), de óvulos maduros (10 vs. 8.5,  $p=0.018$ ) y óvulos fertilizados (7 vs. 5,  $p=0.006$ ).

Además, también se asoció a mayor cantidad de blastocistos obtenidos (3 vs. 2,  $P < 0.001$ ). No se encontró relación con los niveles de AMH, TSH o PRL ( $p > 0.05$ ) (tabla 2).

Tabla 2. Comparación de características del proceso de fertilización entre pacientes que produjeron al menos un embrión euploide contra las que no.

<b>Variable</b>	<b>Al menos un embrión euploide</b>	<b>Sin embriones euploides</b>	<b>P</b>
Edad (años)	34 (30-38)	38.5 (33-41)	0.001
Número de óvulos	14 (10-18)	11 (6.2-15)	0.006
Número de óvulos maduros	10 (7.7-13.2)	8.5 (5.2-12)	0.018
Número de óvulos fertilizados	7 (4-9)	5 (3-7)	0.006
Día 5	2 (0-3)	1 (0-2)	0.019
Día 6	1 (0-2)	1 (0-1.7)	0.033
Total de embriones previo a biopsia	3 (2-4)	2 (1-2)	<0.001
Número de embriones euploides	1 (1-2)	-	-
Número de embriones aneuploides	1 (0-2)	1 (1-2)	0.007
ADN no detectado	0 (0-1)	0 (0-1)	0.534
Total de embriones vitrificados	3 (2-4)	2 (1-2)	<0.001
Hormona antimülleriana	2 (1.23-4.6)	3.4 (1.5-4.74)	0.527
TSH	1.7 (0.86-2.35)	1.73 (1.28-2.52)	0.479
Prolactina	13.1 (8.16-20.6)	15 (7-17.17)	0.827

Tras comparar las características del proceso entre pacientes con menos de 35 años y 35 años o más, podemos observar en la tabla 3, que las pacientes menores de 35 años tuvieron una mayor producción de óvulos maduros (10 vs. 8,  $p = 0.035$ ), sin embargo, esto no se asoció con la cantidad de óvulos que fueron fertilizados ( $p = 0.204$ ). El total de blastocistos alcanzados fue mayor en pacientes con menos de 35 años (3 vs. 2,  $p = 0.009$ ), y hubo una mayor producción de embriones euploides en pacientes menores de 35 años ( $p = 0.009$ ). La edad no se asoció al nivel de AMH, TSH o PRL ( $p > 0.05$ ). Las pacientes menores de 35 años tuvieron un mayor porcentaje de embriones euploides del total de óvulos (9 vs. 6.2,  $p = 0.028$ ), y aunque no fue significativo, también tuvieron una tendencia de tener un mayor porcentaje de embriones euploides del total de óvulos maduros (11.1 vs. 7.6,  $p = 0.053$ ). La edad menor de 35 años se asoció con una mayor tasa de embriones euploides (0.5 vs. 0.25,  $p = 0.026$ ). No hubo diferencias en las tasas de fertilización, blastocistos o blastulación ( $p > 0.05$ ).

Tabla 3. Comparación de características del proceso de fertilización de acuerdo con la edad (<35 años vs. ≥35 años).

<b>Variable</b>	<b>&lt;35 años</b>	<b>≥35 años</b>	<b>P</b>
Edad (años)	31 (23-33)	39 (37-41)	-
Número de óvulos	13 (10-16)	12 (8-16)	0.165
Número de óvulos maduros	10 (9-13)	8 (6-13)	<b>0.035</b>
Número de óvulos fertilizados	6 (4-9)	6 (4-8)	0.204
Día 5	2 (1-3)	1 (0-2)	<b>0.001</b>
Día 6	1 (0-2)	1 (0-2)	0.072
Total de embriones previo a biopsia	3 (2-4)	2 (2-3)	<b>0.009</b>
Número de embriones euploides	1 (0-2)	1 (0-1)	<b>0.009</b>
Número de embriones aneuploides	1 (1-1)	1 (1-2)	0.066
ADN no detectado	0 (0-1)	0 (0-1)	0.463
Total de embriones vitrificados	3 (2-4)	2 (1-3)	<b>0.01</b>
Hormona antimulleriana	2.45 (1.24-4.47)	3.2 (1.24-4.74)	0.433
TSH	1.8 (1.28-2.79)	1.6 (0.93-2.35)	0.376
Prolactina	13.4 (7.9-18.8)	15 (11.55-18.9)	0.584
% embriones euploides del total de óvulos	9 (0-16.7)	6.2 (0-11.1)	<b>0.028</b>
% embriones euploides del total de óvulos maduros	11.1 (0-20)	7.6 (0-15.7)	0.053
Tasa de embriones euploides	0.5 (0-0.67)	.25 (0-0.5)	<b>0.026</b>
% embriones del total de óvulos maduros	28.5 (20-40)	28.5 (16.6-42.1)	0.997
Óvulos maduros por embrión	3.5 (2.5-5)	3.5 (2.3-6)	0.997
Óvulos maduros por embrión euploide	6.2 (4-11)	7 (5-11.7)	0.4
Tasa de fertilización	0.61 (0.5-0.8)	0.67 (0.5-0.83)	0.491
Tasa de blastocistos	0.28 (0.2-0.4)	0.28 (0.17-0.42)	0.997
Tasa de blastulación	0.5 (0.36-0.67)	0.5 (0.33-0.67)	0.777

Para profundizar en la revisión de los resultados, se decidió realizar un análisis similar por grupos de edad ( $\leq 32$  años, 33 a 36 años, 37 a 41 años y  $\geq 42$  años), y podemos observar en la tabla 4, que se encontró una disminución en la cantidad de óvulos maduros y fertilizados respecto a la edad ( $p=0.006$  y  $p=0.022$ , respectivamente). Lo mismo se observó con el total de blastocitos y embriones euploides ( $p=0.027$  y  $p=0.002$ ). Al igual que en el corte realizado a los 35 años, presentado en la tabla 3, no hubo diferencias en las tasas de fertilización, blastocistos o blastulación ( $p>0.05$ ). En las figuras 1 a 4 se esquematizan los datos anteriores en gráficas de cajas y bigote que representan la cantidad de óvulos maduros, fertilizados, blastocistos y embriones euploides obtenidos por grupo de edad.

Tabla 4. Comparación de características del proceso de fertilización de acuerdo con el grupo de edad ( $\leq 32$  años, 33 a 36 años, 37 a 41 años y  $\geq 42$  años).

Variable	$\leq 32$ años	33-36 años	37-41 años	$\geq 42$ años	P
Número de óvulos	14 (11-16.2)	13 (8-18)	11 (7.5-14.5)	11 (4.2-17.5)	0.12
Número de óvulos maduros	12 (9-14)	10 (6-14)	8 (6-12)	6.5 (4-12)	0.01
Número de óvulos fertilizados	6.5 (5-8.2)	8 (4-10)	5 (4-8)	5 (1.2-6)	0.02
Día 5	2 (1-3)	2 (0-3)	1 (0-2)	1 (0-2)	0.01
Día 6	1 (0-2)	1 (0-2)	1 (0-2)	0.5 (0-2)	0.35
Total de embriones previo a biopsia	3 (2-4)	3 (2-4)	2 (1-4)	2 (2-2)	0.03
Número de embriones euploides	1 (1-2)	1 (0-2)	1 (0-1)	0 (0-1)	0
Número de embriones aneuploides	1 (0.7-1.2)	1 (0-2)	1 (1-2)	2 (1-2)	0.16
ADN no detectado	0 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-1)	0 (0-0)	0.08
Total de embriones vitrificados	3 (2-4)	3 (2-4)	2 (1-3)	2 (2-2)	0.03
% embriones euploides del total de óvulos	9 (4.4-16.2)	7.6 (0-16.6)	6.2 (0-10)	0 (0-8.5)	0.04
% embriones euploides del total de óvulos maduros	10.5 (6.1-20.3)	11.1 (0-20)	8.3 (0-14.2)	0 (0-12)	0.07
Tasa de embriones euploides	0.5 (0.25-0.67)	0.33 (0-0.5)	0.25 (0-0.5)	0 (0-0.3)	0.01
% embriones del total de óvulos maduros	25 (20-34.3)	30 (21.4-42.1)	29.4 (16.6-46.4)	29.8 (18-48.2)	0.46
Óvulos maduros por embrión	4 (2.9-5)	3.3 (2.3-4.6)	3.4 (2.1-6)	3.4 (2-5.6)	0.46
Óvulos maduros por embrión euploide	7.8 (4.1-11.7)	5.5 (4.3-9)	7.3 (5.5-11.5)	5.5 (3.2-16)	0.44

Tasa de fertilización	0.6 (0.49-0.76)	0.71 (0.57-0.92)	0.67 (0.54-0.83)	0.56 (0.34-0.81)	0.11
Tasa de blastocistos	0.25 (0.2-0.34)	0.3 (0.21-0.42)	0.29 (0.17-0.46)	0.29 (0.18-0.48)	0.46
Tasa de blastulación	0.43 (0.33-0.75)	0.5 (0.33-0.67)	0.44 (0.33-0.67)	0.58 (0.4-1.00)	0.59

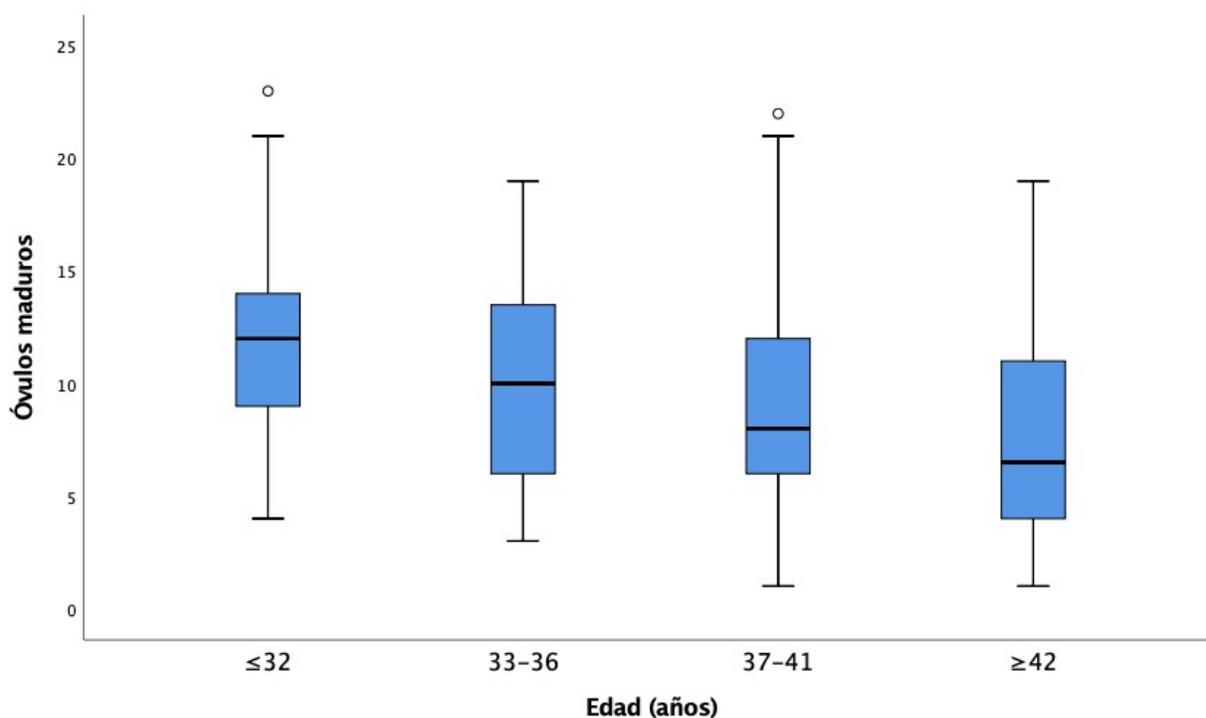


Figura 1. Número de óvulos maduros por grupo de edad.

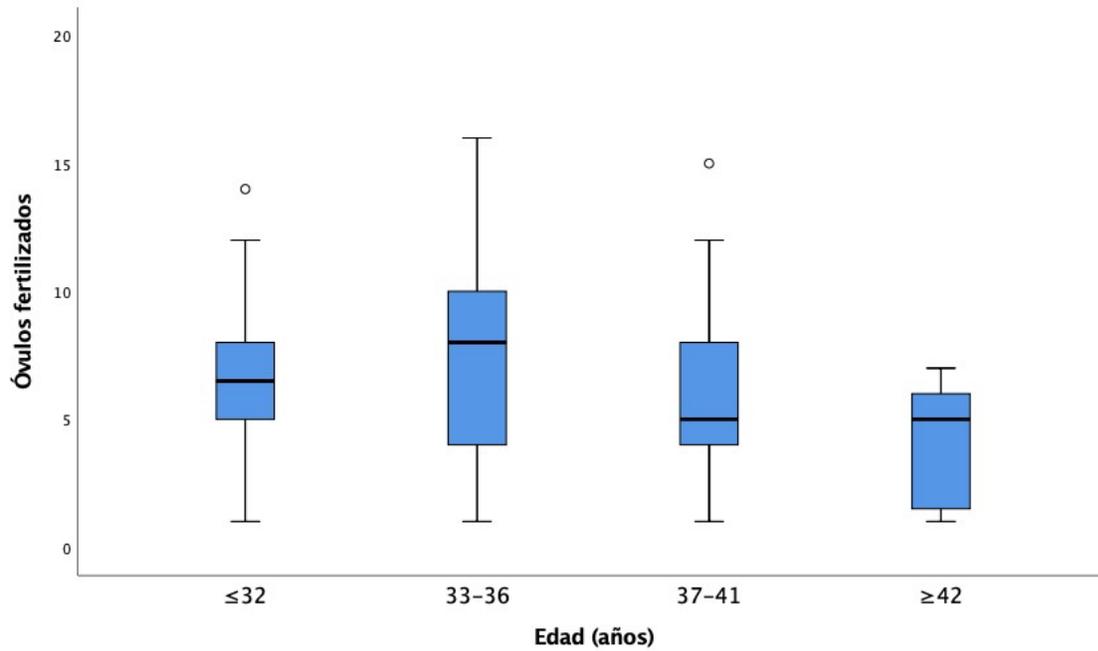


Figura 2. Número de óvulos fertilizados por grupo de edad.

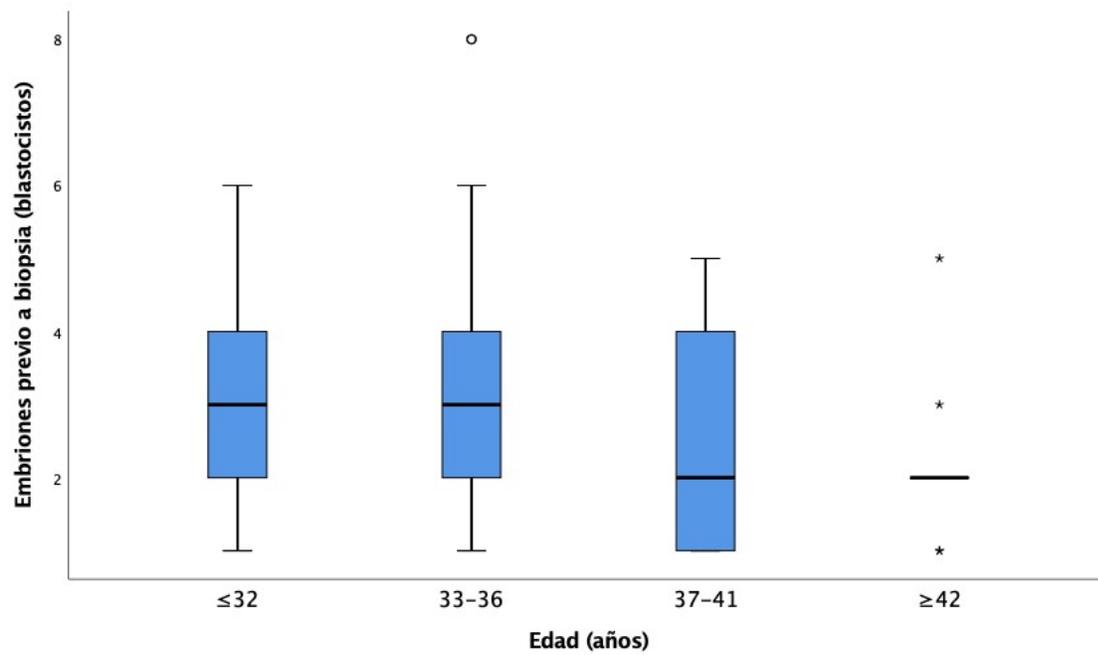


Figura 3. Número de blastocistos por grupo de edad.

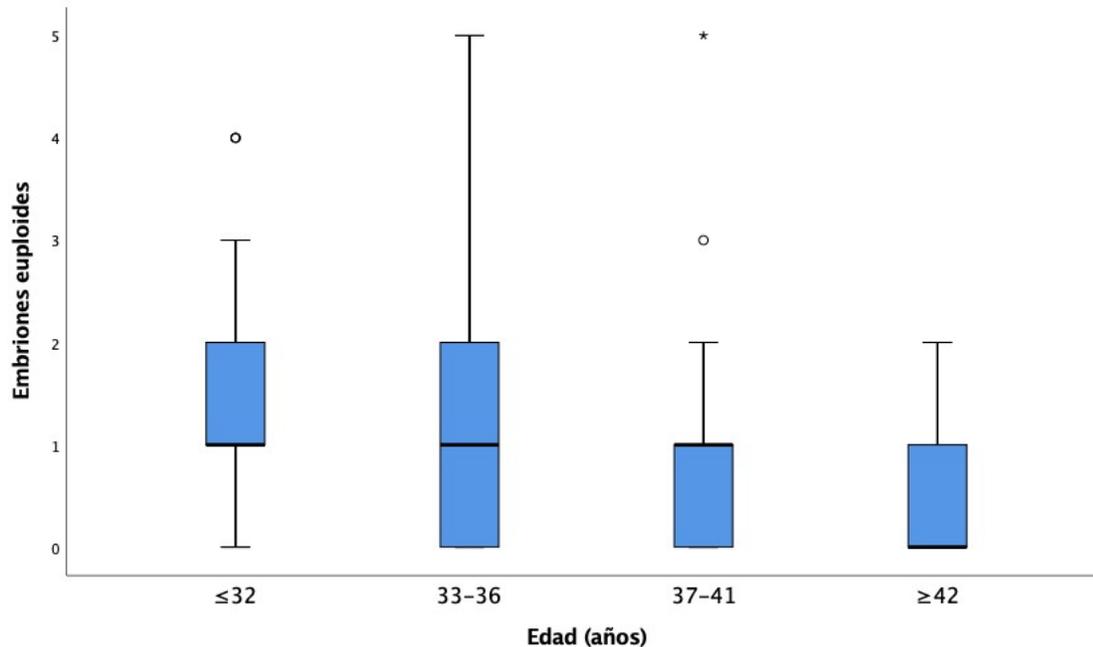


Figura 4. Número de embriones euploides por grupo de edad.

Cabe destacar que se analizó si existía variación en el porcentaje de embriones euploides tomando en cuenta si estos provenían o no de una donación de óvulos, y se encontró como hallazgo que un mayor porcentaje de embriones euploides fueron donados (87.5% vs. 62.3%,  $p=0.047$ ).

En la tabla 5 se reportan los números de blastocistos y el porcentaje de embriones euploides de acuerdo con grupo etario (incluyendo pacientes de donación de óvulos) tomando como base, la cantidad de óvulos maduros producidos inicialmente.

Tabla 5. Números de blastocistos y el porcentaje de embriones euploides de acuerdo con el grupo etario según la cantidad de óvulos maduros.

Óvulos maduros	Blastocistos	<32 años	33-36 años	37-41 años	>42 años
<b>1 a 5</b>	2 (1-2)	50%	25%	50%	0%
<b>6 a 10</b>	2 (2-4)	50%	40%	25%	0%
<b>11 a 15</b>	3 (2-4)	50.00%	33.30%	25%	0%
<b>16 a 20</b>	5 (4-5)	66.70%	37.50%	22.50%	20%

Además, como se muestra en la tabla 6, al evaluarse la calidad morfológica individualmente por embrión, debemos recalcar que también se asoció significativamente con una mayor cantidad de embriones euploides.

Tabla 6. Asociación de la calidad morfológica con el tipo de embrión.

Calidad	La mejor	Media	Mala
ADN no detectado	3 (33.3%)	10 (9.7%)	25 (14.3%)
Aneuploide	0 (0%)	46 (44.7%)	90 (51.4%)
Euploide	4 (66.7%)	47 (45.6%)	60 (34.3%)

P = 0.043

El objetivo principal de este estudio fue analizar la cantidad de óvulos maduros que fueron necesarios para obtener al menos un embrión euploide, por lo que se encontró que en general, una producción de al menos 7 óvulos maduros tiene una sensibilidad del 81.1% y especificidad del 37.5% para la producción de al menos 1 embrión euploide (figura 5 – curva azul, tabla 7), mientras que al menos 3 blastocistos tienen una sensibilidad del 71.1% y especificidad del 83.3% para la producción de al menos 1 embrión euploide (figura 5 – curva roja, tabla 8). Además, se encontró que al menos 10 óvulos maduros son requeridos para alcanzar al menos 3 blastocistos, con una sensibilidad del 73.6% y especificidad del 65.2% (figura 6, tabla 9).

Figura 5. Curva ROC del rendimiento de óvulos maduros para la producción de al menos un embrión euploide. Óvulos maduros: AUC: 0.622 (IC 95% 0.52-0.72). Blastocistos: AUC: 0.78 (IC 95% 0.70-0.86).

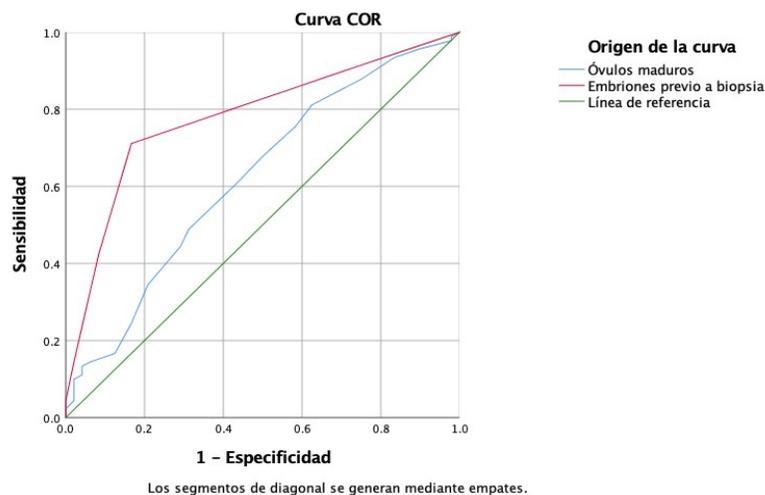


Tabla 7. Rendimiento de óvulos maduros para la producción de al menos un embrión euploide.

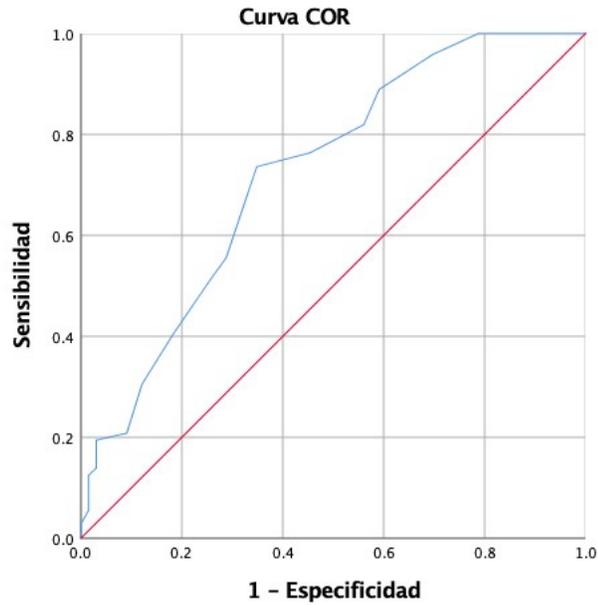
Número de óvulos maduros	Sensibilidad	Especificidad	Índice de Youden
0	100.0%	0.0%	0

2	98.9%	2.1%	0.01
3	97.8%	2.1%	-0.001
4	95.6%	10.4%	0.06
5	93.3%	16.7%	0.1
6	87.8%	25.0%	0.128
7	81.1%	37.5%	0.186
8	75.6%	41.7%	0.173
9	67.8%	50.0%	0.178
10	61.1%	56.2%	0.173
11	48.9%	68.7%	0.176
12	44.4%	70.8%	0.152
13	34.4%	79.2%	0.136
14	24.4%	83.3%	0.077
15	16.7%	87.5%	0.042
16	14.4%	93.7%	0.081
17	13.3%	95.8%	0.091
18	11.1%	95.8%	0.069
19	10.0%	97.9%	0.079
20	6.7%	97.9%	0.046
21	4.4%	97.9%	0.023
22	2.2%	100.0%	0.022
23	1.1%	100.0%	0.011
24	0.0%	100.0%	0

Tabla 8. Rendimiento de blastocistos para la producción de al menos un embrión euploide.

Número de embriones	Sensibilidad	Especificidad	Índice de Youden
0	100.0%	0.0%	0
2	90.0%	29.2%	0.192
3	71.1%	83.3%	0.544
4	42.2%	91.7%	0.339
5	14.4%	97.9%	0.123
6	4.4%	100.0%	0.044
7	2.2%	100.0%	0.022
9	0.0%	100.0%	0

Figura 6. Curva ROC del rendimiento de óvulos maduros para la producción de al menos 3 blastocistos. AUC: 0.723 (IC 95% 0.638-0.807).



Los segmentos de diagonal se generan mediante empates.

Tabla 9. Rendimiento de óvulos maduros para la producción de al menos 3 blastocistos.

Número de óvulos maduros	Sensibilidad	Especificidad	Índice de Youden
0	100.0%	0.0%	0
2	100.0%	3.0%	0.03
3	100.0%	4.5%	0.045
4	100.0%	13.6%	0.136
5	100.0%	21.2%	0.212
6	95.8%	30.3%	0.261
7	88.9%	40.9%	0.298
8	81.9%	43.9%	0.258
9	76.4%	54.5%	0.309
10	73.6%	65.2%	0.388
11	55.6%	71.2%	0.268
12	51.4%	74.2%	0.256

13	40.3%	81.8%	0.221
14	30.6%	87.9%	0.185
15	20.8%	90.9%	0.117
16	19.4%	97.0%	0.164
17	16.7%	97.0%	0.137
18	13.9%	97.0%	0.109
19	12.5%	98.5%	0.11
20	8.3%	98.5%	0.068
21	5.6%	98.5%	0.041
22	2.8%	100.0%	0.028
23	1.4%	100.0%	0.014
24	0.0%	100.0%	0

En las figuras 7 y 8 se presentan las curvas ROC para el rendimiento de óvulos maduros y blastocistos para la producción de al menos un embrión euploide en menores de 35 años (figura 7) y mayores o iguales de 35 años (figura 8).

En menores de 35 años, se requirieron al menos 13 óvulos maduros (sensibilidad = 37%, especificidad = 76.5%, tabla 10) y 3 blastocistos (sensibilidad = 76.1%, especificidad = 70.6%, tabla 11), para alcanzar al menos un embrión euploide.

En mayores de 35 años, se requirieron al menos 7 óvulos maduros (sensibilidad = 75%, especificidad = 48.4%, tabla 12) y 3 blastocistos (sensibilidad = 65.9%, especificidad = 90.3%, tabla 13), para alcanzar al menos un embrión euploide.

Figura 7. Curva ROC del rendimiento de óvulos maduros para la producción de al menos un embrión euploide en menores de 35 años. Óvulos maduros: AUC: 0.567 (IC 95% 0.405-729). Blastocistos: AUC: 0.703 (IC 95% 0.55-0.856).

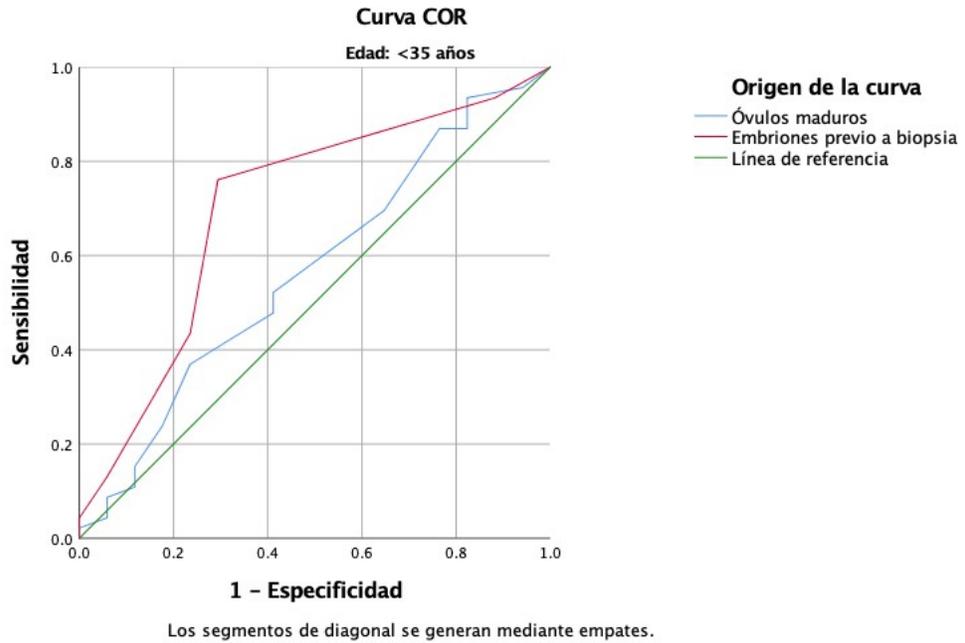


Figura 8. Curva ROC del rendimiento de óvulos maduros para la producción de al menos un embrión euploide en mayores de 35 años. Óvulos maduros: AUC: 0.639 (IC 95% 0.511-0.766). Blastocistos: AUC: 0.805 (IC 95% 0.707-903).

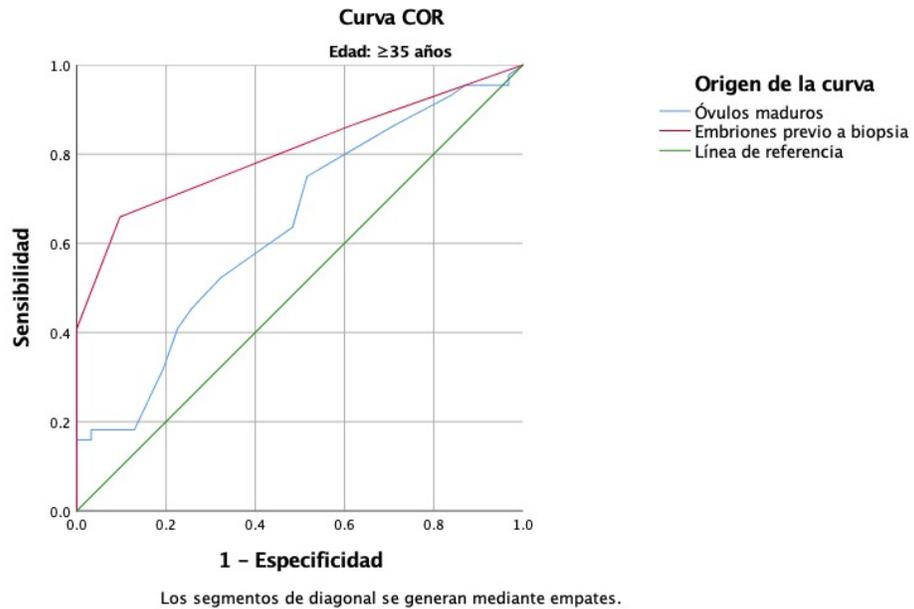


Tabla 10. Rendimiento de óvulos maduros para la producción de al menos un embrión euploide en menores de 35 años.

<b>Número de óvulos maduros</b>	<b>Sensibilidad</b>	<b>Especificidad</b>	<b>Índice de Youden</b>
2	100.0%	0.0%	0
4	95.7%	5.9%	0.016
5	93.5%	17.6%	0.111
6	89.1%	17.6%	0.067
7	87.0%	17.6%	0.046
8	87.0%	23.5%	0.105
9	78.3%	29.4%	0.077
10	69.6%	35.3%	0.049
11	52.2%	58.8%	0.11
12	47.8%	58.8%	0.066
13	37.0%	76.5%	0.135
14	23.9%	82.4%	0.063
15	15.2%	88.2%	0.034
16	10.9%	88.2%	-0.009
17	8.7%	94.1%	0.028
18	6.5%	94.1%	0.006
20	4.3%	94.1%	-0.016
22	2.2%	100.0%	0.022
24	0.0%	100.0%	0

Tabla 11. Rendimiento de blastocistos para la producción de al menos un embrión euploide en menores de 35 años.

<b>Número de embriones</b>	<b>Sensibilidad</b>	<b>Especificidad</b>	<b>Índice de Youden</b>
0	100.0%	0.0%	0
2	93.5%	11.8%	0.053
3	76.1%	70.6%	0.467
4	43.5%	76.5%	0.2
5	13.0%	94.1%	0.071
6	4.3%	100.0%	0.043
7	0.0%	100.0%	0

Tabla 12. Rendimiento de óvulos maduros para la producción de al menos un embrión euploide en mayores de 35 años.

<b>Número de óvulos maduros</b>	<b>Sensibilidad</b>	<b>Especificidad</b>	<b>Índice de Youden</b>
0	100.0%	0.0%	0
2	97.7%	3.2%	0.009
3	95.5%	3.2%	-0.013
4	95.5%	12.9%	0.084
5	93.2%	16.1%	0.093
6	86.4%	29.0%	0.154
7	75.0%	48.4%	0.234
8	63.6%	51.6%	0.152
9	56.8%	61.3%	0.181
10	52.3%	67.7%	0.2
11	45.5%	74.2%	0.197
12	40.9%	77.4%	0.183
13	31.8%	80.6%	0.124
14	25.0%	83.9%	0.089
15	18.2%	87.1%	0.053
16	18.2%	96.8%	0.15
18	15.9%	96.8%	0.127
19	15.9%	100.0%	0.159
20	9.1%	100.0%	0.091
21	4.5%	100.0%	0.045
22	2.3%	100.0%	0.023
23	0.0%	100.0%	0

Tabla 13. Rendimiento de blastocistos para la producción de al menos un embrión euploide en mayores de 35 años.

<b>Número de embriones</b>	<b>Sensibilidad</b>	<b>Especificidad</b>	<b>Índice de Youden</b>
0	100.0%	0.0%	0
2	86.4%	38.7%	0.251
3	65.9%	90.3%	0.562
4	40.9%	100.0%	0.409
5	15.9%	100.0%	0.159
7	4.5%	100.0%	0.045
9	0.0%	100.0%	0

## DISCUSIÓN

En la búsqueda de un embarazo, la edad de la mujer es uno de los factores más determinantes para la generación de óvulos y de embriones de buena calidad. Tanto la edad, como el número de ovocitos, y por ende el desarrollo embrionario, son parte de los factores más relevantes que pueden afectar la euploidia embrionaria. Es por esta razón que se decidió estudiar estas asociaciones ya que partiendo del conocimiento que un embrión euploide tiene entre un 50 y 60 % de probabilidades de implantación, se convierte en la meta de cualquier tratamiento de fertilidad. Nuestro análisis se basó en 138 pacientes sometidas a técnicas de reproducción asistida y diagnóstico genético preimplantacional de los 376 blastocistos obtenidos (en condiciones de ser biopsiados)

Los resultados de esta investigación, nos permitió determinar que en nuestras pacientes, la edad de los 35 años es el corte que nos determina la necesidad de una mayor cantidad de ovocitos para lograr embriones euploides. De esta forma, es aun más notorio que cuando se toma en cuenta los valores de la hormona antimülleriana, no se encontró una relación edad-valor de antimülleriana que corresponda a lo descrito en la literatura. Sin embargo esta variación puede estar relacionada a la estandarización de las muestras ya que no todas las pacientes fueron evaluadas por el mismo laboratorio. Por el contrario, el estudio realizado por La Marca y colaboradores encontraron una asociación independiente entre la edad, la hormona antimülleriana y la euploidia embrionaria.

Al evaluar la cantidad de óvulos maduros necesarios para obtener al menos un embrión euploide, se encontró que en el total de pacientes, sin importar la edad se requieren por lo menos 7 óvulos maduros, y al menos 3 blastocistos para obtener un embrión euploide. No se encontró relación con los niveles de AMH, TSH o PRL. Autores como Obradors et, al.<sup>14</sup> y Esteves et, al.<sup>23</sup>, también determinaron que este punto de corte de 35 años establece la referencia entre la asociación edad y euploidia embrionaria. Incluso, Esteves y colaboradores, determinaron que son necesarios de 9 a 13 óvulos para obtener al menos 1 embrión euploide en mujeres mayores de 35 años. Es importante recalcar que el número sugerido de óvulos por estos autores está basado en una calculadora de riesgo que toma como factor principal la edad. A su vez, este modelo está basado en predicciones realizadas por la misma calculadora. En nuestro estudio se encontró que se requieren 7 óvulos maduros para pacientes mayores de 35 años para generar un embrión euploide.

No obstante, en la presente investigación, no se buscó predecir la posibilidad de embriones euploides de acuerdo con el número de óvulos maduros, pero si describir como fue el comportamiento de la población en el grupo de pacientes de nuestra clínica de fertilidad.

En nuestro análisis además describimos el número de óvulos y su evolución en 4 grupos de edad, menores de 32 años (en el que se incluyen pacientes del donación de óvulos), de 33 a 36

años, 37 a 41, y mayores de 42 años. Se analizó como fue el comportamiento de estos grupos, de acuerdo a número de óvulos y, blastocistos y euploidia embrionaria.

En el estudio de Esteves y colaboradores, se realizó un cálculo sobre el número de óvulos maduros que requiere una paciente de 35 años para obtener un embrión euploide, resultando en un total de cinco (IC 95 %: 5–6), siete (IC 95 %: 6–9) y diez (IC 95 %: 9–13) para 70, 80 , y 90% de probabilidades de euploidia respectivamente. De acuerdo a nuestra población estudiada en este grupo de edad, las pacientes de las que se obtuvieron de 1- 5 óvulos, solo el 25 % de estos llegará a la euploidia, y en 6 a 10 óvulos maduros será del 40%. Sin embargo, es importante recalcar que, en ambos estudios no se tomaron en cuenta casos con otros problemas de infertilidad como por ejemplo el factor masculino moderado a severo.

En el estudio llevado a cabo por Qiuwen Shi et. al publicado en el 2020 se determinó la tasa de aneuploidía en pacientes con infertilidad que decidieron donar sus embriones para el estudio (posterior al nacimiento de un producto vivo), evaluándose cuerpos polares y/o ovocitos. Estos autores encontraron que las tasas de aneuploidía oscilan de 3 a 20 % en mujeres jóvenes (entre 26 y 35 años).<sup>7</sup> En contraste en nuestro estudio, las pacientes en este rango de edad la tasa de aneuploidía fue del 50 %. Cabe recalcar, que se incluyeron pacientes de 22 a 26 años que pertenecían al grupo de donación de óvulos.

Quiwen y colaboradores, realizaron la evaluación de los 24 cromosomas de blastómeros completos de 21 embriones donados de buena calidad, y obtuvieron resultados concluyentes del 95.3 % de todos los blastómeros estudiados. Los resultados indicaron que solo el 14.3% (3/21) de los embriones eran euploides y el 85.7% (18/21) de los embriones tenían aneuploidias.<sup>7</sup> En nuestro estudio, analizamos la tasa de euploidia embrionaria de manera global, la cual se encuentra en 33%. Esta tasa es mayor que en la bibliografía antes mencionada, probablemente por el tipo de evaluación que se llevo a cabo , ya que en ese estudio se evaluó al embrión en su totalidad ,y no solo algunas células de este como en nuestro caso. Por lo que, como lo marca la evidencia, al realizar una biopsia embrionaria no se logra evaluar al embrión en su totalidad, si no un porcentaje menor de células del mismo.

En un estudio más amplio, en el que se evaluaron mas de 15,000 embriones, realizado por Zachary P. y colaboradores, en el que se incluyeron mujeres de 27 a 35 años, la mediana de la proporción de embriones euploides en cada ciclo se mantuvo constante en 55 % en las biopsias del día 5, pero disminuyó rápidamente después de los 35 años. Las mujeres que se encontraban en el rango de edad de menos de 30 años tuvieron cuatro embriones euploides (día 3 o día 5) por ciclo, pero este número disminuyó linealmente después de los 35 años de edad.

Al comparar sus resultados con los nuestros, podemos destacar que la tasa de euploidia, en el grupo de menores de 35 años se encontró en 50 %, y que disminuyó a la mitad en pacientes mayores de 35 años (25%). En nuestras pacientes al tener al menos 3 blastocistos en ambos grupos de edad se tiene la probabilidad más alta de alcanzar al menos 1 embrión euploide.

De acuerdo con Quiwen Shi y colaboradores, en los embriones de buena calidad, hubo una tasa alta y una variedad diversa de anomalías cromosómicas. Por lo que para ellos, la evaluación morfológica no parece ayudar en la eliminación de embriones a biopsiar.<sup>7</sup> Sin embargo, en nuestro

estudio se encontró que, si existe una asociación entre la mala calidad morfológica embrionaria y el resultado de aneuploidía, siendo que a mayor calidad morfológica de blastocisto mayor porcentaje de euploidia. A pesar de esto no se puede utilizar la morfología embrionaria para evaluar la aneuploidía ya que su evaluación es meramente subjetiva.

Debido a la naturaleza retrospectiva de nuestro estudio, nuestros resultados pueden haber estado limitados por sesgos de selección o de información. Sin embargo, por el tamaño de nuestra muestra, es probable que el sesgo de selección de pacientes sea representativo de la población.

La probabilidad de que un ovocito maduro llegue a la etapa de blastocisto es constante en todas las mujeres, y depende únicamente de las variables explicativas (predictores) que pueden afectar la respuesta, de acuerdo con los datos obtenidos pudimos analizar cual fue el número de óvulos maduros ajustado por edad para obtener al menos un blastocisto euploide.

## **CONCLUSIÓN**

Nuestros resultados demuestran que el número de ovocitos maduros necesarios para obtener un embrión cromosómicamente euploide es muy variable entre los grupos de edad. Además observamos que las pacientes de más de 42 años tienen muy pocas probabilidades de generar un embrión euploide. Es muy importante evaluar estos aspectos para poder generar una adecuada consejería a las pacientes.

La realización de este estudio nos permite delimitar las pautas para en un futuro desarrollo estudios controlados bien diseñados para determinar la cantidad y calidad de exacta de óvulos y blastocistos necesarios para generar un embarazo. El objetivo secundario sería lograr generar una calculadora predictiva que nos permita orientar a nuestras pacientes sobre un pronóstico real de riesgo para su caso.

En este ámbito, será importante incluir otras variables y diagnósticos que puedan influir en el resultado como la presencia de factor masculino. Asimismo, poder aplicar esta información a casos especiales como son el banqueo (acumulación) de óvulos en pacientes con baja respuesta. Finalmente, no perder de vista que el objetivo real de nuestro tratamiento es el nacido vivo.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Horcajadas J. *The -Omics Revolution and Its Impact on Human Reproductive Medicine*. Vol 1. 1st ed.; 2018.
2. Briggs R, Kovacs G, MacLachlan V, Motteram C, Baker HWG. Can you ever collect too many oocytes? *Human Reproduction*. 2015;30(1):81-87. doi:10.1093/humrep/deu272
3. Thomas C, Cavazza T, Schuh M. Aneuploidy in human eggs: contributions of the meiotic spindle. *Biochemical Society Transactions*. 2021;49(1):107-118. doi:10.1042/BST20200043
4. Polyzos NP, Drakopoulos P, Parra J, et al. Cumulative live birth rates according to the number of oocytes retrieved after the first ovarian stimulation for in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection: a multicenter multinational analysis including ~15,000 women. *Fertility and Sterility*. 2018;110(4):661-670.e1. doi:10.1016/j.fertnstert.2018.04.039
5. McLernon DJ, Steyerberg EW, te Velde ER, Lee AJ, Bhattacharya S. Predicting the chances of a live birth after one or more complete cycles of in vitro fertilisation: population based study of linked cycle data from 113 873 women. *BMJ*. Published online November 16, 2016:i5735. doi:10.1136/bmj.i5735
6. Webster A, Schuh M. Mechanisms of Aneuploidy in Human Eggs. *Trends in Cell Biology*. 2017;27(1):55-68. doi:10.1016/j.tcb.2016.09.002
7. Shi Q, Qiu Y, Xu C, et al. Next-generation sequencing analysis of each blastomere in good-quality embryos: insights into the origins and mechanisms of embryonic aneuploidy in cleavage-stage embryos. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2020;37(7):1711-1718. doi:10.1007/s10815-020-01803-9
8. MacLennan M, Crichton JH, Playfoot CJ, Adams IR. Oocyte development, meiosis and aneuploidy. *Seminars in Cell & Developmental Biology*. 2015;45:68-76. doi:10.1016/j.semcdb.2015.10.005
9. Demko ZP, Simon AL, McCoy RC, Petrov DA, Rabinowitz M. Effects of maternal age on euploidy rates in a large cohort of embryos analyzed with 24-chromosome single-nucleotide polymorphism-based preimplantation genetic screening. *Fertility and Sterility*. 2016;105(5):1307-1313. doi:10.1016/j.fertnstert.2016.01.025
10. Hodes-Wertz B, Grifo J, Ghadir S, et al. Idiopathic recurrent miscarriage is caused mostly by aneuploid embryos. *Fertility and Sterility*. 2012;98(3):675-680. doi:10.1016/j.fertnstert.2012.05.025
11. Rodriguez-Purata J, Lee J, Whitehouse M, et al. Embryo selection versus natural selection: how do outcomes of comprehensive chromosome screening of blastocysts compare with the analysis of products of conception from early pregnancy loss (dilation and curettage) among an assisted reproductive technology population? *Fertility and Sterility*. 2015;104(6):1460-1466.e12. doi:10.1016/j.fertnstert.2015.08.007
12. Esteves SC, Alviggi C, Humaidan P, et al. The POSEIDON Criteria and Its Measure of Success Through the Eyes of Clinicians and Embryologists. *Frontiers in Endocrinology*. 2019;10. doi:10.3389/fendo.2019.00814
13. Sills ES, Li X, Frederick JL, Khoury CD, Potter DA. Determining parental origin of embryo aneuploidy: analysis of genetic error observed in 305 embryos derived from anonymous

- donor oocyte IVF cycles. *Molecular Cytogenetics*. 2014;7(1):68. doi:10.1186/s13039-0140068-5
14. Obradors A, Rius M, Cuzzi J, et al. Errors at mitotic segregation early in oogenesis and at first meiotic division in oocytes from donor females: Comparative genomic hybridization analyses in metaphase II oocytes and their first polar body. *Fertility and Sterility*. 2010;93(2):675-679. doi:10.1016/j.fertnstert.2009.08.050
  15. Franasiak JM, Forman EJ, Hong KH, et al. The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: a review of 15,169 consecutive trophoctoderm biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening. *Fertility and Sterility*. 2014;101(3):656-663.e1. doi:10.1016/j.fertnstert.2013.11.004
  16. van Montfrans JM. Basal FSH, estradiol and inhibin B concentrations in women with a previous Down's syndrome affected pregnancy. *Human Reproduction*. 2002;17(1):44-47. doi:10.1093/humrep/17.1.44
  17. la Marca A, Minasi MG, Sighinolfi G, et al. Female age, serum antimüllerian hormone level, and number of oocytes affect the rate and number of euploid blastocysts in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycles. *Fertility and Sterility*. 2017;108(5):777783.e2. doi:10.1016/j.fertnstert.2017.08.029
  18. Ata B, Kaplan B, Danzer H, et al. Array CGH analysis shows that aneuploidy is not related to the number of embryos generated. *Reproductive BioMedicine Online*. 2012;24(6):614-620. doi:10.1016/j.rbmo.2012.02.009
  19. Sunkara SK, Rittenberg V, Raine-Fenning N, Bhattacharya S, Zamora J, Coomarasamy A. Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment cycles. *Human Reproduction*. 2011;26(7):1768-1774. doi:10.1093/humrep/der106
  20. Ben-Nagi J, Jones B, Naja R, et al. Live birth rate is associated with oocyte yield and number of biopsied and suitable blastocysts to transfer in preimplantation genetic testing (PGT) cycles for monogenic disorders and chromosomal structural rearrangements. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology: X*. 2019;4:100055. doi:10.1016/j.eurox.2019.100055
  21. Cai Y, Ding M, Zhang Y, et al. A mathematical model for predicting the number of transferable blastocysts in next-generation sequencing-based preimplantation genetic testing. *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 2022;305(1):241-249. doi:10.1007/s00404021-06050-6
  22. Milachich T, Shterev A. Are there optimal numbers of oocytes, spermatozoa and embryos in assisted reproduction? *JBRA Assisted Reproduction*. 2016;20. doi:10.5935/15180557.20160032
  23. Esteves SC, Carvalho JF, Bento FC, Santos J. A Novel Predictive Model to Estimate the Number of Mature Oocytes Required for Obtaining at Least One Euploid Blastocyst for Transfer in Couples Undergoing in vitro Fertilization/Intracytoplasmic Sperm Injection: The ART Calculator. *Frontiers in Endocrinology*. 2019;10. doi:10.3389/fendo.2019.00099