

Reproducción

Órgano oficial de la Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva
y de la Sociedad Argentina de Embriología Clínica

Volumen: 36 / Año 2021 / N°1



ISSN 2796-7689 (versión en línea) - ISSN 0327-9294 (versión impresa)

Editora en Jefe: Prof. Dra. Serpa, Idelma

- MD - PhD - Médica Ginecóloga especialista en Medicina Reproductiva, Grupo Gamma Rosario; Miembro Comisión Directiva Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva (SAMeR).

Editora asociada: Kanzepolsky, Laura - MD - Médica Ginecóloga y Obs-

tetra, especialista en Medicina Reproductiva, Procreate; Médica adherente, CE-GYR; Buenos Aires, Argentina; Miembro Comisión Directiva Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva (SAMeR), Docente Curso de Especialistas en Medicina Reproductiva SAMeR. Docente Diplomatura en Medicina Reproductiva y Embriología Clínica, Asociación Médica Argentina (AMA)

LIMA, NATACHA SALOMÉ - Lima, Natacha Salomé - Psci. - Mg. - PhD - Psicóloga orientada en Reproducción Humana y Fertilización Asistida SAMeR; Investigadora del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET); Docente de la Facultad de Psicología, Universidad de Buenos Aires.

MARTÍNEZ, MARCELO - MD - Médico especialista en Tocoginecología y Reproducción Humana, Procreate; Director Médico Centro Médico Larrea, Buenos Aires.

PASQUALINI, AGUSTÍN - MD - Ginecólogo especialista en Medicina Reproductiva y Director Médico, Halitus Instituto Médico de Buenos Aires; Secretario del Consejo de Formación y Evaluación Profesional (COFEP), SAMeR; Miembro Comisión Directiva SAMeR.

PESCE, ROMINA - MD - MSc - Médica Ginecóloga especialista en Medicina Reproductiva, Servicio de Ginecología Hospital Italiano de Buenos Aires (HIBA); Jefa de Sección Reproducción y Responsable Unidad Preservación de Fertilidad, HIBA; Docente Autorizada Obst/Ginecología, Universidad de Buenos Aires; Prof. Adjunta Ginecología, Instituto Universitario del Hospital Italiano de Buenos Aires; Directora Fellowship en Medicina Reproductiva, (SAMeR sede HIBA); Miembro Comisión Directiva SAMeR.

SAD LARCHER, JOSÉ - MD - Médico Cirujano, especialista en Ginecología, Obstetricia y Medicina Reproductiva, Jefe de Servicio de Ginecología y Obstetricia, Hospital Privado Universitario de Córdoba; Jefe de Sección Esterilidad, Hospital Privado Universitario de Córdoba; Profesor Titular Cátedra de Ginecología

del IUCBC (Instituto Universitario de Ciencias Biomédicas de Córdoba).

BELTRAMONE, FERNANDO - MD - Médico Tocoginecólogo, especialista en Medicina Reproductiva y Cirugía videoasistida; Director Médico Centro Ovum, Córdoba.

BOTTI, GUSTAVO - MD - Médico Ginecólogo, especialista en Medicina Reproductiva, Ex Presidente de la Asociación de Obstetricia y Ginecología de Rosario (ASOGIR), Ex Presidente de la Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva (SAMeR), Integrante del Programa de Asistencia Reproductiva de Rosario (PROAR).

SÍCARO, LAURA - MD - Médica especialista en Tocoginecología, Medicina Reproductiva, Endocrinología y Genética de la Reproducción, IFER; Coordinadora Departamento de Genética de la Reproducción, IFER; Docente adscrita de la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires.

IRIGOYEN, MARCELA - MD - Médica especialista en Ginecología, Medicina Reproductiva y Endocrinología ginecológica y de la Reproducción, Co-Directora Médica de Fertilis Medicina Reproductiva.

VENTURA, VIVIANA - MD - Médica Tocoginecóloga, especialista en Medicina Reproductiva, Jefa de Servicio de Medicina Reproductiva de Grupo Gamma, Rosario.

MACHADO, CARMEN - MD - Médica Ginecóloga y Obstetra, especialista en Medicina Reproductiva, Centro CRECER Mar del Plata, Docente Salud Integral de la mujer, Universidad Nacional de Mar del Plata.

SYLVESTRE BEGNIS, ROSARIO - MD - Médica Tocoginecóloga especialista en Medicina Reproductiva (SAMeR), Staff de medicina reproductiva Instituto Gamma, Rosario.

MOLINA, SONIA - MD - Médica especialista en Tocoginecología y Medicina Reproductiva, Jefe de Sección Medicina Reproductiva Hospital Rawson San Juan. Presidente de la Regional Cuyo SAMeR.

GELLER, MARISA - MD - Médica Ginecóloga y Obstetra, especialista en Medicina Reproductiva y Endocrinología Ginecológica, Docente Facultad de Medicina, Universidad Favaloro, Directora Médica In Vitro Buenos Aires.

MORENO, DIEGO - Lic. - Bioquímico, miembro de SAEGRE, SAMeR. Embriólogo Clínico Senior SAEC-SAMeR. Director de Laboratorio de Medicina Reproductiva de Sanatorio Argentino San Luis, Docente de la EIDFS, UNSJ.

NOTRICA, JUDITH - Lic. en Ciencias Biológicas especialista en Biología Molecular. Embrióloga Clínica Senior. Coordinadora de Estudios Clínicos, FefyM. Miembro de SAMeR y SAEC.

MANNARA, JUAN IGNACIO - MD - Médico Asociado a Procreate.

Revisores

ÁLVAREZ SEDO, CRISTIAN - Lic. - PhD - Director Laboratorio de Embriología FERTILIA y Director Científico FERTILIA, Tucumán, Miembro Comisión Directiva SAMeR.

AVENDAÑO, CONRADO - Bioq. - PhD - Director ANDROLAB; Coordinador del Laboratorio de Reproducción Humana, Gynesis Salud y Fertilidad, Córdoba.

HERNÁNDEZ, MARIANA - Biol. - Especialista en Embriología Clínica y Co-Directora Laboratorio de Embriología CIGOR, Córdoba.

VAN THILLO, GERMÁN - MD - Médico especialista en Medicina Reproductiva.

CERISOLA, VALERIA - MD - Médica especialista en Medicina Reproductiva. Asociada al Servicio de Ginecología del Hospital Italiano de Buenos Aires, Sección Reproducción-Patología Benigna-Cirugía Miniinvasiva; Docente del Curso Superior BIANUAL de Medicina Reproductiva, SAMeR.

BONILLA, FEDERICO - Bioq. - PhD - Director Laboratorio de Embriología, Instituto de Maternidad y Ginecología "Ntra. Señora de la Merced"; Director Laboratorio de Embriología, Centro Médico Reprodur; Profesor Adjunto, Cátedra de Biología de Facultad de Bioquímica,

Química y Farmacia (UNT); Docente-Investigador, Instituto Superior de Investigaciones Biológicas (INSIBIO), Tucumán.

FIZSBAJN, GABRIEL - MD - Médico especialista en Medicina Reproductiva, Director Asociado de CEGYR, Miembro Comisión Directiva SAMeR.

SDRIGOTTI, AGUSTINA - MD - Médica especialista en Medicina Reproductiva, Asociada a Procreate.

NICOTRA, PAMELA - MD - Médica especialista en Medicina Reproductiva Staff, Cegy-r-Eugin; Coordinadora Médica, Novagen; Docente Curso BIANUAL de Medicina Reproductiva, SAMeR.

LORENZO, FABIÁN - MD - Miembro Comisión Directiva SAMeR.

NAVÉS, FLAVIA - Psi. - Licenciada en Psicología.

ZEITLER, ELENA - MD - Médica de planta Hospital de Clínicas José de San Martín- Sección Fertilidad, Jefa de Trabajos Prácticos de Ginecología. Unidad Académica Clínicas, Universidad de Buenos Aires.

BAUM, EUGENIA - MD - Médica especialista en Medicina Reproductiva.

MARTÍNEZ, GUSTAVO - PhD - Doctor En Ciencia Biológicas - UBA, especialista en Embriología Clínica - SAMeR - RedLaRA, Director del Laboratorio de Biología de la Reproducción de Fertilis, San Isidro, Profesor de la Universidad de Belgrano, Expresidente de SAMeR, Director del Comité de Acreditaciones SAMeR, Vicepresidente de la Red Latinoamericana de Reproducción Asistida.

PABLETICH, FLORENCIA - MD - Médica Pediatra, especialista en Genética Médica, Miembro del equipo médico de CIGOR, Médica Staff del Servicio de Genética Médica del Hospital Privado Universitario de Córdoba.

ZITTA, MARCELA - MD - Doctora en Medicina y Cirugía; Especialista en Tocoginecología y Medicina Reproductiva, Medica Staff Gynesis, Córdoba.

DOPAZO, HERNÁN - PhD - Doctor en Ciencias Biológicas, Universidad de Madrid, Director Científico de Biocódices S.A. Inves-

tigador Independiente CONICET. Profesor FCEyN Universidad de Buenos Aires.

TREJO, LUIS GALLARDO – Lic. - Especialista en Biología de la Reproducción RedLaRA, Director Laboratorio FIV C.M.R. FILIUS. San Luis Potosí, México.

PELLETAN, LEONARDO – Lic. - Doctor en Ciencias Biológicas. Director del laboratorio de FIV en el Instituto de Medicina Reproductiva de Mendoza. Miembro de SAEC.

CULLERE, MARCELA - PhD - Dra en Ciencias Biológicas. Miembro de ESHRE; SAMeR; SAEC. Profesora cátedras de Biología Celular y Diseño Experimental del profesorado de Biología en el Instituto Terciario Mariano Fragueiro. Embalse, Córdoba.

PAZ, VALERIA - Lic. - Bioquímica, Especialista en Embriología Clínica, SAMeR y RedLaRA. Technical supervisor in Embryology, American Board of Bioanalysis, (ABB). Jefa del Laboratorio de Embriología del Servicio de Medicina Reproductiva del Instituto Gamma, Rosario.

REVISTA ARGENTINA DE REPRODUCCIÓN

Instrumento de la comunicación científica

La Revista Argentina de Reproducción Humana tiene su debut en el año 1986, de la mano del Dr. Eduardo Alfonsín como presidente de la Sociedad Argentina de Medicina reproductiva. Su tiraje fue bianual en sus inicios, alcanzando desde el 2008, 4 números anuales. La última gestión editorial estuvo a cargo de la Dra. Silvia Ciarmatori y la Licenciada Alicia Pené, quienes fueron responsables de la revista hasta el primer número del corriente año.

A partir del 2020 nace la necesidad de reestructurar el perfil de la revista, renovando su contenido y aumentando los estándares de calidad con el propósito de su indexación. El objetivo será adaptarla a un formato más económico, sustentable y moderno, que estimule y promueva un nuevo vínculo con el lector. Se dejará atrás el formato papel para pasar a uno completamente digital y de libre acceso.

La revista contará con un 80% de artículos originales de alta calidad científica, disponibles en idioma español e inglés, con una periodicidad semestral. Su contenido estará dirigido al profesional de la salud relacionado a la Reproducción Humana, como así también a la comunidad científica en general.

El objetivo primordial de la Revista será difundir el conocimiento científico, a través de trabajos originales producto de investigación básica, investigación clínica, y revisiones bibliográficas que impacten en el área médica, biológica, psicológica y otras áreas afines a la fertilidad. La meta será posicionar a la Revista Argentina de Reproducción como un espacio de producción nacional e internacional, que promueva la convocatoria y participación de investigadores, como así también la cooperación científica interdisciplinaria, manteniendo siempre los estándares que reflejen la esencia de la Sociedad.

Índice

EDITORIAL	Desafíos de la medicina reproductiva en tiempos de pandemia <i>Dra. Idelma Serpa</i>	8
INFERTILIDAD	Utilización de plasma rico en plaquetas en endometrio fino refractario <i>Baum E; Azas Y; Castro F; Pasqualini RA; Pasqualini RS; Vielma Vinci V.</i>	10
	Prevalencia de anomalías uterinas en estudios de histerosalpingografía virtual por tomografía computada <i>Carrascosa P; Capuñay C; Carpio J; Papier S; Baronio M.</i>	23
	Niveles de progesterona sérica y tasa de embarazo en receptoras de ovocitos <i>Devenuto LM; García del Carril I; Sdrigotti A; Ferle L; Salama E; Fernández M.</i>	29
	Resultados perinatales y complicaciones obstétricas de pacientes transferidas con embriones en fresco o criopreservados <i>García C; Estofan L; Lofredo M; Maccari V; Ganzer L; Hernández M; Estofan G; Palena C.</i>	37
	Resultados reproductivos posteriores a transferencia de embriones de quinto y sexto día en pacientes receptoras de ovocitos <i>Devenuto, Luciana María; Sdrigotti, Agustina</i>	52
BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN	Evaluación de la fragmentación del ADN espermático luego del empleo diferentes técnicas de selección espermática <i>Cuesta C; Martínez E; Cattaneo A; Gnocchi D; Irigoyen M; Tessari L; Martínez AG.</i>	64
CIENCIAS SOCIALES Y HUMANAS EN REPRODUCCIÓN	Conocimientos de los jóvenes del oeste del conurbano bonaerense sobre cuidado y preservación de la fertilidad <i>Dra. Elizabeth Beatriz Ormart</i>	75
	“De esto no se habla: los tratamientos de fertilidad y su impacto en la sexualidad de las parejas” <i>García Ojeda MB; Isa L; Poch F; Argibay SG; Young E.</i>	85
CASOS CLÍNICOS	PGT no invasivo para aneuploidías (niPGT-a): reporte del primer niño nacido en Argentina <i>Martínez AG; Gnocchi D; Zubrzycki J; Martínez E; Cattaneo A; Berros JM; Irigoyen M; Ércolí G; Tessari L; Dopazo H.</i>	95

Desafíos de la medicina reproductiva en tiempos de pandemia



Dra. Idelma Serpa
Editora en Jefe
Revista Reproducción
SAMeR

El 2020 nos puso a prueba con respecto a las recomendaciones médicas y de laboratorio basadas en la evidencia científica en relación a la pandemia por COVID-19, ya que nos tuvimos que enfrentar a las consultas de pacientes y a decisiones de laboratorio sin tener datos certeros y aún continuamos con información limitada.

Como ya sabemos, el 29 de diciembre de 2019, en Wuhan, la capital de la provincia china de Hubei, se reportaron cuatro casos de neumonía de etiología desconocida. El 11 de febrero de 2020 el Comité Internacional de Taxonomía de Virus, reconoció la etiología de esta infección y la nombró 'Síndrome respiratorio agudo severo coronavirus-2' (SARS-CoV-2) y al mismo

tiempo la Organización Mundial de la Salud (OMS) nombró a la enfermedad COVID-19 y el 11 de marzo de 2020 lo declaró como pandemia.

Desde entonces, las sociedades de reproducción humana han emitido directrices para el manejo en las unidades de fertilidad que incluyen la implementación de prácticas de mitigación y protocolos de control de infecciones. Nuestra Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva publicó oportunamente en la página web los Manuales operativos de gestión de riesgos COVID-19 en centros de reproducción asistida (http://www.samer.org.ar/material_covid.asp) y parte de esta información, sumada al análisis de los resultados de las encuestas realizadas a los centros de reproducción de Argentina sobre esta temática, se alcanzó una publicación científica en una revista internacional (Alaluf MG y cols. *J Assist Reprod Genet.* 2020 Nov;37(11):2669-2686. doi: 10.1007/s10815-020-01958-5).

Pero, ¿qué sabemos, con respaldo científico, acerca de las recomendaciones en la práctica diaria? La evidencia de los efectos del SARS-CoV-2 en los gametos es limitada, como así también los efectos en el embarazo y en los recién nacidos.

Hasta la fecha, no hay estudios publicados que examinen los efectos del

COVID-19 en los niveles hormonales de las mujeres que recurren a tratamientos de reproducción asistida. Las publicaciones muestran que receptores ACE2 son mucho más abundantes en el sistema reproductivo masculino que en el sistema reproductivo femenino. Se demostró baja expresión de ACE2 en las trompas de Falopio (células ciliadas y endoteliales), ovario, vagina, cuello uterino y endometrio. Por otro lado, la expresión de ACE2 en el testículo se encuentra entre las más frecuentemente observadas, con alta expresión en células de Leydig y Sertoli y expresión media en células glandulares de la vesícula seminal. Como resultado, se espera que los testículos sean más vulnerables que los ovarios a los efectos perjudiciales de una infección por SARS-CoV-2, pero los datos preliminares sugieren que la enfermedad leve no parece tener un efecto negativo sobre la espermatogénesis.

Sin embargo, dado que los estudios presentan en general escaso tamaño muestral, la evidencia científica al momento no es robusta ni concluyente para facilitar la toma de las decisiones, lo cual conduce a evaluar los mejores cursos de acción para la correcta atención de los tratamientos de fertilidad en relación con la infección por covid-19.

Los datos reportados sobre las mujeres embarazadas son limitados y parecería que los resultados del embarazo están estrechamente relacionados con la gravedad de la enfermedad materna y no con una afectación del virus en

sí, aunque aún falta información fehaciente sobre esta temática.

Con respecto a la vacunación, se aconseja que sea el profesional médico quién recomiende a quiénes vacunar y cuándo. Sin embargo, no disponemos de datos científicos con respecto a las vacunas disponibles en nuestro país, y sabemos que no es prudente extrapolar los resultados y recomendaciones del uso de otras vacunas de las que sí se dispone de evidencia en otros contextos.

Todo esto conduce a poder reflexionar acerca de la importancia de los trabajos de investigación en nuestro medio y de la necesidad de compartir estos resultados a través de publicaciones a nivel local.

Es por esto que asumimos un año más el compromiso de la divulgación científica a través de la revista Reproducción. Y desde ahora sumando los esfuerzos de publicación de la Sociedad de Embriología Clínica.

Finalmente, es importante reconocer el valioso trabajo de todos los comités editoriales de la historia de SAMeR por haber sostenido una publicación local y agradecer a la actual Gestión por permitirnos ampliar los horizontes de esta Revista apoyando el crecimiento de una Editorial propia junto a la publicación de este nuevo formato virtual, favoreciendo al nuevo desafío que afrontamos de indexar la revista Reproducción para lograr mayor alcance en la difusión científica.

Utilización de plasma rico en plaquetas en endometrio fino refractario

Use of platelets rich plasma in fine refractory endometrium

Baum Eugenia, Azas Yanina, Castro Félix, Pasqualini R. Agustín, Pasqualini R. Sergio y Vanessa Vielma Vinci

HALITUS INSTITUTO MEDICO; CABA, BS.AS ARGENTINA

RESUMEN

Pregunta de estudio: En pacientes con endometrio fino, refractario a tratamientos hormonales habituales, ¿el uso de Plasma Rico en Plaquetas autólogo, instilado en la cavidad uterina, podría contribuir como factor sinérgico en el desarrollo endometrial?

Respuesta resumida: La utilización de Plasma Rico en Plaquetas endometrial en este grupo de pacientes, demostró un efecto favorable en cuanto al aumento del grosor endometrial y su morfología.

Lo que ya se sabe: El endometrio fino refractario a los tratamientos hormonales habituales, es un desafío en el tratamiento médico. La evidencia científica, muestra un potencial beneficio del Plasma Rico en Plaquetas autólogo, sobre el endometrio, con efecto en relación al aumento del espesor endometrial y/o cambios que favorecerían la correcta implantación embrionaria.

Diseño: Estudio piloto observacional retrospectivo, grupo único de 22 pacientes con endometrio fino refractario a tratamientos hormonales habituales, con evaluación de muestras pareadas desde diciembre 2018 a julio 2020.

ABSTRACT

Study question: *In patients with thin endometrium, refractory to usual hormonal treatments, could the use of autologous Platelet Rich Plasma, instilled in the uterine cavity, contribute as a synergistic factor in endometrial development?*

Summary response: *The use of endometrial Platelet Rich Plasma in this group of patients demonstrated a favorable effect in terms of increasing endometrial thickness and morphology.*

What is already known: *The thin endometrium, refractory to the usual hormonal treatments, is a challenge in medical treatment; Scientific evidence demonstrates a potential benefit of autologous Platelet Rich Plasma on the endometrium, with an effect in relation to the increase in endometrial thickness and / or changes that would favor correct embryo implantation.*

Design: *Retrospective observational pilot study, single group of 22 patients with thin endometrium refractory to usual hormonal treatments, with evaluation of paired samples from December 2018 to July 2020.*

Materiales y Métodos: Se analizaron 22 pacientes a las que se les indicó tratamiento con Plasma Rico en Plaquetas endometrial por antecedente de endometrio fino refractario en ciclos sustituidos hormonales habituales, mediante análisis de variables, cuantitativas y cualitativas dicotómicas y nominales.

Resultados: El grosor endometrial promedio previa instilación fue de 5.9 mm (4.4 – 6.8 mm) y post instilaciones de 7.2 mm (6.3-8.7 mm) trilaminar. La tasa de implantación fue del 63,63% (14 pacientes) y la tasa de embarazo clínico 50% (11 pacientes)

Limitaciones: carácter retrospectivo y uso de otras terapias concomitantes, indicadas previamente por causas subyacentes de estudios moleculares endometriales.

Implicancia de los hallazgos: Si bien son pocos los casos presentados, esta técnica se presenta como prometedora en este grupo de pacientes con endometrio fino, refractarias a los tratamientos habituales, siendo necesario aumentar el número de casos y aleatorizar grupos de pacientes para evaluar si se mantiene la tendencia.

Palabras clave: plasma rico en plaquetas, endometrio, instilación

Materials and Methods: 22 patients were indicated for treatment with Rich Plasma in endometrial platelets due to a history of refractory thin endometrium in normal hormonal substituted cycles. Analysis of dichotomous and nominal quantitative and qualitative variables was use.

Results: The mean endometrial thickness prior to instillation was 5.9 mm (4.4 - 6.8 mm) and post-instillation was 7.2 mm (6.3-8.7 mm) trilaminar. The implantation rate was 63.63% (14 patients) and the clinical pregnancy rate 50% (11 patients).

Limitations: retrospective evaluations and use of other concomitant therapies, previously indicated by underlying causes of endometrial molecular studies.

Implication of the findings: Although there are few cases presented, this technique is seen as promising in this group of patients with thin endometrium, refractory to the usual treatments, being necessary to increase the casuistry and randomize groups of patients to evaluate if the trend is maintained.

Keywords: Platelet-Rich Plasma, Endometrium, Instillation

INTRODUCCIÓN

El embarazo depende de una adecuada sincronización para determinar la implantación. Los factores limitantes comprenden el equilibrio apropiado entre la obtención de un embrión viable y un endometrio receptivo, sin embargo, en el mejor de los pronósticos, es conocida la baja eficiencia de la implantación en la especie humana, la cual se encuentra entre un 50% y 65%.

El endometrio receptivo es fundamental para la implantación y llevar adelante el embarazo. La tasa de embarazo aumenta con espesores endometriales crecientes.

No hay consenso sobre el límite inferior del grosor endometrial que determine la posibilidad de ser receptivo y mejore las tasas de implantación embrionaria. Sin embargo, la mayoría de las publicaciones hacen referencia a endometrios superiores a 7 mm ^(1,2).

Sher y col. reportaron una incidencia 5% de endometrios finos, observados en ciclos naturales, en mujeres menores a 40 años. El porcentaje asciende al 25% en aquellas entre 41 y 45 años ⁽³⁾.

Por lo tanto, mientras que el espesor endometrial mínimo adecuado al final de la fase folicular, asociado con la tasa de implantación puede variar según estudios entre 5 mm y 8 mm, se considera satisfactorio aquel espesor endometrial de al menos 7 mm ⁽⁴⁾.

El desarrollo endometrial dependerá de diversos factores. La angiogénesis tiene un rol importante en los diversos procesos reproductivos incluyendo el desarrollo de un folículo dominante, formación de cuerpo lúteo y el crecimiento endometrial.

El factor de crecimiento vascular derivado del endotelio (VEGF) es la citoquina que se expresa en el endometrio y regula la vascularización. El flujo vascular uterino es un factor importante regulador del

crecimiento endometrial y está estrechamente asociado a la angiogénesis. Por lo tanto el desarrollo endometrial dependerá en parte de la neovascularización y en parte del flujo uterino.

El grosor del endometrio menor a 7 mm definiría un endometrio refractario con tasas de éxito comprometidas ⁽⁵⁾.

Aunque la prevalencia de endometrio fino refractario a los tratamientos habituales es baja (2,4% según Kasius et al., 2014), todavía representa un desafío a nivel mundial ⁽⁶⁾.

Entre los factores etiológicos de esta entidad, la información es limitada en la bibliografía, pero se postulan como causales de desarrollo endometrial subóptimo las siguientes: infecciones, alteraciones anatómicas como leiomiomas, pólipos y sinequias, malformaciones mullerianas, antecedentes quirúrgicos uterinos, hipostrogenismo, alteración en la vascularización endometrial y anticuerpos endometriales, como así también, el uso de determinados fármacos como citrato de clomifeno y anticonceptivos orales. A pesar de ello, en la mayoría de los casos, el agente causal permanece desconocido ⁽⁷⁻¹⁰⁾.

El diagnóstico de endometrio fino se realiza por métodos complementarios de imagen.

La evaluación endometrial se obtiene a partir de la ecografía transvaginal, la cual se realiza a través de la medición de la sección longitudinal del útero, en el tercio distal con mayor grosor endometrial, desde el límite ecogénico del eco endometrial al límite contralateral, pudiendo valorar también el patrón y el flujo sanguíneo endometrial, sub-endometrial y uterino, así como la evaluación tridimensional del volumen endometrial.

La Histeroscopia (HSC) sigue siendo el *gold standard* en la evaluación de cavidad

uterina ya que brinda resultados diagnósticos por visualización directa y resolución de patología conocida u oculta, siendo la herramienta óptima para evaluar el endometrio. Asimismo la Histerosonografía, a pesar del sesgo de ser operador dependiente, representa actualmente un método sensible de diagnóstico en patología de cavidad endometrial.

En relación a la estimulación endometrial, en la actualidad, la evidencia no respalda ninguna estrategia en el manejo del endometrio fino que no responde a estímulo hormonal habitual estrogénico; han sido ampliamente evaluadas estrategias como suplementación de estrógenos a altas dosis y de larga duración, estrógenos por vía vaginal, hCG sistémica, filgrastim intrauterino, análogos de GnRH, aspirinas, vitaminas, suplementos como L-arginina, pentoxifilina, sildenafil, células madre y trasplante uterino^(11,12).

Existe en la literatura, evidencia científica que demuestra un potencial beneficio del Plasma Rico en Plaquetas (PRP) autólogo sobre el endometrio, al ser instilado localmente en la cavidad del útero⁽¹³⁻¹⁵⁾. Su efecto sobre el mismo puede traducirse en un aumento en el espesor y/o en cambios que favorezcan la correcta implantación embrionaria. El presente estudio piloto de carácter retrospectivo, busca evaluar los potenciales beneficios del Plasma Rico en Plaquetas endometrial, como tratamiento médico en endometrios finos que no presentan respuesta a los ciclos sustituidos hormonales habituales, pudiendo registrar resultados en el uso de esta técnica, como factor sinérgico en el desarrollo endometrial esperable.

Se ha demostrado en la literatura el beneficio del PRP en la reparación y regeneración de tejidos, en oftalmología, odontología y en traumatismos musculares y

óseos, cuando se lo inyecta intraarticular en casos de artrosis, en el crecimiento celular cuando se le agrega a los medios de cultivo, demostrando que los factores de crecimiento favorecen la regeneración tisular⁽¹⁶⁻²⁰⁾.

El PRP es un concentrado de plasma, con un nivel 3 a 5 veces superior de plaquetas, que el habitual en sangre. Se prepara a partir de sangre completa fresca que contiene varios factores de crecimiento y citocinas, incluido el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento endotelial vascular (VGEF), el factor de crecimiento transformante (TGF), el factor de crecimiento similar a la insulina. I, II (IGF-I, II), factor de crecimiento de tejido conectivo (CTGF) e interleucina 8 (IL-8) que al ser liberados, ejecutan múltiples funciones relacionadas con reparación local de tejidos, homeostasis y neovascularización, entre otras. Al activar las plaquetas con Cloruro Cálcico, Heparina y Ozono, liberan estos Factores de Crecimiento en el tejido donde se aplica⁽¹³⁾.

Chang et al. (2015) investigaron si la infusión de P.R.P podría beneficiar a mujeres infértiles con grosor endometrial inferior a 7 mm. A cinco pacientes con ciclos cancelados de transferencia embrionaria por respuesta endometrial deficiente (<7mm) se las sometió a infusión de PRP después de 10 días de tratamiento hormonal sustituido con 12 mg de valerato de estradiol; a las 72hs se realizaba un control ecográfico y si el endometrio persistía <7mm de grosor, se realizaba una 2ª infusión intrauterina de PRP. Las cinco pacientes lograron un grosor endometrial > 7 mm, y todos estaban embarazadas después de la transferencia de embriones, con cuatro embarazos en curso y un aborto espontáneo temprano secundario a aneuploidía embrionaria⁽¹³⁾.

El PRP al ser autólogo evita la posibilidad de reacciones inmunológicas provocadas por su aplicación; si bien no podrían descartarse en forma absoluta los efectos adversos de su uso, experiencias previas demuestran tratarse de un método seguro y sólo en muy raras ocasiones, se podría asociar a infecciones en la zona de aplicación y los riesgos relacionados con la venopunción, pudiendo existir efectos aún no descritos de la aplicación del PRP.

OBJETIVO

El objetivo principal consistió en desarrollar un estudio piloto para la evaluación del uso de Plasma Rico en Plaquetas, como factor sinérgico en el desarrollo endometrial, en un grupo de pacientes de Halitus Instituto Médico, con endometrios finos que no habían respondido a ciclos sustituidos hormonales habituales.

Los objetivos secundarios fueron la evaluación de la tasa de implantación (definida

por BhCG positiva) y la tasa de embarazo clínico (definido como gestaciones en las que se ha confirmado la presencia de latido cardíaco y saco gestacional intrauterino, mediante la ecografía de la semana 6-7 de embarazo) en pacientes en tratamiento con el Plasma Rico en Plaquetas, luego de la transferencia de embriones criopreservados o tratamientos de ovodonación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio piloto observacional retrospectivo, grupo único de pacientes con endometrio fino refractario a tratamientos hormonales habituales, con evaluación de muestras pareadas, mediante revisión sistemática y análisis de variables, cuantitativas y cualitativas, dicotómicas y nominales, en base de datos Excel diseñada para la investigación (*Tabla 1*).

El período de estudio comprendido fue desde diciembre 2018 a julio 2020 e incluyó a 22 pacientes menores de 50 años,

Tabla 1. Análisis de Variables

VARIABLE	TIPO	UNIDAD DE MEDIDA VALORES DE VARIABLE
HISTEROSCOPIA NORMAL	CUALITATIVA DICOTOMICA	0 NO 1 SI
CICLOS PREVIOS SUSTITUIDOS CANCELADOS	CUALITATIVA NOMINAL	0 Ninguno 1 Uno 2 Más de uno
CRECIMIENTO ENDOMETRIAL II VISITA	CUALITATIVA DICOTOMICA	0 NO 1 SI
CRECIMIENTO MEDIDO EN MM POSTERIOR A 1º INSTILACION	MEDIDA	ENDOMETRIO EN MM
CRECIMIENTO ENDOMETRIAL III VISITA	CUALITATIVA DICOTOMICA	0 NO 1 SI
CRECIMIENTO MEDIDO EN MM POSTERIOR A 2º INSTILACION	MEDIDA	ENDOMETRIO EN MM
IMPLANTACION	CUALITATIVA DICOTOMICA	0 NO 1 SI
EMBARAZO CLINICO	CUALITATIVA DICOTOMICA	0 NO 1 SI

a las que se les indicó tratamiento con PRP endometrial por antecedente de endometrio fino refractario, en dos ciclos sustituidos hormonales habituales, con absorción farmacológica adecuada, evaluada mediante análisis complementario de estradiol sérico >150 pg/ml y con evaluación de cavidad uterina que descartara alteración anatómica o patología oculta, en plan de transferencia embrionaria, en estadio de blastocisto, tanto con gametos propios como donados.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN PARA INDICACIÓN DE TRATAMIENTO CON PRP ENDOMETRIAL

Criterios de inclusión

- EDAD < 50 años
- Dos ciclos sustituidos hormonalmente en forma habitual con persistencia de endometrio fino y con adecuada absorción de estrógenos evaluada por estradiol serológico.
- Evaluación y confirmación de la normalidad de la cavidad uterina, ya sea por medio de HSC, histerosonografía o histerosalpingografía, en los últimos tres meses.

Criterios de exclusión

- Adenomiosis severa
- Pacientes con malformación uterina presente y/o corregida
- Personas con antecedentes de Hepatitis B, hepatitis C, VIH, HTLV I/II
- Infección bacteriana activa.
- Trombocitopenia (recuento plaquetario menor a $150.000/mm^3$)
- Hipercolesterolemia (colesterol total mayor a 200 mg/dl)
- Hipertrigliceridemia (triglicéridos mayor a 150 mg/dl)

Procedimiento

Para indicación de ciclos sustituidos

hormonales y uso de PRP endometrial, la paciente fue evaluada ecográficamente próxima a privar, o día 1-2 del ciclo menstrual, momento en que se realizó una ecografía transvaginal, con el propósito de valorar el estado basal del ciclo menstrual (en pacientes que mantenían ciclos regulares o en aquellas que privaban con anticonceptivos orales, se evaluó que el endometrio fuera lineal y no presentara folículos ováricos residuales).

El ciclo sustituido hormonal para preparación endometrial habitualmente utilizado en nuestro centro médico, comprende el uso de valerato de estradiol en dosis de 8 mg/día vía oral, repartido en dos tomas diarias de 4 mg cada 12 hs, comenzando el segundo día del ciclo menstrual. La medicación se indica por un período de 11 a 13 días, en esa instancia, se cita a la paciente a consulta médica para la realización de una segunda ecografía transvaginal con evaluación de grosor y aspecto endometrial como así también la evaluación de inhibición del eje hipotálamo hipofisario. Constatándose ausencia de actividad folicular dominante; la paciente el mismo día de la ecografía realiza un análisis de sangre con dosaje de estradiol sérico para valorar absorción farmacológica del valerato de estradiol. Si en esta primera evaluación el grosor endometrial es adecuado (>7 mm trilaminar) y valores de estradiol sérico son aceptables (>150 pg/ml) se programa inicio de progesterona para transferencia embrionaria.

Si el endometrio es fino pero los valores de estradiol sérico son aceptables (>150 pg/m) se cita a la paciente en 7 días posteriores a la extracción sanguínea para nueva evaluación ecográfica endometrial y de laboratorio. Si en esa nueva cita el grosor endometrial supera los 7 mm se concluye que la paciente requiere mayor tiempo de

exposición a tratamiento hormonal sustituido para alcanzar el objetivo de tratamiento.

Si los valores de estradiol sérico NO son aceptables (es decir <150 pg/ml) se indica aumento de dosis en el tratamiento sustituido hormonalmente de la siguiente manera: valerato de estradiol en dosis de 8 mg/día vía oral, repartido en dos tomas diarias de 4 mg cada 12hs y se adicional 4 mg de valerato de estradiol vía vaginal. Se cita a la paciente 7 días posteriores a la extracción sanguínea para nueva evaluación ecográfica endometrial y de laboratorio; si en esa nueva cita el grosor endometrial supera los 7 mm y el rango de estradiol sérico es adecuado (es decir supera los 150 pg/ml) se concluirá que la paciente requiere mayor dosis de tratamiento hormonal sustituido para alcanzar el objetivo de tratamiento.

Si el grosor endometrial con las dos opciones terapéuticas descritas persistiera menor a 7 mm, se procede a cerrar el ciclo hormonal sustituido indicando durante 10 días: valerato de estradiol 2 mg cada 12 hs vía oral junto con acetato de norestisterona 10 mg vía oral por día para repetir el ciclo de estimulación endometrial al privar nuevamente. El segundo ciclo de estimulación dependerá de los resultados de estradiol sérico registrados en el primer ciclo de prueba ya que si los valores se encontraron dentro de un rango aceptable (estradiol sérico > 150 pg/ml) el ciclo sustituido se repite sin modificar dosis iniciales de valerato de estradiol ni tiempo de exposición hormonal para la cita para evaluación ecográfica endometrial, utilizando el ciclo sustituido hormonal habitual en nuestro centro. En caso de haber registrado valores subóptimos de estradiol sérico (<150 pg/ml) se considerará aumentar dosis de valerato de estradiol (8 mg/día vía oral, repartido en dos diarias de 4 mg cada 12hs y

se adicional 4 mg de valerato de estradiol vía vaginal o bien 2 *puff* de gel dérmico) desde el inicio del ciclo.

Ante persistencia de endometrio fino en un segundo ciclo de prueba sustituido, se indica evaluación y confirmación de la normalidad de la cavidad uterina, ya sea por medio de HSC, histerosonografía o histerosalpingografía, en los últimos tres meses; se presenta el caso al grupo de investigadores y se propone a la paciente el uso experimental de PRP endometrial con potencial beneficio en casos de endometrio fino refractario a tratamientos hormonales habituales (*Algoritmo 1*).

CICLO SUSTITUIDO CON PRP ENDOMETRIAL

A las 22 pacientes que recibieron PRP endometrial, evaluadas en este estudio, se les indicaron ciclos sustituidos hormonales habituales con valerato de estradiol en dosis de 8 mg/día, a partir del día 2 del ciclo, en 2 tomas diarias de 4 mg vía oral cada 12hs.

Preparación y aplicación del PRP

Una vez iniciado su ciclo menstrual se citaron a las pacientes para realización de ecografía transvaginal que confirmara estado basal del ciclo menstrual para inicio de ciclo sustituido.

Para la instilación de PRP endometrial, se indicó ayuno de sólidos y lácteos de 6hs, dieta baja en grasas el día anterior y evitar aspirina 7 días previos (para no interferir con el procesamiento de la muestra); las enfermeras realizaron una extracción sanguínea de 10 ml sangre periférica, por venopunción y dicha muestra se colocó en dos tubos con Citrato de Sodio para entrega y procesamiento en laboratorio de HALITUS Instituto Médico, por personal especializado. En una primera instancia se

centrifugaron a 1200 rpm durante 12 minutos las muestras obtenidas.

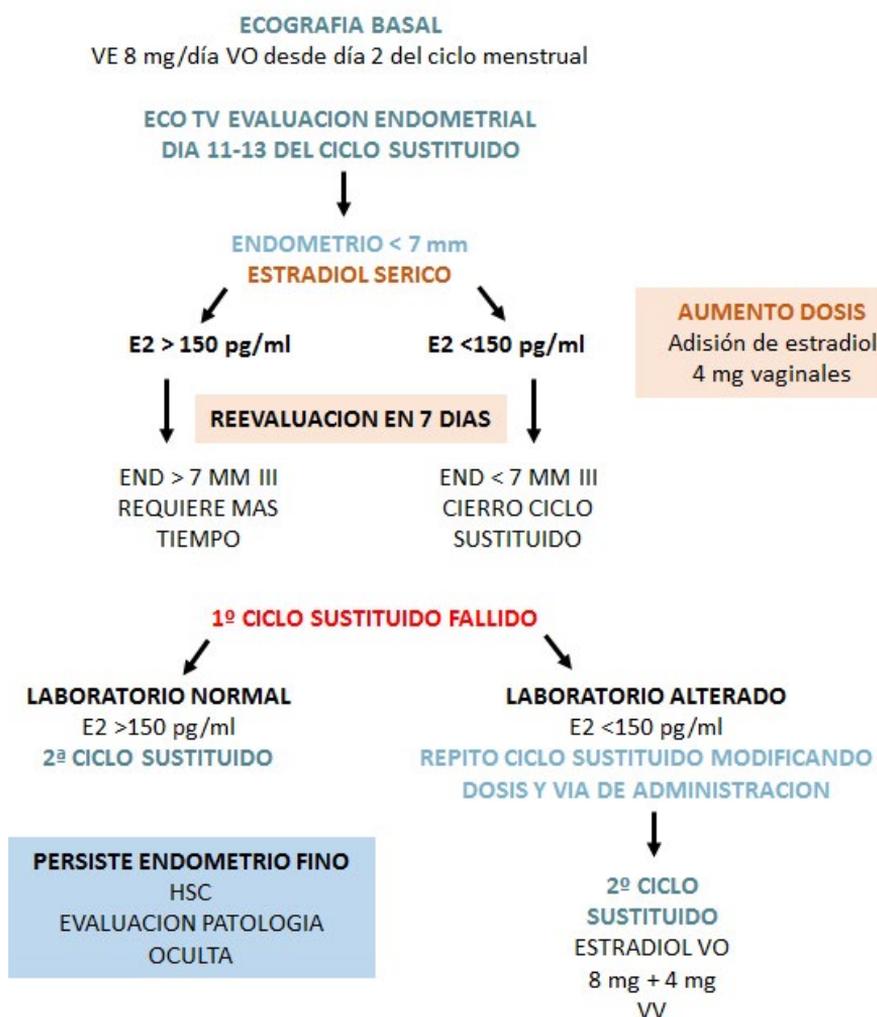
El sobrenadante (fracción de plasma) de ambos tubos se transfirió con una pipeta de plástico a un nuevo tubo cónico para centrífugas estéril, donde se centrifugó a 2500 rpm durante 10 minutos adicionales.

Las dos terceras partes superiores del sobrenadante se descartaron y se obtuvo en cada caso, 0.9 ml de la fracción inferior del sobrenadante.

El plasma rico en plaquetas fue activado con 0,1 ml de cloruro de calcio al 10%, justo antes de la instilación endometrial, evitando la gelificación de dicha solución dentro del catéter, a fin de no interferir con su aplicación.

La aplicación del PRP endometrial se realizó de forma ambulatoria, en consultorio; para ello se indicó a la paciente colocarse en posición ginecológica, se le realizó especuloscopia, asepsia cervico vaginal

Algoritmo 1. Ciclo Sustituido Hormonal Habitual.



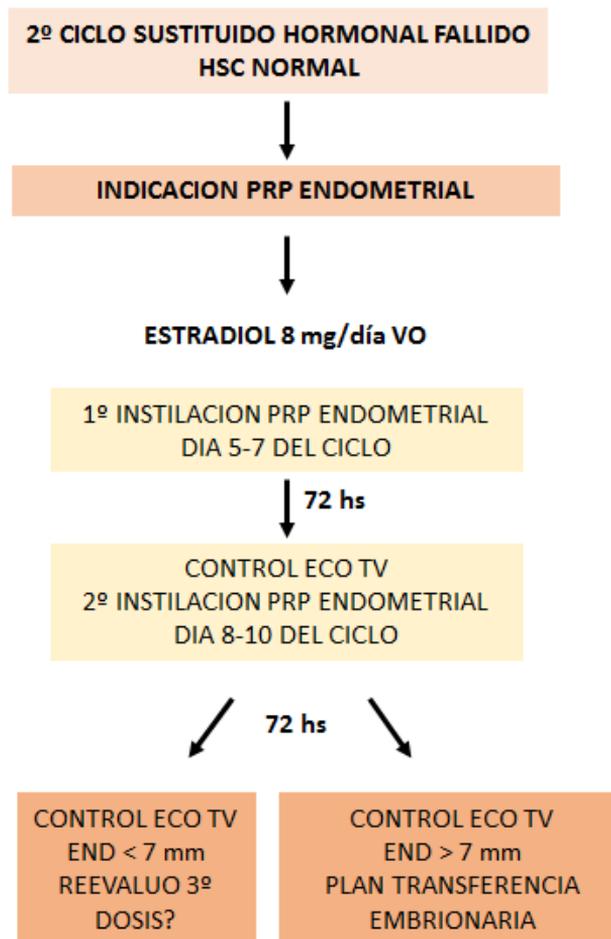
Algoritmo 1. Ciclo Sustituido Hormonal Habitual. VE: Valerato de estradiol; VO: vía oral; ECO TV: ecografía transvaginal; E2: estradiol; HSC: histeroscopia

con solución fisiológica y con catéter *Soft Pass* se instiló intrauterino el volumen de 0.9 ml de plasma y 0.1 ml del activador cloruro de calcio procesado previamente. Se indicó posterior a la instilación reposo de 5 minutos, realizando la primera aplicación en fase proliferativa, entre los días 5 a 7 del ciclo menstrual. A las 72 hs las pacientes recibieron una segunda dosis de PRP endometrial con evaluación ecográfica previa a cada instilación. La paciente que recibió este tratamiento fue reevaluada 72 hs posteriores a la segunda instilación para valorar en esa instancia grosor

y aspecto endometrial, con consecuente inicio de progesterona intravaginal para transferencia embrionaria en caso de haber logrado endometrio mayor a 7 mm Trilaminar (*Algoritmo 2*).

En caso de no lograr el objetivo con las dos dosis de PRP endometrial recibidas, se evaluó requerimiento de tercer dosis de PRP endometrial personalizado y la paciente fue citada para control ecográfico cada 48 hs en al menos dos citas más, a fin de valorar si ese caso requería más tiempo para lograr el objetivo.

Algoritmo 2. CICLO DE PRP ENDOMETRIAL.



VO: vía oral, ECO TV: ecografía transvaginal

RESULTADOS

Se revisaron los resultados obtenidos en las 22 pacientes que aplicaron para tratamiento de Plasma Rico en plaquetas endometrial. De este grupo de mujeres 54,54% (12 pacientes) tenían antecedentes de gestas previas, 45,45% (10 pacientes) de las 22 pacientes presentaban antecedentes de abortos y sólo 27,27% (6 pacientes) de ellas presentaban antecedentes de recién nacidos. Entre los antecedentes quirúrgicos: histeroscopias 36,36% (8 pacientes), cesáreas 36,36% (8 pacientes), laparoscopías 13,63% (3 pacientes) y conización 4,54% (1 paciente). El peso promedio de las pacientes fue de 58.04 kg y la talla promedio 161.86cm. (*Gráfico 1,2*)

Respecto a las causas de infertilidad 95,45% de ellas (21 pacientes) presentaban baja reserva ovárica y 4,54% (1 paciente) ESCA. Asimismo de las 22 sólo 22,72% (5 pacientes) presentaban factor masculino asociado.

Entre los antecedentes de tratamientos previos 59,09% (13 pacientes) realizaron ICSI con óvulos propios, 22,72% (5 pacientes) de los 13 casos con transferencia

embrionaria en día 3 y 31,81% (7 pacientes) en día 5.

Del total de pacientes 68,18% (15 pacientes) realizaron ciclo de ovodonación todas con al menos una transferencia embrionaria en día 5 y el 13,63% (3 pacientes) de ellas adicionalmente con transferencia embrionaria en día 3.

El ciclo sustituido de todas las pacientes fue con valerato de estradiol 8 mg vía oral. Una de las pacientes requirió asimismo instilaciones de filgrastim indicadas por grupo de inmunología y 15 de ellas vasodilatadores vaginales sildenafil 100 mg/día.

La presencia de endometrio fino estaba presente en el 100% de las pacientes y un 18,18% (4 pacientes) de ellas, no presentaba el endometrio de morfología trilaminar.

Las transferencias embrionarias fueron todas realizadas en estadio de blastocisto.

El grosor endometrial promedio previa instilación fue de 5.9 mm (4.4 – 6.8 mm) y post instilaciones de 7.2 mm (6.3-8.7 mm) trilaminar (*Gráfico 3*).

La Tasa de Implantación fue del 63,63% (14 pacientes) y de las 22 pacientes: un

Gráfico 1. Gestas Previas
GESTAS

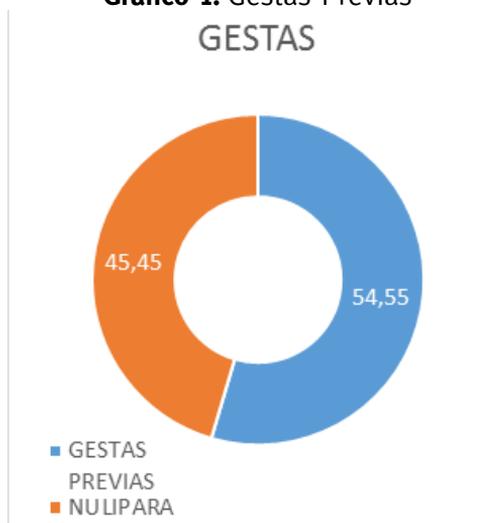
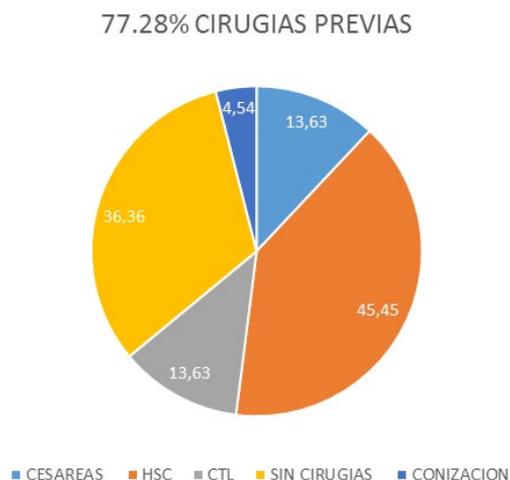


Gráfico 2. Antecedentes de Cirugías Previas
77,28% CIRUGIAS PREVIAS



50% (11 pacientes) logró embarazo clínico, con un 40% (9 pacientes) de recién nacidos vivos y sanos y un 13,63% (3 pacientes) abortos bioquímicos.

DISCUSIÓN

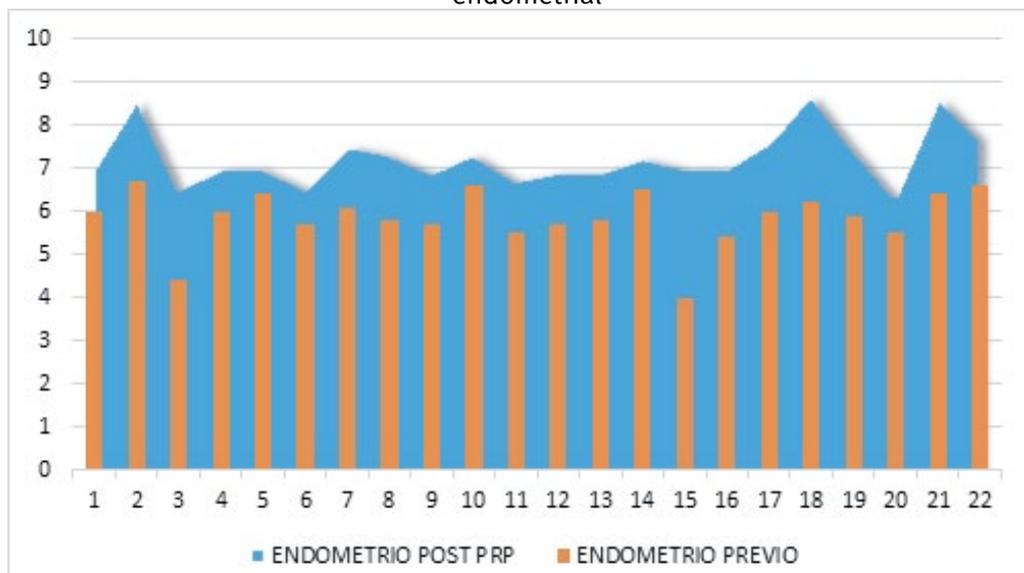
El tratamiento del endometrio fino refractario a tratamientos hormonales habituales sigue siendo incierto y variable, sin respaldo científico que destaque beneficios en las distintas propuestas, ni personalice los casos. En nuestra experiencia, el uso de PRP endometrial como factor sinérgico en el desarrollo endometrial, demostró ser una alternativa potencialmente efectiva para este grupo de pacientes obteniendo en todos los casos el aumento del grosor endometrial, y consecuentemente con la presunción de que endometrios mayores a 7mm y de aspecto trilaminar, incrementan las tasas de implantación y embarazo, pudimos ver reflejada esa concordancia en nuestros resultados.

Las limitaciones de esta revisión incluyen el carácter retrospectivo y el uso de

otras terapias concomitantes recibidas por algunas de nuestras pacientes, como vasodilatadores y filgrastim, indicadas previamente por causas subyacentes de estudios moleculares endometriales. Sin embargo el grupo de pacientes que recibía estas medicaciones, pertenecía asimismo al grupo de pacientes con endometrio fino refractario a tratamientos hormonales habituales; consideramos que sería pertinente en el futuro valorar el uso de PRP endometrial sin este tipo de terapias conjuntas para determinar si las modificaciones en grosor y aspecto endometrial, como en la tasa de implantación y embarazo, con uso de PRP endometrial conjuntamente con valerato de estradiol, requieren o no el uso de otro tipo de medicamentos en el ciclo sustituido.

Este estudio piloto fue diseñado para probar la integridad del protocolo de estudio, formularios y procedimientos, estimar tasa de reclutamiento y aceptabilidad y valorar el potencial beneficio del uso de Plasma Rico en Plaquetas endometrial en endometrios finos refractarios a tratamientos

Gráfico 3. Resultados con el uso de PRP endometrial en relación al grosor endometrial



hormonales habituales; actualmente se encuentra en vías de presentación a Comité de Ética un estudio prospectivo con esta característica que esperamos poder realizar en HALITUS próximamente.

CONCLUSIÓN

La utilización de PRP endometrial en este grupo de pacientes demostró un efecto favorable en cuanto al grosor endome-

trial, su morfología, aumentando en forma significativa la tasa de implantación y embarazo.

Si bien son pocos los casos presentados, esta técnica se vislumbra como prometedora en este grupo de pacientes con endometrio fino, refractarias a los tratamientos habituales, siendo necesario aumentar la casuística y randomizar grupos de pacientes para evaluar si se mantiene la tendencia.

REFERENCIAS

1. El - Toukhy T, et al. The relationship between endometrial thickness and outcome of medicated frozen embryo replacement cycles. *Fertil Steril* 2008; 89:832-9.
2. Richter KS, et al. Relationship between endometrial thickness and embryo implantation, based on 1294 cycles of in vitro fertilization with transfer of two blastocyst-staged embryos. *Fertil Steril*. 2007; 87:53-9
3. Check, J.H., Lurie, D., Dietterich, C., Callan, C., Baker, A. Adverse effect of a homogeneous hyperechogenic endometrial sonographic pattern, despite adequate endometrial thickness on pregnancy rates following in-vitro fertilization. 1993. *Hum. Reprod.* 8, 1293–1296.
4. Lebovitz O et al. Treating patients with “thin” endometrium - an ongoing challenge. *Gynecol Endocrinol*. 2014 Jun;30 (6):409-14. doi: 10.3109/09513590.2014.906571. Epub 2014 Apr 2.
5. Dix, E., Check, J.H. Successful pregnancies following embryo transfer despite very thin late proliferative endometrium. 2010. *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.* 37, 15–16
6. Kasius, A., Smit, J.G., Torrance, H.L., Eijkemans, M.J., Mol, B.W., Opmeer, B.C., Broekmans, F.J. Endometrial thickness and pregnancy rates after IVF: a systematic review and meta-analysis. 2014. *Hum. Reprod. Update* 20, 530–541
7. Galliano, D., Bellver, J., Díaz-García, C., Simon, C., Pellicer, A. ART and uterine pathology: how relevant is the maternal side for implantation? 2015. *Hum. Reprod. Update* 21, 13–38.
8. Schipper, E., Valle, R.F., Nezhat, C. Intrauterine Adhesions: Hysteroscopic Evaluation and Treatment, Prevention and Management. 2010. 3rd Ed. Society of Laparoscopic Surgeons. 1–3.
9. Hooker, A.B., Lemmers, M., Thurkow, A.L., Heymans, M.W., Opmeer, B.C., Brölmann, H.A., Mol, B.W., Huirne, J.A. Systematic review and meta-analysis of intrauterine adhesions after miscarriage: prevalence, risk factors and longterm reproductive outcome. 2014. *Hum. Reprod. Update* 20, 2062– 2078.
10. Salzani, A., Angerame, D., Erbolato, J.R., BedOne, A.J., Urban, I.M. Prevalence of uterine synechia after evacuation curettage abortion. 2007. *Sao Paulo Med. J.* 125, 261–264
11. Juan A Garcia-Velasco. Strategies to manage refractory endometrium: state of the art in 2016. *Reproductive BioMedicine Online* (2016) 32, 474–489
12. Giulia Mariani et al. Estrategias de mejora de la receptividad endometrial. *Revista Iberoamericana de Fertilidad y Reproducción Humana / Vol. 34 n° 1 Enero-Febrero-Marzo 2017*

13. Chang Y., Li J., Chen Y., Wei L., Yang X., Shi Y., et al. Autologous platelet-rich plasma promotes endometrial growth and improves pregnancy outcome during in vitro fertilization. *Int J Clin Exp Med.* 2015; 8(1):1286–1290.
14. Leila Nazari M.D et al. Effects of autologous platelet-rich plasma on implantation and pregnancy in repeated implantation failure: A pilot study. *Int J Reprod BioMed* Vol. 14. No. 10. pp: 625-628, October 2016
15. M. A.Santana Suárez, M.Álvarez Sánchez, Y. Machado Rider, C. Pérez Matos, A. Torres Afonso, L. Roldán Gutiérrez. Treatment with rich platelets autologous plasma in a sterile patient with suspected refractory endometrium. *Revista Iberoamericana de Fertilidad y Reproducción Humana / Vol. 34 nº 2 Abril-Mayo-Junio 2017*
16. Christgau M, Moder D, Hiller KA, Dada A, Schmitz G and Schmalz G. Growth factors and cytokines in autologous platelet concentrate and their correlation to periodontal regeneration outcomes. *J Clin Periodontol* 2006; 33: 837-845.
17. Vogrin M, Ruprecht M, Crnjac A, Dinevski D, Krajnc Z and Recnik G. The effect of platelet-derived growth factors on knee stability after anterior cruciate ligament reconstruction: a prospective randomized clinical study. *Wien Klin Wochenschr* 2010; 122 Suppl 2: 91-95.
18. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent* 2001; 10: 225-228. [15] Alio JL, Arnalich-Montiel F and Rodriguez AE. The role of “eye platelet rich plasma” (E-PRP) for wound healing in ophthalmology. *Curr Pharm Biotechnol* 2012; 13: 1257-1265.
19. Nagata MJ, de Campos N, Messori MR, Pola NM, Santinoni CS, Bomfim SR, Fucini SE, Ervolino E, de Almeida JM, Theodoro LH and Garcia VG. Platelet-rich plasma, low-level laser therapy, or their combination promotes periodontal regeneration in fenestration defects: a preliminary in vivo study. *J Periodontol* 2014; 85: 770- 778.
20. Dr Claudio Mingo Saluzzi, Dr. Martin Pombo, Dr. Lazaro Larrabe. TRABAJO DE ACTUALIZACIÓN “Plasma rico en plaquetas en cirugía ortopédica y traumatológica.” *ARTROSCOPIA | VOL. 14, Nº 2 : 145-151 | 2007*

Prevalencia de anomalías uterinas en estudios de histerosalpingografía virtual por tomografía computada

Prevalence of Uterine Anomalies in Computed Tomography Virtual Hysterosalpingography Studies

Carrascosa Patricia¹, Capuñay Carlos¹, Carpio Jimena¹, Papier Sergio², Baronio Mariano²

1- Diagnóstico Maipú-DASA, Vicente López, Buenos Aires, Argentina

2- CEGYR, CABA, Buenos Aires, Argentina

RESUMEN

Pregunta de estudio: Es la histerosalpingografía virtual por tomografía computada (HSGV-TC) un estudio por imágenes útil para el diagnóstico de malformaciones uterinas?

Respuesta resumida: La HSGV-TC es una modalidad de diagnóstico por imágenes útil para la detección y caracterización de anomalías uterinas, brindando además en un único examen información de la cavidad uterina y permeabilidad tubaria.

Lo que ya se sabe: hace más de 10 años la HSGV-TC ha demostrado su utilidad y buen desempeño en la correcta valoración del aparato reproductor femenino, obteniendo resultados ventajosos frente a otros métodos.

Diseño del estudio: Estudio retrospectivo observacional sobre la base de datos de pacientes que realizaron HSGV-TC desde enero 2010 hasta diciembre 2019 en nuestra institución.

Materiales y Métodos: Un total de 11.512 pacientes con sospecha o diagnóstico de infertilidad desde enero 2010 a diciembre 2019 fueron estudiadas con una HSGV-TC

ABSTRACT

Study question: *Is the computed tomography virtual hysterosalpingography (CT-VHSG) a useful imaging study for the diagnosis of uterine malformations?*

Summary answer: *CT-VHSG is a useful imaging modality for the detection and characterization of uterine anomalies, also providing information on the uterine wall and cavity and tubal patency in a single examination.*

The already known: *More than 10 years ago, CT-VHSG has demonstrated its usefulness and good performance in the correct evaluation of the female reproductive system, obtaining advantageous results compared to other methods.*

Study design: *The following is a retrospective observational study based on data from patients who underwent CT-VHSG from January 2010 to December 2019 at our institution.*

Materials and Methods: *11512 patients with suspected or diagnosed infertility from January 2010 to December 2019 were studied with a CT-VHSG between days 6 and 11 of the menstrual cycle.*

entre los días 6 y 11 del ciclo menstrual. Las imágenes son reprocesadas en una estación de trabajo utilizando diferentes algoritmos de reconstrucción.

Resultados: Se estudiaron 11512 pacientes con una edad media de 35.7 +/- 4.8 años. La dosis media de radiación fue de 0.6 +/- 0.2 mSv. Se encontraron anomalías uterinas en 459 de las pacientes (4%), entre las cuáles se incluyen 171 pacientes con útero arcuato, 46 con útero unicornio, 34 con útero bicorne, 101 con útero septado parcial, 85 con útero septado completo y 13 con útero didelfo.

Limitaciones del estudio: el presente estudio no presenta correlación con un método de referencia como la resonancia magnética de pelvis.

Implicancias de los hallazgos: La HS-GV-TC no sólo nos brinda información de la permeabilidad tubaria, sino que permite evaluar de forma más integral a la mujer en edad fértil en relación a la detección y caracterización de malformaciones uterinas.

Palabras clave: malformación uterina, histerosalpingografía virtual, infertilidad, tomografía computada, cuerpo uterino, prevalencia.

The images are reprocessed on a workstation using different reconstruction algorithms.

Main results: 11512 patients with a mean age of 35.7 +/- 4.8 years were studied. The mean radiation dose of the studies was 0.6 +/- 0.2 mSv. Uterine abnormalities were found in 459 of the patients (4%), including 171 patients with an arcuate uterus, 46 with a unicornuate uterus, 34 with a bicornuate uterus, 101 with a partial septate uterus, 85 with a complete septate uterus, and 13 with didelphus uterus.

Study limitations: the present study does not show a correlation with a reference method such as magnetic resonance imaging of the pelvis.

Wider implications of the findings: show that CT-VHSG not only provides us with information on tubal patency, but also allows us to evaluate women of childbearing age in a more comprehensive way, such as the detection and characterization of uterine malformations.

Key words: uterine malformation, virtual hysterosalpingography, infertility, computed tomography, uterine body, prevalence.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha demostrado que la histerosalpingografía virtual (VHSG) es una técnica de diagnóstico por imágenes útil para el diagnóstico de diversas patologías uterinas, entre ellas miomas uterinos, sinequias, pólipos endometriales y malformaciones congénitas, además de permitir una completa visualización del cuello uterino y las trompas de Falopio. Este estudio presenta ventajas respecto a la histerosalpingografía convencional, no solo por la mejor tolerancia de la paciente sino también por el menor discomfort y radiación^(1,2).

Existen múltiples tipos de anomalías mullerianas en ginecología, algunas de las cuales pueden provocar pérdidas recurrentes del embarazo, infertilidad o parto prematuro. Debido a que el enfoque terapéutico para estas entidades es bastante diferente, es importante identificar claramente la malformación presente^(3,4,5).

El objetivo del presente trabajo es demostrar el rol y las características imagenológicas de la HSG-V en la evaluación de malformaciones uterinas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de once mil quinientos doce pacientes (edad media: 35.7 +/- 4.8 años) con sospecha o diagnóstico de infertilidad desde enero 2010 a diciembre 2019 fueron estudiadas con una HSGV-CT entre los días 6 y 11 del ciclo menstrual, utilizando cortes de 0,9 mm espesor, 0,45 mm corrida de mesa, pitch 0,64; tiempo de rotación del gantry de 0,5 segundos; 120 kV y 100-150 mAs, con una duración promedio de cada escaneo de 3,5 segundos. Para la visualización de la cavidad uterina se instila dentro de la misma 10-20 ml de una solución de contraste iodado de baja osmolaridad a través de una bomba de

inyección. La paciente se recuesta sobre la camilla del tomógrafo en posición ginecológica, se procedió a la asepsia de la región perineal con posterior colocación del espéculo. Una vez ubicado el orificio cervical externo, se realizó la asepsia del mismo y se coloca un catéter plástico de fino calibre a través del cual se instila la dilución de contraste. Las imágenes obtenidas son reprocesadas en una estación de trabajo utilizando diferentes algoritmos de reconstrucción y un médico especialista en diagnóstico por imágenes y ampliamente familiarizado con la técnica determinó la presencia de malformaciones uterinas.

RESULTADOS

Se estudiaron 11512 pacientes. Se encontraron anomalías uterinas en 459 de las pacientes (4%), entre las cuáles se incluyen 171 pacientes con útero arcuato (Fig.1), 46 con útero unicornio (Fig.2), 34 con útero bicorne (Fig.3), 101 con útero septado parcial, 85 con útero septado completo (Fig.4) y 13 con útero didelfo (Fig.5). La dosis media de radiación de los estudios fue de 0.6 +/- 0.2 mSv. No se observaron complicaciones en las pacientes estudiadas.

DISCUSIÓN

La HSG-V es un procedimiento ambulatorio no invasivo, que no requiere sedación ni anestesia. La técnica se basa en la adquisición de imágenes multiplanares que permiten una mejor definición del contorno externo del cuerpo uterino, superando claramente la resolución espacial del estudio radiológico convencional, el cual es un examen biplanar.

Su utilidad y desempeño en la valoración del aparato ginecológico ha presentado resultados sumamente ventajosos. Las malformaciones uterinas son anomalías

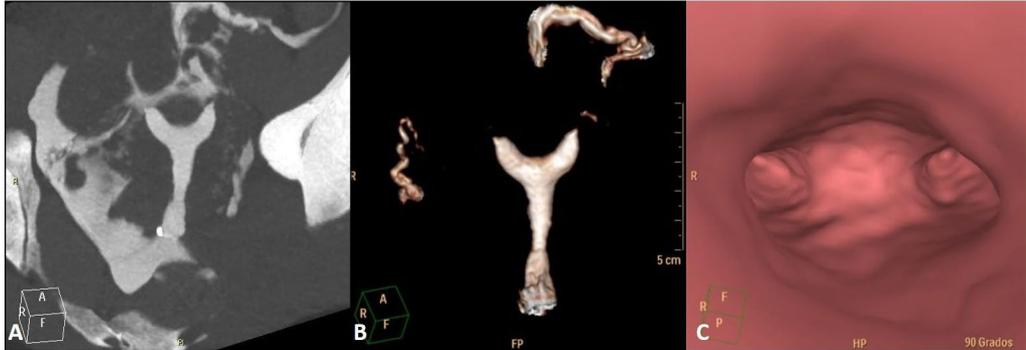


Fig 1. Útero arcuato. Imagen coronal en máxima intensidad de proyección (A), representación de volumen (B) e imagen de endoscopía virtual (C) que muestran la concavidad menos de 10 mm en la zona media del fondo del útero, resultado de una reabsorción casi completa del tabique medial.

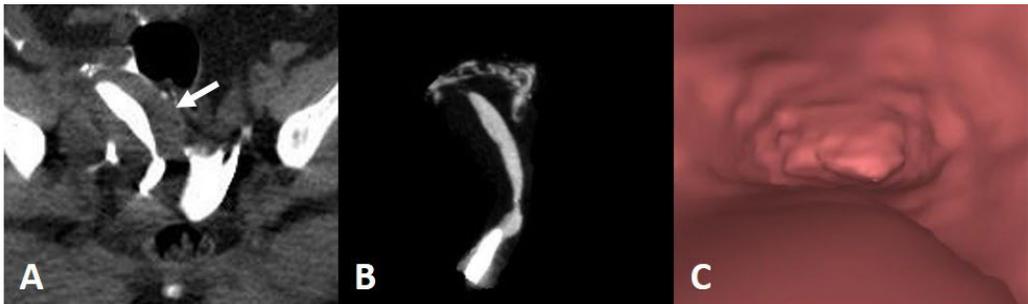


Fig 2. Útero unicorne. Imagen axial (A) e imagen coronal en máxima intensidad de proyección (B) que muestran cavidad uterina pequeña, de forma alargada (flecha), lateralizada a derecha e imagen de endoscopía virtual (C) mostrando la presencia de una cavidad endometrial tubular, con un solo cuerno uterino.

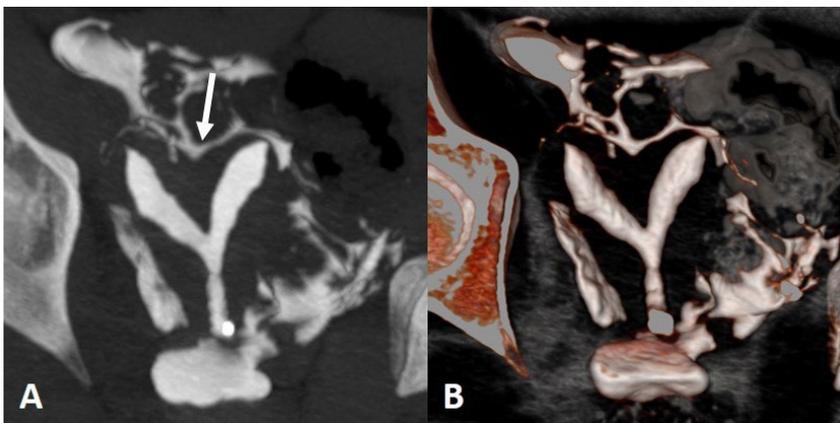


Fig 3. Útero bicorne. Imagen coronal en máxima intensidad de proyección (A) y representación de volumen (B) que muestran dos cavidades endometriales divergentes y la presencia de concavidad externa (flecha) del fondo uterino de grado variable.



Fig 4. Útero septado completo. Imagen coronal en máxima intensidad de proyección (A) que muestra presencia de septo/tabique que discurre en la región medial de la cavidad endometrial, representación de volumen (B) e imagen de endoscopía virtual (C) que muestran dos cavidades uterinas separadas divergentes con un ángulo intercornual menor a 90° y orificio cervical externo único.

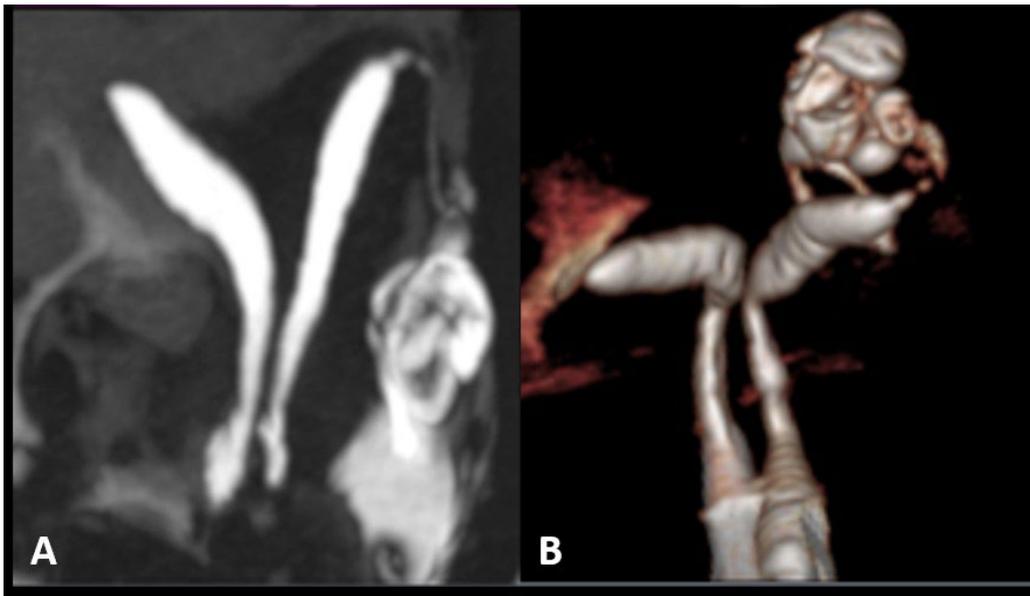


Fig 5. Útero didelfo. Imagen coronal en máxima intensidad de proyección (A) y representación de volumen (B) que muestran dos cuernos uterinos separados y divergentes con cavidades uterinas no comunicantes y dos cuellos uterinos separados. Ambos son canalizados independientemente para su correcta opacificación.

que se originan durante el desarrollo de los conductos paramesonéfricos y se caracterizan por fallas en la fusión de estas estructuras en la línea media cuando se conectan al seno urogenital. Ocurren por alteraciones en la formación de la luz vaginal superior y uterina, y también por la

no absorción del septo en la fusión de los conductos^(5,6).

La gran diversidad de malformaciones uterinas genera no solo muchas dudas diagnósticas en el campo de la medicina reproductiva sino también en las técnicas terapéuticas a utilizar.

La VHSG en nuestra experiencia ha dado resultados satisfactorios para poder distinguir las diferentes entidades.

Una limitación del trabajo es que sólo se trata de un estudio observacional, sin correlación con un método de referencia como la resonancia magnética de pelvis⁽⁷⁾.

CONCLUSIÓN

La HSG-V es una modalidad útil en el diagnóstico y caracterización de malformaciones uterinas. Tanto las reconstrucciones tridimensionales con ventana de partes blandas como las imágenes virtuales brindaron un diagnóstico preciso en la extensión y localización de este tipo de patología.

REFERENCIAS

1. Carrascosa P, Capuñay C, Vallejos J, et al. Virtual hysterosalpingography: a new multidetector CT technique for evaluating the female reproductive system. *Radiographics*. 2010;30:643–61.
2. Carrascosa P, Capuñay C, Vallejos J, et al. Virtual hysterosalpingography: experience with over 1000 consecutive patients. *Abdom Imaging*. 2011;36(1):1–14.
3. Pizzo, A.S.Lagana, E. Sturlese, G.Retto, A.Retto, R. De Dominici, et al. Mayer-Rokitansky-Kuster-Hauser síndrome: embryology, genetics and clinical and surgical treatment. *ISRN Obstet Gynecol*, 2013, p. 628717
4. H.W.Jones Jr. Reproductive impairment and the malformed uterus. *Fertil Steril*, 36 (2) (1981), pp.137-148
5. Chan YY, Jayaprakasan K, Zamora J, et al. The prevalence of congenital uterine anomalies in unselected and high-risk populations: a systematic review. *Hum Reprod Update*. 2011;17(6):761–71.
6. Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Katanok K, et al. Uterine anomaly and recurrent pregnancy loss. *Semin Reprod Med*. 2011;29(6):514–21.
7. Bermejo C, MartínezTen P, Cantarero R, Díaz D, Pérez Pedregosa J. Three-D ultrasound in the diagnosis of uterine anomalies and concordance with magnetic resonance imaging. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2010;35:593–601.

Niveles de progesterona sérica y tasa de embarazo en receptoras de ovocitos

Serum progesterone levels and pregnancy rate in oocyte recipients

Devenuto, Luciana María; García del Carril, Ignacio; Sdrigotti, Agostina; Ferle Luciana; Salama, Enrique; Fernández Micaela

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

RESUMEN

Pregunta de estudio: ¿Influyen los niveles de progesterona sérica el día de la transferencia embrionaria en las tasas de embarazo en receptoras de ovocitos?

Respuesta resumida: Los niveles de progesterona sérica iguales o superiores a 9 ng/ml se asociaron significativamente a mayores tasas de embarazo clínico y de implantación.

Lo que ya se sabe: Debido a las propiedades inmunomoduladoras de la progesterona, se postula que la disminución en la receptividad endometrial podría deberse a un tiempo de exposición insuficiente a dicha hormona, un nivel sérico disminuido, o ambos. En este sentido, numerosas publicaciones demostraron que valores por debajo de un umbral se asocian a peores resultados reproductivos.

Diseño del estudio: Estudio de cohorte prospectivo. Incluyó 36 pacientes receptoras de ovocitos que realizaron transferencia embrionaria de junio 2018 a diciembre 2019.

Materiales y métodos: Se analizaron 19 pacientes con valores de progesterona

ABSTRACT

Study question: Do serum progesterone levels on the day of the embryo transfer have an impact on pregnancy rates among oocyte recipients?

Summary answer: Serum progesterone levels equal to or greater than 9 ng/ml were significantly associated with higher clinical pregnancy and implantation rates.

What is known already: Due to the immunomodulatory properties of progesterone, it is postulated that decreased endometrial receptivity could be due to insufficient exposure time to that hormone, a decreased serum level, or both. In this regard, numerous publications have shown that values below a threshold are associated with poorer reproductive outcomes.

Study design: Prospective cohort study that included 36 oocyte recipient patients who performed embryo transfer from June 2018 to December 2019.

Materials and methods: Nineteen patients with serum progesterone levels < 9 ng/ml (group I) and seventeen patients

sérica < 9 ng/ml (grupo I) y 17 pacientes con valores \geq 9 ng/ml (grupo II). Los ciclos de preparación endometrial fueron artificiales. Se indicó progesterona vía vaginal a dosis de 600 mg/día; y la determinación sérica fue realizada 1 hora previa a la embriotransferencia.

Resultados: La tasa de embarazo clínico fue del 21% (4/19) en pacientes pertenecientes al grupo I y de 53% (9/17) en pacientes pertenecientes al grupo II, $p=0.03$; mientras que la tasa de implantación fue del 20% (4/20) y 48% (12/25) respectivamente, $p=0.03$.

Limitaciones: El estudio se llevó a cabo con un tamaño muestral reducido. La medición sérica de los niveles de dicha hormona el día de la transferencia embrionaria no constituyen una práctica habitual, dada la gran variabilidad interindividual, así como también la falta de correlación con las concentraciones sanguíneas.

Implicancias de los hallazgos: Estos resultados podrían ser de utilidad para la optimización e individualización de la fase lútea en transferencias embrionarias.

Palabras clave: Progesterona, embarazo, donación de ovocitos

with levels \geq 9 ng/ml (group II) were analyzed. All the endometrial cycles were artificially prepared. Progesterone was indicated vaginally at a dose of 600 mg/day; and serum determination was performed one hour prior to embryo transfer.

Main results: *The clinical pregnancy rate was 21% (4/19) for group I and 53% (9/17) for group II, $p=0.03$; while the implantation rate was 20% (4/20) and 48% (12/25) respectively, $p=0.03$.*

Limitations: *This study was conducted with a small sample size. The measurement of serum progesterone levels on the embryo transfer day is not a common practice, given the large inter-individual variability, as well as the lack of correlation with blood concentrations.*

Wider implications of the findings: *These findings could be useful for the optimization and individualization of the luteal phase in patients undergoing embryo transfer.*

Key words: *Progesterone, pregnancy, oocyte donation*

INTRODUCCIÓN

La transferencia embrionaria es una etapa clave en los tratamientos de reproducción asistida, cuyo éxito se encuentra estrechamente relacionado a la correcta sincronización entre el embrión y el endometrio. Si bien se puede realizar en ciclo natural, en la mayoría de los casos la preparación del endometrio se realiza en forma artificial con estrógenos y progesterona, garantizando la proliferación del endometrio y la apertura de la ventana implantatoria⁽¹⁾.

La receptividad endometrial es un proceso biológico en el que el epitelio endometrial adquiere un estado funcional y transitorio que permite la adhesión del blastocisto. Conocido como “la ventana de la implantación”, este periodo se inicia tras 4-5 días y finaliza después de 9-10 días de producción o administración de progesterona, creando así una ventana de receptividad fisiológica limitada a los días 19-24 del ciclo menstrual⁽²⁾.

La disminución de la receptividad endometrial podría deberse a un tiempo de exposición de progesterona insuficiente, un nivel sérico insuficiente o ambos. En este sentido, Yovich y colaboradores, reportaron un intervalo óptimo de niveles de progesterona entre 20 y 39 ng/ml, fuera de los cuales, la tasa de implantación se redujo en forma significativa⁽³⁾. Más recientemente, Labarta y colaboradores, demostraron que niveles inferiores a 9.2 ng/ml, se asociaron a menores tasas de embarazo evolutivo en pacientes receptoras de ovocitos⁽¹⁾.

Las diferencias en las vías de administración y dosis entre los trabajos publicados; sumado a las variaciones biológicas de las hormonas por diferencias en su captación, absorción y metabolismo, hacen que los niveles apropiados de progesterona sérica, sean aún motivo de debate^(4,5).

Por este motivo, nos proponemos analizar en forma prospectiva, si existe asociación entre los niveles de progesterona sérica y los resultados reproductivos, en pacientes receptoras de ovocitos.

El objetivo primario de este estudio es evaluar y comparar las tasas de embarazo clínico entre las pacientes con valores de progesterona sérica por debajo 9 ng/ml (grupo I) y aquellas con valores ≥ 9 ng/ml (grupo II). Como objetivos secundarios, evaluaremos las tasas de implantación y aborto en ambos grupos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio de cohorte prospectivo en el que se incluyeron 36 pacientes que realizaron transferencia embrionaria del programa de ovodonación de junio 2018 a diciembre 2019.

Criterios de inclusión

- Primer o segunda embriotransferencia de ovodonación.
- Transferencia de embrión en fresco o criopreservado.
- Transferencia de al menos un blastocisto de buena calidad.
- Endometrio de al menos 7 mm trilaminar en la última ecografía de control.
- IMC menor de 30 kg/m²

Criterios de exclusión

- Aborto recurrente: pérdida de 3 o más embarazos clínicos menores a 20 semanas de gestación (embarazo documentado por ecografía o examen histológico).
- Falla de implantación: imposibilidad de lograr un embarazo clínico después de la transferencia de al menos 4 embriones en fresco o criopreservados, de buena calidad en un mínimo de 3 ciclos en menores de 40 años.
- Factor masculino severo $<1.000.000/ml$,

<1% de espermatozoides normales.

- Utilización de espermatozoides testiculares.
- Utilización de ovocitos vitrificados.
- Patología uterina: malformaciones müllerianas, pólipos endometriales, miomas submucosos.
- Presencia de hidrosálpinx.
- Utilización de técnicas agregadas: embrioglué, assisted hatching, test genético preimplantatorio (PGT).
- Pacientes que hayan realizado el estudio de receptividad endometrial (ERMAP).

Procedimientos

Todos los ciclos de preparación endometrial fueron artificiales, se comenzó con estradiol desde el día 2 o 3 del ciclo vía oral, 6 mg diarios 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. Con endometrio de al menos 7 mm y patrón trilaminar, las pacientes se encontraban en condiciones de realizar la transferencia embrionaria. Las pacientes recibieron progesterona durante 5.5 días, en forma intravaginal y en dosis de 600 mg diarios repartidos en 3 veces (8-16-24hs). La primera dosis fue la noche anterior a la punción de la donante (00 hs). La dosis número 16 de progesterona, la recibieron la noche anterior a la transferencia.

La extracción de sangre para la medición de progesterona, se realizó una hora antes de la transferencia embrionaria, luego de la recepción en quirófano, en el laboratorio CEUSA situado en el tercer piso de Bulnes 1102. Dicha práctica fue autorizada por las pacientes bajo consentimiento verbal, luego de brindar información respectiva al procedimiento a cargo de cada

equipo médico.

La transferencia embrionaria se llevó a cabo en quirófano central bajo guía ecográfica transabdominal siguiendo los protocolos habituales del procedimiento. La elección del catéter utilizado quedó bajo criterio del médico de cabecera. Los blastocistos fueron categorizados por los biólogos de nuestro centro de acuerdo a la clasificación de Gardner.

Definición de tasas

- Tasa de embarazo clínico: número de pacientes con ecografías transvaginales que evidencian embrión/es con actividad cardíaca positiva/ número de transferencias realizadas x 100.
- Tasa de implantación: número total de sacos gestacionales/número total de embriones transferidos x100.
- Tasa de embarazo: número de pacientes con subunidad beta HCG mayor a 50 UI/ml / número de transferencias realizadas x 100
- Tasa de aborto: número total de pérdidas intrauterinas <10 semanas de gestación/ número de embarazos x100

Estimación del tamaño muestral

Para detectar un 20% de diferencia (35-55%) entre 2 grupos de acuerdo a los niveles séricos de progesterona en un test a dos colas (con 80% de poder y 95% de confianza), se requieren 200 pacientes, 100 en cada rama.

Análisis estadístico

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

Se incluyeron un total de 36 pacientes receptoras de ovocitos, a las cuales se les realizó transferencia de embriones en fresco o criopreservados, con una media de progesterona sérica de 8.27 ± 2.65 ng/l. 19 pacientes pertenecían al grupo I (valores de progesterona sérica < 9 ng/ml) y 17 pacientes al grupo II (valores de progesterona sérica ≥ 9 ng/ml). Con respecto a la calidad embrionaria, el 50% de embriones transferidos en el grupo I, correspondió a la clasificación 4BB, según Gardner, mientras que en el grupo II, este porcentaje fue de un 36%. No hubo diferencias significativas en lo que respecta a calidad embrionaria entre ambos grupos (Tabla 1).

Se detectaron un total de 7 pacientes con

subunidad beta positiva en el grupo 1 y 11 pacientes en el grupo 2. La tasa de embarazo clínico fue del 21% (4/19) en pacientes con progesterona menor a 9 ng/ml y de 53% (9/17) en pacientes con progesterona mayor a 9 ng/ml, $p=0.03$, mientras que la tasa de implantación fue del 20% (4/20) y 48% (12/25) respectivamente, $p=0.03$. (Tabla 2).

DISCUSIÓN

En la actualidad, la preparación artificial del endometrio en forma secuencial con estrógenos y progesterona, continúa siendo la práctica más habitual para la transferencia de embriones tanto en ciclos en fresco como criopreservados. Sin embargo, no existe un consenso acerca de cuál es la dosis, ruta de administración y esquema ideal para lograr un endometrio receptivo^(6,7). En este sentido, la administración vaginal de estrógenos y progesterona, parecería ser la más apropiada debido a que no sólo evita

Tabla 1. Características generales de ambos grupos de pacientes

	NIVEL SÉRICO DE PROGESTERONA		
	GRUPO I: < 9 ng/ml	GRUPO II: ≥ 9 ng/ml	<i>p</i>
NÚMERO DE PACIENTES (n)	19	17	
EDAD (media \pm desvío estándar)	43.05 ± 3.15	43.1 ± 4.28	0.9
DÍAS DE ESTRADIOL (media \pm desvío estándar)	20.26 ± 4.22	19.76 ± 4.45	0.7
GROSOR ENDOMETRIAL (mm) (media \pm desvío estándar)	8.51 ± 1.51	8.7 ± 1.67	0.7
PROGESTERONA (ng/ml) (media \pm desvío estándar)	6.30 ± 1.82	11.79 ± 3.32	< 0.001
NÚMERO DE TRANSFERENCIA DE OD† (media \pm desvío estándar)	1.26 ± 0.45	1.29 ± 0.46	0.8
ET* FRESCO n (%)	12 (63.16)	12 (70.59)	0.6
ET* CRIOPRESERVADO n (%)	7 (36.84)	5 (29.41)	
SEMEN FRESCO n (%)	16 (84.21)	16 (94.12)	0.4
SEMEN BANCO n (%)	3 (15.79)	1 (5.88)	

*ET: embriotransferencia; †OD: ovodonación

Tabla 2. Resultados

	NIVEL SÉRICO DE PROGESTERONA		
	GRUPO I: <9 ng/ml	GRUPO II: ≥9 ng/ml	<i>p</i>
TASA DE EMBARAZO (%)	7/19 (36.5)	11/17 (64.7)	0.09
TASA DE ABORTO (%)	3/7 (42.8)	2/11 (18.18)	0.04
TASA DE EMBARAZO CLÍNICO (%)	4/19 (21)	9/17 (53)	0.03
TASA DE IMPLANTACIÓN (%)	4/20 (20)	12/25 (48)	0.03

el paso hepático sino que provee niveles de esteroides séricos y tisulares más elevados y estables que la administración oral, intramuscular o subcutánea⁽⁷⁾.

Si bien la evaluación ecográfica del endometrio, continúa siendo la herramienta más comúnmente utilizada para monitorizar el crecimiento endometrial y programar las transferencias embrionarias, parecería ser insuficiente a la hora de predecir la probabilidad de embarazo una vez alcanzadas las características apropiadas de grosor y patrón endometrial. Por otro lado, debido a la variabilidad interindividual y entre los niveles séricos y uterinos, la medición de los niveles en sangre de progesterona no constituye una práctica habitual, habiéndose encontrado concentraciones uterinas hasta 10 veces más altas que las séricas⁽⁸⁾. Sin embargo, recientemente se informó un rango de concentraciones de progesterona en suero durante el período de implantación que se asoció con tasas óptimas de nacidos vivos, que sería de 70-99 nmol/l con una tasa del 50%⁽³⁾.

En este sentido Labarta y cols. analizaron en forma prospectiva 211 pacientes receptoras de ovocitos en quienes se midieron los niveles séricos de progesterona el día de la transferencia embrionaria tras preparación artificial del ciclo con estrógenos orales y progesterona vaginal, encontrando una diferencia estadísticamente significativa en la tasa de embarazo evolutivo en pacientes con niveles séricos

de progesterona por debajo de 9.2 ng/ml (32.7% versus 52.8%); $p=0.016$. Además, en este trabajo no se observó asociación entre el volumen endometrial y el nivel sérico de progesterona, lo que sugiere que, una vez que se alcanza el grosor endometrial mínimo, los niveles séricos de progesterona en el día de la transferencia son más predecibles para el embarazo que las evaluaciones ecográficas del endometrio más exhaustivas⁽¹⁾.

Por su parte, Brady y cols. reportó una menor tasa de embarazo clínico (RR=0.75 IC 95% [0.6-0.94], $p=0.01$), y nacidos vivos (RR=0.77 IC 95% [0.6-0.98], $p=0.04$) en pacientes receptoras de ovocitos con niveles séricos de progesterona menores 20 ng/ml, en quienes la preparación endometrial se realizó con progesterona intramuscular⁽⁹⁾.

Más recientemente, Cedrin analizó 250 pacientes que realizaron transferencia de embriones criopreservados tras la preparación endometrial con estrógenos orales y progesterona vaginal, encontrando en aquellas que presentaban niveles séricos por debajo de <10 ng/ml, una menor tasa de embarazo (34% versus 48%, $P=0.04$) y de nacidos vivos (17% versus 31%, $p=0.01$)⁽⁷⁾.

Tras haberse analizado los resultados de este estudio y los reportados por otros investigadores, se considera que el nivel de progesterona en sangre el día de la transferencia de embriones podría constituir un

factor pronóstico para el éxito de los tratamientos de reproducción asistida y podría utilizarse para individualizar los esquemas de preparación endometrial aumentando la dosis de progesterona vaginal en aquellas pacientes que no logran los valores séricos apropiados el día de la transferencia. Por otro lado, considerando que la concentración media de nuestra población fue de 8.2 ng/ml, parecería que la administración habitual de 600 mg diarios de progesterona vaginal, sería insuficiente.

Los mecanismos que podrían explicar el amplio rango en los niveles de progesterona en sangre a pesar de la administración de la misma dosis en todos los pacientes aún no están claros. Hay varias teorías propuestas acerca de las vías de administración tanto oral o parenteral en donde en primer lugar probablemente se requiera un umbral de progesterona a alcanzar más alto que la vía vaginal, debido a la ausencia de primer paso en el útero. Con respecto a la vía vaginal se ha demostrado que las relaciones sexuales reducen los niveles de progesterona después de la administración vaginal⁽¹⁰⁾. Finalmente, estas variaciones también se observan tras la administración de progesterona por vía parenteral^(9,5) por lo que podrían estar relacionadas con variaciones en el metabolismo.

CONCLUSIÓN

A pesar de contar con un tamaño muestral reducido, detectamos que niveles de progesterona sérica iguales o superiores a 9 ng/ml el día de la transferencia embrionaria, se asociaron a mayores tasas de embarazo clínico y de implantación, siendo ambas estadísticamente significativas a favor del grupo II. Asimismo, aquellas pacientes con valores por debajo de 9 ng/ml presentaron una mayor tasa de aborto.

En este sentido, la incorporación rutina-

ria de la medición de la progesterona sérica podría ser una herramienta útil en la optimización de los ciclos de transferencia en este grupo de pacientes, en quienes la administración de progesterona es indispensable para el logro y mantenimiento del embarazo.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos especialmente a las pacientes que participaron de este estudio, implicando estricta puntualidad en el turno asignado de transferencia embrionaria; así como también a la colaboración por parte del personal de quirófano y equipos médicos intervinientes.

Agradecimiento especial al laboratorio CEUSA por la toma de muestra, análisis e informe precoz de los resultados obtenidos.

REFERENCIAS

1. Labarta E, Mariani G, Holtmann N, Celada P, Remohí J, Bosch E. Low serum progesterone on the day of embryo transfer is associated with a diminished ongoing pregnancy rate in oocyte donation cycles after artificial endometrial preparation: a prospective study. *Hum Reprod.* 2017;32: 2437–2442.
2. Martín J, Domínguez F, Ávila S, Castrillo JL, Remohí J, Pellicer A, et al. Human endometrial receptivity: gene regulation. *J Reprod Immunol.* 2002;55: 131–139.
3. Yovich JL, Conceicao JL, Stanger JD, Hinchliffe PM, Keane KN. Mid-luteal serum progesterone concentrations govern implantation rates for cryopreserved embryo transfers conducted under hormone replacement. *Reprod Biomed Online.* 2015;31: 180–191.
4. Paulson RJ, Collins MG, Yankov VI. Progesterone pharmacokinetics and pharmacodynamics with 3 dosages and 2 regimens of an effervescent micronized progesterone vaginal insert. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99: 4241–4249.

5. Kofinas JD, Blakemore J, McCulloh DH, Grifo J. Serum progesterone levels greater than 20 ng/dl on day of embryo transfer are associated with lower live birth and higher pregnancy loss rates. *J Assist Reprod Genet.* 2015;32: 1395–1399.
6. Groenewoud ER, Cohlen BJ, Macklon NS. Programming the endometrium for deferred transfer of cryopreserved embryos: hormone replacement versus modified natural cycles. *Fertil Steril.* 2018;109: 768–774.
7. Cédric-Durnerin I, Isnard T, Mahdjoub S, Sonigo C, Seroka A, Comtet M, et al. Serum progesterone concentration and live birth rate in frozen–thawed embryo transfers with hormonally prepared endometrium [Internet]. *Reproductive BioMedicine Online.* 2019. pp. 472–480. doi:10.1016/j.rbmo.2018.11.026
8. De Ziegler D, Bulletti C, De Monstier B, Jääskeläinen AS. The first uterine pass effect. *Ann N Y Acad Sci.* 1997;828: 291–299.
9. Brady PC, Kaser DJ, Ginsburg ES, Ashby RK, Missmer SA, Correia KF, et al. Serum progesterone concentration on day of embryo transfer in donor oocyte cycles. *J Assist Reprod Genet.* 2014;31: 569–575.
10. Merriam KS, Leake KA, Elliot M, Matthews ML, Usadi RS, Hurst BS. Sexual absorption of vaginal progesterone: a randomized control trial. *Int J Endocrinol.* 2015;2015: 685281.

Resultados perinatales y complicaciones obstétricas de pacientes transferidas con embriones en fresco o criopreservados

Perinatal outcomes and obstetric complications of patients transferred with fresh or cryopreserved embryos

García Carolina, Estofan Lucas, Lofredo Mariana, Maccari Virginia, Ganzer Luciano, Hernández Mariana, Estofan Gustavo, Palena Celina

Centro Integral de Ginecología, Obstetricia y Reproducción (CIGOR) Córdoba, Argentina

RESUMEN

Pregunta de estudio: ¿Cuáles son los resultados perinatales y complicaciones del embarazo en transferencias de embriones en fresco (TF) y criopreservados (TEC)?

Respuesta resumida: Los recién nacidos de TEC tienen menor porcentaje de bajo peso al nacer, mayor riesgo de recién nacidos de peso alto, sin aumento en las complicaciones maternas.

Lo que ya se sabe: La TEC ofrece una tasa de embarazo por ciclo similar a las TF, con reducción de algunos riesgos obstétricos y mejores resultados perinatales en determinados grupos.

Diseño del estudio: Estudio observacional, analítico, retrospectivo, de corte longitudinal.

Materiales y Métodos: Se analizaron 1308 embarazos simples mayores a 22 semanas desde Enero 2010 a Diciembre de 2018. Se compararon TF y TEC de acuerdo a la edad de las pacientes, hasta 39 años y 40 años o más. Se analizaron los resultados perinatales y las complicaciones del embarazo. Se aplicaron el test de D'Agostino-Pearson, test de Mann-Whitney y Chi cuadrado.

ABSTRACT

Study question: What are the perinatal outcomes and pregnancy complications in fresh (TF) and frozen (TEC) embryo transfers?

Summary answer. TEC newborns have a lower percentage of low birth weight, higher risk of high birth weight newborns, with no increase in maternal complications.

What is known already. TEC offers a similar pregnancy rate per cycle to FT, with reduction of some obstetric risks and better perinatal outcomes in certain groups.

Study design. Observational, analytical, retrospective, longitudinal study.

Materials and methods. 1308 single pregnancies greater than 22 weeks from January 2010 to December 2018 were analyzed. TF and TEC were compared, according to the age of the patients, up to 39 years and 40 years or more. Perinatal outcomes and pregnancy complications were analyzed. The D'Agostino-Pearson test, Mann-Whitney test and Chi square were applied. P less than 0.05 was

Se consideró significativa una p menor a 0,05.

Resultados: Las pacientes de hasta 39 años con TEC tuvieron un riesgo menor de niños de bajo peso (OR 0,3323; IC 0,2201 a 0,5015; $p < 0.0001$) y un riesgo aumentado de peso alto (OR 2,8046; IC 1,7492 a 4,4968; $p < 0,0001$). En pacientes de 40 años o más, las TEC fueron comparables en los niños de bajo peso (OR 0,3170; IC 0,0827 a 1,2152; $p = 0.0938$) y tuvieron riesgo aumentado de niños de peso alto (OR 6,9565; IC 1,4549 a 33,2631; $p = 0.0151$). Las complicaciones del embarazo fueron significativamente mayores en TF que en TEC en pacientes de hasta 39 años ($p = 0,0355$). No se vio esta diferencia en pacientes de 40 años o más.

Limitaciones del estudio: Estudio retrospectivo y número bajo

Implicancias de los hallazgos: Diferir las transferencias sin aumentar riesgos obstétricos y perinatales.

Palabras clave: Transferencia diferida / transferencias de embriones criopreservados / peso al nacer / complicaciones obstétricas / resultados perinatales

considered significant.

Main results. *Patients up to 39 years of age with TEC had a lower risk of low birth weight newborns (OR 0.3323; CI 0.2201 to 0.5015; $p < 0.0001$) and an increased risk of high weight (OR 2.8046; CI 1.7492 to 4.4968; $p < 0.0001$). In patients 40 years of age or older, TEC were comparable in low birth weight newborns (OR 0.3170; CI 0.0827 to 1.2152; $p = 0.0938$) while they had an increased risk of high weight children (OR 6, 9565; CI 1.4549 to 33.2631; $p = 0.0151$). Pregnancy complications were significantly higher in TF than in TEC in patients up to 39 years of age ($p = 0.0355$). This difference was not seen in patients 40 years of age or older.*

Limitations. *Retrospective study, low case number*

Wider implications of the findings. *Defer transfers without increasing obstetric and perinatal risks.*

Key words: *delayed transfer / frozen embryo transfer / birth weight / obstetric complications / perinatal outcomes*

INTRODUCCIÓN

Desde el surgimiento de los tratamientos de reproducción asistida han nacido más de 5 millones de niños alrededor del mundo⁽¹⁾. El objetivo de estas técnicas es lograr el nacimiento de un recién nacido vivo sano con el menor número de complicaciones maternas.

Las transferencias embrionarias en los tratamientos de reproducción asistida de alta complejidad pueden ser realizadas durante el ciclo de estimulación ovárica, transferencia en fresco (TF), o diferirse en un ciclo posterior, transferencia de embriones criopreservados (TEC).

El primer nacimiento reportado de un embrión criopreservado fue en el año 1984⁽²⁾. Hasta ese entonces las transferencias de embriones eran realizadas en ciclos en fresco, pero con el tiempo las técnicas de criopreservación se han perfeccionado logrando mejores tasas de embarazo, lo que la convierte en una alternativa a la TF⁽³⁾. La TEC se puede realizar en un ciclo natural o en forma artificial mediante el uso de esteroides exógenos⁽⁴⁾.

La TEC ofrece ciertas ventajas respecto a la TF, ya que permite vitrificar los embriones en pacientes que no desarrollan endometrios óptimos durante la estimulación; reduce el riesgo de embarazo múltiple por la transferencia de menor número de embriones permitiendo la vitrificación de los restantes para tratamientos posteriores, y de esta manera aumentan la tasa acumulativa de embarazo; disminuye el riesgo de síndrome de hiperestimulación en pacientes que se embarazan con transferencia en ciclos en fresco y ofrece una tasa de embarazo por ciclo similar o ligeramente superior y con mejores resultados perinatales en determinados grupos^(5,6).

Existen varios estudios que muestran que en las TF, el estradiol sérico elevado en con-

diciones suprafisiológicas y la progesterona sérica elevada (mayor o igual a 1.5 ng/ml) el día de la administración de la gonadotropina coriónica humana (hCG) se correlacionan negativamente con la probabilidad de implantación embrionaria, el resultado perinatal, y con un mayor número de complicaciones obstétricas³. Se propone que estos niveles hormonales elevados generan una alteración de la receptividad endometrial y podrían alterar los procesos de invasión trofoblástica en el momento de la implantación y conducir a una placentación anómala⁽⁷⁻⁹⁾. Aunque, hay que tener en cuenta que los niveles hormonales alcanzados durante una estimulación ovárica moderada no han demostrado ejercer los mismos efectos deletéreos a nivel endometrial o perinatal que los de una estimulación ovárica excesiva^(10, 11).

En las TEC hay que tener en cuenta dos aspectos negativos que pueden existir como son las posibles modificaciones epigenéticas en los embriones inducidas por el proceso de congelación y descongelación, y el hecho que la transferencia se haga en un ciclo posterior supone para las parejas un tiempo de espera mayor hasta conseguir el embarazo^(3, 11).

En cuanto a los resultados perinatales y complicaciones obstétricas, comparando las dos técnicas se vio que la TEC parecería estar asociada a menor riesgo de placenta previa, de desprendimiento prematuro de placenta, parto inmaduro, de bajo y muy bajo peso al nacer, recién nacido pequeño para la edad gestacional y menor mortalidad perinatal en relación a la TF^(12, 12). Aunque se vio que eran más propensos a presentar estadios hipertensivos del embarazo, hemorragia postparto y recién nacidos grandes para la edad gestacional, no se vieron diferencias respecto a ruptura prematura de membranas, diabetes mellitus gestacional y parto pretérmino^(10, 12).

Aunque la TEC ha sido asociada con la reducción de algunos riesgos obstétricos, otros parecen estar incrementados.

Dado que en la actualidad existe una tendencia a la congelación embrionaria consideramos oportuno analizar cuáles son los riesgos obstétricos. El presente trabajo tiene por objeto estudiar los resultados perinatales y complicaciones obstétricas que existen en nuestra institución con ambas técnicas de transferencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional, analítico, retrospectivo, de corte longitudinal de pacientes que realizaron tratamiento en el período comprendido entre enero de 2010 y diciembre de 2018. La recolección de datos se obtuvo de las historias clínicas y fichas correspondientes a cada paciente.

Se incluyeron:

- Pacientes que lograron embarazo luego de TF o TEC
- Pacientes con embarazo evolutivo viable mayor o igual a las 22 semanas de gestación y/o con peso fetal mayor o igual a 500 gramos .
- Embarazos simples.
- En TEC, embriones que fueron congelados mediante técnica de vitrificación

Se excluyeron del estudio las pacientes embarazadas con óvulos donados, ciclos de PGT, embriones logrados con ovocitos vitrificados.

Estimulación Ovárica

Las pacientes fueron sometidas a estimulación ovárica controlada con esquema de antagonistas de la GnRH. La estimulación se realizó con gonadotrofinas, pudiendo ser FSH recombinante, FSH/LH urinaria o una combinación de ambas. La dosis diaria de estimulación con gonadotrofinas varió entre 150 UI a 375 UI. Se aplicó an-

tagonista de GnRH cuando el folículo de mayor tamaño llegó a los 15mm. La descarga de la ovulación se realizó con hCG urinaria 10000 UI intramuscular o coriogonadotropina alfa 250 µg subcutánea, entre 35-36 horas antes de la aspiración folicular. La descarga de la ovulación se realizó siempre que uno o más folículos presentaran diámetro de 17mm.

Laboratorio

Se utilizó medio de cultivo con hepes suplementado (Irvine SC) para la recuperación de ovocitos, procesamiento y resuspensión del semen e ICSI. Las muestras de semen fueron procesadas mediante técnica de Swim-up o gradientes de densidad (Isolate, Irvine SC). El cultivo de ovocitos y embriones se realizó en medios secuenciales (Sage), en microgotas individuales bajo aceite. La remoción de cúmulus se realizó inmediatamente después de la aspiración, momento en el que se clasificaron los ovocitos. El ICSI se realizó luego de unas 5 horas de cultivo desde la aspiración. Durante el ICSI, se seleccionaron los espermatozoides de acuerdo a su morfología y movilidad. Una vez elegidos se colocaron los ovocitos en la cápsula, se inyectaron y se llevaron nuevamente a cultivo. Luego de 17 horas se evaluó la sobrevida y fertilización. En todos aquellos casos que la transferencia embrionaria fuera diferida, o en caso de haber embriones viables además de los transferidos en fresco, la criopreservación se realizó por técnica de vitrificación.

Transferencia

La transferencia embrionaria se realizó en el día 3 a 5 de desarrollo, de uno o dos embriones. Se realizó en ciclo en fresco siempre que el grosor endometrial visualizado en último control ecográfico fuera

igual o mayor a 7 mm, presentara aspecto trilaminar, y ausencia de imágenes que alteran la cavidad como pólipos, miomas submucosos, y cuando las pacientes no tuvieran riesgo aumentado de presentar síndrome de hiperestimulación ovárica (combinación de estradiol máximo 3000 o mayor, 25-30 folículos desarrollados, y/o >20 ovocitos recuperados).

Las transferencias de embriones criopreservados se realizaron en ciclo natural modificado o en ciclo artificial. Se eligió ciclo natural modificado en pacientes con ciclos regulares, que lograron endometrio trilaminar con grosor igual o mayor a 7 mm, con desarrollo de un folículo dominante mayor a 17 mm; se descargó la ovulación con hCG urinaria 5000 UI pudiendo ser administrada subcutánea o intramuscular. La fase lútea se suplementó con progesterona vaginal micronizada 200 mg una vez por día.

El ciclo artificial implicó estradiol vía oral entre 4 y 8 mg día, durante un tiempo no menor a 7 días y no mayor a 21 días, hasta lograr un grosor endometrial igual o mayor a 7 mm y de aspecto trilaminar. La fase lútea se suplementó con progesterona vaginal micronizada 600 mg o progesterona en gel 8% una aplicación diaria. Se administraron en ambos casos una dosis de progesterona acorde al tiempo de evolución del embrión previo a la vitrificación.

Las transferencias se realizaron con cuatro distintos tipos de cánulas: Wallace Classic y Wallace Sure-Pro Ultra, Frydman Classic, y TDT set (CCD, Francia).

Análisis de datos y estadística

Se clasificó a las pacientes en dos grupos teniendo en cuenta si la transferencia fue realizada en fresco (TF) o con embriones criopreservados (TEC) y se las subdividió en base a la edad al momento de realizar

la transferencia, hasta 39 años inclusive y mayor o igual a 40 años. Los resultados de TF versus TEC se compararon dentro de cada grupo etario.

Se compararon las siguientes variables:

- Causas de la esterilidad: clasificadas según sea primaria o secundaria (en la mujer de la pareja) y según la etiología en femenina/edad materna avanzada, masculina, mixta o esterilidad sin causa aparente (ESCA).
- Semana de gestación a la que finalizó el embarazo, calculada desde la fecha de última menstruación.
- Sexo del recién nacido al nacer: masculino o femenino.
- Peso al nacer expresado en gramos.
- Peso en relación a la semana de gestación de finalización del embarazo y al sexo del recién nacido. Se los clasificó de acuerdo al percentil que corresponde a bajo peso para la edad gestacional <p10, normal peso para la edad gestacional entre p10-90 y grande para la edad gestacional cuando el peso >p90⁽¹⁵⁾.
- Complicaciones surgidas durante el embarazo teniendo en cuenta:
 - Diabetes Gestacional (DG): Disminución de la tolerancia a los Hidratos de Carbono (HC) que se diagnostica por primera vez durante la gestación, independientemente de la necesidad de tratamiento insulínico, grado del trastorno metabólico o su persistencia una vez finalizado el embarazo.
 - Estadios hipertensivos del embarazo: Hipertensión arterial que aparece después de las 20 semanas de gestación, donde se engloban las siguientes denominaciones: - Hipertensión gestacional (HG): proteinuria negativa y estudio Doppler uterino normal - Preeclampsia (PE): proteinuria positiva* o estudio Doppler uterino patológico. *Cuando

el diagnóstico de PE se establezca antes de las 37 semanas se optará por confirmación en orina de 24h. En el resto de casos el criterio de ratio ≥ 0.3 será suficiente - PE sobreañadida a hipertensión crónica: empeoramiento brusco de la HTA o aparición o empeoramiento de proteinuria o aparición de signos o síntomas de afectación multiorgánica en una paciente con HTA crónica o proteinuria previa. - Eclampsia: aparición de convulsiones tónico-clónicas o coma no atribuibles a otras causas - Síndrome HELLP: variante de la PE grave que se diagnostica cuando aparece: Hemólisis: LDH x2 veces el límite superior de normalidad (> 600 U/l), GOT o GPT x2 veces el límite superior de normalidad (> 70 U/l) y plaquetas $< 100.000/\mu\text{l}$. El síndrome se considera incompleto cuando falta alguno de los tres criterios.

- Ruptura prematura de membranas pretérmino (RPM) es la ruptura de las membranas ovulares antes del inicio del trabajo de parto, con la consiguiente salida de líquido amniótico y que se produce antes que el embarazo alcance las 37 semanas de gestación.
- Restricción de crecimiento intrauterino (RCIU): que se define como la presencia de un PFE (peso fetal estimado) inferior al percentil 3 o la presencia de PFE inferior al percentil 10 con alteración del flujo cerebro-umbilical o de las arterias uterinas.
- Parto pretérmino o prematuro: Parto que se produce antes de las 37 semanas cumplidas de gestación. Se lo clasifica en: parto inmaduro desde 22 a las 27.6 semanas, prematuro extremo desde 28 a las 31.6 semanas, prematuro moderado desde las 32 a las 33.6 semanas y prematuro cercano al término desde 34

a las 36.6 semanas.

- Colestasis Intrahepática: prurito palmo plantar que aparece durante la gestación, asociado a aumento progresivo de las sales biliares.
- Desprendimiento prematuro de placenta: es el desprendimiento de placenta que se produce antes del alumbramiento, pudiendo ser durante el transcurso del embarazo o durante el trabajo de parto.
- Placenta Previa: Es la inserción placentaria en el segmento uterino bajo en contacto u ocluyendo en forma parcial o total el orificio cervical interno.
- Anomalías congénitas: malformaciones funcionales o estructurales que ocurren durante la vida intrauterina y se manifiestan durante el embarazo, parto o momento posterior de la vida.

El análisis estadístico se realizó con MedCalc 10.2.

Se aplicó el test de D'Agostino-Pearson para evaluar la normalidad de la distribución de las variables. Se calculó promedio y desvío estándar para variables continuas. Los promedios se compararon con test de Mann-Whitney. Las distribuciones porcentuales se analizaron con Chi cuadrado. Se consideró p significativa menor a 0,05.

RESULTADOS

Aplicando los criterios de inclusión y exclusión, se obtuvo un total de 1308 pacientes con embarazos simples mayores a 22 semanas. De estas, 718 pacientes corresponden a transferencias realizadas en fresco, de las cuales 649 pacientes son de 39 años o menores y 69 tienen 40 años o más. Respecto a las transferencias de embriones criopreservados, el total es de 590 pacientes, de los cuales 531 pertenecen al grupo de menores de 39 años y 59

corresponden al grupo de edad mayor o igual a 40 años.

La tabla 1 muestra la edad y etiología de las pacientes. Los grupos fueron estadísticamente comparables en cuanto a los promedios de edad, la distribución de es-

terilidad primaria o secundaria, y la distribución de etiologías.

En 1288 pacientes se pudo recabar la fecha de nacimiento y calcular las semanas de gestación. Solo se observó una pequeña diferencia, aunque estadísticamente

Tabla 1. Edad, esterilidad y etiología de las pacientes

	Edad hasta 39 años			Edad 40 años o más		
	TF	TEC	p	TF	TEC	p
N	649	531		69	59	
Edad	38,1±2,4	34,0±3,4	p=0,1798	40,4±1,1	40,9±1,0	p=0,5110
Esterilidad femenina						
primaria	426 (66%)	374 (70%)	p=0,1886	42 (61%)	36 (61%)	p=0,9468
secundaria con hijos	117 (18%)	79 (15%)		13 (19%)	10 (17%)	
secundaria aborto	107 (16%)	78 (15%)		14 (20%)	13 (22%)	
Etiología			p=0,2230			p=0,1641
ESCA	63 (10%)	36 (7%)				
femenina/edad	178 (27%)	150 (28%)		40 (58%)	26 (44%)	
mixta	180 (28%)	139 (26%)		29 (42%)	33 (56%)	
masculina	228 (35%)	206 (39%)				

Tabla 2. Semanas de gestación, sexo de los bebés y peso al nacer

	Edad hasta 39 años			Edad 40 años o más		
	TF	TEC	p	TF	TEC	p
Semanas de gestación	38,1±2,4	37,9±2,1	p=0,0007	38,0±2,4	38,1±1,2	p=0,1931
Edad gestacional	38,1±2,4	34,0±3,4	p=0,1798	40,4±1,1	40,9±1,0	p=0,5110
prematureo extremo	7 (1%)	4 (1%)	p=0,5813	1 (1%)	0	p=0,4058
muy prematureo	13 (2%)	8 (2%)		0	0	
rematureo moderado	15 (2%)	14 (3%)		2 (3%)	0	
prematureo tardío	66 (10%)	68 (13%)		7 (10%)	5 (9%)	
término	539 (84%)	428 (82%)		59 (86%)	52 (91%)	
Sexo de los bebés						
Mujer	326 (53%)	285 (55%)	p=0,5077	40 (61%)	32 (55%)	p=0,5947
Varón	293 (47%)	235 (45%)		25 (38%)	26 (44%)	
Peso al nacer	3075±580	3219±565	p<0,0001	3086±550	3364±482	p=0,0112
Peso bajo	104 (17%)	33 (7%)	p<0,0001	10 (15%)	3 (5%)	p=0,0083
Peso normal	462 (75%)	408 (82%)		54 (82%)	43 (77%)	
Peso alto	47 (8%)	59 (12%)		2 (3%)	10 (18%)	

significativa entre el promedio de semanas de gestación de TF y TEC de las pacientes de hasta 39 años. En cambio, comparando ambos grupos no se vieron diferencias respecto a la edad gestacional al nacer.

En 1262 nacimientos contamos con la información del sexo al nacer. De estos, 683 fueron mujeres y 579 varones (54% y 46%, estadísticamente diferente al comparar con una distribución 50:50; $p=0.0422$). Al analizar el sexo de los recién nacidos de acuerdo a transferencia fresco versus criopreservados por edad materna, vemos que se distribuyen de manera comparable.

En 1262 nacimientos contamos con la información del peso al nacer. De acuerdo a esto, tanto en las pacientes de hasta 39 años como en las de 40 años o más, el peso absoluto promedio al nacer es significativamente menor en TF que en TEC.

En 1235 pacientes se pudo recabar juntos el sexo, peso al nacer y la fecha de nacimiento. De acuerdo a estos tres parámetros, 150 recién nacidos tuvieron bajo peso, 967 normo peso y 118 peso alto al nacer (12%, 78% y 10% respectivamente). Al comparar la distribución del peso al nacer entre los grupos, se observa que tanto

en las pacientes de hasta 39 años como en las pacientes mayores, los niños nacidos por TF tienden a una mayor proporción de neonatos de peso bajo y a una menor proporción de neonatos de peso alto.

De acuerdo a estos resultados, las pacientes de hasta 39 años que realizaron TEC tuvieron un riesgo menor de tener niños de bajo peso (OR 0,3323; IC 0,2201 a 0,5015; $p<0.0001$) y un riesgo aumentado de tener de peso alto (OR 2,8046; IC 1,7492 a 4,4968; $p<0.0001$). Por su parte, las pacientes de 40 años o más que realizaron TEC fueron comparables en tener niños de bajo peso (OR 0,3170; IC 0,0827 a 1,2152; $p=0.0938$) y un riesgo aumentado de tener niños de peso alto (OR 6,9565; IC 1,4549 a 33,2631; $p=0.0151$) (Tablas 3 y 4).

Se analizaron las complicaciones surgidas durante el embarazo, donde si bien se observaron un bajo número de complicaciones para analizar la incidencia por patología, se observó en pacientes de hasta 39 años, un mayor número de pacientes con complicaciones en TF que en TEC, resultando ser estadísticamente significativa ($p=0,0355$). No se vio esta diferencia en pacientes de 40 años o más (Tabla 5). No

Tabla 3. Odds ratio de TEC respecto a TF en pacientes de hasta 39 años

	OR	CI	p
prematureo extremo	0,6983	0,2033 - 2,3985	$p=0,5684$
muy prematureo	0,7507	0,3088 - 1,8251	$p=0,5269$
prematureo moderado	1,1483	0,5491 - 2,4012	$p=0,7133$
prematureo tardío	1,3026	0,9085 - 1,8678	$p=0,1504$
término	0,8532	0,6269 - 1,1612	$p=0,3127$
Mujer	1,0900	0,8626 - 1,3773	$p=0,4703$
Varón	0,9174	0,7261 - 1,1592	$p=0,4703$
Peso bajo	0,3323	0,2201 - 0,5015	$p<0,0001$
Peso normal	1,2575	0,9334 - 1,6941	$p=0,1319$
Peso alto	2,8046	1,7492 - 4,4968	$p<0,0001$
Una o más complicaciones	0,6966	0,5031 - 0,9647	$p=0,0295$

se encontró en ninguna paciente complicaciones relacionadas con la placenta, ya sea placenta previa o desprendimiento prematuro de placenta.

En las pacientes hasta 39 años con transferencia de embriones criopreservados se analizaron los resultados de acuerdo a si el ciclo fue natural o estimulado. Los porcentajes de peso al nacer bajo, normal y

alto fueron comparables entre estos grupos (respectivamente 5%, 83% y 13% y 4%, 86% y 10%; $p=0.8156$). En estos grupos, la proporción de pacientes con complicaciones fue respectivamente de 17% y 15%, estadísticamente comparables ($p=0.8194$).

También se analizaron en las pacientes jóvenes transferidas en fresco los resultados acorde al estradiol máximo. Se las

Tabla 4. Odds ratio de TEC respecto a TF en pacientes de 40 años o más

	OR	CI	p
Prematuro	0,5673	0,1821 - 1,7675	$p=0,3282$
Término	1,7627	0,5658 - 5,4919	$p=0,3282$
Mujer	0,7692	0,3747 - 1,5794	$p=0,4747$
Varón	1,3000	0,6332 - 2,6691	$p=0,4748$
Peso bajo	0,3170	0,0827 - 1,2152	$p=0,0938$
Peso normal	0,735	0,3046 - 1,7738	$p=0,4934$
Peso alto	6,9565	1,4549 - 33,2631	$p=0,0151$
Una o más complicaciones	1,3521	0,5296 - 3,4520	$p=0,5282$

Tabla 5. Complicaciones del embarazo

	Edad hasta 39 años			Edad 40 años o más		
	TF	TEC	p	TF	TEC	p
N	649	531		69	59	
Pacientes con una o más complicaciones	113 (17%)	68 (13%)	$p=0,0355$	10 (15%)	11(19%)	$p=0,6945$
Pacientes sin complicaciones	536 (83%)	463 (87%)		59 (85%)	48(81%)	
Incidencia / paciente(*)						
Diabetes gestacional	19 (2,9%)	19 (3,6%)		1 (1,4%)	5 (8,5%)	
E Hipertensivo de embarazo	42 (6,5%)	32 (6,0%)		3 (4,3%)	4 (6,8%)	
RCIU	22 (3,4%)	6 (1,1%)		1 (1,4%)	0	
R prematura membranas	11 (1,7%)	8 (1,5%)		3 (4,3%)	0	
colestasis	4 (0,6%)	2 (0,4%)		2 (2,9%)	1(1,7%)	
desprendimiento	7 (1,1%)	3 (0,6%)		0	0	
Otros	4 (0,6%)	2 (0,4%)		0	1(1,7%)	

(*) % pac/total pacientes (N bajo para comparar incidencia)

dividió en tres rangos de estradiol (E2 bajo: <1000, E2 medio: 1000 a <2000 y E2 elevado: 2000 o más). Los porcentajes de peso al nacer bajo, normal y alto fueron comparables: E2 bajo: 15%, E2 medio: 78% y 7%; 19%, 72% y 8%; E2 elevado: 17% 75% y 8% ($p=0.5090$). En estos grupos, la proporción de pacientes con complicaciones fue respectivamente de 20%, 17% y 14%, estadísticamente comparables ($p=0.2775$).

En las tablas 6 y 7 se detalla la información sobre muerte perinatal y anomalías congénitas de la población estudiada.

DISCUSIÓN

En el presente estudio se intenta comparar los resultados perinatales y las complicaciones surgidas en los embarazos luego de transferencias en fresco o diferida. Si bien en la actualidad existe una tendencia de congelación total y transferencia em-

Tabla 6. Descripción de la información recabada sobre muerte perinatal en la población estudiada

Pacientes	muerte perinatal	edad gestacional	Causa
Hasta 39 años, TF	Muerte neonatal	25	Infarto de placenta.
		25	Placenta previa oclusiva hemorragia
		27	sin datos
		29	Insuficiencia placentaria
	Nacido muerto	36	malformaciones esqueleticas multiples
		23	muerte fetal inexplicada
		26	Ruptura de membranas
		26	alteraciones fenotipicas sindromicas (sin estudio)
		30	Sindrome de goldenhar severísimo
		37	sin datos
		32	Insuficiencia placentaria
35	RCIU , problemas genéticos		
Hasta 39 años, TEC	Muerte neonatal	25	sindrome de help
		31	ruptura de membranas, corioamnionitis
	Nacido muerto	23	ruptura de membrana, anomalías congénitas
		26	secuencia de potter, agenesia renal
40 años o más, TF	Muerte neonatal	-	-
	Nacido muerto	23	Ruptura de membranas.
40 años o más, TEC	Muerte neonatal	-	-
	Nacido muerto	-	-

brionaria diferida, habría que durante un ciclo de reproducción asistida de alta complejidad individualizar el tratamiento para cada paciente.

Entre las principales limitaciones de este estudio, se cuenta que los datos fueron recabados retrospectivamente de las historias clínicas, con lo que alguna complicación puede no haber estado registrada; el número bajo de casos y variabilidad poblacional para poder analizar la incidencia de las complicaciones. Además, ya que se

tiene la conducta clínica de diferir transferencias cuando hay una respuesta ovárica elevada, el grupo TF podría estar sesgado respecto a la incidencia de complicaciones debido a estados suprafisiológicos.

En nuestro trabajo se subdividió a las pacientes en dos grupos de acuerdo a la edad con el objetivo de evitar que las diferencias encontradas estuviesen relacionadas directamente con la edad materna, ya que se sabe que la edad constituye por sí sola un factor de riesgo independiente en

Tabla 7. Descripción de las anomalías genéticas y congénitas encontradas en los neonatos en la población estudiada

Pacientes	Anomalías congénitas
Hasta 39 años, TF	Muerte neonatal. Malformaciones esqueléticas múltiples Mortinato, alteraciones fenotípicas sindrómicas (sin estudio) Mortinato, síndrome de Goldenhar severísimo Mortinato. RCIU, problemas genéticos SD Catarata congénita Craneosinostosis membrana congénita en la laringe y hernia inguinal Retraso madurativo. Ductus arterioso persistente Retardo crecimiento, problemas para deglutir? Hipertensión pulmonar y malformación congénita de píloro Ventriculomegalia asimétrica izquierda leve y dacriocistocele derecha Malformación en el pabellón de la oreja Displasia renal izquierda (quístico) sin función. Retraso crecimiento. Déficit de hormona de crecimiento. Síndrome de Turner Malformación en intestino y ano. Comunicación interventricular
40 años o más, TEC	Autismo
Hasta 39 años, TF	Mortinato, fisura labial bilateral, fisura medial paladar, sindactilia, polidactilia, ... Mortinato, agenesia bilateral de riñones. Síndrome de Down Extrofia cloacal Displasia de válvula tricúspide. Bifurcación del pulgar de la mano derecha Plagiocefalia frontal. Obstrucción uréter derecho
40 años o más, TEC	Síndrome de Down Ectopía renal izquierda. Onfalocele cx cardíaca

la evolución y resultado del embarazo⁽¹⁶⁾.

Respecto al momento de finalización del embarazo vimos que existía una diferencia mínima pero significativa en las pacientes de menos de 39 años, resultando en partos de menor edad gestacional cuando eran transferidas con embriones criopreservados. Fueron comparables los grupos en lo que respecta a partos prematuros y prematuros extremos. Nuestros resultados no concuerdan con lo observado en un metanálisis del año 2018 donde se incluyeron veinticinco estudios y no se vieron diferencias significativas entre los grupos de TEC y TF en cuanto a partos prematuros o pretérmino (<37 semanas), pero sí en relación a los prematuros extremos (<28 semanas), donde la TEC mostraba una tasa más baja respecto a las TF⁽¹²⁾. Aflatoonian y cols. también encuentran más riesgo de prematuridad en TEC respecto a TF en gestaciones simples⁽¹⁷⁾.

El peso al nacer representa un importante marcador de la evolución del embarazo, de la salud fetal y es uno de los componentes más significativos de la morbimortalidad neonatal. Si bien la información publicada suele ser muy dispar y contradictoria, al analizar los datos de nuestras pacientes se observó que existe menor peso absoluto en los recién nacidos de TF respecto a las TEC. Y que en pacientes jóvenes en las TF existe una mayor proporción de niños con bajo peso al nacer ($p < 0.10$) respecto a las TEC.

Esto es comparable a lo reportado en un trabajo realizado por Aflatoonian y cols. en el año 2016, donde observaron que los recién nacidos de TF presentan menor peso al nacer y mayor proporción de neonatos pequeños para su edad gestacional⁽¹⁸⁾.

Al mismo resultado llega una revisión sistemática donde se vio que el peso al nacer de los bebés únicos nacidos luego de

la estrategia de congelación total presentaban mayor peso. Se ha informado de manera constante en diversas poblaciones de todo el mundo, incluidos Australia, Dinamarca, Finlandia, Japón, Noruega, Suecia y los Estados Unidos los bebés nacidos de embriones congelados tienen más riesgo de tener un exceso de peso y ser grandes para la edad gestacional (GEG) $> p90$. En un metanálisis donde se analizaron seis estudios que reportaron los niños nacidos GEG, se compararon los grupos de TEC versus TF y se observó riesgo aumentado de ser GEG para el grupo TEC (RR 1.58, 95% CI 1.31–1.90). Del mismo modo, en un análisis de todos los nacimientos únicos en Japón durante 2007–2008 (1,8 millones de nacimientos, incluidos casi 26,000 concebidos con FIV), Nakashima et al. informaron que entre los nacimientos a término, los bebés nacidos de embriones congelados tenían un peso al nacer significativamente mayor cada semana en comparación con los bebés nacidos de embriones frescos⁽¹⁹⁾.

En nuestras pacientes aquellas que realizaron TEC también tuvieron riesgo aumentado de tener niños de peso alto, tanto en pacientes hasta 39 años (OR 2,8046; IC 1,7492 a 4,4968; $p < 0.0001$) como de 40 años o más (OR 6,9565; IC 1,4549 a 33,2631; $p = 0.0151$).

En relación a las complicaciones del embarazo, la incidencia en nuestras pacientes fue relativamente baja como para poder comparar cada patología por separado. Pero al englobarse todas las complicaciones en conjunto, se vieron peores resultados y un número incrementado de las mismas en pacientes transferidas en fresco menores de 39 años. Sin embargo, no se vio esta diferencia en pacientes mayores de 40 años.

Existen numerosos estudios observa-

cionales que compararon los resultados obstétricos en embarazos únicos después de la transferencia de embriones congelados versus frescos, con resultados inconsistentes. Chen realizó un ensayo clínico aleatorizado en el año 2016 y observó una mayor tasa de preeclampsia en el grupo de embriones congelados⁽²⁰⁾. Al igual que un estudio observacional que mostró que la transferencia de embriones congelados se asoció con un mayor riesgo de trastornos hipertensivos del embarazo que las transferencias de embriones en fresco. Respecto a la diabetes mellitus gestacional y a la ruptura prematura de membranas en un metanálisis donde se analizaron cinco y tres estudios respectivamente, no se mostraron diferencias significativas entre embarazos a través de TEC y TF⁽¹²⁾.

En las transferencias diferidas el mejor método de preparación endometrial continúa siendo debatido. El objetivo principal de la preparación endometrial es la sincronización de la etapa de transferencia embrionaria con la de la receptividad endometrial. En nuestro trabajo se compararon

los resultados de las transferencias de embriones criopreservados respecto al tipo de ciclo utilizado, ya sea natural o artificial, y no se encontraron diferencias respecto al peso al nacer de los recién nacidos y a las complicaciones surgidas durante la gestación. Esto concuerda con una revisión realizada en el año 2018 donde se concluyó que no existe evidencia científica clara de que alguno de los dos métodos sea superior al otro⁽²²⁾.

Analizando las transferencias en fresco de acuerdo al valor de estradiol máximo alcanzado al momento de la punción tampoco vimos diferencias entre los grupos.

A pesar de que nuestro trabajo encuentra incidencia baja y diferencias leves en cuanto a complicaciones maternas, consideramos que es importante seguir registrando la información para reevaluar a futuro.

La mortalidad perinatal y las anomalías genéticas y congénitas solo se describen, son eventos que por su incidencia poblacional requieren número elevado de casos para comparar entre grupos.

REFERENCIAS

1. Evans J, Hannan NJ, Edgell TA, Vollenhoven BJ, Lutjen PJ, Osianlis T, et al. Fresh versus frozen embryo transfer: backing clinical decisions with scientific and clinical evidence. *Hum Reprod Update* 2014;20: 808–821.
2. Aflatoonian A, Mansoori Moghaddam F, Mashayekhy M, Mohamadian F. Comparison of early pregnancy and neonatal outcomes after frozen and fresh embryo transfer in ART cycles. *J Assist Reprod Genet* 2010; 27: 695–700.
3. Maas K, Galkina E, Thornton K, Penzias AS, Sakkas D. No change in live birth-weight of IVF singleton deliveries over an 18-year period despite significant clinical and laboratory changes. *Hum Reprod* 2016; 31:1987–96.
4. Mariani G, Bellver J. Strategies to improve endometrial receptivity. *Rev. Iberoam. Fert Rep Hum*, 2017; 34; 9-20.
5. Grady R, Alavi N, Vale R, Khandwala M, McDonald SD. Elective single embryo transfer and perinatal outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 2012; 97: 324–331.
6. Korosec S, Ban Frangez H, Verdenik I, Kladnik U, Kotar V, Virant-Klun I, et al. Singleton pregnancy outcomes after in vitro fertilization with fresh or frozen-thawed embryo transfer and incidence of placenta praevia. *Biomed Res Int* 2014; 2014:431797.
7. Labarta E, Martínez-Conejero J, Alamá P, Horcajadas J, Pellicer A, Simón C, et al. Endometrial receptivity is affected in women with high circulating progesterone levels at the end of the follicular phase: a functional genomics analysis. *Hum Reprod* 2011; 26(7): 1813-25.
8. Venetis C, Kolibianakis E, Bosdou J, Tarlatzis B. Progesterone elevation and probability of pregnancy after IVF: a systematic review and meta-analysis of over 60 000 cycles. *Hum Reprod Update*. 2013; 19(5): 433-57.
9. Wong KM, van Wely M, Mol F, Repping S, Mastenbroek S. Fresh versus frozen embryo transfers in assisted reproduction. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017; 3(3):CD011184
10. Celada P, Bosch E, De Los Santos M, Giles J, Pellicer A. Elective frozen embryo transfer does not improve reproductive outcome in normo-responder patients. *Proceedings of the 31st ESHRE Annual Meeting; 2015 June 14-7; Lisbon, Portugal.*
11. Pereira N, Rosenwaks Z. A fresh(er) perspective on frozen embryo transfers. *Fertil Steril*. 2016;106(2):257-258
12. Sha T., Yin X., Cheng W., Massey I.Y. Pregnancy-related complications and perinatal outcomes resulting from transfer of cryopreserved versus fresh embryos in vitro fertilization: a meta-analysis. *Fertil Steril* 2018; 109 (2):330-342.
13. Shapiro B, Daneshmand S, Garner F, Aguirre M, Hudson C. Clinical rationale for cryopreservation of entire embryo cohorts in lieu of fresh transfer. *Fertil Steril*. 2014; 102(1): 3-9.
14. Ministerio de Salud de la Nación. Dirección Nacional de Maternidad e Infancia. (2014). Recomendaciones para el manejo del embarazo y el recién nacido en los límites de la viabilidad.
15. Rodríguez SK, Vargas JJ, Romero Nayar LC. Peso al nacer según edad gestacional para recién nacidos del Hospital Público Materno Infantil de Salta Capital, Argentina en los años 2008 a 2016. *Revista Fasgo*. 2019; 2: 13-32.
16. Macías Villa Héctor Luis Guillermo, Moguel Hernández Alejandro, Iglesias Leboreiro José, Bernárdez Zapata Isabel, Braverman Bronstein Ariela. Edad materna avanzada como factor de riesgo perinatal y del recién nacido. *Acta méd*.
17. Aflatoonian A, Karimzadeh MA, Aflatoonian N, Tabibnejad N, Amir-Arjmand MH, Soleimani M, et al. Perinatal out-

- come in fresh versus frozen embryo transfer in ART cycles. *Int J Reprod Biomed* 2016;14:167-72.
18. Aflatoonian A, Karimzadeh MA, Aflatoonian N, Tabibnejad N, Amir-Arjmand MH, Soleimani M, et al. Perinatal outcome in fresh versus frozen embryo transfer in ART cycles. *Int J Reprod Biomed* 2016;14:167-72.
 19. Nakashima A, Araki R, Tani H, Ishihara O, Kuwahara A, Irahara M, et al. Implicaciones de las tecnologías de reproducción asistida en el peso al nacer a término único: un análisis de 25,777 niños en el registro nacional de reproducción asistida de Japón. *Fertil Steril*. 2013; 99 : 450-5.
 20. Chen ZJ, Shi Y, Sun Y, Zhang B, Liang X, Cao Y, et al. Fresh versus frozen embryos for infertility in the polycystic ovary syndrome. *New England Journal of Medicine* 2016;375(6):523-33.
 21. Opdahl S, Henningsen AA, Tiitinen A, et al. Risk of hypertensive disorders in pregnancies following assisted reproductive technology: a cohort study from the CoNARTaS group. *Hum Reprod* 2015;30:1724-1731.
 22. Programación del endometrio para la transferencia diferida de embriones criopreservados: reemplazo hormonal versus ciclos naturales modificados Groenewoud ER, Cohlen BJ, Macklon NS. *Fertility and Sterility* 2018;109 (5): 768-774.

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 $\times 100$.

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

Evaluación de la fragmentación del ADN espermático luego del empleo diferentes técnicas de selección espermática

Evaluation of sperm DNA fragmentation after using different sperm selection techniques

Cuesta Carolina^{1,2}, Estefanía Martínez¹, Antonio Cattaneo¹, Diego Gnocchi¹, Marcela Irigoyen¹, Lautaro Tessari¹, A. Gustavo Martínez^{1,2}

1 MedicinaReproductivaFertilis - Boulogne, Buenos Aires, Argentina.

2 Universidad de Belgrano – Buenos Aires, Argentina

RESUMEN

Pregunta de estudio: Qué técnica de selección espermática reducirá en mayor proporción los niveles de fragmentación del ADN espermático?

Respuesta resumida: El sistema microfluídico Zymöt logró la mayor reducción de la fragmentación del ADN espermático comparado con Swim-up y Gradiente de densidad.

Lo que ya se sabe: Altos niveles de fragmentación del ADN espermático pueden afectar el éxito reproductivo en diversas formas: pobre calidad embrionaria, disminución de las tasa de implantación y de embarazo, aumento del tiempo de concepción entre otras.

Diseño del estudio: Dos experimentos prospectivos, con 25 y 19 pacientes respectivamente, realizado entre enero 2019 y marzo 2021.

Materiales y Métodos: En el experimento 1 se evaluó la fragmentación del ADN espermático luego del procesamiento de las muestras de semen mediante las técnicas gradiente de densidad y Swim-up. En el experimento 2 se evaluó la fragmentación

ABSTRACT

Study question: Which sperm selection technique will most significantly reduce sperm DNA fragmentation levels?

Summary answer: The Zymöt microfluidic system achieved the greatest reduction in sperm DNA fragmentation compared to Swim-up and Density Gradient centrifugation.

What is already known: High levels of sperm DNA fragmentation can affect reproductive success in various ways: poor embryonic quality, decreased implantation and pregnancy rates and increased conception time.

Study design: Two prospective experiments, with 25 and 19 patients respectively, conducted between January 2019 and March 2021.

Materials and Methods: Sperm DNA fragmentation was evaluated in Experiment 1 after processing semen samples using Density Gradient centrifugation and Swim-up techniques and in Experiment 2 it was evaluated after processing semen samples using Swim-up techniques and the Zymöt microfluidic system.

del ADN espermático luego del procesamiento de las muestras de semen mediante las técnicas Swim-up y del sistema microfluídico ZyMöt. Para evaluar la fragmentación del ADN espermático, se utilizó la técnica de Tunel post procesamiento. Los resultados fueron analizados mediante los test Kruskal-Wallis y Mann Whitney según correspondiera, considerando significativos los valores de $p < 0.05$.

Resultados: En el Experimento 1, la técnica Swim-up mostró una disminución significativamente mayor de la fragmentación del ADN espermático al compararla con el gradiente de densidad ($9.1\% \pm 1.9$ vs. $19.2\% \pm 5.1$). En el Experimento 2, el sistema microfluídico mostró una disminución significativamente mayor de la fragmentación del ADN espermático al compararlo con el Swim-up ($1.3\% \pm 0.7$ vs. $9.1\% \pm 2.0$).

Implicancias de los hallazgos: Es necesario evaluar la utilidad de un determinado método de selección espermática de acuerdo a la técnica de reproducción asistida donde la muestra enriquecida va a ser empleada. ZyMöt mostró ser más eficaz para reducir la fragmentación del ADN espermático.

Palabras clave: Fragmentación del ADN espermático, selección espermática, dispositivo microfluídico.

To evaluate sperm DNA fragmentation post-processing Tunel technique was used. The results were analyzed using the Kruskal-Wallis and Mann Whitney tests as appropriate, considering p values < 0.05 significant.

Results: *In Experiment 1, the Swim-up technique showed a significantly greater decrease in sperm DNA fragmentation when compared to Density Gradient centrifugation ($9.1\% \pm 1.9$ vs. $19.2\% \pm 5.1$). In Experiment 2, the microfluidic system showed a significantly greater decrease in sperm DNA fragmentation when compared to swim-up ($1.3\% \pm 0.7$ vs. $9.1\% \pm 2.0$).*

Wider implications of the findings: *It is necessary to evaluate the usefulness of a certain method of sperm selection according to the assisted reproduction technique where the enriched sample will be used. ZyMöt proved to be more effective in reducing sperm DNA fragmentation.*

Key words: *Sperm DNA Fragmentation, sperm selection, microfluidic device*

INTRODUCCIÓN

El material genético paterno compone el 50% del genoma embrionario, y contiene genes involucrados tanto en el correcto desarrollo embrionario y fetal. Los daños producidos en el ADN espermático pueden afectar el éxito reproductivo en diversas formas: pobre calidad embrionaria, disminución de las tasa de implantación y de embarazo, aumento del tiempo de concepción entre otras⁽¹⁻³⁾. Por ello, el nivel de integridad genómica se asocia a la calidad seminal, de hecho se ha comprobado en una alta proporción de hombres infértiles un aumento de la fragmentación del ADN espermático, determinando a este parámetro seminal en particular como la causa principal de infertilidad masculina a nivel molecular⁽⁴⁾. Dicho factor masculino es de origen multicausal, siendo el principal contribuyente el estrés oxidativo, producido por un desbalance entre las especies reactivas a oxígeno y las especies antioxidantes^(5,6).

Cuando el hombre realiza un tratamiento de fertilidad, una de las causas de estrés oxidativo adicional, está ligada a las técnicas rutinarias de selección espermática: Swim-up o gradiente de densidad, debido a que incluyen pasos de centrifugación que someten al gameto masculino a estrés fisiológico y genera sobreproducción de especies reactivas de oxígeno en ésta⁽⁷⁾.

Ante estos hallazgos, el enfoque actual en el desarrollo de nuevas técnicas de selección espermática es preservar la integridad del ADN con objetivo de conseguir un recién nacido vivo sano. Entre las técnicas de vanguardia se destacan los dispositivos microfluídicos, los cuales han estado en auge durante la última década por su alta eficiencia⁽⁸⁾. Esta novedosa tecnología posee la propiedad de manipular pequeños volúmenes de muestras biológicas a micro

escala que, aplicada a la andrología, permite imitar en tres dimensiones el entorno biofísico al que están expuestos los espermatozoides en el proceso de selección in vivo^(9,10). Los sistemas disponibles se presentan en forma de chips, los cuales están demostrando su capacidad de mejorar de manera efectiva y consistente los parámetros clave de las muestras de semen como el recuento, la motilidad y la morfología espermática, así como también, una mayor integridad del ADN al prescindir de la centrifugación^(11,12). Cabe destacar que esta metodología utiliza muestras en fresco y sólo requiere de medio para recuperar la muestra procesada. Todas estas facultades posicionan a los chips microfluídicos como potenciales candidatos a utilizarse en las clínicas de fertilidad.

El presente estudio fue realizado como parte de la implementación de una técnica para disminuir la fragmentación del ADN espermático en muestras con altos niveles del mismo. Por ello, el objetivo del mismo fue comparar el efecto de tres técnicas de selección de espermatozoides sobre este parámetro seminal.

DISCUSIÓN

Diseño: Estudio prospectivo llevado a cabo en Medicina Reproductiva Fertilis entre enero de 2019 y marzo de 2021.

Se emplearon muestras de semen de varones diagnosticados normozoospermicos, según los parámetros estandarizados publicados en el manual de la OMS 2010⁽¹³⁾. Además de los pacientes que no cumplían con este requisito también fueron excluidas las muestras de aquellos pacientes con azoospermia, criptoospermia, eyaculación retrógrada, leucocitospermia y los que habían sido expuestos a quimioterapia, radioterapia o pesticidas u otros tóxicos y también los pacientes con una historia de

infección o fiebre en los 3 meses previos al tratamiento. Las comparaciones se realizaron en dos experimentos.

Experimento 1: Comparación de los niveles de fragmentación del ADN espermático luego del procesamiento de las muestras de semen mediante gradiente de densidad y Swim-up

Se emplearon 25 muestras de semen de pacientes con indicación de espermograma completo y análisis de fragmentación del ADN espermático. Las edades de dichos pacientes osciló entre los 30 y 39 años (edad promedio: 34.3 ± 2.4). Los pacientes firmaron el consentimiento de investigación correspondiente.

Luego de registrar los parámetros seminales básicos de la muestra en fresco: volumen, concentración y movilidad, cada muestra fue dividida en dos fracciones tratando cada una ya sea mediante un gradiente de densidad o mediante un Swim-up. Luego de procesadas las muestras se registró el volumen, la concentración y la movilidad, junto con el nivel de fragmentación del ADN espermático. Finalmente se procedió a comparar la fragmentación del ADN luego del procesamiento de las muestras con ambas metodologías.

Experimento 2: Comparación de los niveles de fragmentación del ADN espermático luego del procesamiento de las muestras de semen mediante Swim-up y un sistema microfluídico (ZyMöt)

Se emplearon 19 muestras de semen entregadas para realizar fecundación in-vitro obtenidas de pacientes que habían realizado espermogramas previos en los cuales se había determinado niveles de fragmentación del ADN espermático $>20\%$ luego del procesamiento por gradiente de densidad. El promedio del nivel de fragmentación

espermática fue 25.8 ± 2.6 . Las edades oscilaron entre los 32 y 38 años (edad promedio 34.4 ± 1.9). Los pacientes firmaron el consentimiento de investigación correspondiente.

Luego de registrar los parámetros seminales básicos de la muestra en fresco: volumen, concentración y movilidad, se tomaron dos fracciones de 0.85 ml de cada muestra, las cuales fueron tratadas ya sea mediante un Swim-up o con un sistema microfluídico (ZyMöt, EEUU). Luego de procesadas las muestras se registró el volumen, la concentración y la movilidad, junto con el nivel de fragmentación del ADN espermático. Finalmente se procedió a comparar la fragmentación del ADN luego del procesamiento de las muestras con ambas metodologías.

Técnicas de procesamiento de las muestras de semen

Gradiente de densidad: luego de evaluados el volumen, la concentración y la movilidad de la muestra de semen, esta fue sembrada sobre un gradiente de dos capas de diferente concentración (50% y 90%) de PureCeption (SAGE, EEUU) en un tubo de centrifuga de 15 ml (Nunc, Dinamarca). El sistema fue centrifugado durante 20 minutos a 300g. Posteriormente, se eliminó el sobrenadante y el pellet obtenido se resuspendió en medio HTF modificado (SAGE, EEUU) suplementado con 3% de albúmina (SAGE, EEUU). Luego de ello se realizó una nueva centrifugación de 10 min a 300g y se descartó el sobrenadante. Finalmente, el precipitado fue diluido en medio HTF modificado suplementado con 3% de albúmina, llevando el volumen final a 0.4 ml. Se evaluó la concentración y la movilidad empleando una cámara de Makler.

Técnica de Swim-up: luego de evaluar el

volumen, la concentración y la movilidad de la muestra de semen, esta fue colocada en un tubo de centrifuga de 15 ml, colocando sobre ella 2 ml de medio HTF modificado suplementado con 3% de albúmina. Luego de ello, el tubo fue incubado durante una hora a 37°C en un cubo térmico. Posteriormente, se tomó el sobrenadante y se lo depositó en un nuevo tubo de centrifuga de 15 ml, el cual fue centrifugado durante 5 min a 300g. Finalmente, se descartó el sobrenadante y el precipitado fue diluido en medio HTF modificado suplementado con 3% de albúmina, llevando el volumen final a 0.4 ml o 0.85 ml según el experimento. Se evaluó la concentración y la movilidad empleando una cámara de Makler.

Técnica de dispositivo microfluídico (ZyMöt): luego de evaluar el volumen, la concentración y la movilidad de la muestra de semen, esta fue colocada en un chip ZyMöt (Figura 1). En primer lugar, se cargaron 0.85 ml de la muestra en fresco en el orificio de carga, llenando de esta forma el compartimento inferior. A continuación, se agregaron 2 ml medio HTF modificado suplementado con 3% de albúmina en el compartimento superior del sistema.



Figura 1. Dispositivo microfluídico ZyMöt

El dispositivo fue incubado durante 30 min en cámara húmeda a 37°C, luego de lo cual se recolectaron 0.85 ml de la solución resultante en la cámara superior, los cuales fueron colocados en un tubo de centrifuga de 15 ml. Se evaluó la concentración y la movilidad empleando una cámara de Makler.

Evaluación del grado de fragmentación del ADN espermático

Una vez procesadas las muestras por gradiente de densidad, Swim-up o ZyMöt, se tomaron 100 μ l de las mismas para fijarlos agregando 5 μ l de Formaldehído al 37% para el futuro procesamiento por TUNEL. Dichas muestras fueron colocadas en heladera hasta el momento de uso.

Para realizar la técnica de TUNEL, se emplearon portaobjetos con pocillos, los cuales fueron sumergidos por al menos 2 horas en Polilisina 0.1% y enjuagados con agua ultra pura. Luego del secado a temperatura ambiente se retiraron de la heladera las muestras fijadas con Formaldehído al 37% y se sembraron 30 μ l de cada una de ellas en sus correspondientes pocillos por duplicado. Los portaobjetos se guardaron dentro de una cámara húmeda conformada por una placa de Petri y papel tissue húmedo en su interior a 37°C por 1 hora. Se dejaron reposar en heladera por 24 horas. Luego de ello, las muestras fueron lavadas tres veces con 10 μ l de PBS 1x, cada una durante 5 min. Luego se agregó Metanol por 90 segundos y se repitieron los 3 lavados con PBS 1x. Se colocaron 10 μ l de solución de bloqueo PBS+0.5%BSA dejándola por 50 min dentro de la cámara húmeda en la heladera y una vez concluido ese tiempo, se realizaron otros 3 lavados con PBS 1x. Protegidos de la luz, a cada pocillo se le añadió una mezcla de 4.5 μ l de label y 3.5 μ l de enzima y los

portaobjetos se dejaron dentro de la cámara húmeda por una hora sobre una platina térmica a 37°C. Seguidamente, se realizaron 3 lavados de 5 min cada uno con 10 µl de PBS 1x y se dejó secar por completo a temperatura ambiente, siempre evitando la exposición a luz. Por último, se agregaron 5 µl de agente de montaje Vecta-Shield a cada pocillo y por encima se colocó un cubreobjetos de 24x50 mm.

Finalmente, se observó en el microscopio de fluorescencia a un aumento de 100X bajo aceite de inmersión. En cada ensayo se analizaron 200 espermatozoides. Los espermatozoides que presentaron ADN fragmentado mostraron fluorescencia verde. Se consideró con marcación positiva a aquellos espermatozoides con fluorescencia en al menos el 50% del citoplasma, mientras que el resto de las células fueron consideradas negativas. Se registró el número de espermatozoides por marcación positiva sobre los espermatozoides totales.

Análisis estadístico

Los resultados fueron evaluados empleando el Mann Whitney Test en el Experimento 1 y el Kruskal-Wallis Test en el Experimento 2, utilizando el programa Instat versión 7 (GraphPad, San Diego, CA, USA). Los valores de $p < 0.05$ fueron considerados significativos.

RESULTADOS

Experimento 1: Comparación de los niveles de fragmentación del ADN espermático luego del procesamiento de las muestras de semen mediante gradiente de densidad y Swim-up

En la tabla 1 se detallan los valores promedio de los parámetros seminales de las 25 muestras de semen procesadas en el Experimento 1.

Al comparar los resultados obtenidos luego del procesamiento de la muestra mediante gradiente de densidad y Swim-up se observó que la fracción de la muestra procesada por gradiente de densidad tuvo significativamente una mayor concentración espermática y un mayor número de espermatozoides progresivos totales; mientras que, la fracción procesada por Swim-up mostró significativamente una mayor porcentaje de espermatozoides móviles progresivos y menor porcentaje de fragmentación del ADN espermático (Tabla 2).

Experimento 2: Comparación de los niveles de fragmentación del ADN espermático luego del procesamiento de las muestras de semen mediante Swim-up y un sistema microfluídico (ZyMöt)

En la tabla 3 se detallan los valores promedio de las 19 muestras de semen procesadas en el Experimento 2.

Tabla 1. Parámetros seminales iniciales de las muestras empleadas en el Experimento 1

Parámetros seminales	
Volumen (ml)	2.9 ± 0.7
Concentración espermática ($\times 10^6$ espermatozoides/ml)	63.0 ± 21.6
Espermatozoides totales ($\times 10^6$)	182.3 ± 75.4
Espermatozoides con movilidad progresiva (%)	48.3 ± 9.4
Espermatozoides con movilidad in situ (%)	2.6 ± 0.2
Espermatozoides inmóviles (%)	49.2 ± 9.4

Al comparar los resultados obtenidos luego del procesamiento de la muestra mediante Swim-up y ZyMöt, se observó que la fracción de la muestra procesada por Swim-up tuvo significativamente una mayor concentración espermática y un mayor número de espermatozoides progresivos totales; mientras que, la fracción procesada por ZyMöt mostró significativamente un mayor porcentaje de espermatozoides móviles progresivos y menor porcentaje de fragmentación de ADN espermático (Tabla 4).

DISCUSIÓN

Como resultado de la primera parte del presente trabajo hemos encontrado que pese a que, con el gradiente de densidad

se obtiene una mayor concentración de espermatozoides y un mayor número de espermatozoides progresivos totales, la fracción de la muestra procesada mediante Swim-up mostró un nivel de fragmentación del ADN espermático significativamente menor. La posible explicación de este hallazgo es la diferencia en el tiempo de centrifugación en cada uno de los métodos de selección. En el gradiente de densidad se realizan dos centrifugaciones, la primera de 20 minutos para realizar la selección espermática y la segunda de 10 minutos para lavar la muestra. En contraste, en el Swim-up se realiza una primera selección pasiva basada sólo en la capacidad que poseen los espermatozoides de

Tabla 2. Comparación de los parámetros seminales de las muestras luego de procesamiento mediante gradiente de densidad y Swim-up

Parámetros seminales	Gradiente	Swim-up
Concentración espermática ($\times 10^6$ espermatozoides/ml)	62.8 \pm 23.2 a	32.4 \pm 8.3 b
Espermatozoides con movilidad progresiva (%)	95.0 \pm 4.1 a	98.4 \pm 2.4 b
Espermatozoides progresivos totales ($\times 10^6$)	24.0 \pm 9.3 a	12.6 \pm 3.3 b
Fragmentación del ADN espermático (%)	19.2 \pm 5.1 a	9.1 \pm 1.9 b

Tabla 3. Parámetros seminales iniciales de las muestras empleadas en el Experimento 2

Parámetros seminales	
Volumen (ml)	2.8 \pm 0.5
Concentración espermática ($\times 10^6$ espermatozoides/ml)	105.7 \pm 24.8
Espermatozoides totales ($\times 10^6$)	297.2 \pm 89.0
Espermatozoides con movilidad progresiva (%)	37.5 \pm 10.5
Espermatozoides con movilidad in situ (%)	1.3 \pm 0.6
Espermatozoides inmóviles (%)	61.2 \pm 10.5

Tabla 4. Comparación de los parámetros seminales de las muestras luego de procesamiento mediante Swim-up y ZyMöt

Parámetros seminales	Gradiente	Swim-up
Concentración espermática ($\times 10^6$ espermatozoides/ml)	19.6 \pm 11.1 a	10.4 \pm 6.6 b
Espermatozoides con movilidad progresiva (%)	97.9 \pm 2.5 a	99.7 \pm 1.2 b
Espermatozoides progresivos totales ($\times 10^6$)	13.4 \pm 3.5 a	8.9 \pm 5.6 b
Fragmentación del ADN espermático (%)	9.1 \pm 2.0 a	1.3 \pm 0.7 b

nadar hacia el medio de cultivo dejando atrás a aquellos que no pueden moverse o se mueven poco, para finalmente realizar la concentración de la muestra obtenida mediante una centrifugación de 5 minutos. Han sido demostrado los efectos que producen los pasos de centrifugación al someter al gameto masculino a un estrés fisiológico y generar sobreproducción de especies reactivas de oxígeno en la muestra procesada⁽⁷⁾, trayendo por consiguiente alteraciones seminales, entre ellas, mencionado el daño del ADN espermático.

A la luz de estos resultados sería recomendable la elección de la técnica de Swim-up para procesar las muestras de semen para un tratamiento de reproducción asistida. Pese a ello, esta técnica tiene algunas limitaciones tales como la dificultad para procesar muestras con alta viscosidad, o la baja recuperación en las muestras con muy baja densidad de espermatozoides (oligozoospermias). Teniendo en cuenta lo mencionado, se debe evaluar la conveniencia de usar una u otra técnica dependiendo del uso posterior de la muestra procesada. Mientras que para una inseminación artificial se necesita obtener una gran cantidad de espermatozoides aceptando que el porcentaje de móviles progresivos sea algo menor al 100%⁽¹⁴⁾, para utilizar la muestra en una fecundación in vitro convencional será preferible tener un alto porcentaje de espermatozoides móviles progresivos (idealmente el 100%) pese a contar con menor cantidad de espermatozoides totales. El hecho de que con el Swim-up se obtengan muestras con menores niveles de fragmentación del ADN luego de ser procesadas agrega una gran ventaja a este método para ser usado en fecundación in vitro convencional. En el caso de la inseminación intrauterina es esperable que el aparato reproductor

femenino seleccione el espermatozoide óptimo.

En la comparación de las técnicas de Swim-up y el sistema microfluídico ZyMöt, ambos mostraron buenos resultados, de modo que, las dos metodologías de selección son aceptables para su utilización en tratamientos de fecundación in vitro. Pero en el caso de ZyMöt, este mostró una mayor capacidad de disminución del nivel de fragmentación del ADN espermático (cercano a 0%), lo cual le confiere una ventaja mayor para ser aplicado en tratamientos de fertilización in vitro. Este sistema, basado en el Swim-up, no solo evita la centrifugación, también limita el ascenso de determinados espermatozoides por la presencia de una membrana micro porosa. Esta actúa como una barrera que impide el pasaje de espermatozoides con morfología y motilidad alteradas, los cuales se pueden correlacionar con lesiones en su ADN. De allí otra razón por la que este tipo de dispositivo permite recuperar espermatozoides con mayor integridad genómica⁽¹⁵⁻¹⁷⁾.

Una limitación del Experimento 2 es el hecho de no saber si el día en que las muestras fueron empleadas para realizar fecundación in vitro el porcentaje de espermatozoides con fragmentación del ADN espermático era de igual valor al diagnosticado en el espermograma. Pese a ello, el análisis de los valores de Tunel obtenidos muestran que, cualquiera sea la técnica empleada, los resultados con el uso de ZyMöt son los más aceptables.

Es importante destacar que la técnica del sistema microfluídico tiene algunas limitaciones tales como la dificultad en el uso de muestras con alta viscosidad, o muestras con presencia de burbujas, y muestras con oligozoospermia severa.

Cabe mencionar también que, al tratarse

de un laboratorio nuevo, el mismo no contaba con una herramienta para llevar a cabo el presente estudio, por lo que entre las diferentes opciones, se evaluó adquirir columnas de Anexina-V para su realización. Finalmente esta opción fue descartada debido a su alto costo de implementación, el relativo corto vencimiento de las columnas y el hecho de no contar con datos concluyentes sobre los efectos del campo magnético en los espermatozoides sometidos a este proceso de selección⁽¹⁸⁾.

En conclusión, a partir de nuestros resultados podemos afirmar que es necesario evaluar la utilidad de un determinado método de selección espermática de acuerdo

a la técnica de reproducción asistida donde la muestra enriquecida va a ser empleada. En cuanto a la eficacia de las metodologías estudiadas, la técnica de Swim-up mostró resultados positivos en cuanto a la recuperación espermática y su nivel de fragmentación genómica. Sin embargo, el sistema microfluídico mostró ser la técnica más eficaz, ya que logra proveer muestras prácticamente libres de espermatozoides con su ADN fragmentado. A pesar de los resultados alentadores, aún se requiere de más estudios que esclarezcan fehacientemente el proceso por el cual el sistema microfluídico logra reducir dichos niveles de fragmentación.

REFERENCIAS

1. Agarwal A, Majzoub A, Baskaran S, PannerSelvam M K, Cho CL, Henkel R, Finelli R, Leisegang K, Sengupta P, Barbarosie C, ParekhN, Alves MG, Ko E, Arafa M, Tadros N, Ramasamy R, Kavoussi P, Ambar R, Kuchakulla M, Robert KA, Shah R. Sperm DNA fragmentation: A new guideline for clinicians. *The World Journal of Men's Health*. 2020; 38:412–471.
2. Martínez E, Bezazián C, Bezazián A, LindlK, Peliquero A, Cattaneo A, Gnocchi D, Irigoyen M, Tessari L, Martínez AG. Sperm DNA fragmentation and male age: results of in vitro fertilization treatments. *JBRA Assist Reprod*. 2020; Nov 5. doi: 10.5935/1518-0557.20210018. Epub ahead of print. PMID: 34061484.
3. Ribas-Maynou J, Yeste M, Salas-Huetos A. The relationship between sperm oxidative stress alterations and IVF/ICSI outcomes: A systematic review from nonhuman mammals. *Biology*. 2020; 9:178.
4. Agarwal A, PannerSelvam MK, Baskaran S, Cho CL. Sperm DNA damage and its impact on male reproductive health: a critical review for clinicians, reproductive professionals and researchers. *Expert Review of Molecular Diagnostics*. 2019; 19:443–457.
5. Aitken RJ. Impact of oxidative stress on male and female germ cells: implications for fertility. *Reproduction*. 2020; 159:189–201.
6. Chianese R, Pierantoni R. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) production alters sperm quality. *Antioxidants*. 2021; 10:92.
7. Asghar W, Velasco V, Kingsley JL, Shoukat MS, Shafiee H, Anchan RM, Mutter GL, Tüzel E, Demirci U. Selection of functional human sperm with higher DNA integrity and fewer reactive oxygen species. *Advanced Healthcare Materials*. 2014; 3:1671–1679.
8. Rappa KL, Rodriguez HF, Hakkarainen GC, Anchan RM, Mutter GL, Asghar W. Sperm processing for advanced reproductive technologies: Where are we today? *Bio-technology Advances*. 2016; 34:578–587.
9. Sequeira RC, Criswell T, Atala A, Yoo JJ. Microfluidic systems for assisted reproductive technologies: advantages and potential applications. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*. 2020; 17:787–800.
10. Vaughan DA, Sakkas D. Sperm selection methods in the 21st century. *Biology of Reproduction*, 2019; 101:1076–1082.
11. Gode F, Gürbüz AS, Tamer B, Pala I, Isik AZ. The effects of microfluidic sperm sorting, density gradient and swim-up methods on semen oxidation reduction potential. *Urology Journal*. 2020; 17:397–401.
12. Parrella A, Keating D, Cheung S, Xie P, Stewart JD, Rosenwaks Z, Palermo GD. A treatment approach for couples with disrupted sperm DNA integrity and recurrent ART failure. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2019; 36:2057–2066.
13. WHO World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen, 5th edn. Geneva: World Health Organization. 2010.
14. Muthigi A, Jahandideh S, Bishop LA, Naeemi FK, Shipley SK, O'Brien JE, Shin PR, Devine K, Tanrikut C. Clarifying the relationship between total motile sperm counts and intrauterine insemination pregnancy rates. *Fertility and Sterility*. 2021; 115:1454–1460.
15. Nosrati R, Graham PJ, Zhang B, Riordon J, Lagunov A, Hannam TG, Escobedo C, Jarvi K, Sinton D. Microfluidics for sperm analysis and selection. *Nature Reviews. Urology*. 2017; 14:707–730.
16. Samuel R, Feng H, Jafek A, Despain D, Jenkins T, Gale B. Microfluidic-based sperm sorting analysis for treatment of male infertility. *Translational Andrology and Urology*.

2018; 7:336-347.

17. Shirota K, Yotsumoto F, Itoh H, Obama H, Hidaka N, Nakajima K, Miyamoto S. Separation efficiency of a microfluidic sperm sorter to minimize sperm DNA damage. *Fertility and Sterility*. 2016; 105:315–21.e1.
18. De Gheselle S, Deroose A, Stevens J, Hiel M, Tilleman K. A methodological validation of an easy one-step swimout semen preparation procedure for selecting DNA fragmentation-free spermatozoa for ICSI. *Andrologia*. 2020; 52:e13852.

Conocimientos de los jóvenes del oeste del conurbano bonaerense sobre cuidado y preservación de la fertilidad

Knowledge of the young people of the west conurbano about the care and preservation of fertility

Dra. Elizabeth Beatriz Ormart

Profesora Adjunta Regular de Psicología, ética y derechos humanos. Profesora Regular a cargo de la cátedra 824: El rol del psicólogo en el ámbito de la reproducción asistida. Facultad de Psicología. Universidad de Buenos Aires. Directora de Proyecto UBACYT: Las competencias del psicólogo en el ámbito de las técnicas de reproducción asistida II.

RESUMEN

Pregunta del estudio: ¿Cuál es el grado de conocimiento que tienen los jóvenes que inician los estudios universitarios sobre el cuidado y preservación de la fertilidad?

Respuesta: Los jóvenes tienen conocimientos insuficientes y superficiales.

Lo que ya se sabe: El entendimiento de la fertilidad en la población es pobre y se tiende a sobrestimar la posibilidad de embarazo, se ignora el tiempo en el que la mujer es más fértil y el declive de la etapa reproductiva después de los 35 años.

Diseño del estudio: Cualitativo-cuantitativo. Descriptivo de corte transversal.

Materiales y métodos: Se realizaron encuestas a jóvenes (n: 376) universitarios del conurbano bonaerense sobre: características sociodemográficas, socioeconómicas, salud reproductiva, creencias de conductas de riesgo asociadas con la infertilidad, motivos de la preservación de la fertilidad, planificación familiar, percepción de la edad óptima para la maternidad. Se realizaron cálculos estadísticos y asociaciones de variables por género de los encuestados.

Resultados: El 98% de la muestra tiene

ABSTRACT

Study question: *What is the degree of knowledge that young people who begin university studies have about the care and preservation of fertility?*

Answer: *Young people have insufficient and superficial knowledge.*

What is already known: *The understanding of fertility in the population is poor and the possibility of pregnancy tends to be overestimated, the time in which the woman is most fertile and the decline in the reproductive stage after 35 years is ignored.*

Study design: *Quali-quantitative. Descriptive cross section. The results were tabulated in Excel.*

Materials and methods: *Surveys were carried out on young (N: 376) university students from the Buenos Aires suburbs: sociodemographic and socioeconomic characteristics, reproductive health, beliefs of risk behaviors associated with infertility, reasons for the preservation of fertility, family planning, perception of the optimal age for childbearing. Statistical calculations and crossovers of variables*

entre 17 y 23 años. El 67% tienen una familia numerosa con ingresos bajos. El 73% de la muestra considera que el deterioro de la capacidad ovárica de la mujer comienza después de los 40 años. De las mujeres entrevistadas el 59,2 % no cree que haya que hablar con el ginecólogo el tema de la planificación familiar. El 18% dice no conocer las causas de la infertilidad en la mujer, cifra que se eleva al 32% del desconocimiento de las causas de la infertilidad en los hombres.

Limitaciones del estudio: La muestra está conformada por estudiantes universitarios de la zona oeste del conurbano bonaerense.

Implicancia de los hallazgos: Coincidiendo con otras investigaciones, el conocimiento de la fertilidad en poblaciones jóvenes favorece una toma de decisiones adecuada acerca del futuro reproductivo y evita conductas de riesgo.

Palabras claves: Fertilidad, adulto joven, preservación de la fertilidad

were made by gender of the respondents.

Results: *98% of the sample is between 17 and 23 years old. 67% have a large family with an income of up to 40,000 pesos. 73% of the sample considers that the deterioration of the ovarian capacity of women begins after the age of 40. Of the women interviewed, 59.2% do not believe that the issue of family planning should be discussed with the gynecologist. 18% say they do not know the causes of infertility in women, a figure that rises to 32% of ignorance of the causes of infertility in men.*

Study limitations: *The sample is made up of university students from the western area of the Buenos Aires suburbs.*

Implication of the findings: *Coinciding with other research, I consider that knowledge of fertility in young populations favors adequate decision-making about the reproductive future and avoids risk behaviors.*

Key words: *Fertility/ Young Adult / Fertility Preservation*

INTRODUCCIÓN

Según Lugones⁽¹⁾ el descenso de la fecundidad y el envejecimiento poblacional constituyen los principales problemas demográficos actuales, con una perspectiva de incremento en la población mundial y con repercusión en la salud y la economía. Es central que la sociedad comprenda que el cuidado de la fertilidad es un aspecto de la salud que debe ocupar la agenda político sanitaria en nuestros tiempos, y se deben realizar esfuerzos para difundir y comunicar correctamente esta problemática. En particular, la población de jóvenes^(2;3) deberían ser a quienes se dirijan los esfuerzos por sensibilizarlos no sólo en el uso de métodos anticonceptivos, sino también en la planificación familiar.

El objetivo del presente estudio es describir el conocimiento que poseen los jóvenes del oeste del Conurbano bonaerense acerca de la importancia del cuidado y preservación de la fertilidad como pilares de la planificación familiar. Establecer las diferencias centrales en función del género de la muestra en materia de cuidado y preservación de la fertilidad. Según Soriano “La presión personal y social de la maternidad ha hecho que la demanda de servicios de las clínicas de infertilidad se haya incrementado sustancialmente, a pesar de que la prevalencia de infertilidad permanece estable”⁽⁴⁾. Si bien el planteo de Soriano a nivel global puede ser correcto, las cifras mundiales no son homogéneas y señalan un incremento de la prevalencia de infertilidad en la mayoría de los países del primer mundo.

Preguntas sobre el cuidado de la fertilidad.

Algunas preguntas que orientaron la indagación están centradas en establecer: ¿Qué conocimientos tienen los jóvenes

sobre el cuidado de la fertilidad? ¿De qué manera es posible formarlos en la universidad para mejorar sus saberes en una etapa evolutiva central para la planificación familiar? ¿Qué consideran las mujeres y los hombres jóvenes que es importante al momento de preservar su capacidad reproductiva?

Según ALMER “Podríamos definir la preservación de la fertilidad (PF) como la aplicación de estrategias médicas y de laboratorio con la finalidad de preservar la descendencia genética parental en adultos o niños en riesgo de esterilidad”⁽⁵⁾.

La temática la preservación de la fertilidad se ha incrementado en los últimos veinte años e incluye cada vez más poblaciones diversas a las que afecta. Según la ESHRE⁽⁶⁾ se pueden identificar en la actualidad cuatro grupos poblacionales de mujeres que recurren a la preservación de la fertilidad:

- Mujeres diagnosticadas con cáncer que se someten a tratamientos contra el cáncer⁽⁷⁾.
- Mujeres con enfermedades benignas sometidas a tratamientos gonadotóxicos y con afecciones que significa que perderán su fertilidad prematuramente, por ejemplo, síndrome de Turner
- Pacientes transgénero^(8;9)
- Mujeres que solicitan criopreservación electiva de ovocitos.

A los que se suman los grupos de hombres en edad prepuberal o puberal con cáncer o enfermedades hematológicas que poseen efectos secundarios gonadotóxicos para la preservación de tejido testicular o esperma.

A la problemática específica de esta población que por diferentes motivos de salud deberá preservar su fertilidad; se le suman los motivos llamados sociales y/o laborales que ofrecen a las mujeres la

postergación de la maternidad para que puedan desarrollar plenamente proyectos personales que se consideran difícilmente compatibles con el ejercicio de la maternidad.

La problemática general del cuidado de la fertilidad afecta de manera significativa a los adultos jóvenes quienes tienen por delante muchos años de capacidad reproductiva para cuidar. En diversas investigaciones se ha puesto de manifiesto que el tema del cuidado de la salud en general y de la salud reproductiva en particular se ha delegado socialmente en las mujeres⁽¹⁰⁾ esto se ha podido visibilizar en los resultados obtenidos.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó con una muestra de 376 jóvenes del conurbano bonaerense que se encuentran cursando el primer año de una carrera universitaria en una universidad pública. Se expuso la encuesta a Facebook durante una semana.

Se utilizaron preguntas cerradas para explorar edad, género, nivel socioeconómico, presencia de hijos, cantidad de integrantes de la familia, grado de conocimientos sobre el cuidado de la fertilidad, motivos de la preservación de la fertilidad, planificación familiar, entre otros. Se utilizaron preguntas abiertas para fundamentar el motivo de ciertas respuestas. Las cuestiones que se preguntaron sobre cuidado de fertilidad fueron: la importancia de la alimentación / Realizar deporte/ Consumo de alcohol, drogas, tabaco / obesidad/ uso de métodos anticonceptivos de barrera. Se colocaron algunas opciones intencionalmente erróneas para evaluar la certeza en las respuestas como, por ejemplo: el sexo frecuente es saludable o lo importante es la genética no los hábitos.

Criterios de inclusión en la muestra: estar cursando una carrera universitaria

en una universidad pública del conurbano bonaerense. **Criterio de exclusión:** ser mayor de 23 años ya que la investigación se centra en adultos jóvenes.

Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó el Excel y para el cruce de variables el paquete estadístico SPSS.

RESULTADOS

1. Características generales

De los datos generales de la muestra, queremos enfatizar ciertos aspectos. El 67% de la muestra convive en una familia de 4 o más personas considerada familia numerosa y los ingresos familiares mensuales del 50% está entre 18000 y 40000 pesos que es inferior a la canasta familiar⁽¹¹⁾. Por consiguiente, la muestra es de una población con un nivel socioeconómico bajo. Registrándose un 11,7% que recibe algún plan de ayuda social (AUH, progresar, etc.) Se considera una muestra de adultos jóvenes conformada por sujetos de entre 17 y 23 años, que tienen gran parte de su vida reproductiva por delante. Y del 6% que tiene hijos, el 55% tiene un hijo; mientras que el 45% tiene dos.

2. Cuidado de la fertilidad

Se asocia el cuidado de la capacidad reproductiva de los hombres con la buena alimentación en un 67,5 %. Mientras que, en segundo lugar, se ubica el no consumo de drogas con un 62% y, en tercer lugar, el uso de preservativos con 51,5%.

En el caso de las mujeres, el 69,7% señala que la principal causa de infertilidad femenina es la edad; en segundo lugar, abortos mal realizados, 58,4% y en tercer lugar, enfermedades hormonales 58,1%.

El estrés es considerado en un 14% como causa de infertilidad masculina pero no se visibiliza en el caso de las mujeres. Meldrum⁽¹²⁾ estudia en profundidad el

impacto del estrés en la calidad ovocitaria y en la capacidad de desarrollo embrionario luego de la anidación.

El 73% de la muestra considera que el deterioro de la capacidad ovárica de la mujer comienza después de los 40 años. Este es un número preocupante ya que sumado al hecho de que se considera la principal causa de la infertilidad femenina la edad, esto ocasionará una dilación del momento del embarazo que no es coincidente con la realidad. El deterioro de la calidad ovocitaria se estima alrededor de los 35 años.

De las mujeres entrevistadas el 59,2 % no cree que haya que hablar con el ginecólogo el tema de la planificación fami-

liar. Esta es otra cifra que nos indica que socialmente el tema de la reproducción se considera de la vida privada.

Otro dato interesante lo constituye el hecho de que el 18% dice no conocer las causas de la infertilidad en la mujer, cifra que se eleva al 32% del desconocimiento de las causas de la infertilidad en los hombres.

3. Preservación de la fertilidad

El 80% de los jóvenes entrevistados conocen la existencia de bancos de semen y óvulos para criopreservar los gametos. El 73,5% considera que podría estar motivado para preservar los gametos por problemas de salud, mientras que el 24,2% cree

Tabla 1. Características de la población

Variable	Indicadores	Porcentaje	
Edad	Entre 17 y 18 años	10,5 %	
	Entre 18 y 19 años	54%	
	Entre 20 y 23	41 %	
	Género	Femenino	61.4%
	masculino	38.6%	
Ingresos familiares mensuales	Hasta 10.000 pesos	9.1%	Datos del INDEC ³²
	Entre 11.000 y 15.000	14.9%	
	Entre 18000y 25000	21.5%	
	Entre 26000 y 40000	28.4%	
	Más de 41000	26.2%	
Habitantes por casa	2	8.9%	
	3	23.9%	
	4	30.3%	
	Más de 4	36.7%	
Tienen hijos	Si	6.3%	
	no	93.7%	
Lugar de residencia	La Matanza	57.3 %	
	CABA	8.3%	
	Otra localidad del conurbano	34.4%	

Lo que esta resaltado en verde es la cifra que suma el 50% o más de la muestra.

que lo haría por motivos sociales. El 2,3% considera que nunca preservaría gametos.

En relación con la preservación de la fertilidad por motivos laborales, la muestra se encuentra dividida: el 54% considera que es apropiado que las empresas (google, amazon) paguen a sus empleadas mujeres los tratamientos de crio preservación de óvulos para extender su edad laboral apelando a la autonomía reproductiva, mientras que el 46% lo rechaza por motivos morales y de explotación laboral.

En relación con el costo de la preservación de gametas el 95% de la muestra dice desconocer el valor. Y a la hora de considerar si el costo debe ser afrontado por los particulares, las obras sociales, prepagas o inclusive por el estado. Señalan los siguiente:

La muestra considera que las obras sociales y/o la medicina prepaga debería asumir

los costos de la criopreservación de gametas en un porcentaje mayoritario. Sin embargo, el 23,1% esta de acuerdo en que el gasto debe ser cubierto por los particulares.

4. Diferencias por género

Finalmente vinculamos la variable género con tres preguntas del cuestionario para identificar semejanzas o diferencias en cuanto a la planificación de la familia en hombres y mujeres:

DISCUSIÓN

El presente estudio nos permite visibilizar semejanzas y diferencias entre los géneros y de los jóvenes de nuestro país⁽¹³⁾ comparativamente con otros países^(14;15). Actualmente la inserción de las mujeres en el mercado laboral ha llevado a postergar la maternidad⁽¹⁶⁾. Se encuentran tendencias

Gráfico 1. Gastos del proceso de criopreservación de gametos

El costo del proceso de criopreservación y la mantención de las muestras (sémén y óvulos), debería estar cubierto por:

376 respuestas

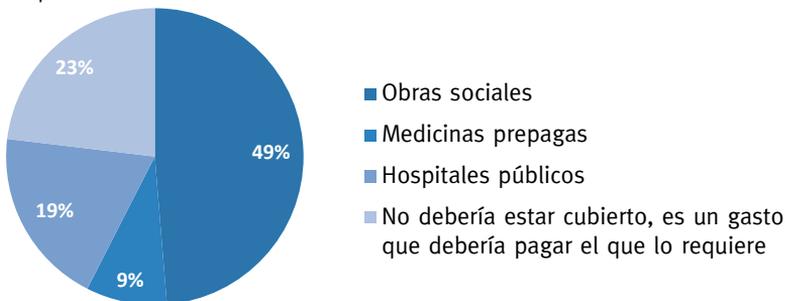


Tabla 2. Edad proyectada para el primer hijo/a

¿A qué edad piensa que le gustaría tener su primer hijo?	Mujeres	Hombres
Entre 20 y 25	6,2%	1,4%
Entre 26 y 30	46,9%	49,3%
Entre 31 y 35	32,7%	39,7%
Entre 36 y 40	11,5%	4,1%
Después de los 40	2,7%	5,5%

similares en otras partes del mundo^(17;18) con una de las edades medias más altas de madres primerizas observadas en Italia con 30,6 años⁽¹⁹⁾.

Sin embargo, aunque la muestra de jóvenes bonaerenses identifica como la causa principal de la infertilidad femenina el envejecimiento reproductivo, no ubican correctamente el declive en los 35 años, sino que lo extienden a los 40 años. Esta tendencia detectada en la muestra argentina se corresponde con lo observado en población de jóvenes mexicanos⁽²⁰⁾ norteamericana⁽²¹⁾ y de la Ciudad de Buenos Aires⁽²²⁾.

Si consideramos del total de la muestra el 9,4% considera que la edad ideal para quedar embarazada es entre los 35 y 40 años, que es un porcentaje superior al referido en el estudio mexicano, que era del 5%⁽²³⁾, sumado al desconocimiento del declive de la capacidad reproductiva femenina⁽²⁴⁾, tenemos la presencia de una desinformación en los jóvenes preocupante.

Un análisis especial merece la cuestión de género. Según el dossier estadístico 8M

del INDEC (2020) las mujeres alcanzan en un 35,2% concluir los estudios universitarios⁽²⁵⁾, mientras que los hombres en un 30,7%. En la encuesta realizada se observa que las mujeres buscan posponer la maternidad hasta alcanzar a terminar la universidad en un 34,5%. Mientras que para los hombres es más relevante tener un buen trabajo antes que terminar sus estudios. Este dato debe ser leído en concordancia con otro dato estadístico relevante, la tasa de empleo en los hombres es del 60,7% mientras que en las mujeres es del 43,9%. Aunque las mujeres tengan mejor formación profesional obtienen menos empleos y con menor paga que los hombres. En gran medida, los empleadores evalúan si la postulante se encuentra en edad reproductiva y si tiene o no hijos y esto suele ser motivo de subempleo. A esto se le suma que, las mujeres que viven en hogares con niños y niñas menores de 6 años participan menos en el mercado laboral ya que realizan tareas domésticas y de cuidado de la familia, el doble que los hombres.

Tabla 3. Proyectos previos a los hijos/as

¿Qué cosas le gustaría hacer antes de tener hijos?	Mujeres	Hombres
Comprar una casa	17,7%	16,4%
Conseguir un buen trabajo	30,1%	43,8%
No creo que tengan que esperar para tener hijo al logro de los proyectos personales	3,5%	4,1%
Terminar una carrera terciaria y/ o universitaria	34,5%	28,8%
Viajar	14,2%	6,8%

Tabla 4. Proyecto de familia monoparental

Si no encuentra una pareja estable para formar una familia, sería padre/madre soltero/a	Mujeres	Hombres
No	24,4%	42,5%
Sí	45,7%	21,9%
Tal vez	29,9%	35,6%

Asimismo, se evidencia que el deseo de tener hijos y formar una familia, aunque sea sola es mayor en las mujeres que en los hombres. Esto ha hecho que haya aumentado en los centros reproductivos el número de madres solteras por elección, antes que de padres solteros. Esta tendencia, se evidencia en los jóvenes de la muestra.

El 74% de la muestra es de un nivel socioeconómico bajo, ya que los ingresos son inferiores a 41000 pesos cuando, en el momento de la encuesta (septiembre del 2020) según el INDEC la canasta familiar básica para una familia de 4 personas es de \$51776.

CONCLUSIÓN

Diversos autores han señalado la importancia de que los niños, niñas y jóvenes reciban una formación a lo largo de su escolarización sobre temas vinculados a la salud sexual y reproductiva⁽²⁶⁻²⁸⁾ incluida en los niveles obligatorios de la escolarización en Argentina en lo que se conoce como educación sexual integral⁽²⁹⁾ (ESI). En relación con el cuidado y la preservación de la fertilidad^(30,31), hemos observado en el presente estudio que los saberes previos de los estudiantes son en algunos casos erróneos y en otros, escasos e insuficientes. Esto provoca a futuro que las

problemáticas vinculadas a consultas tardías de las mujeres en los centros de reproducción y a la escasez de consultas en los servicios de salud reproductiva en los hombres⁽³²⁾ se mantengan. Para poder modificar esta actitud es necesario una educación sexual integral, transversal y transdisciplinaria que incluya todos los niveles de enseñanza.

La problemática del cuidado de la fertilidad en jóvenes exige conocer las respuestas diferenciadas por género en las encuestas y poder organizar experiencias de aprendizaje grupales en las que se trabajen los hábitos saludables para cuidar la fertilidad y concientizar sobre su preservación. La inversión en educación para la salud tiene efectos positivos en el sistema sanitario. Cambiar representaciones erróneas, hábitos no saludables, brindar conocimientos científicos a los jóvenes constituye una premisa, no sólo académica sino también bioética para el sistema universitario.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a los compañeros docentes e investigadores de la Universidad de Buenos Aires y la Universidad de La Matanza; y a los alumnos y las alumnas que son el motor de la reflexión que impulsa y motiva la tarea de docencia y extensión.

REFERENCIAS

1. Lugones Botell, Miguel Preservar la fertilidad desde la atención primaria de salud. Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología, 40(3), 301-302. Recuperado en 02 de enero de 2021, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-600X2014000300001&lng=es&tlng=es.
2. Baram S, Myers SA, Yee S, Librach CL. Fertility preservation for transgender adolescents and young adults: a systematic 245 review. Human reproduction update 2019;25: 694-716
3. Takeuchi E, Shimizu M, Miyata K, Shimizu R, Matsunaga N, Moroi N, Fujisawa D, Mimura M, Kato M. A Content Analysis of Multidimensional Support Needs Regarding Fertility Among Cancer Patients: How Can Nonphysician Health Care Providers Support? Journal of adolescent and young adult oncology 2019;8: 205-211

4. Soriano-Ortega KP, Carballo-Mondragón E, Roque- Sánchez AM, Durán-Monterrosas L, Kably-Ambe A. Percepción de fertilidad de mujeres en edad reproductiva de acuerdo a su edad. *Ginecol Obstet Mex.* 2017 junio;(6):364-373.
5. ALMER. Mesa de Preservación de la fertilidad Reproducción. En *actas* 2017;32:34-39. En línea: http://www.samer.org.ar/revista/numeros/2017/numero_2/almer.pdf
6. ESHRE (2020) Female fertility preservation. Guideline of European Society of Human Reproduction and Embryology. En línea: <https://www.eshre.eu/Guidelines-and-Legal/Guidelines/Female-fertility-preservation>
7. Van den Berg M, Baysal O, Nelen W, Braat DDM, Beerendonk CCM, Hermens R. Las barreras de los profesionales en la oncofertilidad femenina cuidados y estrategias de mejora. *Reproducción humana* (Oxford, Inglaterra) 2019; 34: 1074-1082.
8. Baram S, Myers SA, Yee S, Librach CL. Fertility preservation for transgender adolescents and young adults: a systematic 245 review. *Human reproduction update* 2019;25: 694-716.
9. Eisenberg ME, McMorris BJ, Rider GN, Gower AL, Coleman E. "It's kind of hard to go to the doctor's office if you're hated there." A call for gender-affirming care from transgender and gender diverse adolescents in the United States. *Health Soc Care Community* 2020;28: 1082-1089.
10. Tajer, D. Niñez, adolescencia y género. Buenos Aires, Noveduc (2020)
11. Instituto Nacional de Estadística y Censos (INDEC) Dossier estadístico en conmemoración del 109° Día Internacional de la Mujer. Marzo de 2020.
12. Meldrum DR, Casper RF, Diez-Juan A, Simon C, Domar AD, Frydman R. Aging and the environment affect gamete and embryo potential: can we intervene? *Fertil Steril.* 2016 Mar;105(3):548-59.
13. Jurkowski, L; Rossi, M; Manubens, y Olivera Ryberg, J. Concientización acerca del cuidado de la fertilidad y actitudes hacia la parentalidad en estudiantes universitarios de Argentina. XI Congreso Internacional de Investigación y Práctica Profesional en Psicología. Facultad de Psicología - Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires. (2019) Dirección estable: <https://www.aacademica.org/000-111/57>
14. Place, J.M.S., Bireley, M. Exploring Infertility from the Cultural Context of Latino College Students: Results from a Preliminary Focus Group. *J. Racial and Ethnic Health Disparities* 4, 803-811 (2017). <https://doi.org/10.1007/s40615-016-0282-4>
15. Adebisi Gbadebo Adesiyun, Nkeiruka Ameh, Marliyya Zayyan, Hajaratu Umar-Sullayman, Solomon Avidime, Korede Koledade, Fadimatu Bakare. Awareness of Female Reproductive Aging among Undergraduate Students and Attitudes toward Parenthood. *Journal of Gynecology and Obstetrics.* Vol. 2, No. 6, 2014, pp. 123-126. doi: 10.11648/j.jgo.20140206.19
16. Ormart, E. Tensiones entre lo femenino y la maternidad en torno a las técnicas de reproducción asistida. Premio Facultad de Psicología. Universidad de Buenos Aires, 2020
17. Hammarberg K, Clarke VE. Reasons for delaying childbearing- a survey of women aged over 35years seeking assisted reproductive technology. *Aust Fam Physician* 2005; 34: 187. 8, 206. [5] Heck KE, Schoendorf KC, Ventura SJ, Kiely JL. Delayed childbearing by education level in the United States, 1969-1994. *Matern Child Health J* 1997; 1: 81-88.
18. James-Abra S, Tarasoff LA, Green D, Epstein R, Anderson S, Marvel S, Steele LS, Ross LE. Trans people's experiences with 269 assisted reproduction services: a qualitative study. *Human reproduction* (Oxford, England) 2015; 30; 1365-1374

19. Adebisi Gbadebo Adesiyun, Nkeiruka Ameh, Marliyya Zayyan, Hajaratu Umar-Sullayman, Solomon Avidime, Korede Koledade, Fadimatu Bakare. Awareness of Female Reproductive Aging among Undergraduate Students and Attitudes toward Parenthood. *Journal of Gynecology and Obstetrics*. Vol. 2, No. 6, 2014, pp. 123-126. doi: 10.11648/j.jgo.20140206.19
20. Soriano-Ortega KP, Carballo-Mondragón E, Roque- Sánchez AM, Durán-Monterrosas L, Kably-Ambe A. Percepción de fertilidad de mujeres en edad reproductiva de acuerdo a su edad. *Ginecol Obstet Mex*. 2017 junio;(6):364-373.
21. Soriano-Ortega KP, Carballo-Mondragón E, Roque- Sánchez AM, Durán-Monterrosas L, Kably-Ambe A. Percepción de fertilidad de mujeres en edad reproductiva de acuerdo a su edad. *Ginecol Obstet Mex*. 2017 junio;(6):364-373. *ward Parenthood. Journal of Gynecology and Obstetrics*. Vol. 2, No. 6, 2014, pp. 123-126. doi: 10.11648/j.jgo.20140206.19
22. Jurkowski, L; Rossi, M; Manubens, y Olivera Ryberg, J. Concientización acerca del cuidado de la fertilidad y actitudes hacia la parentalidad en estudiantes universitarios de Argentina. XI Congreso Internacional de Investigación y Práctica Profesional en Psicología. Facultad de Psicología - Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires. (2019) Dirección estable: <https://www.aacademica.org/000-111/57>
23. Soriano-Ortega KP, Carballo-Mondragón E, Roque- Sánchez AM, Durán-Monterrosas L, Kably-Ambe A. Percepción de fertilidad de mujeres en edad reproductiva de acuerdo a su edad. *Ginecol Obstet Mex*. 2017 junio;(6):364-373.
24. Mac Dougall K, Beyene Y, Nachtigall R.D. Age shock: misperceptions of the impact of age on fertility before and after IVF in women who conceived after age 40. *Hum Reprod*. 2013 Feb;28(2):350-6.
25. Instituto Nacional de Estadística y Censos (INDEC) Dossier estadístico en conmemoración del 109° Día Internacional de la Mujer. Marzo de 2020.
26. Place, J.M.S., Bireley, M. Exploring Infertility from the Cultural Context of Latino College Students: Results from a Preliminary Focus Group. *J. Racial and Ethnic Health Disparities* 4, 803–811 (2017). <https://doi.org/10.1007/s40615-016-0282-4>
27. Pesce, R et al. Preservación de la fertilidad. *En Reproducción* 2017;32:34-39
28. Perrotta, G. Marco legal que garantiza derechos sexuales y derechos reproductivos de adolescentes en Argentina. En *Compiladores: Ormart, E & Fernández, O. (2020) Educación sexual integral en una sociedad hiperconectada*. Editorial SB.
29. Ormart, E & Fernandez, O. ESI con cine para niños. Ed. NEU. En línea: <http://www.neu.unsl.edu.ar/wp-content/uploads/2020/03/ESI-para-nin%CC%83os.pdf>
30. Skaczkowski G, White V, Thompson K, Bibby H, Coory M, Orme LM, Conyers R, Phillips MB, Osborn M, Harrup R et al. Factores que influyen en la prestación de asesoramiento sobre fertilidad y su impacto en la calidad de vida de los adolescentes y adultos jóvenes con cáncer. *Revista de oncología psicosocial* 2018: 1-19.
31. Yee S, Fuller-Thomson E, Lau A, Greenblatt EM. Fertility preservation practices among Ontario oncologists. *Journal of cancer education: the official journal of the American Association for Cancer Education* 2012;27: 362-368.
32. Tajer, D. Niñez, adolescencia y género. Buenos Aires, Noveduc (2020)

“De esto no se habla: los tratamientos de fertilidad y su impacto en la sexualidad de las parejas”

“Nobody speaks about this: fertility treatments and its impact on couples sexuality”

Ma. Belén García Ojeda, Laura Isa, Florencia Poch, Sofía García Argibay, Edgardo Young

IFER, CABA. Buenos Aires

RESUMEN

Pregunta de estudio: ¿Cómo impactan las técnicas de reproducción asistida (TRA) en la sexualidad de la pareja?

Respuesta resumida: Observamos un impacto negativo en la sexualidad, en el deseo sexual, la frecuencia de las relaciones sexuales, sobre todo en el grupo de las mujeres.

Lo que ya se sabe: el diagnóstico de esterilidad y la necesidad de realizar Tratamientos de Reproducción Asistida pueden afectar a la sexualidad, la autoestima y la relación de la pareja.

Diseño del estudio: descriptivo observacional transversal. En 150 pacientes de un Instituto de la Ciudad de Buenos Aires, de Julio de 2019 a Marzo 2020.

Materiales y métodos: Se entregaron 150 encuestas anónimas a las parejas que realizaban

Tratamientos de Reproducción (baja y alta complejidad). Se excluyeron parejas igualitarias, mujeres solas y mujeres en tratamiento para maternidad diferida.

Resultados: Se analizaron 98 encuestas, de las cuales 72 fueron de mujeres

ABSTRACT

Study Question: How do assisted reproductive techniques impact on couples sexuality?

Summary Answer: We observed a negative impact on sexuality, sexual desire and less frequency of sexual intercourse rhythm, especially in the women group.

What is Known Already: The diagnosis of infertility and the Assisted reproductive techniques, can affect sexuality, self-esteem, satisfaction and social relationships.

Study Design: descriptive observational cross-sectional study. In 150 patients from Buenos Aires City Institute, from July of 2019 to March 2020.

Materials and Methods: 150 anonymous surveys were delivered to couples undergoing Reproductive Treatments. Equal couples, single women and women who were performing fertility preservation were excluded.

Main Results: 98 surveys were analyzed, of which 72 were for women and 26 were for men. Average age was 36 years. Both men and women reported a negative effect. 23.4% of women had lower sexual de-

y 26 fueron de varones. La edad promedio de los pacientes fue de 36 años. Tanto hombres como mujeres reportaron un efecto negativo. Un alto porcentaje de mujeres presentaron disminución del deseo sexual y en la frecuencia de las relaciones sexuales. Para lograr un orgasmo el 23,6% de las mujeres y el 7,7% de los hombres presentaron más dificultades que antes del tratamiento. En el grupo de las mujeres el sentimiento más frecuente fue ansiedad (32%), optimismo (28%), irritabilidad (14%) y angustia (8%). Los hombres reportaron: sin cambios (35%) y optimismo e irritabilidad en el mismo porcentaje (23%).

Limitaciones del estudio: resistencia o falta de interés por parte de los hombres para responder las encuestas. Las encuestas anónimas no permitieron indagar en profundidad la problemática individual. Tamaño muestral reducido.

Palabras clave: Infertilidad, parejas estériles, Sexualidad, Fertilización In Vitro.

sire, while most men reported no change in desire. In 49% women, a decrease in frequency of sexual intercourse was observed. 23.6% women and 7.7% men had more difficulties achieving orgasm than before treatment. In the women group, the most frequent feelings were anxiety (32%), optimism (28%), irritability (14%) and anguish (8%). Men reported: no change (35%) and optimism and irritability in the same percentage 23%.

Limitations: Resistance for the part of men to answer the surveys, mostly patients in highly complex treatments. The anonymous surveys did not allow an in-depth investigation of the individual problem. The small sample size.

Wider Implications of the findings: Several publications relate the stress experienced by couples who perform fertility treatments. So far, there is no scientific work published that evaluates the impact on sexuality who are undergoing fertility treatment. In our work, we found a negative impact on sexuality during the Assisted Fertilization process, high or low complexity, being more evident in women.

Keywords: Infertility, Sexuality, Assisted Reproductive Technology.

INTRODUCCIÓN

Se define esterilidad como la imposibilidad de una pareja de concebir un embarazo luego de un año de mantener relaciones en forma regular (2-3 veces/semana) sin uso de métodos anticonceptivos (OMS). La esterilidad es primaria si la pareja no presenta embarazos previos. Si la pareja presenta antecedente de embarazo, se habla de esterilidad secundaria.

En la actualidad, se pueden identificar hasta el 90% de las causas médicas de infertilidad y más del 50% de los casos se tratan con éxito mediante técnicas médicas o quirúrgicas. Las causas de esterilidad pueden ser femeninas, masculinas o combinadas. Un problema de los tiempos en los que vivimos es la postergación de la maternidad, la edad en la que la mujer busca su primer embarazo ha corrido en los últimos años; a mayor edad menor reserva ovárica. Esta información a veces juega en contra de la autoestima y la autoimagen de cada paciente. La percepción negativa en la mujer, con gran frecuencia, lleva a problemas relacionados con la esfera sexual, falta de deseo o deseo hipoactivo, falta de erotismo, disminución de la lubricación y dispareunia. En los hombres se puede evidenciar eyaculación retardada y/o anorgasmia, así como también disfunción sexual eréctil.⁽¹⁾ Los estudios muestran que la infertilidad afecta muchos aspectos psicológicos de la vida de una persona, como la cooperación, la satisfacción con la vida, el humor y las relaciones sociales. Las mujeres son más vulnerables a los problemas de salud mental, a la baja autoestima y a la insatisfacción en la relación de pareja^(1,2).

Algunos autores hablan de que tanto hombres como mujeres pueden sentir un sentimiento de culpa, temor o rechazo al recibir algún diagnóstico respecto a la capacidad reproductiva. Las mujeres pueden

perder el erotismo al subordinar su sexualidad al deseo de ser madre; frecuentemente empiezan a tomar la iniciativa para tener relaciones sexuales. Los hombres pueden sentir la posibilidad o no de replantear su masculinidad desde la reproductividad. Una constante cultural es la necesidad de demostrar la virilidad que puede traducirse en la expresión de la paternidad⁽²⁾.

La Infertilidad puede ser causa o consecuencia de disfunciones sexuales. En muchos casos la disfunción sexual puede ser transitoria, de origen orgánico o psíquico, pero en algunas parejas el deseo insatisfecho por la falta del embarazo logra desencadenar problemas sexuales a largo plazo. Estos trastornos temporales sexuales resultantes del diagnóstico y tratamiento de fertilidad, suelen ser más frecuentes en las mujeres y requieren de un tratamiento más complejo que incluya la consejería explícita durante el seguimiento de la pareja por parte de un terapeuta especializado⁽³⁻⁴⁾.

La Organización Mundial de la Salud considera que “La salud sexual es un estado de bienestar físico, emocional, mental y social en relación con la sexualidad; no es simplemente la ausencia de enfermedad, disfunción o enfermedad. La salud sexual requiere un comportamiento positivo y un enfoque respetuoso hacia la sexualidad y las relaciones sexuales, así como la posibilidad de tener relaciones sexuales placenteras y seguras, experiencias libres de coerción, discriminación y violencia. Para que se consiga y mantenga la salud sexual, los derechos sexuales de todas las personas deben ser respetados, protegidos y cumplidos”⁽⁵⁾.

La sexualidad es un aspecto central del ser humano a lo largo de su vida, que abarca el sexo genético, biológico, la identidad, el género y la orientación sexual⁽⁶⁾. Está influenciada por interacciones de factores

biológicos, psicológicos, sociales, políticos, culturales, éticos, históricos, religiosos y espirituales. El individuo se define a sí mismo como un ser sexuado, se percibe con una identidad y una orientación, y se proyecta al mundo según el rol aprendido por los valores que le mostró el medio social que enmarca su crecimiento, además de las vivencias de cada uno⁽⁶⁾.

En los seres humanos a diferencia de los animales, la sexualidad no solo está relacionada a funciones reproductivas sino también con el placer, la intimidad, la comunicación, la relajación, actitudes positivas etc.

En sexualidad no existe lo normal como un significado único, sino que cambia según los observadores y las distintas circunstancias, el entorno social, el momento histórico. Lo normal en un medio determinado es lo que se adecua a determinadas prescripciones (morales, religiosas, legales, médicas, psicológicas) y muchas veces se asocia a lo “correcto, aceptable, y saludable”. Los criterios más usados están determinados por la estadística y lo social.

Uno de los mitos más frecuentes en sexualidad es que el deseo es espontáneo, y en realidad puede verse afectado por situaciones biológicas, psicológicas y sociales, por lo cual el erotismo necesita ayuda con ciertos recursos como innovación de escenarios, halago mutuo, etc.

Para poder entender hacia donde fue apuntado el trabajo es necesario recordar las fases de la respuesta sexual de Master y Jonhson modificada en 1979 por Kaplan, el modelo trifásico: deseo (espontáneo e inducido), excitación, orgasmo⁽⁶⁻⁷⁾. Es importante entender que existe un modelo para las mujeres que involucra la concepción psicofisiológica sexual de la misma y pretende mejorar el tratamiento conductual, psicológico y farmacológico de sus problemas sexuales⁽⁸⁾.

Es frecuente que los pacientes en tratamientos de fertilidad puedan sufrir la falta de espontaneidad en los encuentros sexuales y que estos encuentros están incrementados en la fecha preovulatoria. De esta manera el sentido de la excitación sexual de las parejas se manifiesta como una representación de sus experiencias, en este caso asociadas al tratamiento de fertilidad y la búsqueda de la procreación.

OBJETIVOS

Analizar el impacto que tienen los tratamientos de fertilidad en la sexualidad de las parejas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio descriptivo observacional transversal, a través de encuestas anónimas realizadas a los pacientes mientras se encontraban en estímulo para realizar Tratamientos de Fertilidad, de alta o baja complejidad en el Instituto de Ginecología y Fertilidad (IFER) en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, de Julio de 2019 a Marzo de 2020.

Criterios de Inclusión: hombres y mujeres que se encontraban realizando tratamiento de fertilidad de alta o baja complejidad.

Criterios de Exclusión: Se excluyeron parejas igualitarias, mujeres solas y mujeres en tratamiento para maternidad diferida.

RESULTADOS

Se entregaron encuestas a 150 parejas que realizaban tratamientos de fertilidad tanto de baja como de alta complejidad mientras estaban en la sala de espera. Se analizaron 98 encuestas, de las cuales 72 (73,5%) fueron mujeres y 26 (26,5%) fueron varones. La edad promedio de los participantes fue de 36 años (de 29 a 42 años).

El tiempo en pareja: promedio 6 años (de 2 años a 13 años). Tiempo que llevan

buscando un embarazo: promedio 2 años y medio (de 6 meses a 5 años). Tiempo que llevan realizando tratamiento: 1,12 años (de 6 meses a 3 años). Pacientes en tratamientos de alta complejidad: 41 pacientes (42%) de los cuales se distribuyeron en 38 mujeres (53%) y 3 hombres (que representa 11,3% de los masculinos). Pacientes que se encontraban realizando tratamiento de baja complejidad 57 pacientes (58%) de los cuales fueron 34 mujeres (47%) y 23 (88, 5%) de los hombres.

Antecedes de abortos el 23,5% de los encuestados (26,4% del grupo de mujeres y 19 % del grupo de hombres).

Enfermedades crónicas: pacientes con alguna patología fueron 23 (23,5%)

Fumadores: 17 pacientes (17,35% del total encuestados), que representa el 12,5% de las mujeres y 30,8 % de los hombres.

Contestaron sobre una repercusión negativa de los tratamientos de fertilidad con respecto a su sexualidad: 46 participantes (47%), correspondiendo al 48,6% de las mujeres y 42,3 % de los hombres. Sin respuesta 15,2% de las mujeres y 3,8% de los hombres. Efecto positivo: 36 % de las mujeres y 54 % de los hombres.

Cuando se analizó el deseo sexual se vio diferencia en ambos sexos. El deseo aumentó en el 18 % de las mujeres y 15,4 % de los hombres. Disminuyó en el 23,4 % de las mujeres, pero no ocurrió lo mismo en el grupo de hombres (0 %), en los cuales la mayoría reportó no haber tenido cambios en el deseo (84,6% vs 55,5% de mujeres) (Gráfico n° 3 y 4).

Frecuencia de las relaciones: 46% no presentó diferencia en la frecuencia en sus encuentros sexuales (26% de las mujeres vs. 73% de los hombres). En un 36% de los pacientes disminuyó el número de relaciones siendo (49% de las mujeres y 23 % de los hombres). Y un 22,2% de las mujeres y 3,8

% de los hombres refieren más frecuencia que antes del tratamiento (Gráfico n°1 y 2). Como comentario libre algunos coincidieron que disminuyeron sus relaciones por ansiedad y nervios, el aumento de días de abstinencia por miedo a que la muestra de semen sea insatisfactoria en el momento del procedimiento y/o temor a que algo salga mal.

Satisfacción: 83% igual que antes del tratamiento (78% de mujeres y 96% hombres). Menos satisfacción en 14% de las mujeres y 3,8% de los hombres. Más satisfacción en el 8,4% de las mujeres, pero en ningún hombre. (Gráfico n°5 y 6)

Orgasmo: 78,7% no presentó ningún cambio para lograr el orgasmo (73% de mujeres y 92% de hombres), y 20,4 % presentó más dificultades que antes del tratamiento (23,6% de mujeres vs 7,7% de hombres. (Gráfico n°7 y 8)

Molestias con las relaciones: 18,3 % de las mujeres y un solo hombre. En el punto que se preguntó si tenían relaciones porque lo deseaban ambos, la mayoría de los encuestados respondió de manera afirmativa; salvo aquellos pacientes que refirieron tener relaciones por indicación médica que fueron 18 % de mujeres y hombres 15,4%.

Los encuentros sexuales durante el tratamiento estaban focalizados en lo genital, fue lo que correspondió a las respuestas del 12,5% del grupo de mujeres.

Los sentimientos expresados en la pareja fueron diferentes entre mujeres y hombres. En el primer grupo, los sentimientos más frecuentes fueron ansiedad (32%), optimismo (28%), irritabilidad (14%), angustia y tranquilidad fueron equivalentes (8,3%). En cambio el grupo de los hombres reportó: sin cambios (35%) y optimismo e irritabilidad en el mismo porcentaje 23%. En las mujeres que tuvieron antecedentes de abortos fueron más frecuentes los sentimientos negativos. (Gráfico n°9)

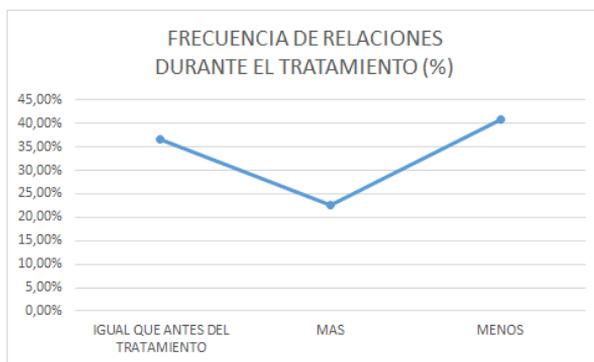


Gráfico 1. Frecuencia de relaciones

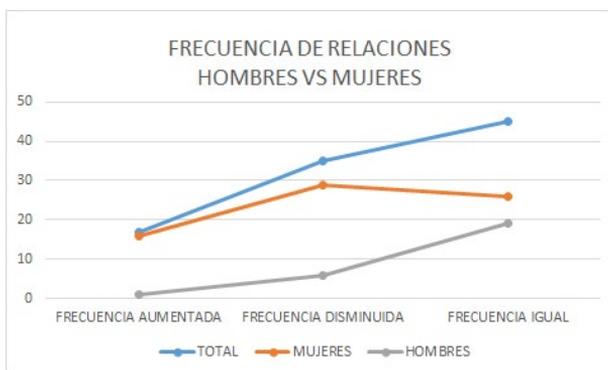


Gráfico 2. Frecuencia de relaciones divididas por sexo.



Gráfico 3. Deseo sexual

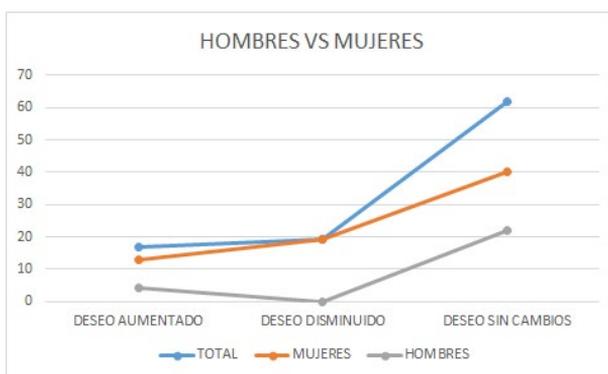


Gráfico 4. Deseo sexual hombres vs mujeres

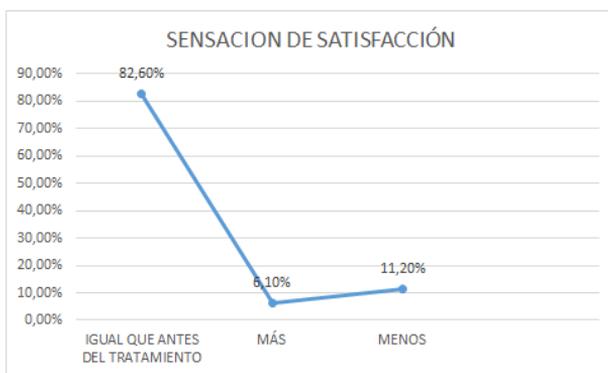


Gráfico 5. Satisfacción sexual



Gráfico 6. Satisfacción sexual hombres vs mujeres



Gráfico 7. Orgasmo

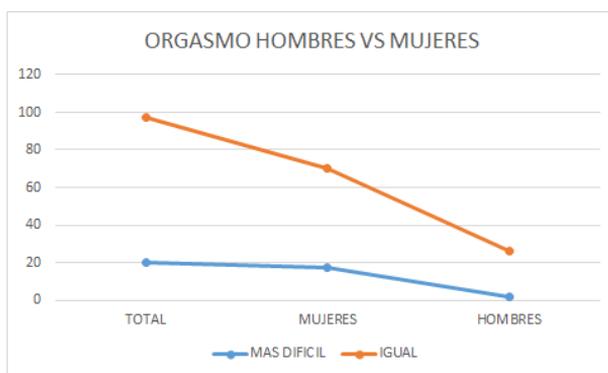


Gráfico 8. Orgasmo Hombres y Mujeres

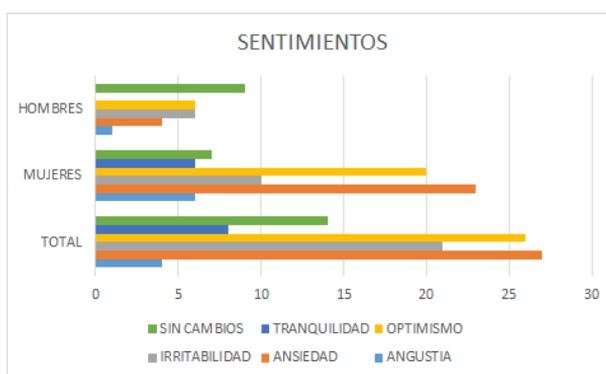


Gráfico 9. Sentimientos en la pareja

Dificultades: La primera dificultad que tuvo el trabajo fue la resistencia o falta de interés por parte de los hombres para responder la encuesta, generando una pérdida de material importante que no pudo ser recolectado y evaluado. Muchas de las parejas que realizaron la encuesta estaban haciendo sus primeros tratamientos y su nivel de ansiedad fue mayor con respecto a las parejas que ya habían realizado algún procedimiento antes. Las parejas que han presentado el antecedente de uno o más abortos, refirieron tener mayor miedo a una nueva pérdida. El uso de encuestas anónimas no permitió profundizar el tema e identificar la problemática en cada pareja. Otra dificultad fue el pequeño tamaño muestral, pero nos incentiva a realizar nuevos trabajos sobre el tema.

DISCUSIÓN

Como se vio en los resultados de la encuesta, los tratamientos de fertilidad afectan de forma negativa a la vida íntima y sexual de la pareja, con un impacto profundo en lo psicosocial y en algunos casos afectando la autoestima^(10, 11).

Esto se traduce en una falta de seducción y deseo, lo que lleva a que también disminuyan los encuentros sexuales, pérdida de la espontaneidad, o que estos encuentros solo estén orientados al coito y a la eyaculación^(11,13). La respuesta sexual de la pareja no solo requiere del conocimiento de su anatomía sino también de la estimulación emocional y mental⁽¹²⁾. Cada miembro de la pareja tiene una historia, un pasado con diferentes significados y valores que se ponen en juego frente a un diagnóstico y un tratamiento. Lo mismo ocurre en la esfera sexual⁽⁶⁾.

Debemos recordar lo que dice la definición de la OMS: “La sexualidad es un aspecto central del ser humano a lo largo de

la vida y está influenciada por la interacción de múltiples factores: biológicos, psicológicos, sociales, económicos, políticos, culturales, éticos, legales, históricos, religiosos y espirituales.” Si bien la sexualidad puede incluir todas estas dimensiones, no todas son siempre experimentadas o expresadas. Como médicos especialistas de Fertilidad, no nos formamos para afrontar esta problemática, por eso es muy importante tener en cuenta no solo lo que implica a la infertilidad, sino el objetivo por lo que los pacientes concurren a la consulta⁽⁸⁾.

Es necesario abordar el problema teniendo en cuenta a cada uno como un ser biopsicosocial en un contexto histórico y familiar único. Debemos ayudar a que los pacientes puedan disfrutar de su sexualidad y a que crezcan como pareja, no solo focalizando el placer en lo coital y fundamentalmente intentando prevenir alguna disfunción sexual. Debemos brindarles la información que ellos necesitan, explicarles cómo es el funcionamiento de cada órgano, las diferencias en cada sexo, los tiempos del hombre y los tiempos de la mujer, así como trabajar con su autoestima, empoderarlos para que la frustración de no conseguir un hijo no afecte a su bienestar y su salud sexual de manera que puedan transitar este proceso lo más naturalmente posible, pudiendo disfrutarse mutuamente^(6, 12).

CONCLUSIÓN

Como resultado vimos un impacto negativo en especial en el grupo de mujeres en lo que respecta a la disminución del deseo sexual, la frecuencia de las relaciones sexuales, como también el placer y la capacidad de llegar al orgasmo^(10, 11,14). Coincidente con la bibliografía, los sentimientos como angustia, ansiedad e irritabilidad son más frecuentes en el grupo femenino⁽¹²⁾.

Consideramos que nuestra “N” fue pequeña y se deberían realizar mayores trabajos donde se evalúen aspectos tanto orgánicos como psicológicos, como es el impacto en la autopercepción de cada miembro de la pareja⁽¹⁴⁾.

Por último y no menos importante, cree-

mos que como médicos especialistas tenemos que informar para evitar el impacto negativo en las parejas mientras realizan TRA, en especial aquellas que realizan su primer intento o las que han tenido algún aborto. El acompañamiento, según nuestro entender, debería ser multidisciplinario.

REFERENCIAS

1. González Labrador I, Miyar Pieiga E. Infertilidad y sexualidad. *Rev Cubana Med Gen Integr.* 2001; 1 (3).
2. Álvarez-Díaz JA. Sexualidad en parejas con problemas de fertilidad. *Gac Med Mex.* 2007; 143: 66-71.
3. Wischmann Tewes H. Sexual Disorders in Infertile Couples. *J Sex Med.* 2010;7(5): 1868-76.
4. Wischmann Tewes H. Sexual disorders in infertile couples: an update. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology.* 2013; 5(3): 220-222.
5. World Health Organization. Sexual health and its linkages to reproductive health:an operational approach 2017 Switzerland. <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/258738/1/9789241512886-eng.pdf?ua=1>
6. Marega O. *Salud Sexual Femenina.* Ed Asuncu. 2020.
7. Kaplan H. *Disfunciones sexuales.* Ed Grijaldo. 1989.
8. Bason R. The Female Sexual Response: A Different Model. *Journal of Sex & Marital Therapy.* 2011; 26(1): 51-65.
9. Langladea P, Martina C, Robina G, Cateau-Jonarda S. Approach to sexuality and sexual dysfunction by reproductive doctors in France. *Sexologies.* 2020; 29: e71 - e76.
10. Ohl J, Reder F, Fernandez A, Bettahar-Lebugle K, RongièrèsC, Nisand I et al. Impact de l'infertilité et de l'assistance médicale à la procréation sur la sexualité. *Gynecol Obstet Fertil.* 2009; 37(1): 25-32.
11. Reder F, Fernandez A, Ohl J. Does sexuality still have a place for couples treated with assisted reproductive techniques?. *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 2009; 38(5): 377-88.
12. Pauls R. Anatomy of the clitoris and the female sexual response. *Clin. Anat.* 2015; 28(3): 376-384.
13. Ferraresi S, Lara L, De Sá M, Reis R, Rosa-e-Silva A. Current Research on How Infertility Affects the Sexuality of Men and Women. *Recent Patents on Endocrine, Metabolic & Immune Drug Discovery.* 2013; 7(3): 1-5.
14. Bechoua S, Hamamah S, Scalici E. Male infertility: an obstacle to sexuality? *Andrology.* 2016; 4(3): 395-403.

PGT no invasivo para aneuploidías (niPGT-a): reporte del primer niño nacido en Argentina

Noninvasive PGT for aneuploidies (niPGT-a): report of the first child born in Argentina

A. Gustavo Martínez^{1,2}, Diego Gnocchi¹, Jeremías Zubrzycki³, Estefanía Martínez¹, Antonio Cattaneo¹, Juan Manuel Berros^{3,4}, Marcela Irigoyen¹, Gabriel Ércoli³, Lautaro Tessari¹, Hernán Dopazo^{3,5}

1 Medicina Reproductiva Fertilis - San Isidro, Buenos Aires, Argentina. 2 Universidad de Belgrano - Buenos Aires, Argentina. 3 Biocódices S.A. - Buenos Aires, Argentina. 4 Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina. 5 Laboratorio de Genómica Evolutiva y Poblacional. Instituto de Ecología, Genética y Evolución de Buenos Aires (IEGEB-CONICET), Departamento de Ecología Genética y Evolución, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

RESUMEN

El Diagnóstico Genético Preimplantacional No Invasivo para Aneuploidias (niPGT-a) utiliza el ADN libre de células presente en el medio de cultivo del blastocisto para la caracterización cromosómica del embrión. El resultado del niPGT-a podría representar el contenido genómico tanto de las células de la masa celular interna como del trofoblasto, sin la necesidad de realizar una biopsia embrionaria.

El objetivo del presente reporte es describir el procedimiento con el que se logró el primer nacimiento en Argentina de un niño cuyo embrión fue caracterizado mediante esta técnica.

Palabras clave: Test genético preimplantatorio para aneuploidías, PGT-a, no-invasivo, niPGT-a.

ABSTRACT

Noninvasive Preimplantation Genetic Diagnosis for Aneuploidies (niPGT-a) uses the cell-free DNA present in the blastocyst culture medium for chromosomal characterization of the embryo. The result of niPGT-a could represent the genomic content of both internal cell mass and trophoblast cells, without the need for an embryonic biopsy.

The objective of this report is to describe the procedure with which the first birth in Argentina of a child whose embryo was characterized by this technique was achieved.

Keywords: Preimplantation genetic test for aneuploidies, PGT-a, non-invasive, niPGT-a.

INTRODUCCIÓN

Más de una década después de utilizar la evaluación genética preimplantacional para aneuploidías (PGT-a) en los programas de medicina reproductiva, quedan aún muchas dudas sobre los riesgos del procedimiento invasivo de biopsia de los embriones y la interpretación de los mosaicismos genéticos⁽¹⁻⁵⁾. El PGT-a no invasivo de aneuploidías (niPGT-a), es el último desarrollo tecnológico para la caracterización genética de embriones preimplantatorios. La técnica utiliza el ADN embrionario que se libera al medio de cultivo de los blastocistos para caracterizar el nivel de ploidía de los autosomas y cromosomas sexuales del embrión⁽⁶⁻¹²⁾. Entre las principales ventajas de la técnica, no sólo se destaca el hecho de no intervenir la integridad física del embrión, sino que la misma puede reflejar el contenido genético del trofoblasto y de la masa celular interna. De este modo, el niPGT-a representaría de forma más precisa el contenido genómico del embrión completo⁽⁸⁾, disminuyendo la posible determinación como no transferibles de embriones que en realidad hubieran sido transferibles.

OBJETIVO

El objetivo del presente reporte es describir el procedimiento con el que se logró el primer nacimiento en Argentina de un niño cuya conformación cromosómica embrionaria fue caracterizada exclusivamente mediante la técnica de niPGT-a, en una pareja con indicación de FIV por diagnóstico endometriosis y con deseo de realizar PGT-a.

REPORTE DEL CASO CLÍNICO

Diseño

Reporte de caso clínico

Pacientes

Pareja compuesta por una mujer de 35 años y un varón de 38 que asisten a Medicina Reproductiva Fertilis en 2020. Consultan por esterilidad primaria de 18 meses de evolución. Como antecedente de importancia la paciente tenía diagnóstico de endometriosis, realizado durante cirugía laparoscópica (año 2015) donde se le realizó la exéresis de un endometrioma de ovario izquierdo. También de hipotiroidismo, en tratamiento con levotiroxina de 88 mg/día e hiperprolactinemia en tratamiento con cabergolina 0.25 mg por semana.

Evaluación femenina:

Recuento de folículos antrales: 13 en ovario derecho y 10 en ovario izquierdo

FSH: 4.97 mUI/ml, LH: 4.97 mUI/ml, Estradiol plasmático: 37.0 ng/ml, TSH: 2.2µIU/ml; T4 libre: 0.93ng/dl; Prolactina: 17 ng/ml, Hormona anti-mülleriana: 2.4ng/ml

Histerosalpingografía: Normal

Índice de masa corporal (IMC): 19,81 kg/m²

Cariotipo: 46,XX

Evaluación masculina:

Espermograma: concentración: 34×10⁶ espermatozoides/ml, movilidad progresiva: 21%, morfología (criterio estricto de Kruger): 3% de formas normales

Índice de fragmentación del ADN espermático (técnica de Tunel): 22%

Cariotipo: 46,XY

Indicación para realizar el procedimiento de fecundación asistida de alta complejidad:

Debido al antecedente de endometriosis, al tiempo de infertilidad y deseo de la pareja de realizar el estudio del balance cromosómico de sus embriones se propone

realizar una fecundación in vitro seguida de niPGT-a.

Procedimiento de fecundación in vitro:

Se realizó estimulación ovárica con FSH recombinante 150 UI+ LH recombinante 75 UI (Pergoveris, Merck-Serono, Alemania) desde el día 2 del ciclo. Al alcanzar un diámetro folicular medio de 14 mm, se administró una dosis diaria de antagonista de GnRh (Cetrorrelix, Cetrotide NR, Merck-Serono, Alemania) hasta el momento de descargar la ovulación el día 9 de estimulación, para lo cual se administró 0.2 mg de Triptorelina (Gonapeptil Daily, Ferring, Suiza) 36 hs antes de la aspiración folicular.

En la aspiración folicular se obtuvieron 10 ovocitos los cuales fueron colocados en forma individual bajo aceite (Oil, SAGE, EEUU) en gotas de 22 μ l de medio Quinn's Advantage protein plus for Fertilization (SAGE, EEUU). Luego de 3 horas de cultivo los ovocitos fueron denudados empleando hialuronidasa (SAGE, EEUU) y pipetas de 130 μ m (Sunligh, EEUU), obtenido 8 ovocitos en estadio de Metafase II. La muestra se semen fue procesada empleando un dispositivo microfluídico (ZyMöt®, EEUU). La fecundación fue evaluada 18 hs después de realizado el ICSI y los embriones producidos se cultivaron en forma individual bajo aceite en gotas de 22 μ l hasta el Día 3 en el medio Quinn's Advantage protein plus Cleavage (SAGE, EEUU), y luego se los colocó bajo aceite en gotas individuales de 22 μ l hasta el Día 5 de cultivo en medio Quinn's Advantage protein plus Blastocyst (SAGE, EEUU). En ese momento se realizó la criopreservación de 4 blastocistos obtenidos, para lo cual se empleó el medio de vitrificación Kitazato (Japón) y soporte de vitrificación Cryolock (EEUU). El medio de cultivo

donde habían sido cultivados los blastocistos fue recolectado (17-18 μ l), transferido a microtubos Eppendorf individuales con 5 μ L de buffer de lisis (Yikon Genomics, China) y rotulados en forma apropiada, luego de lo cual fueron colocados a -20°C a la espera del estudio genético.

Durante la recolección del medio, todos los procedimientos se realizaron en condiciones estériles en flujo laminar utilizando una máscara, cofia, guantes, camisolín quirúrgico y materiales estériles.

El cultivo se realizó a 37°C en incubadoras ESCO mini-Miri en 5% de oxígeno y 6.7% de dióxido de carbono. Los embriones de día 5 fueron evaluados según los criterios de Estambul ⁽¹³⁾.

El resultado del niPGT-a informó que 3 de los 4 embriones eran euploides. Luego de ello se realizó la transferencia empleando ciclo natural sin empleo de medicación. Se realizó la desvitrificación de un embrión empleando el medio Kitazato (Japón) y la transferencia se realizó utilizando un catéter Rocket-Echo Cath (Rocket Medical, Inglaterra).

Luego de 12 días de la transferencia se determinó un valor de β -hCG en sangre de 519 UI/ml. El embarazo clínico fue confirmado por ultrasonido 6 semanas después de la transferencia del embrión. El nacimiento de una niña sana se produjo el día 29 de marzo de 2021, luego de 39 semanas de gestación, por parto sin complicaciones.

Amplificación del genoma completo y secuenciación del ADN

El ADN libre secretado en el medio de cultivo por cada blastocisto fue utilizado para la construcción de librerías genómicas siguiendo el protocolo correspondiente (Yikon Genomics, China) que emplea la tecnología propietaria MALBAC para

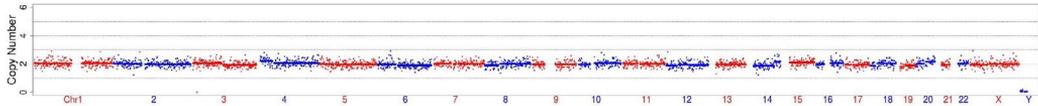
la amplificación genómica completa. Posteriormente, estas librerías genómicas se normalizaron, combinaron y el producto resultante se sometió a la secuenciación masiva en paralelo (NGS) utilizando la plataforma Illumina MiSeq®.

Análisis de los datos

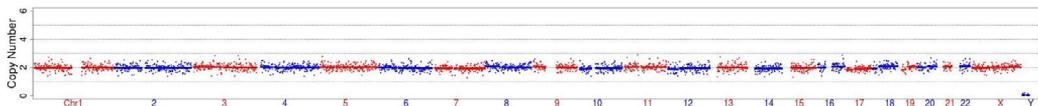
Los datos de secuenciación y el reporte de anomalías cromosómicas fueron realizados empleando el software ChromGo (Yikon Genomics, China). Este software permite la evaluación de cromosomas enteros, el análisis de los brazos cortos y largos de cada cromosoma, y la detección de deleciones o duplicaciones >10Mb, además de permitir la determinación del sexo embrionario y la presencia de mosaicismo.

Resultados de niPGT-a

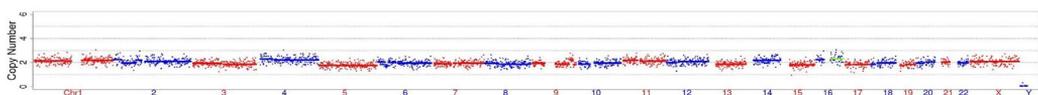
Muestra embrionaria 1 (Euploide)
46, XX



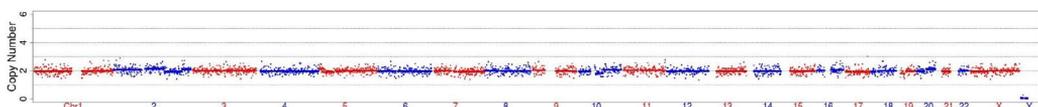
Muestra embrionaria 2 (Euploide)
46, XX



Muestra embrionaria 3 (Aneuploide)
46, XX | +16q (×3, mos, ~30%)



Muestra embrionaria 4 (Euploide)
46, XX



Perfil genómico de las 4 muestras embrionarias analizadas para el caso. Para la muestra 3 se observa un incremento en el número de copias del 30% (mosaico) en el brazo q del cromosoma 16. Para el resto de las muestras, el número de copias de regiones secuenciadas es el esperado para muestras normales diploides (2N, cariotipo 46 XX)

DISCUSIÓN

El primer trabajo que analizó las posibilidades de un cribado genético sobre todo los cromosomas humanos a partir de ADN del medio de cultivo de embriones fue publicado por Shamonki y col. (11). Posteriormente siguieron diferentes publicaciones reportando valores de sensibilidad

y especificidad en comparaciones con embriones completos y biopsias de trofoectodermo ^(14,15), e incluso las primeras experiencias en Argentina ^(16,17). De forma paralela varios artículos reportaron el nacimiento de niños sanos a partir de blastocistos euploides seleccionados por niPGT-a ^(6,12,18).

La ventaja obvia del niPGT-a es evitar la biopsia embrionaria, que acarrea un daño potencial al trofoectodermo. Esto puede producir dos inconvenientes: algunos embriones pueden ver afectada su sobrevivencia luego de la injuria y en otros, pese a sobrevivir al proceso, pueden ver afectada su capacidad de implantarse. Una cuestión adicional es la necesidad de embriólogos con considerable formación y experiencia para realizar la manipulación embrionaria al momento de realizar la biopsia.

Por otra parte, algunos trabajos realizados en animales, muestran que la biopsia embrionaria puede estar asociada con cambios en el tubo neural fetal o el desarrollo suprarrenal ^(19,20).

Adicionalmente, el PGT-a invasivo determina el estado cromosómico embriona-

rio mediante el análisis de algunas células del trofoectodermo, que, de hecho, no originarán al feto luego de la implantación, siendo sólo parte de las estructuras placentarias y demás anexos. Es bien sabido que el trofoectodermo tiene alto grado de mosaicismo debido al acelerado proceso de modelación que sufre al prepararse para la implantación y formación de las estructuras recién mencionadas que dan soporte vital al feto ⁽²¹⁾. Esto trae consigo la posibilidad de descartar, como producto de falsos positivos, embriones que se hubieran implantado normalmente.

Finalmente, han sido publicados dos estudios que comparan en PGT-a invasivo y el niPGT-a en embriones donados para investigación ^(8,22). En ambos la conclusión fue que el niPGT-a tuvo menor tasa de falsos positivos que el PGT-a invasivo.

niPGT-a es un método que evita la biopsia embrionaria y que proporciona resultados más exactos con sobre la euploidía del embrión completo. Por lo tanto se presenta como una técnica muy promisoriosa para el estudio genómico de los embriones en el momento previo a la implantación.

REFERENCIAS

1. Gleicher N, Kushnir VA, Barad DH. How PGS/PGT-A laboratories succeeded in losing all credibility. *Reprod Biomed Online*. 2018; 37:242-245.
2. Greco E, Minasi MG, Fiorentino F. Healthy babies after intrauterine transfer of mosaic aneuploid blastocysts. *N Engl J Med*. 2015; 373:2089-2090.
3. Munné S, Kaplan B, Frattarelli JL, Child T, Nakhuda G, Shamma FN, Silverberg K, Kalista T, Handyside AH, KatzJaffe M, Wells D, Gordon T, Stock-Myer S, Willman S; STAR Study Group. Preimplantation genetic testing for aneuploidy versus morphology as selection criteria for single frozen-thawed embryo transfer in good-prognosis patients: a multicenter randomized clinical trial. *Fertil Steril*. 2019; 112: 1071-1079.
4. Paulson RJ. Preimplantation genetic screening: what is the clinical efficiency? *Fertil Steril*. 2017; 108:228-230.
5. Rosenwaks Z, Handyside AH, Fiorentino F, Gleicher N, Paulson RJ, Schattman GL, Scott RT Jr, Summers MC, Treff NR, Xu K. The pros and cons of preimplantation genetic testing for aneuploidy: clinical and laboratory perspectives. *Fertil Steril*. 2018; 110:353-361.
6. Franco JG Jr, Vagnini LD, Petersen CG, Renzi A, Canas MCT, Petersen B, Ricci J, Nicoletti A, Zamara C, Dieamant F, Oliveira JBA. Noninvasive Preimplantation Genetic Testing for Aneuploidy (niPGT-A): The first Brazilian baby. *JBRA Assist Reprod*. 2020; 24:517-520.
7. Ho JR, Arrach N, Rhodes-Long K, Ahmady A, Ingles S, Chung K, Bendikson KA, Paulson RJ, McGinnis LK. Pushing the limits of detection: investigation of cell-free DNA for aneuploidy screening in embryos. *Fertil Steril*. 2018; 110:467-475.
8. Huang J, Yan L, Lu S, Zhao N, Qiao J. Re-analysis of aneuploidy blastocysts with an inner cell mass and different regional trophoctoderm cells. *J Assist Reprod Genet*. 2017; 34:487-493.
9. Olcha M, Elzaky M, Jaremko M, John Z, Hensing B, Lu S. A review of 1,504 autologous embryos evaluated using a non-invasive platform for preimplantation genetic testing for aneuploidy at a private clinic. *Hum Reprod*. 2020; 35:i373.
10. Rubio C, Navarro-Sánchez L, García-Pascual CM, Ocali O, Cimadomo D, Venier W, Barroso G, Kopcow L, Bahçeci M, Kulmann MIR, López L, De la Fuente E, Navarro R, Valbuena D, Sakkas D, Rienzi L, Simón C. Multicenter prospective study of concordance between embryonic cell-free DNA and trophoctoderm biopsies from 1301 human blastocysts. *Am J Obstet Gynecol*. 2020; 223:751.
11. Shamonki MI, Jin H, Haimowitz Z, Liu L. Proof of concept: preimplantation genetic screening without embryo biopsy through analysis of cell-free DNA in spent embryo culture media. *Fertil Steril*. 2016; 106:1312-1318.
12. Xu J, Fang R, Chen L, Chen D, Xiao JP, Yang W, Wang H, Song X, Ma T, Bo S, Shi C, Ren J, L, Cai LY, Yao B, Xie XS, Lu S. Noninvasive chromosome screening of human embryos by genome sequencing of embryo culture medium for in vitro fertilization. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016; 113:11907-11912.
13. Balaban B, Brison D, Calderon G, Catt J, Conaghan J, Cowan L, Ebner T, Gardner D, Hardarson T, Lundin K, Magli MC, Mortimer D, Mortimer S, Munné S, Royere R, Scott L, Smitz J, Thornhill A, van Blerkom J, Van den Abbeel E. Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Hum Reprod*. 2011;26: 1270-1283.
14. Kimelman D, Pavone ME. Non-invasive prenatal testing in the context of IVF and PGT-A. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*.

- col. 2021; 70:51-62.
15. Munné S, Nakajima ST, Najmabadi S, Sauer MV, Angle MJ, Rivas JL, Mendieta LV, Macaso TM, Sawarkar S, Nadal A, Choudhary K, Nezhat C, Carson SA, Buster JE. First PGT-A using human in vivo blastocysts recovered by uterine lavage: comparison with matched IVF embryo controls. *Hum Reprod.* 2020; 35:70-80.
 16. Ahumada AO, Nieto Francisco L, Zubrzycki J, Dopazo H. Validación de un protocolo de PGTA-a no invasivo. Primera experiencia en Argentina. Congreso SAMeR. 2021. Rosario, Argentina.
 17. Francisco Leocata Nieto F, Zubrzycki J, Dopazo H, Ahumada AO. A comparison of non-invasive and trophoctoderm biopsy PGT-A. First experience in Argentina. 76th ASRM Scientific Congress. 2020. Virtual congress.
 18. Fang R, Yang W, Zhao X, Xiong F, Guo C, Xiao J, Chen L, Song X, Wang H, Chen J, Xiao X, Yao B, Cai LY. Chromosome screening using culture medium of embryos fertilized in vitro: a pilot clinical study. *J Transl Med.* 2019; 17:1-8.
 19. Wu Y, Lv Z, Yang Y, Dong G, Yu Y, Cui Y, Tong M, Wang L, Zhou Z, Zhu H, Zhou Q, Sha J. Blcolmastomere biopsy influences epigenetic reprogramming during early embryo development, which impacts neural development and function in resulting mice. *Cell Mol Life Sci.* 2014; 71:176174.
 20. Zeng Y, Lv Z, Gu L, Wang L, Zhou Z, Zhu H, Zhou Q, Sha J. Preimplantation genetic diagnosis (PGD) influences adrenal development and response to cold stress in resulting mice. *Cell Tissue Res.* 2013; 354:729-741.
 21. Carlson, B. *Human embryology and developmental biology*, 6th ed., Ed. Harcourt.
 22. Vagnini L, Petersen CG, Renzi A, Oliveira JBA, Oliani AH, Nakano R, Almodin CG, Marcondes C, Ceschin A, Amaral A, Borges Jr E, Castelo Branco A, Soares JB, Lopes J, Franco Jr. JG. Noninvasive preimplantation genetic test for aneuploidy (NIPGT-A) has a lower false positive rate than that of the invasive PGT-A. *Hum Reprod.* 2020; 35:i359-60.