

Resultados reproductivos posteriores a transferencia de embriones de quinto y sexto día en pacientes receptoras de ovocitos

Reproductive outcomes after fifth and sixth-day single fresh embryo transfer in donor egg recipients

Devenuto, Luciana María; Sdrigotti, Agostina.

Centro de Reproducción Asistida "Procrearte", Buenos Aires, Argentina.

RESUMEN

Pregunta de estudio: ¿Son comparables las tasas de embarazo entre receptoras de ovocitos que realizan transferencias en fresco con embriones de 120 horas con respecto a aquellas que lo hacen con embriones de 144 horas?

Respuesta resumida: Las transferencias de embriones de sexto día, se asociaron a mayores tasas de embarazo clínico y evolutivo con respecto a las de quinto día en receptoras de ovocitos.

Lo que ya se sabe: La calidad embrionaria y la receptividad endometrial son condiciones que influyen en la implantación. Las transferencias en estadio de blastocisto mostraron mejores tasas de embarazo, con resultados aún controvertidos entre transferencias de blastos en quinto versus sexto día evolutivo.

Diseño: Estudio de cohorte retrospectivo llevado a cabo desde enero 2018 a noviembre 2019. Se incluyeron 477 transferencias en fresco de embriones en 120 horas y 144 horas.

Materiales y métodos: Se analizaron 436 transferencias de blastos de día 5 (grupo

ABSTRACT

Study question: Are pregnancy rates comparable between oocyte recipients who perform fresh embryo transfers at 120 hours and those who perform them at 144 hours?

Summary answer: Sixth day embryo transfers were associated with higher clinical and ongoing pregnancy rates than fifth day embryo transfers in oocyte recipients.

What is known already: Embryo quality and endometrial receptivity are both conditions that play an important role in implantation. Blastocyst stage transfers have shown better pregnancy rates, with controversial findings between fifth and sixth day embryo transfers.

Study design: Retrospective cohort study conducted between January 2018 and November 2019 to analyze fresh embryo transfers performed in 120 and 144 hours.

Materials and methods: A total of 436 fifth-day embryo transfers (control group) and 41 sixth-day embryo transfers (study group) were analyzed. All cycles

control) y 41 transferencias de blastos de día 6 (grupo estudio). Los ciclos de preparación endometrial fueron artificiales.

Se compararon las diferencias en las variables cuantitativas entre los grupos con t-test, y las diferencias entre proporciones con test de Chi cuadrado. Se consideraron diferencias estadísticamente significativas a las probabilidades menores a 0.05. El análisis estadístico se realizó con el software STATA versión 13.0.

Resultados: La tasa de embarazo clínico fue mayor en el grupo de sexto día en comparación con el grupo de quinto día (43.9% vs 28.4%, $p=0.03$), con una tasa de embarazo evolutivo del 41.4% y 27.1% ($p=0.05$) y una tasa de aborto de 9.75% y 14.4% ($p=0.4$), respectivamente.

Limitaciones: Una de las limitaciones es la naturaleza retrospectiva del estudio, así como también la disparidad en el número de pacientes incluidas en cada rama.

Implicancias de los hallazgos: El cultivo extendido a 144 horas parecería ser una estrategia con buenos resultados reproductivos, que permite flexibilizar la programación de las transferencias y posibilita una mayor selección embrionaria.

Palabras clave: Blastocisto/embarazo/donación de ovocitos/desarrollo embrionario

were artificially prepared with estradiol and progesterone. The differences in the quantitative variables between the groups were compared with t-test, and the differences between the proportions with Chi-square test. Statistically significant differences were considered at probabilities less than 0.05. Statistical analysis was performed with STATA version 13.0 software.

Main results: *Clinical pregnancy rate was higher in the sixth-day group compared to the fifth-day group (43.9% vs 28.4%, $p=0.03$), with an ongoing pregnancy rate of 41.4% and 27.1% ($p=0.05$), and a miscarriage rate of 9.75% and 14.4% ($p=0.4$), respectively.*

Limitations: *One of the limitations is the retrospective nature of the study, as well as the disparity in the number of patients included in each arm.*

Wider implications of the findings: *Extended culture to 144 hours seems to be a strategy with good reproductive outcomes, which allows flexibility in the scheduling of transfers and allows greater embryo selection.*

Key words: *Blastocyst/pregnancy/oocyte donation/embryo development.*

Introducción

La calidad embrionaria óptima y la receptividad endometrial son dos condiciones necesarias para la implantación⁽¹⁾. Las transferencias en estadio de blastocisto, han demostrado mejores resultados en lo que respecta a tasa de embarazo. Un blastocisto en desarrollo óptimo es aquel que morfológicamente presenta una expansión completa o hatching, con un macizo celular interno prominente y un trofoectodermo cohesivo, y típicamente es seleccionado para transferir en día 5 o 6 de cultivo⁽²⁾.

Numerosos estudios han reportado mayores tasas de implantación transfiriendo embriones criopreservados en día 5 con respecto a día 6^(3, 4, 5, 6, 1), persistiendo dicha diferencia luego de transferir blastos únicamente de buena calidad^(3, 1). Sin embargo, existen también otros estudios que muestran resultados equivalentes en ambos grupos^(7, 8).

En lo que respecta a embriones transferidos en ciclos en fresco, la información es aún más limitada. Sin embargo, en un metaanálisis reciente⁽⁹⁾, los resultados obtenidos en este grupo, muestran ventajas significativas a favor de la transferencia de embriones de quinto día con respecto a los de sexto día, tanto en tasa de embarazo clínico^(10, 11, 12), tasa de recién nacidos vivos^(13, 14, 15) y tasa de abortos⁽¹¹⁾; así como también en tasas de implantación y de embarazo en curso^(11, 12).

Existen diversas hipótesis que podrían explicar los peores resultados luego de transferencias embrionarias en día 6; entre las que se mencionan: la ventana de implantación endometrial desplazada, la blastulación lenta y las aneuploidías⁽⁶⁾. Otros factores descriptos son diferencias metabólicas y epigenéticas entre ambos grupos⁽¹⁶⁾.

De acuerdo a lo postulado, permanece

aún poco claro determinar cuál resulta el momento más óptimo para la transferencia, ya que a pesar de que la mayoría de estudios muestran resultados a favor de embriones de quinto día, los mismos se basan en transferencias no electivas en día 6, por lo que probablemente los hallazgos se vean afectados por tratarse de embriones con desarrollo enlentecido.

Por este motivo, nos proponemos evaluar en forma retrospectiva, los resultados reproductivos obtenidos en transferencias embrionarias de blastocistos de 120 y 144 horas en receptoras de ovocitos.

El objetivo primario es comparar las tasas de embarazo en curso entre ambos grupos; y los objetivos secundarios, evaluar las tasas de implantación, de embarazo clínico y aborto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio de cohorte retrospectivo en el que se evaluaron pacientes que realizaron transferencia embrionaria del programa de ovodonación de blastocistos en día 5 (grupo control) y día 6 (grupo de estudio).

Se utilizó para el análisis, la base de datos electrónica de pacientes de nuestra institución (Centro de Medicina Reproductiva Procreate, Buenos Aires), incluyendo aquellas transferencias realizadas desde enero 2018 a noviembre 2019, inclusive.

Criterios de inclusión

- Pacientes que realizaron el tratamiento con ovocitos donados utilizados en fresco.
- Transferencias embrionarias realizadas en fresco.
- Primer o segunda transferencia embrionaria de ovodonación.
- Transferencias de un único embrión.
- Embriones considerados de buena calidad (Score de Gardner \geq 3BB).

- Endometrio de al menos 7 mm trilaminar en última ecografía de control.

Criterios de exclusión

- AbPacientes mayores de 50 años.
- Transferencias embrionarias en sexto día por desarrollo embrionario enlentecido en estadios previos.
- Pacientes que realizaron: biopsia endometrial o estudio de receptividad endometrial; estudio genético preimplantatorio de los embriones; embryoglué o assisted hatching zonal o total previo a la transferencia.
- Pacientes sin registro de Sub beta HCG en la historia clínica o ausencia de registro de datos ecográficos.

Procedimientos

Todos los ciclos de preparación endometrial fueron artificiales, se comenzó con estradiol desde el día 2 o 3 del ciclo, 6 mg diarios vía oral repartidos en 3 tomas, tras la determinación de ausencia de actividad folicular en la primera ecografía.

Luego de 10-12 días de estrógenos, se realizó el segundo control ecográfico para evaluar el crecimiento endometrial. Un endometrio de al menos 7 mm con patrón trilaminar, fue considerado apto para realizar la transferencia embrionaria. Las pacientes recibieron además progesterona vía intravaginal 600 mg/día repartidos en 3 dosis, comenzando la noche previa o la misma mañana del día de la punción de la donante, según criterio del médico de cabecera.

Se incluyeron en el estudio sólo las transferencias de embriones de sexto día en los casos en los que el quinto día fuese un domingo o feriado no laborable con lo cual, desconociéndose la calidad del embrión en quinto día.

La transferencia embrionaria se llevó a cabo en quirófano central bajo guía eco-

gráfica transabdominal siguiendo los protocolos habituales del procedimiento. La elección del catéter utilizado quedó bajo criterio del médico de cabecera. Los blastos fueron categorizados por los biólogos de nuestro centro de acuerdo a la clasificación de Gardner (Tabla 1).

El sostén de la fase lútea se realizó en todos los casos con progesterona micronizada vaginal (600 mg diarios) y valerato de estradiol vía oral (6 mg diarios), hasta obtener el resultado de la subunidad Beta HCG en sangre a los catorce días de realizada la transferencia embrionaria. En caso de resultado negativo, indicativo de ausencia de implantación embrionaria, el sostén lúteo se discontinuó de forma inmediata. En caso de resultado positivo, se realizó ecografía transvaginal entre la quinta y séptima semana posterior a la transferencia embrionaria. Constatada la presencia de saco/s gestacional/es con embrión/es con actividad cardíaca, la medicación de sostén lúteo se prescribió hasta las 12 semanas de embarazo. El seguimiento se realizó hasta la semana 20 de embarazo.

Definición de tasas

1. Tasa de embarazo: número de pacientes con subunidad beta mayor a 50 UI/ml/ número de transferencias realizadas x100.
2. Tasa de embarazo clínico: número de pacientes con ecografías transvaginales con evidencia de embrión/es con actividad cardíaca positiva/ número de transferencias realizadas x100.
3. Tasa de implantación: número total de sacos gestacionales/número total de embriones transferidos x100.
4. Tasa de aborto: número total de pérdidas intrauterinas < 10 semanas de gestación/número de transferencias realizadas x100.

5. Tasa de embarazo evolutivo: número total de embarazos ≥ 20 semanas de gestación/número de transferencias realizadas x100.

Estimación del tamaño muestra

La tasa de embarazo clínico reportada en un metaanálisis de 2019 entre pacientes sometidas a transferencia embrionaria en fresco en día 5 con respecto a día 6, fue de 45,50% vs. 26,58% (RR 2.38, IC 95% 1.74–3.24, P < 0.001) ⁽⁹⁾.

Utilizando estadísticas con test de Chi cuadrado (potencia 80%, error α 0.05), resulta necesario incluir 102 pacientes en cada grupo.

Análisis estadístico

Se describieron las variables cuantitativas mediante media y desvío estándar y las variables categóricas mediante porcentaje. Se compara-

ron las diferencias en las variables cuantitativas entre los grupos con t- test, y las diferencias entre proporciones con test de Chi cuadrado. Se consideraron diferencias estadísticamente significativas a las probabilidades menores a 0.05. El análisis estadístico se realizó con el software STATA versión 13.0.

RESULTADOS

Se incluyeron un total de 477 transferencias embrionarias en fresco de ciclos de ovodonación, el 91.4% de las mismas (436) correspondió a ET de blastos de día 5 (grupo control) y el 8.6% (41) a ET de blastos de día 6 (grupo estudio).

No se encontraron diferencias significativas en las características basales de ambos grupos, en cuanto a la edad de la paciente receptora, número de transferencia embrionaria de ovodonación, días de estradiol, ovocitos inseminados, tasa de fertilización y origen de espermatozoides utilizados (Tabla 2).

Tabla 1. Clasificación de Gardner

Grado de expansión	Estado del blastocisto
1	La cavidad blastocélica ocupa menos de la mitad del volumen del embrión
2	La cavidad blastocélica ocupa más de la mitad del volumen del embrión
3	Blastocisto completo, la cavidad ocupa por completo el embrión
4	Blastocisto expandido, la cavidad es más grande que el embrión original, con adelgazamiento de la ZP*
5	Hatching parcial. Embrión parcialmente fuera de la ZP*
6	Hatching total. Embrión totalmente fuera de la ZP*

Clasificación del MCI [†]	Calidad del MCI [†]
A	Muchas células, estrechamente empaquetadas
B	Varias células, holgadamente agrupadas
C	Muy pocas células

Clasificación del TE [‡]	Calidad del TE [‡]
A	Muchas células, formando una capa cohesiva
B	Moderado número de células, formando un epitelio suelto
C	Pocas células grandes

*ZP: zona pelúcida; †MCI: macizo celular interno; ‡TE: trofoectodermo

Tabla 2. Características basales

Características	Día 5 (Grupo control)	Día 6 (Grupo estudio)	<i>p</i>
Número de pacientes	436	41	
Edad	42.57 ± 3.88	41.36 ± 4.63	0.11
Número de transferencia de ovodonación (%)			
1	(394) 90.57%	(37) 90.24%	0.94
2	(41) 9.43%	(4) 9.76%	
Días de estradiol (media ± desvío)	20.26 ± 4.22	19.76 ± 4.45	0.7
Horas de progesterona (media ± desvío)	125 ± 3.8	147 ± 4	<0.001
Media de ovocitos inseminados (media ± desvío)	6.48 ± 1.16	6.73 ± 1.50	0.31
Media de ovocitos fertilizados (media ± desvío)	5.45 ± 1.65	5.68 ± 1.55	0.37
Tasa de fertilización (%)	(2379/2829) 85%	(233/276) 83.5%	0.4
Semen fresco (%)	82.11	90.24	0.5
Semen banco (%)	16.06	9.76	
TESE (%)	1.01	0	
Gardner grado expansión (%)			0.001
3	5.73	0.00	
4	84.86	46.34	
5	7.34	39.02	
6	2.06	14.63	
Gardner TE* (%)			0.75
A	86.70	85.37	
B	13.30	14.63	
Gardner MCI† (%)			0.7
A	90.60	87.80	
B	9.40	12.20	

*TE: trofoectodermo; †MCI: macizo celular interno

Con respecto a la calidad embrionaria, se hallaron diferencias significativas entre ambos grupos, en lo que se refiere a grado de expansión del blastocisto, de acuerdo a la clasificación de Gardner (con mayor porcentaje de embriones grado 5 y 6 en el grupo de sexto día) ($p=0.001$).

Se detectó un total de 181 pacientes con subunidad beta positiva en el grupo control y 21 pacientes en el grupo estudio, arrojando una tasa de embarazo de 41% y 51% re-

spectivamente ($p=0.22$).

La tasa de implantación, fue mayor luego de las transferencias de embriones de 144 horas, en comparación con las transferencias de 120 horas (46.3% vs 33.2%), aunque no alcanzó significancia estadística ($p=0.34$). La tasa de embarazo clínico fue significativamente mayor en el grupo de sexto día en comparación con el grupo de quinto día (43.9% vs 28.4%, $p=0.03$) con una tasa de embarazo evolutivo del 41.4%

Tabla 4. Tasa de embarazo de acuerdo a calidad embrionaria (Gardner)

Gardner (grado de expansión)	Día 5 (Grupo control)	Día 6 (Grupo estudio)	p
3	(5/25) 20%	(0/0) 0%	
4	(158/370) 42.7%	(10/19) 52.6%	0.3
5	(14/32) 43.7%	(8/16) 50%	0.6
6	(4/9) 44.4%	(3/6) 50%	0.8

y 27.1% ($p=0.05$) y una tasa de aborto de 9.75% y 14.4% ($p=0.4$), respectivamente. En la tabla 3 se describen dichos resultados.

DISCUSIÓN

Múltiples estudios han demostrado que la transferencia en estadio de blastocisto (día 5 o 6) se asocia a mayores tasas de embarazo y de recién nacidos vivos con respecto a la de embriones en estadio de clivaje (día 3), lo que resulta del proceso de selección embrionaria y de la mejor sincronización endometrial^(17,18).

Los blastos son típicamente seleccionados para su transferencia, criopreservación o biopsia en quinto o sexto día de desarrollo. En lo que refiere a las transferencias de dichos embriones en ciclos en fresco, la evidencia disponible en la literatura, si bien es limitada, arroja resultados a favor de blastos de quinto día en comparación a los de sexto día, tanto en tasas de implantación (RR 1.95; IC 95% 1.38–2.75, $p < 0.001$), embarazo clínico (RR 2.38; IC 95% 1.74–3.24, $p < 0.001$), embarazo en curso (RR 2.46; IC 95% 1.64–3.69, $p < 0.001$), recién nacidos vivos (RR 1.74, IC 95%: 1.37–2.20, $p < 0.001$) y abortos (RR 0.51; IC 95% 0.27–0.96, $p 0.04$)⁽⁹⁾. La justificación de estos hallazgos está dada principalmente por la calidad de los embriones y la receptividad endometrial, alegando que la expansión tardía del blastocisto se asocia a peor calidad embrionaria y por lo tanto a menor tasa de embarazo y de recién nacidos vivos. En ese sentido, un estudio de cohorte pro-

spectivo que incluyó 221 ciclos de ICSI, determinó que la tasa de nacidos vivos luego de transferencias en fresco de embriones de quinto día, fue superior a aquellas realizadas en sexto día por blastocistos de expansión tardía (52.3% vs. 27.3%; RR 1.92, IC 95% 1-3.85, $p 0.02$); mientras que dicha tasa resultó similar cuando se comparó con transferencias electivas en día 6 de blastos ya expandidos en día 5 (52.3% vs. 56%; RR 0.93, IC 95% 0.64-1.36, $p 0.72$). Resultados similares se obtuvieron al analizar la tasa de embarazo en ambos grupos (60.9% vs. 64%; RR 1.05, IC 95% 0.77-1.44, $p 0.76$)⁽¹²⁾.

Con respecto a los resultados reproductivos luego de transferencias de embriones criopreservados, existe mayor evidencia, aunque tampoco hay consenso. Un estudio de cohorte retrospectiva que incluyó 602 transferencias de embriones únicos de ciclos con óvulos propios, demostró que las chances de implantación se redujeron a un tercio posponiendo la transferencia a día 6; además evidenció una mayor tasa de embarazo clínico transfiriendo embriones de quinto día comparado con sexto día electivo [55.1% (184/334) vs. 29.9% (80/268), respectivamente]⁽⁴⁾. Por el contrario, otro estudio de cohorte que analizó la tasa de euploidía de 834 blastos mediante biopsia de trofoectodermo por aCGH, concluyó que la misma fue mayor en blastos de quinto día con respecto a los de sexto día [54.6% (125/229) vs. 42.8% (77/180), $p 0.0231$]; y que luego de transferir únicamente blastos

euploides, las tasas de embarazo bioquímico, clínico y de implantación fueron similares en ambos grupos (68% vs. 64.1% de embarazo bioquímico; 60% vs. 61.5% de embarazo clínico; y 58.5% vs. 54.2% de implantación, respectivamente) ⁽⁶⁾.

Datos similares a los expuestos, encontramos al analizar las estadísticas de PRO-CREARTE 2019, donde la tasa global de embarazo de ovodonación en fresco fue 43.5%, siendo del 47.7% (245/516) y 44.6% (25/56), en 120 y 144 hs, respectivamente. Sin embargo, no contábamos con el seguimiento ecográfico de muchas de estas pacientes con lo cual, la información acerca de la evolución de las mismas, es limitada. En este estudio, la tasa de embarazo en quinto y sexto día fue del 41.51% y 51.22%, respectivamente, teniendo la información adicional de la evolución de los embarazos, en donde 65.19% (118/181) de las subunidades beta HCG positivas en el grupo control y el 80.95% (17/21) en el grupo estudio, evolucionaron favorablemente.

No obtuvimos diferencias significativas en tasa de implantación, lo cual concuerda con lo reportado por un estudio prospectivo (Elgindy et al., 2012), en el cual las transferencias electivas de embriones en día 6, se asociaron a similares tasas de implantación con respecto a las realizadas en día 5 (40% en ambos grupos), por lo que los autores concluyeron que los grupos eran comparables, pese a la diferencia en el número de pacientes incluidos en cada rama ⁽¹²⁾.

La mayoría de los estudios que reportan peores resultados con blastos de sexto día, se basan en transferencias de embriones que mostraban un desarrollo embrionario enlentecido a las 120 horas y que se dejaron en cultivo un día adicional. En este estudio, descartamos los casos en los que existía una certeza de enlentecimiento embrionario

o mala calidad en 120 horas, para lo cual el embriólogo debía ser “ciego” a dicho estadio. En este sentido, se seleccionaron las transferencias en sexto día que se efectuaron los días lunes o posteriores a feriados no laborables. Sin embargo, este desconocimiento del estadio en 120 horas, podría constituir un sesgo, porque podría tratarse de embriones enlentecidos o de mala calidad no diagnosticados.

Un dato fundamental sería conocer cuál fue la tasa de cancelación de transferencias en estos casos; aunque debido a la naturaleza retrospectiva del estudio, esta información no se pudo recabar.

Por otra parte, es importante destacar el rol del endometrio en lo que respecta a su sincronización con el embrión. Las transferencias en fresco de embriones de sexto día, se asociarían a un endometrio con exposición adicional (de un día) a la progesterona, lo cual podría interferir en la óptima sincronización entre el endometrio y el embrión, más allá de la calidad embrionaria. El concepto de sincronización se entiende como el desarrollo del endometrio y el embrión a un ritmo simultáneo, lo que les permite dar comienzo y continuidad al proceso de implantación al mismo tiempo ⁽¹⁹⁾. La ventana de implantación del endometrio, durante la cual el mismo se vuelve receptivo, se produce a partir de modificaciones temporales morfológicas, citoesqueléticas, bioquímicas y genéticas ⁽²⁰⁾. Ocurre cinco días después de la exposición endógena o exógena a la progesterona, y se restringe a sólo dos días. Cuando el embrión alcanza el estadio de blastocisto, el endometrio debe encontrarse receptivo ⁽²¹⁾. La preparación endometrial más comúnmente utilizada en ciclos de transferencia de embriones criopreservados, es la inducción con estrógenos y progesterona ⁽²²⁾. La progesterona se indica durante el número de días proporcional

al estadio de los embriones transferidos, por lo que su duración es fundamental para establecer la ventana de implantación. Se cree que luego de la preparación con estrógenos, el número de días de exposición a la progesterona afectará el revestimiento endometrial apropiado para lograr la implantación. Sin embargo, la biopsia de endometrio realizada en ciclos naturales, demostró una diferencia de más de dos días entre el fechado histológico del mismo y el día real, luego de la ovulación espontánea en el 5-50% de las pacientes^(23,24).

El desarrollo de técnicas de congelación de embriones y la introducción de la ovodonación han brindado la posibilidad de una disociación entre la edad del embrión y la cronología del endometrio, permitiendo evaluar por un lado, el desarrollo del ovocito, y por el otro, la inducción de la receptividad endometrial. Con respecto a este factor, un estudio que comparó 377 transferencias en fresco con ovocitos propios, reportó una tasa de embarazo clínico significativamente mayor para transferencias de embriones de día 5 con respecto a día 6 (51% vs 33.3%, $P = 0.0006$); sin embargo no halló diferencias cuando comparó 106 transferencias de embriones criopreservados (63.6% para embriones de día 5 vs. 58.9 % para embriones de día 6), respectivamente⁽²⁵⁾. Estos resultados los explican por una mejor sincronización entre un endometrio histológicamente más avanzado, producto de la supresión pituitaria a partir de la estimulación ovárica, y los embriones de rápido desarrollo de día 5 en ciclos de FIV. en fresco Mientras que al tratarse de embriones criopreservados, se asume una sincronización similar, independientemente del tiempo en el que se alcanzó el desarrollo embrionario a blastocisto⁽¹⁹⁾.

En la presente investigación, incluimos únicamente ciclos de ovodonación, de for-

ma tal de optimizar la calidad ovocitaria y evitar la influencia que la estimulación hormonal podría implicar sobre los resultados. Por otro lado, cabe destacar que se incluyeron únicamente embriones de buena o muy buena calidad en ambos grupos, aunque desconociendo su grado de euploidía, ya que excluimos el Screening Genético Preimplantatorio (PGS), al tratarse sólo de transferencias en fresco. Los análisis de varios estudios en los cuales tanto los blastos de quinto como los de sexto día eran euploides, no mostraron diferencias en tasas de implantación y embarazo clínico^(8,26).

Al igual que en la mayoría de los estudios disponibles, existe una gran diferencia entre los pacientes incluidos en ambos grupos. La misma, se debe a que la práctica más habitual adoptada por los equipos médicos de nuestro centro, suele ser la de realizar las transferencias en fresco de blastos en 120 horas, o bien en estadios embrionarios previos como 72 o 96 horas.

Otra de las limitaciones fue la preparación endometrial en la paciente receptora, en lo que respecta al inicio en la suplementación de progesterona. Los estudios reportados en la literatura no tienen en cuenta dicha variable al momento de analizar los resultados. La práctica más común en nuestro centro, es la de indicarla desde el día de la punción de la donante, sin embargo, otros lo hicieron la noche previa. Esta es una variable que no se pudo controlar, debido al diseño retrospectivo del estudio. Con respecto a este factor, un ensayo aleatorizado prospectivo que evaluó transferencias de pacientes receptoras de ovocitos, no encontró diferencias en tasas de embarazo clínico entre aquellas que fueron suplementadas con progesterona el día previo a la punción de la donante (día -1), con respecto al mismo día (día 0) [43.5% (37/85) vs. 56.6% (51/90), respectivamente], sin embargo

reportó diferencias en la tasa de embarazo bioquímico cuando estas opciones se compararon con el inicio de la suplementación el día posterior a la punción (día +1) [12.9% (11/85) vs. 6.6% (6/90) vs. 2.3% (2/88), $p < 0.02$]⁽²⁷⁾.

Nuestros hallazgos podrían tener cierta implicancia en la práctica diaria, principalmente en centros con alto volumen de pacientes, permitiendo adoptar cierta flexibilidad en las programaciones, evitando sobrecarga de trabajo y transferencias en días no laborables. A su vez, los resultados alentaron a dejar en cultivo prolongado a sexto día y evitar transferencias en estadio de clivaje, cuyos resultados han demostrado ser muy inferiores^(17,18).

Otra indicación para cultivo extendido a sexto día, puede surgir en caso de varios blastos con expansión temprana y en receptoras que no desean la congelación, ya que un día de retraso en la transferencia podría proporcionar cierto mecanismo de selección de los embriones más aptos, los cuales

presentarán mayor tamaño, expansión y eclosión.

El estudio ideal implicaría el desarrollo de un diseño prospectivo, en el cual de forma aleatorizada, se indique transferencia de embriones en 120 y en 144 horas, con la opción adicional de realizar monitoreo permanente del desarrollo embrionario.

CONCLUSIÓN

Nuestro estudio demuestra que el cultivo extendido a 144 horas sería una estrategia a considerar, con buenos resultados reproductivos.

De acuerdo a nuestra casuística, las transferencias de embriones de sexto día, se asociaron a mayores tasas de embarazo clínico y evolutivo con respecto a las de quinto día.

Se requiere de la elaboración de ensayos clínicos aleatorizados que avalen nuestros resultados, así como también de un análisis posterior de la tasa de recién nacidos vivos correspondiente a cada grupo, la cual podrá ser incluida en un futuro estudio.

REFERENCIAS

1. Ferreux L, Bourdon M, Sallem A, Santulli P, Barraud-Lange V, Le Foll N, et al. Live birth rate following frozen-thawed blastocyst transfer is higher with blastocysts expanded on Day 5 than on Day 6. *Human Reproduction*. 2018. pp. 390–398. doi:10.1093/humrep/dey004
2. Hammond ER, Cree LM, Morbeck DE. Should extended blastocyst culture include Day 7? *Hum Reprod*. 2018;33: 991–997.
3. Haas J, Meriano J, Laskin C, Bentov Y, Barzilay E, Casper RF, et al. Clinical pregnancy rate following frozen embryo transfer is higher with blastocysts vitrified on day 5 than on day 6. *J Assist Reprod Genet*. 2016;33: 1553–1557.
4. Poulsen V, Ingerslev HJ, Kirkegaard K. Elective embryo transfers on Day 6 reduce implantation compared with transfers on Day 5. *Hum Reprod*. 2017;32: 1238–1243.
5. Sciorio R, Thong KJ, Pickering SJ. Single blastocyst transfer (SET) and pregnancy outcome of day 5 and day 6 human blastocysts vitrified using a closed device. *Cryobiology*. 2018;84: 40–45.
6. Sciorio R, Thong KJ, Pickering SJ. Increased pregnancy outcome after day 5 versus day 6 transfers of human vitrified-warmed blastocysts. *Zygote*. 2019;27: 279–284.
7. Kaye L, Will EA, Bartolucci A, Nulsen J, Benadiva C, Engmann L. Pregnancy rates for single embryo transfer (SET) of day 5 and day 6 blastocysts after cryopreservation by vitrification and slow freeze. *J Assist Reprod Genet*. 2017;34: 913–919.
8. Taylor TH, Patrick JL, Gitlin SA, Wilson JM, Crain JL, Griffin DK. Comparison of aneuploidy, pregnancy and live birth rates between day 5 and day 6 blastocysts. *Reprod Biomed Online*. 2014;29: 305–310.
9. Bourdon M, Pocate-Cheriet K, Finet de Bantel A, Grzegorzczuk-Martin V, Amar Hoffet A, Arbo E, et al. Day 5 versus Day 6 blastocyst transfers: a systematic review and meta-analysis of clinical outcomes. *Hum Reprod*. 2019;34: 1948–1964.
10. Barrenetxea G, López de Larruzea A, Ganzabal T, Jiménez R, Carbonero K, Mandiola M. Blastocyst culture after repeated failure of cleavage-stage embryo transfers: a comparison of day 5 and day 6 transfers. *Fertil Steril*. 2005;83: 49–53.
11. Yamamoto S, Umeki M, Hamano T, Matsusita F, Kuwahara K. Elective cryopreservation of all day 5 blastocysts is more effective than using day 6 blastocysts for improving pregnancy outcome in stimulated cycles. *Reprod Med Biol*. 2008;7: 75–83.
12. Elgindy E, Elsedek MS-E-A. Day 5 expanded blastocysts transferred on same day have comparable outcome to those left for more extended culture and transferred on day 6. *J Assist Reprod Genet*. 2012;29: 1111–1115.
13. Dessolle L, Fréour T, Ravel C, Jean M, Colombel A, Darai E, et al. Predictive factors of healthy term birth after single blastocyst transfer. *Hum Reprod*. 2011;26: 1220–1226.
14. Shapiro BS, Daneshmand ST, Desai J, Garner FC, Aguirre M, Hudson C. The risk of embryo-endometrium asynchrony increases with maternal age after ovarian stimulation and IVF. *Reprod Biomed Online*. 2016;33: 50–55.
15. Healy MW, Yamasaki M, Patounakis G, Richter KS, Devine K, DeCherney AH, et al. The slow growing embryo and premature progesterone elevation: compounding factors for embryo-endometrial asynchrony. *Hum Reprod*. 2017;32: 362–367.
16. Irani M, O'Neill C, Palermo GD, Xu K, Zhang C, Qin X, et al. Blastocyst development rate influences implantation and live birth rates of similarly graded euploid blastocysts. *Fertility and Sterility*. 2018. pp. 95–102.e1. doi:10.1016/j.fertnstert.2018.03.032

17. Gardner DK, Schoolcraft WB, Wagley L, Schlenker T, Stevens J, Hesla J. A prospective randomized trial of blastocyst culture and transfer in in- vitro fertilization. *Human Reproduction*. 1998. pp. 3434–3440. doi:10.1093/humrep/13.12.3434
18. Rienzi L, Gracia C, Maggiulli R, LaBarbera AR, Kaser DJ, Ubaldi FM, et al. Oocyte, embryo and blastocyst cryopreservation in ART: systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance. *Hum Reprod Update*. 2017;23: 139–155.
19. Teh W-T, McBain J, Rogers P. What is the contribution of embryo-endometrial asynchrony to implantation failure? *J Assist Reprod Genet*. 2016;33: 1419–1430.
20. Bellver J, Simón C. Implantation failure of endometrial origin: what is new? *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2018;30: 229–236.
21. Franasiak JM, Ruiz-Alonso M, Scott RT, Simón C. Both slowly developing embryos and a variable pace of luteal endometrial progression may conspire to prevent normal birth in spite of a capable embryo. *Fertility and Sterility*. 2016. pp. 861–866. doi:10.1016/j.fertnstert.2016.02.030
22. Paulson RJ. Hormonal induction of endometrial receptivity. *Fertil Steril*. 2011;96: 530–535.
23. Sahmay S, Oral E, Saridogan E, Senturk L, Atasu T. Endometrial biopsy findings in infertility: analysis of 12,949 cases. *Int J Fertil Menopausal Stud*. 1995;40: 316–321.
24. Barnes R. Histological Dating of Timed Endometrial Biopsy Tissue Is Not Related to Fertility Status. *Yearbook of Obstetrics, Gynecology and Women's Health*. 2006. pp. 185–187. doi:10.1016/s1090-798x(08)70422-3
25. Shapiro BS, Daneshmand ST, Garner FC, Aguirre M, Ross R. Contrasting patterns in in vitro fertilization pregnancy rates among fresh autologous, fresh oocyte donor, and cryopreserved cycles with the use of day 5 or day 6 blastocysts may reflect differences in embryo-endometrium synchrony. *Fertil Steril*. 2008;89: 20–26.
26. Kaing A, Kroener LL, Tassin R, Li M, Liu L, Buyalos R, et al. Earlier day of blastocyst development is predictive of embryonic euploidy across all ages: essential data for physician decision-making and counseling patients. *J Assist Reprod Genet*. 2018;35: 119–125.
27. Escribá M-J, Bellver J, Bosch E, Sánchez M, Pellicer A, Remohí J. Delaying the initiation of progesterone supplementation until the day of fertilization does not compromise cycle outcome in patients receiving donated oocytes: a randomized study. *Fertility and Sterility*. 2006. pp. 92–97. doi:10.1016/j.fertnstert.2005.12.048