

Descenso de la tasa de embarazo clínico en pacientes de mejor pronóstico: se enciende la alarma en el laboratorio

Decrease in clinical pregnancy rate in patients with better prognosis: laboratory alarm activated

Hovanyecz P, Maldonado N., Domenech L., Ventura V., Perfumo P, Paz M.V.,

Servicio de Medicina Reproductiva del Instituto Gamma, Rosario, Santa Fe

RESUMEN

Pregunta de estudio: ¿el descenso de los resultados del laboratorio de FIV observado en nuestro centro, podría estar influenciado por la calidad del aire, a pesar de contar con equipo de filtración de aire (filtros COV y HEPA) y presión positiva?

Respuesta resumida: El descenso del embarazo clínico por transferencia en pacientes <40 años observado en nuestro centro, parecería ser por causas ajenas al ambiente del laboratorio, el cual se encuentra bajo las mayores protecciones en términos de filtración de aire.

Lo que ya se sabe: na amplia gama de factores pueden afectar el resultado de la FIV. Dentro del laboratorio, los gametos y embriones pueden verse afectados por factores asociados a los propios pacientes, al entorno del laboratorio, equipamiento, materiales de contacto, metodología y el propio personal.

Diseño del estudio: Estudio trasversal, analítico.

ABSTRACT

Study question: *Could the decline in IVF laboratory results observed in our center be influenced by air quality, despite having air filtration equipment (VOC and HEPA filters) and positive pressure?*

Summary answer: *The decrease in clinical pregnancy in patients <40 years of age observed in our center would seem to be due to causes unrelated to the laboratory environment, which is under the greatest protections in terms of air filtration.*

What is already known: *A wide range of factors can affect the outcome of IVF. Within the laboratory, gametes and embryos can be affected by factors associated with the laboratory environment, equipment, contact materials, methodology and the personnel themselves.*

Study design: *Cross-sectional, analytical study.*

Materiales y Métodos: Desde 2018 a 2022, la tasa de embarazo clínico anual por transferencia en fresco para pacientes <40 años (Clínico<40), disminuyó paulatinamente, llegando a valores más bajos que aquellos establecidos como referencia del Centro (35%). Se analizaron diferentes variables de laboratorio, sin encontrar relación directa. Se realizó una selección estricta de pacientes transferidas en estadio de blastocisto en fresco. Para estas pacientes de mejor pronóstico (**Clínico Selección**), se calculó la tasa de embarazo clínico, la **edad** promedio de las mismas (media±DS) y el **porcentaje de bajas respondedoras anual** (pacientes con menos de 4 ovocitos MII), para cada año, dentro del período en estudio. Como control ambiental, se calculó la tasa de embarazo clínico anual de receptoras de ovocitos donados (**Clínico OD**). Las tasas anuales se analizaron mediante Chi cuadrado y las medias de las edades anuales fueron comparadas mediante ANOVA (diferencia significativa si $P < 0,05$).

Resultados: La tasa de embarazo **Clínico Selección** descendió en el período analizado, siendo sólo significativo el descenso en 2022, mientras que esta disminución no se observó en la tasa **Clínico OD**, utilizada como control de posibles efectos adversos ambientales. Respecto a la población de pacientes seleccionadas, la **edad** promedio anual de las mismas fue homogénea en el período estudiado y el **porcentaje de bajas respondedoras anual** aumentó significativamente.

Limitaciones del estudio: Estudio realizado en un único centro.

Implicancias de los hallazgos: Parecería que la aplicación de normas de bioseguridad en el laboratorio de FIV hace que no se vean afectados los resultados clínicos a pesar de eventos adversos ambientales

Materials and Methods: From 2018 to 2022, annual clinical pregnancy rate by fresh transfer for patients <40 years old (Clinical <40) gradually decreased, reaching lower values than those established as Center's reference (35%). Different laboratory variables were analyzed, without finding a direct relationship. A strict selection of patients transferred in the fresh blastocyst stage was carried out. For these patients with the best prognosis, the clinical pregnancy rate (Clinical Selection), their average age (mean ± SD) and the percentage of annual low responders (patients with less than 4 MII oocytes) were calculated for each year, within the period under study. As an environmental control, the annual clinical pregnancy rate of recipients of donated oocytes (Clinical OD) was calculated. Annual rates were analyzed using Chi square and the means of annual ages were compared using ANOVA (significant difference if $P < 0.05$).

Main results: Clinical selection rate decreased on the studied period, being only statistically significant in 2022. However, Clinical OD (environmental control) did not show this pattern. Regarding selected patient population, average annual age was homogeneous and annual percentage of low responders increased significantly.

Limitations: Study conducted in a single center.

Wider implications of the findings: It would seem that the application of biosafety standards in the IVF laboratory means that clinical results are not affected despite prolonged adverse environmental events over time. As a consequence of the significant annual decrease in the ovarian reserve

prolongados en el tiempo. El descenso significativo anual en la reserva ovárica en las pacientes seleccionadas tiene como consecuencia una menor cantidad de ovocitos aptos para inyectar, por lo que, al momento de realizar la transferencia embrionaria, hay menor disponibilidad de embriones para seleccionar. Este sí podría ser uno de los motivos por el cual la tasa de embarazo clínico disminuye.

Palabras clave: Compuestos orgánicos volátiles, Calidad de aire, Diseño de laboratorio, Control de Calidad.

in selected patients, there are less oocytes available to inject. This take off the embryologist the chance of choosing the best embryo for being transferred. This could be one of the reasons why the clinical pregnancy rate decreases.

Key words: Air quality; Laboratory design; Quality management; Volatile organic compounds.

Introducción

En las últimas dos décadas se han logrado muchos avances en relación al tratamiento de infertilidad. La población de pacientes que necesitan este tipo de tratamiento está compuesta por grupos de diferentes edades, factores de infertilidad, residencia en distintos lugares con exposición variada a contaminantes ambientales y algunos con ciertas limitaciones al acceso a una dieta balanceada y actividad física, entre otros factores que los diferencian, sin contar la plausibilidad biológica individual. Esto hace que sea muy difícil caracterizar grupos al momento de establecer factores de agrupación para el análisis de los datos en una investigación.

Sin embargo, el resultado final del tratamiento de fertilización in vitro (FIV), no sólo se ve afectado por la calidad de los gametos que el laboratorio recibe (que va a estar influenciada por los factores previamente mencionados). Por el contrario, también se ve condicionado por diversas variables intrínsecas al laboratorio, como la calidad del mismo, su personal y los controles de calidad que allí se realizan.

De hecho, el control de la calidad del aire dentro del laboratorio de FIV es uno de los principales determinantes del éxito de la reproducción asistida, ya que se demostró que aumenta significativamente parámetros como la tasa de nacidos vivos^{1,2}. Por lo tanto, la implementación de un sistema de gestión de calidad es crucial para lograr y mantener condiciones óptimas y seguras en el proceso de manipulación del material biológico³.

Los factores ambientales que pueden tener efecto sobre la calidad de los gametos pueden ser a micro o macro escala. Entre los primeros se encuentran variables tales como la temperatura de la incubadora, los niveles de O₂ o CO₂ (que afectará al pH

al que están expuestos gametos y embriones), o los materiales de contacto, como el medio de cultivo, el material plástico, los dispositivos de manipulación, las microherramientas de inyección intracitoplasmática de espermatozoides, las agujas de recuperación de ovocitos, los catéteres de transferencia de embriones, entre otros. Por otro lado, algunos de los factores a macro escala contemplan el diseño del laboratorio, la calidad del aire que circula, o la asepsia del lugar, el equipamiento apropiadamente seleccionado, el mantenimiento de la calibración de los mismos, e incluso la posibilidad de mal funcionamiento⁵. También deben mencionarse los factores metodológicos, los cuales están relacionados con la elección del enfoque técnico correcto y el seguimiento del procedimiento operativo estándar correcto para cada proceso de laboratorio.

Además de estas consideraciones generales, existen factores específicos que afectan particularmente al potencial funcional de los ovocitos y embriones. Por ejemplo, se debe prestar atención a mantener una temperatura estable durante la aspiración folicular, el transporte del fluido aspirado a la estación de trabajo de “búsqueda de óvulos”, el procedimiento de “búsqueda de óvulos” y la posterior manipulación de los complejos cúmulo-ovocito. Los ovocitos y los embriones también requieren una pCO₂ estable para equilibrar el pH del medio tamponado con bicarbonato y una pO₂ reducida para ayudar a proteger contra el estrés oxidativo. Un cambio significativo en cualquiera de estos factores provocaría alteraciones en el microambiente del cultivo que afectaría el metabolismo y la homeostasis de ovocitos y embriones⁵.

Los gametos y los embriones también requieren protección contra la exposición a sustancias tóxicas, como los compuestos

orgánicos volátiles (COV) y los compuestos químicamente activos del aire. Esto se puede lograr en parte prestando atención al diseño del laboratorio y a la elección de los materiales de construcción, de la estación de trabajo y del sistema de incubación, y la elección del gas y el diseño del sistema de suministro de gas⁴.

Todos estos factores deben tenerse en cuenta al momento de analizar resultados en una clínica de fertilización asistida, ya que tanto los factores ambientales como los propios del laboratorio y de las personas involucradas (pacientes y profesionales) tendrán su impronta.

Uno de los principales indicadores de calidad del laboratorio de embriología, es la tasa de embarazo clínico por transferencia en pacientes <40 años. El registro anual de esta tasa arrojó una disminución paulatina en nuestra clínica en los últimos 5 años, que coincidía con ciertos eventos adversos ambientales registrados (obras de construcción circundantes e incendios en humedales durante los últimos dos años). No obstante, nuestro laboratorio cuenta con equipo de filtración de aire (filtros COV y HEPA) y presión positiva. Para abordar esta problemática, nos propusimos analizar el comportamiento de este indicador desde 2018 a 2022, para pacientes de mejor pronóstico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño: transversal analítico

Procedimientos: Desde 2018 a 2022, la tasa de embarazo clínico anual por transferencia en fresco para pacientes <40 años (Clínico<40), disminuyó paulatinamente, llegando a valores más bajos que aquellos establecidos como referencia del Centro (35%). Se analizaron diferentes

variables (lotes, plásticos, gases, incubadoras, etc), sin encontrar relación directa. Se realizó una selección muy estricta de pacientes transferidas en estadio de blastocisto en fresco (criterios de exclusión: edad materna avanzada (> 39 años), más de 2 transferencias previas, abortadoras recurrentes, TESE / PESA, fallas repetidas de implantación, blastocistos de calidad < 3BB, transferencias en ciclos naturales o en presencia de Citrato de clomifeno, y niveles de estradiol >3000 U en la descarga). Para estas pacientes de mejor pronóstico (**Clínico Selección**), se calculó la tasa de embarazo clínico, la *edad* promedio de las mismas (media±DS) y el *porcentaje de bajas respondedoras anual* (pacientes con menos de 4 ovocitos MII), para cada año, dentro del período en estudio. Como control ambiental, se calculó la tasa de embarazo clínico anual de receptoras de ovocitos donados (**Clínico OD**).

Análisis estadístico: Las tasas anuales se analizaron mediante Chi cuadrado y las medias de las edades anuales fueron comparadas mediante ANOVA (diferencia significativa si $P < 0,05$).

RESULTADOS

La tasa **Clínico Selección** descendió en el período analizado, siendo sólo significativo el descenso en 2022, mientras que esta disminución no se observó en la tasa **Clínico OD**, utilizada como control de posibles efectos adversos ambientales.

Respecto a la población de pacientes seleccionadas, la *edad* promedio anual de las mismas fue homogénea en el período estudiado y el *porcentaje de bajas respondedoras anual* aumentó significativamente.

En la Tabla 1 se detallan los resultados obtenidos.

Tabla 1. Resultados obtenidos en el período 2018-2022

	2018	2019	2020	2021	2022	P
% Clínico <40 -antecedente	47,9 (79/165)	41,6 (82/197)	43,7 (66/151)	38,3 (74/193)	32,5 (51/157)	0,06
% Clínico Selección	70,4 (19/27)	62,0 (31/50)	66,7 (24/36)	63,2 (36/57)	37,7 (23/61)*	0,01
% Clínico OD	50,0 (8/16)	56,5 (13/23)	68,4 (13/19)	47,4 (18/38)	50,0 (24/48)	0,62
Edad (media±DS)	35,3±3,3	34,9±2,8	34,1±3,4	35,5±2,9	35,6±3,2	0,69
% bajas respondedoras anual	3,7 (1/27)	8,0 (4/50)	11,1 (4/36)	15,8 (9/57)	26,2 (16/61)	0,02

* indica diferencia significativa (P=0,003) al comparar, mediante Chi cuadrado, la tasa **Clínico** selección entre los años estudiados.

DISCUSIÓN

La implementación de buenas prácticas de laboratorio para mejorar la FIV es de gran interés para los profesionales que se ocupan de la infertilidad. Es fundamental controlar los factores ambientales y metodológicos, que pueden interferir con las tasas de éxito del laboratorio^{8,9}. En particular, hablando de los factores ambientales a macro escala, el control de la calidad del aire del laboratorio es un factor de mucha relevancia ya que una reducción en la concentración de COV, tiene efectos positivos sobre las tasas de formación de blastocistos, implantación y embarazo clínico^{6,7}.

En el presente estudio, pese a la estricta selección de pacientes realizada, la tasa de embarazo clínico, un fuerte indicador de calidad de laboratorio, mostró un descenso importante en el año 2022. Esta disminución no se observa cuando analizamos este indicador en receptoras de ovocitos donados, por lo que no sería debida a eventos adversos ambientales que afecten las condiciones de laboratorio. De esta manera se comprobó que, si se siguen los lineamientos de las normas de bioseguridad de un laboratorio de FIV, a pesar de la exposición a contaminantes ambientales seguidos en el tiempo (como el humo por la quema de

humedales y los productos usados para para una construcción y el polvillo consecuente), los resultados reproductivos no se verían afectados. Sin embargo, se necesitan estudios básicos posteriores para comprender mejor las vías sistémicas y celulares a través de las cuales los contaminantes del aire afectan la división celular y la viabilidad de la reproducción, ya que el mecanismo subyacente a la exposición a la contaminación del aire y al riesgo de pérdida del embarazo aún no se ha comprendido completamente.

Otros factores, de no menor importancia, que tienen efecto sobre los resultados del laboratorio, son los intrínsecos a los pacientes y a la calidad de las gametas que ingresan al laboratorio, como ser la exposición doméstica a contaminantes del aire, el agua y los alimentos, la calidad de vida, el entorno psico-social, enfermedades, o el consumo de sustancias como alcohol, tabaco u otras drogas^{10,11}. El efecto de estos factores sobre la fisiología del paciente, se vería reflejado tanto en la cantidad como en la calidad de sus gametas. El descenso significativo anual en la reserva ovárica en las pacientes seleccionadas en este trabajo podría ser un reflejo de esto. Para confirmarlo debería desarrollarse un estudio

adecuado, tal vez multicéntrico, que escapa a los objetivos planteados en este trabajo, pero que podría ser un camino a seguir para profundizar al respecto.

Continuando el análisis de los resultados, el descenso en la cantidad de ovocitos recuperados en la punción ovocitaria tiene como consecuencia una menor cantidad de ovocitos aptos para inyectar, por lo que al momento de realizar la transferencia embrionaria, hay menor disponibilidad de embriones para seleccionar. Este sí podría ser uno de los motivos por el cual la tasa de embarazo clínico disminuye, sumado a la posible afección de la competencia de desarrollo ovocitaria.

CONCLUSIÓN

El descenso en la tasa de embarazo clínico observada en nuestro centro, no parece haber sido consecuencia de los factores adversos ambientales que tuvieron lugar en el período bajo estudio, probablemente gracias a aplicación de normas de bioseguridad adecuadas. Se realizó exhaustiva búsqueda, sin éxito, de factores del laboratorio que pudieran haber causado esta disminución. Se abre entonces una nueva pregunta de investigación: serán variables intrínsecas de los pacientes, que tienen efecto sobre la cantidad y calidad de sus gametas y en consecuencia, sobre el éxito de sus tratamientos de reproducción?

REFERENCIAS

1. Esteves S C, Bento F C. Air quality control in the ART laboratory is a major determinant of IVF success *Asian J Androl* 2016;180: 4596–599. Doi: 10.4103/1008-682X.166433.
2. Esteves S C, Bento F C. Implementation of cleanroom technology in reproductive laboratories: the question is not why but how *Reprod Biomed Online* 2016;3: 2019–11. Doi: 10.1016/j.rbmo.2015.09.014.
3. Heitmann RJ, Hill MJ, James AN. Live births achieved via IVF are increased by improvements in air quality and laboratory environment. *Reprod Biomed Online* 2015 ;310:3364–371.. Doi: 10.1016/j.rbmo.2015.04.01.
4. Mortimer ST, Mortimer D. *Quality and Risk Management in the IVF Laboratory*. Second ed. Cambridge University Press, Cambridge, UK 2015.
5. Wale PL, Gardner DK. The effects of chemical and physical factors on mammalian embryo culture and their importance for the practice of assisted human reproduction. *Hum. Reprod. Update*. 2016; 22: 2-22.
6. Agarwal N, Chattopadhyay R, Ghosh S, Bhoumik A, Goswami S K, Chakravarty B. Volatile organic compounds and good laboratory practices in the in vitro fertilization laboratory: the important parameters for successful outcome in extended culture. *J Assist Reprod Genet* 2017;340:8999–1006. Doi: 10.1007/s10815-017-0947-x.
7. Carré J, Gatimel N, Moreau J, Parinaud J, Leandri R. Influence of air quality on the results of in vitro fertilization attempts: A retrospective study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2017;210:116–122. Doi: 10.1016/j.ejogrb.2016.12.012.
8. Morbeck DE. Air quality in the assisted reproduction laboratory: a mini-review. *J Assist Reprod Genet* 2015; 32: 1019 – 1024. Doi: 10.1007/s10815-015-0535-x
9. Mortimer D, Cohen J, et al. Cairo consensus on the IVF laboratory environment and air quality: report of an expert meeting. *Reprod. Biomed on line*. 2018. Jun; 36(6): 658-674. Doi: 10.1016/J.RBMO.2018.02.005.
10. Gaskins AJ, Fong KC, et al. Time-varying exposure to air pollution and outcomes of in vitro fertilization among couples from a fertility clinic. *Environ Health Perspect*. 2019. Jul; 127(7): 77002. Doi: 10.1289/EHP4601
11. Ding T, Yan W, et al. Endocrine disrupting chemicals impact on ovarian aging: evidence from epidemiological and experimental evidence. *Environ Pollut*. 2022. Jul15; 305:119269. Doi: 10.1016/J.EnvPol.2022.119269