

# Reproducción

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

Volumen: 37 / Año 2023 / N°2

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

P R E S E N C I A L  
12, 13 y 14 de SEPTIEMBRE  
Córdoba 2024



XXI CONGRESO  
ARGENTINO  
DE MEDICINA  
REPRODUCTIVA

QUINTO  
CENTENARIO  
HOTEL

DUARTE QUIRÓS 1300  
CIUDAD DE CÓRDOBA. ARGENTINA



[www.samer.org.ar](http://www.samer.org.ar)

ORGANIZADO POR LA  
Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva  
(afiliada a la International Federation of Fertility Societies)

**Editora en Jefe: Prof. Dra. Serpa, Idelma** - MD - PhD - Médica Ginecóloga especialista en Medicina Reproductiva; Miembro Comisión Directiva Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva (SAMeR).

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

**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.

**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).

**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.

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

**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.

**Editora asociada: Sícara, Laura** - Médica especialista en Tocoginecología, Medicina Reproductiva, Endocrinología y Genética de la Reproducción, IFER; Coordinadora Departamento de Genética de la Reproducción, IFER; Docente adscripta de la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires.

**MANNARA, JUAN IGNACIO** – MD – Médico Asociado a Procreatee.

**MARTÍNEZ, MARCELO** – MD – Médico especialista en Tocoginecología y Reproducción Humana, Procreatee; Director Médico Centro Médico Larrea, Bs. As.

**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.

**MORENO, DIEGO** – Lic – Bioquímico, miembro de SAEGRE, SAMeR. Embriólogo Clínico Senior SAEC-SAMeR. Director de Laboratorio de Medicina Reproductiva de Sanatorio Argentino San Juan, Docente de la EID-FS, UNSJ.

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

**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.

**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.

**TORRES MONSERRAT, VALENTINA** - Lic – Licenciada en Biotecnología- UNR, Especialista en Embriología Clínica, SAMeR. Directora del Laboratorio de Embriología y Andrología de Fertya Medicina Reproductiva, Grupo Oroño, Rosario. Miembro del la Comisión de educación de SAEC.

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

## 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.

**BAUM, EUGENIA** – MD – Médica especialista en Medicina Reproductiva.

**BONILLA, FEDERICO** - Bioq. – PhD – Director Laboratorio de Embriología, Instituto de Maternidad y Ginecología “Ntra. Señora de la Merced”; Director Laboratorio de Embriología, Centro Médico Reproducir; Profesor Adjunto, Cátedra de Biología de Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia (UNT); Docente-Investigador, Instituto Superior de Investigaciones Biológicas (INSIBIO), Tucumán.

**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.

**CULLERE, MARCELA** – Bióloga. PhD en Ciencias Biológicas. Embrióloga de staff en Nascentis. Coordinadora del área de investigación de Nascentis. Miembro de ESHRE, SAMER Y SAEC

**DOPAZO, HERNÁN** - PhD – Doctor en Ciencias Biológicas, Universidad de Madrid, Director Científico de Biocódices S.A. Investigador Independiente CONICET. Profesor FCEyN Universidad de Buenos Aires.

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

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

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

**LORENZO, FABIÁN** – MD – Médico Ginecólogo especialista en Medicina Reproductiva; Miembro Comisión Directiva SAMeR; Director General de Regionales SAMeR; Docente

Adscripto a la Catedra de Ginecología de la Universidad de Bs As (UBA); Miembro de ES-HRE, SAMeR, AAGL; IFER, Bs As.

**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.

**NAVÉS, FLAVIA** – Psi – Doctora en Psicología, UCES. Licenciada en psicología, UBA. Jefa de trabajos prácticos en la Práctica Profesional 824 y Docente de la Cátedra I de psicología, ética y derechos humanos, Facultad de Psicología, UBA. Docente posgrados, UNSAM y UB. Investigadora UBACyT. Presidente de la Sociedad Argentina de Psicología en Reproducción Humana Asistida.

**NICOTRA, PAMELA** - MD – Médica especialista en Medicina Reproductiva Staff, CE-GYR - Eugin; Coordinadora Médica, Novagen; Docente Curso Bianual de Medicina Reproductiva, SAMeR.

**PAZ, VALERIA** – Lic – Bioquímica, Especialista en Embriología Clínica, SAMeR y Red-LaRA. Technical supervisor in Embryology,

American Board of Bioanalysis, (ABB). Jefa del Laboratorio de Embriología del Servicio de Medicina Reproductiva del Instituto Gamma, Rosario.

**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.

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

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

**VAN THILLO, GERMÁN** – MD – Médico especialista en Medicina Reproductiva.

**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.

**ZITTA, MARCELA** – MD – Doctora en Medicina y Cirugía; Especialista en Tocoginecología y Medicina Reproductiva, Médica Staff Gynesis, Córdoba.

### **REVISTA ARGENTINA DE REPRODUCCIÓN**

Instrumento de la comunicación científica

La Revista Argentina de Reproducción Humana tiene su debut en el año 1992, de la mano del Dr. Roberto Tozzini 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

---

<b>EDITORIAL</b>	<b>El embriólogo clínico en la actualidad</b> <i>Álvarez Sedo C.</i>	<b>8</b>
<b>INFERTILIDAD</b>	<b>Los tratamientos de gestación por sustitución en la opinión pública argentina. Conocimiento, valoración y predisposición.</b> <i>Perassi P.N., Cerisola M.V., Moscoso G., Nabel A.</i>	<b>11</b>
<b>INFERTILIDAD</b>	<b>Impacto del índice de masa corporal en la función ovárica y pronóstico reproductivo en los tratamientos de reproducción asistida</b> <i>Cabrera M., Boeykens G., Milocco N., Maximino S., Azcoaga R., Cagliaris L., Orsaria R., Knuttzen R.</i>	<b>23</b>
<b>EMBRIOLOGÍA</b>	<b>Control de riesgos en el laboratorio de reproducción asistida</b> <i>Papayannis M., De Martino E., Filardi P., Chiarello M., Magri L., Soberón V., Oubiña G., Figueroa C., Lombardi C., De Zúñiga I., Oubiña A.I., Kopcow L., Sobral F., Horton M., Bisioli C.</i>	<b>33</b>
<b>EMBRIOLOGÍA</b>	<b>Descenso de la tasa de embarazo clínico en pacientes de mejor pronóstico: se enciende la alarma en el laboratorio</b> <i>Hovanyecz P., Maldonado N., Domenech L., Ventura V., Perfumo P., Paz M.V.</i>	<b>42</b>
<b>INFERTILIDAD</b>	<b>Experiencia latinoamericana de tratamiento con folitropina delta</b> <i>De Zúñiga I., Rossi L., Sanhuesa C.</i>	<b>50</b>
<b>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>Cultivo de tejido ovárico para el desarrollo folicular <i>in vitro</i>: futura estrategia de restauración de la fertilidad</b> <i>Vitale F.</i>	<b>57</b>

---

## El embriólogo clínico en la actualidad



Lic. Cristian Álvarez Sedo  
Miembro Comisión Directiva  
Revista Reproducción  
SAMeR

El rol del embriólogo clínico es fundamental en el campo de la medicina reproductiva, específicamente dentro del marco de los tratamientos de reproducción humana asistida. La formación y experiencia nos lleva a desempeñar funciones que cumplen un papel crucial en este escenario, lo cual nos compromete a seguir fortaleciendo y robusteciendo las bases del conocimiento, el desarrollo tecnológico, la investigación, la educación y entrenamiento continuo comprendido dentro de un marco ético y moral.

El embriólogo clínico, muchas veces, ha sido calificado profesionalmente como un “técnico especializado” en el manejo de gametos y embriones. Sin embargo, el embriólogo clínico, es mucho más que eso. La embriología clínica es elemental en los tratamientos de fertilidad y contribuye

significativamente a la capacidad de las personas para superar las dificultades reproductivas. No se puede negar que la combinación de conocimientos en embriología junto a los avances tecnológicos han llevado a mejoras continuas en las tasas de éxito de los tratamientos de reproducción asistida en los últimos años. Es cierto también que el papel del embriólogo puede variar según el país, el entorno, el tipo de clínica o laboratorio en el que trabajen.

Es importante destacar que los embriólogos clínicos también se encuentran involucrados en la investigación, contribuyendo al avance del conocimiento en áreas como la biología del desarrollo, la genética y la medicina reproductiva. Están involucrados en la adopción e implementación de nuevas técnicas y tecnologías, y además, juegan un papel crucial en la educación y el asesoramiento de los pacientes sobre los procedimientos, los resultados esperados y las opciones disponibles. También es importante destacar su rol en la comunicación con otros profesionales de la salud dentro del equipo de atención médica, permitiendo un intercambio de conocimientos y aportando a las futuras directivas de los tratamientos.

En mi apreciación, luego de un periodo de “estabilidad”, en donde los medios de cultivos, las incubadoras, el cultivo en sí mismo, las técnicas de inseminación, la selección espermática, la criopreservación, la selección embrionaria parecían dar pequeños

pasos en el tiempo durante los últimos años. Sin embargo, en el último quinquenio, es notable que la embriología clínica se vio fuertemente exigida por los avances en la genética reproductiva y todo lo relacionado a los estudios genéticos pre-implantatorios tanto invasivos como no invasivos. Sin embargo, considero, que aun sin definir el futuro de lo anterior, se superpuso otro desarrollo fuertemente influenciado por la industria y los adelantos tecnológicos. Siendo así, la implementación de la inteligencia artificial en los laboratorios de embriología y la automatización, dos nuevas y fuerte razones para que los embriólogos pongan en práctica toda su capacidad crítica y científica al respecto.

La embriología clínica y la inteligencia artificial son campos de estudio diferentes, pero pueden tener puntos de conexión en el ámbito de la bioinformática y la simulación de procesos biológicos. Así la inteligencia artificial podría ser aplicada a: a) Simulación de Procesos Biológicos en donde se pueden utilizar algoritmos de inteligencia artificial para simular procesos biológicos, como el desarrollo embrionario. Esto podría ayudar a comprender mejor los mecanismos subyacentes y prever posibles resultados. b) Predicción de Patrones de Desarrollo: La inteligencia artificial podría analizar grandes conjuntos de datos genéticos y moleculares para prever patrones de desarrollo embrionario y comprender cómo ciertos genes afectan el proceso. c) Identificación de Biomarcadores: Utilizando técnicas de aprendizaje automático, se podrían identificar biomarcadores que indiquen anomalías

en el desarrollo embrionario. d) Análisis de Datos Genómicos: La inteligencia artificial puede utilizarse para analizar grandes conjuntos de datos genómicos y ayudar en la identificación de genes y factores que influyen en el desarrollo embrionario.

Sin embargo, son principalmente, los procesos de selección de gametos y embriones, donde la inteligencia artificial ha apuntado toda la maquinaria imaginativa, científica y económica, con el fin de cimentar las bases mediante las cuales los diferentes algoritmos sean cada vez más útiles en la toma de decisiones y el futuro asesoramiento al equipo médico y pacientes. Reitero, que es rol fundamental del embriólogo poder ser el principal adherente o no de estas herramientas, y permitir así discernir entre lo válido y útil de aquello que no. Es importante destacar que, aunque la inteligencia artificial puede ser una herramienta poderosa para comprender y abordar cuestiones relacionadas con el desarrollo embrionario y su selección, siempre es esencial trabajar en colaboración con expertos en embriología, medicina y ética para garantizar la validez científica y la aplicabilidad ética de cualquier aplicación propuesta.

Por otro lado, la automatización en embriología clínica puede referirse a la implementación de tecnologías automatizadas en los procesos relacionados con la fecundación in vitro, manejo y selección de gametos, el cultivo de embriones, la vitrificación, etc. Estos avances tecnológicos buscan mejorar la eficiencia, precisión y consistencia en las técnicas utilizadas en el campo

de la embriología. Por ejemplo: a) Inyección Intracitoplasmática de Espermatozoides (ICSI) automática: recientemente ha sido publicado el primer nacimiento luego de ICSI automático. En este caso la automatización puede ayudar en la realización de ICSI, mediante tecnología piezo y brazos robóticos. En teoría esta metodología busca ir mejorando la precisión y la eficiencia del procedimiento del ICSI convencional, pero aún no se ha demostrado este hecho. b) Incubadoras Automatizadas: Las incubadoras automatizadas pueden proporcionar condiciones de cultivo óptimas para embriones, controlando automáticamente factores como la temperatura, la concentración de oxígeno y otros parámetros críticos. c) Monitoreo Continuo: Sistemas automatizados pueden monitorear continuamente el desarrollo de embriones, capturando imágenes a intervalos regulares para evaluar su progresión sin interrupciones manuales frecuentes. d) Análisis de Imágenes Automatizado: La automatización puede ayudar en la evaluación de la calidad embrionaria mediante el análisis de imágenes, identificando características morfológicas y

cinéticas, proporcionando información objetiva para la selección de embriones con una teórica mayor probabilidad de éxito. e) vitrificación: en la actualidad se puede observar algunos prototipos que permiten un proceso de vitrificación en el cual la célula o el embrión tiene el menor “movimiento” posible, y son los medios, que mediante microfluídica se movilizan haciendo teóricamente más eficiente el proceso. f) Sistemas de Registro Automatizado: La automatización puede facilitar la documentación y el registro de todos los procedimientos y eventos relevantes durante el proceso de FIV, asegurando un seguimiento detallado y preciso.

La implementación de tecnologías automatizadas en embriología tiene el potencial de mejorar la consistencia y reducir la variabilidad en los procedimientos, lo que podría ser crucial para el éxito de los tratamientos de fertilidad. Sin embargo, es importante destacar que la supervisión humana y la toma de decisiones expertas siguen siendo esenciales para garantizar la aplicabilidad, seguridad y la ética en estos procesos.

# Los tratamientos de gestación por sustitución en la opinión pública argentina. Conocimiento, valoración y predisposición.

Surrogacy treatments in argentinian public opinion. Knowledge, assessment and predisposition

Perassi P.N.<sup>1</sup>, Cerisola M.V.<sup>1</sup>, Moscoso G.<sup>2</sup>, Nabel A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro de Estudios en Genética y Reproducción, CEGYR

<sup>2</sup> Consultora OPINAIA

## RESUMEN

**Pregunta de estudio:** Cuáles el conocimiento popular sobre la técnica de Gestación por Sustitución y su marco legal, la aceptación del tratamiento, y la predisposición de mujeres en edad reproductiva a ser gestantes en Argentina?

**Respuesta resumida:** El 72% de las argentinas refirió conocer el tratamiento de Gestación por sustitución y el 80% mostró una opinión positiva sobre el mismo. Pese a esto, el 64% de las encuestadas no se ofrecería como candidata para ser gestante. Existe un marcado desconocimiento sobre el marco legal de los tratamientos de GS: aproximadamente 3 de cada 4 mujeres consultadas no saben o dan respuestas incorrectas sobre el tema.

**Lo que ya se sabe:** Los tratamientos de reproducción asistida han permitido el nacimiento de más de 7 millones de niños en el mundo, y la gestación por sustitución ha contribuido en gran parte a estos nacimientos, ya que lleva más de tres décadas en varios países del mundo<sup>1</sup>. Pese a esto, existen pocas investigaciones que indaguen la percepción pública sobre esta práctica

## ABSTRACT

**Study question:** What is the popular knowledge about the Surrogacy technique and its legal framework, the acceptance of the treatment, and the predisposition of women of reproductive age to become surrogate in Argentina?

**Summary answer:** 72% of Argentinian women reported knowing about Surrogacy treatment and 80% showed a positive opinion about it. Despite this, 64% of those surveyed would not offer themselves as a candidate to be a surrogate. There is a marked lack of knowledge about the legal framework for GS treatments: approximately 3 out of every 4 women consulted do not know or give incorrect answers on the subject.

**What is already known:** Assisted reproduction treatments have allowed the birth of more than 7 million children in the world, and surrogacy has largely contributed to these births, since it has been in use for more than three decades in several countries of the world<sup>1</sup>. Despite this, there is little research that investigates public perception of this reproductive

reproductiva. La heterogeneidad en los aspectos legales a nivel mundial, promueve el turismo reproductivo en búsqueda de este tratamiento<sup>2</sup>, siendo Argentina hoy un polo atractivo para el mismo.

**Diseño del estudio:** Estudio descriptivo transversal.

**Materiales y Métodos:** Se realizó a través de OPINAlA (consultora de investigación) una encuesta estructurada y autoadministrada, a una muestra de 474 mujeres de público general, estratificada por edad y nivel socioeconómico.

**Resultados:** Si bien el porcentaje de conocimiento y aceptación de la técnica fue alto, la predisposición a ser gestante resultó ser muy limitada. La mayoría de las consultadas no estarían dispuestas a ser gestantes, el principal motivo tuvo que ver con el aspecto emocional. Se objetivó un marcado desconocimiento sobre el marco legal de los tratamientos de GS en Argentina.

**Limitaciones del estudio:** Estudio descriptivo, observacional.

**Implicancias de los hallazgos:** La educación, información, asesoramiento y promoción de conciencia colectiva en materia de TRA, en particular de GS, estimularía a la sociedad a ser más participativa, derribar tabúes y disminuir temores sobre este tratamiento, fomentando la autonomía en la toma de decisiones. La mayor disponibilidad de mujeres candidatas a gestar sortearía la principal limitación de este tratamiento: la demora en encontrar la candidata adecuada.

**Palabras clave:** Gestación por sustitución, Gestante, Padres de intención, Técnicas de reproducción asistida

*practice. The heterogeneity in legal aspects worldwide promotes reproductive tourism looking for this treatment<sup>2</sup>, and Argentina is today an attractive destination for it.*

**Study design:** *Cross-disciplinary descriptive.*

**Materials and Methods:** *A structured and self-administered survey was carried out through OPINAlA (research consultancy) to a sample of 474 women from the general public, stratified by age and socioeconomic level.*

**Main results:** *Although the percentage of knowledge and acceptance of the technique was high, the predisposition to be surrogate turned out to be very limited. The majority of those consulted would not be willing to be surrogate, the main reason was the emotional aspect. A marked lack of knowledge about the legal framework for GS treatments in Argentina was observed.*

**Limitations:** *Descriptive, observational study.*

**Wider implications of the findings:** *Education, information, advice and promotion of collective awareness regarding ART, particularly GS, would stimulate society to be more participatory, break down taboos and reduce fears about this treatment, promoting autonomy in taking of decisions. The greater availability of women who are candidates for pregnancy would overcome the main limitation of this treatment: the delay in finding the right candidate.*

**Key words:** *Surrogacy, Surrogate, Intended parents, Assisted reproduction techniques*

## Introducción

El desarrollo vertiginoso de las técnicas de Reproducción Asistida (TRA) han cambiado la perspectiva de la reproducción humana en los últimos 40 años. Hasta hace dos décadas, el universo de pacientes estaba conformado sólo por parejas heterosexuales con diagnóstico de infertilidad, y hoy es tan solo uno de los tantos modelos existentes<sup>3</sup>. Por otro lado, la diversidad de género, la apertura social, los nuevos modelos de familia y los nuevos vínculos socioafectivos son hoy, parte de una nueva realidad. Estos cambios demandan alternativas para que las personas alcancen el deseo de ser madre o padre, aun cuando biológicamente sea poco factible lograrlo.

La gestación por sustitución (GS) es un tratamiento de alta complejidad, en el cual intervienen varios actores. En primer lugar “los padres de intención”, que son las parejas y/o la persona con deseos de tener un hijo y que por diferentes razones no pueden lograrlo de manera natural. Por otro lado, “la gestante”, que es la mujer que cede su capacidad de gestar, aporta su útero y lleva adelante un embarazo para que los padres de intención puedan concretar su proyecto parental. A veces es necesario recurrir a un banco de gametos, y entonces aparece “la figura de la donante”, que es la mujer que donará sus óvulos, en caso, por ejemplo, que los padres de intención sean varones<sup>4</sup>.

Este procedimiento requiere la intervención de un equipo multidisciplinario, implica un tratamiento de fertilización in vitro y está indicado en mujeres sin útero o con contraindicación para gestar, parejas de hombres u hombres solteros<sup>5,6</sup>.

El primer embarazo por GS exitoso fue reportado por Utian en el año 1985<sup>7</sup>. Desde entonces la práctica crece a pasos agigantados. Entre 1999 y 2013, hubo 30.927

embarazos subrogados en los Estados Unidos, lo que resultó en 13.380 partos, con un total de 18.400 niños nacidos<sup>8</sup>. Se estima que en India, los nacidos por esta técnica son más de 25.000 niños<sup>9</sup>. En nuestro país, se trata de un procedimiento emergente, con pobres datos oficiales sobre nacidos vivos. Se calculan unos 200 a 300 casos anuales, aproximadamente.

La GS está sujeta a distintas normativas legales alrededor del mundo. La subrogación comercial es legal sin restricciones en Georgia, Israel, Ucrania, Rusia y, en algunos estados de Estados Unidos. En Europa, está expresamente prohibida en Austria, Bulgaria, Dinamarca, Finlandia, Francia, Alemania, Italia, Malta, Noruega, España y Suecia. La subrogación altruista, está permitida bajo diversas condiciones en Bélgica, Grecia, Holanda, Reino Unido, Portugal, Australia, Canadá, Nueva Zelanda y algunos estados de América del Norte<sup>10</sup>, mientras que no está regulado legalmente en Polonia y la República Checa<sup>11</sup>.

En Argentina es un tratamiento que actualmente no está regulado, aunque el mismo no está expresamente prohibido. La aparición de una tercer fuente filiatoria derivada del uso de las TRA con la reforma del código civil y comercial les permite ser padres a quienes tienen el deseo procreacional de serlo, pero no se ha regulado específicamente que ocurre en los casos de GS. En nuestro país, los casos se deben judicializar a través de una autorización previa o cumplir los requisitos de la disposición que existe en el ámbito de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires (CABA) que autoriza a inscribir en términos preventivos a los nacidos, ante los siguientes situaciones 1) Que se trate de nacidos en CABA por el método de GS; 2) Que la voluntad procreacional de los progenitores

haya sido expresada en forma previa, libre e informada; 3) Que la gestante previa y fehacientemente hubiera expresado no tener voluntad procreacional y 4) Que la inscripción deberá hacerse en términos preventivos, debiendo asentar los datos de la gestante en el legajo (Disposición N.º 93/DGRC/17 – Complementada luego por la Disposición N.º 103/2017 (DGRC) y 122/2020 (DGRC) del Registro del Estado Civil y Capacidad de las Personas). A la fecha existen algunos proyectos de ley que procuran regular la práctica.

Desde su aparición, los tratamientos de reproducción asistida han permitido el nacimiento de más de 7 millones de niños en el mundo, y la gestación por sustitución ha contribuido en gran parte a estos nacimientos, ya que lleva más de tres décadas en varios países del mundo. Pese a esto, existen pocas investigaciones que indaguen la percepción pública sobre esta práctica reproductiva.

El objetivo del presente trabajo fue conocer la opinión pública de 474 argentinas en edad reproductiva (20 a 40 años) sobre conocimiento y valoración acerca de la gestación por sustitución y indagar sobre la predisposición a postularse como gestante, y conocer los miedos que esto conlleva.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

Estudio descriptivo transversal. Para esta investigación se diseñó como instrumento una encuesta estructurada y auto-administrada, con 11 preguntas cerradas, abiertas y escalas de opinión sobre conocimiento acerca de la GS, valoración del tratamiento y predisposición a participar como gestante. Se realizó un cuestionario online con una muestra aleatoria y representativa de 474 mujeres en edad reproductiva (entre 20 y 40 años de edad),

pausibles de ser candidatas como gestante en Argentina. Los datos se ponderaron según los últimos parámetros poblacionales disponibles acorde a edad (segmentada por décadas), nivel socioeconómico (NSE bajo, medio y alto) y zona de residencia. El abordaje digital de este recurso resultó expeditivo, eficiente e innovador tanto en la recolección como en el análisis de datos. El período de estudio comprendió del 5 al 17 de febrero de 2023. La encuesta fue ejecutada, a través de OPINAIA, consultora de investigación especializada en mercado y opinión pública que cuenta con una base de datos mayor a 400.000 panelistas en Latinoamérica. El estudio fue presentado y aprobado por el Comité de Ética de CEGYR. La participación de los encuestados, fue voluntaria y anónima. El error muestral resultó en +/-2,3 pp, bajo el supuesto de una muestra probabilística, con una confiabilidad del 95%.

## **RESULTADOS**

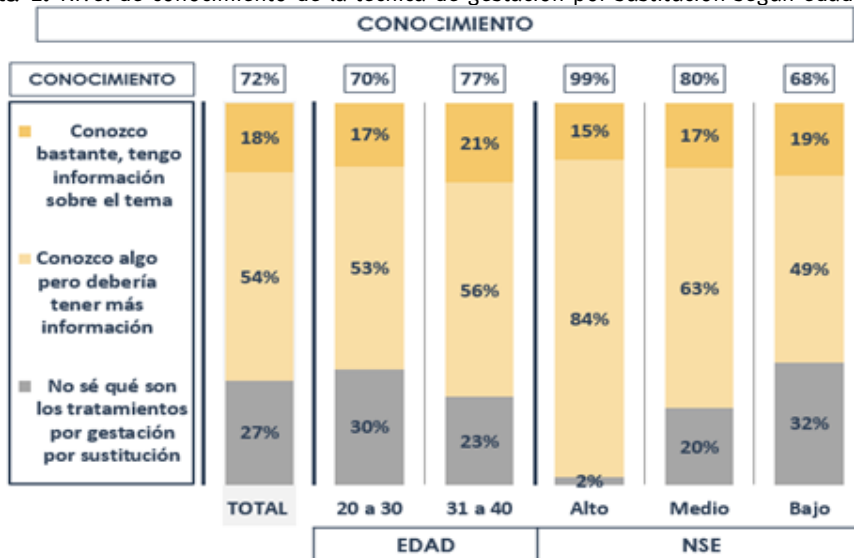
De las 474 mujeres, el 72% refirió conocer sobre el tratamiento de gestación por sustitución y el 80% mostró una opinión positiva sobre el mismo. Pese a esto, el 64% de las encuestadas no se ofrecería como candidata para ser gestante. El principal motivo de rechazo (46%) fue el miedo a generar fuertes lazos afectivos con el recién nacido. En cuanto al conocimiento sobre el marco legal, el 76% desconoce si la técnica es legal o ilegal en Argentina.

Respecto al conocimiento sobre la técnica de GS, el 18% de las encuestadas refirió tener bastante información sobre el tratamiento, el 54% conoce pero considera que le falta información del tema y el 27% restante, desconoce en su totalidad la práctica. Respecto a la edad, el mayor nivel de desconocimiento se constató dentro de la población más joven (20-30 años), siendo

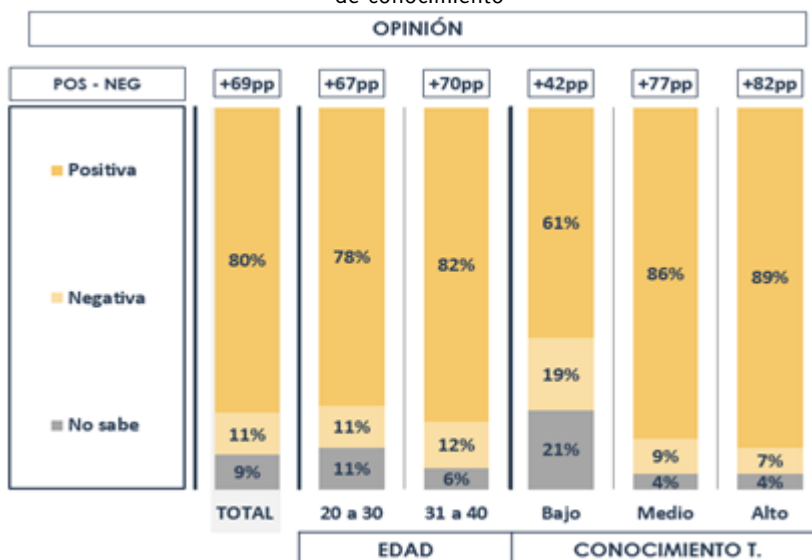
del 30% versus 23% en el grupo de mayor edad (31-40 años). Cuando se estratificó por nivel socioeconómico (NSE), se objetivó que el 99% de las mujeres de alto poder adquisitivo conocían la técnica, con 1 % de desconocimiento. En comparación con las mujeres con bajo NSE, donde se encontró un 32% de desconocimiento total (Tabla 1).

Respecto a que esta técnica se lleve a cabo, la opinión fue marcadamente positiva en ambos grupos etarios, siendo del 78% en los menores de 30 años versus 82% en los mayores de 31 años. Las mujeres de bajo NSE, mostraron mayor rechazo a la implementación de la técnica en comparación con las de NSE medio y alto (21% vs 4% vs 4%) (Tabla 2).

**Tabla 1.** Nivel de conocimiento de la técnica de gestación por sustitución según edad y NSE



**Tabla 2.** Opinión sobre la técnica de gestación por sustitución según edad y nivel de conocimiento

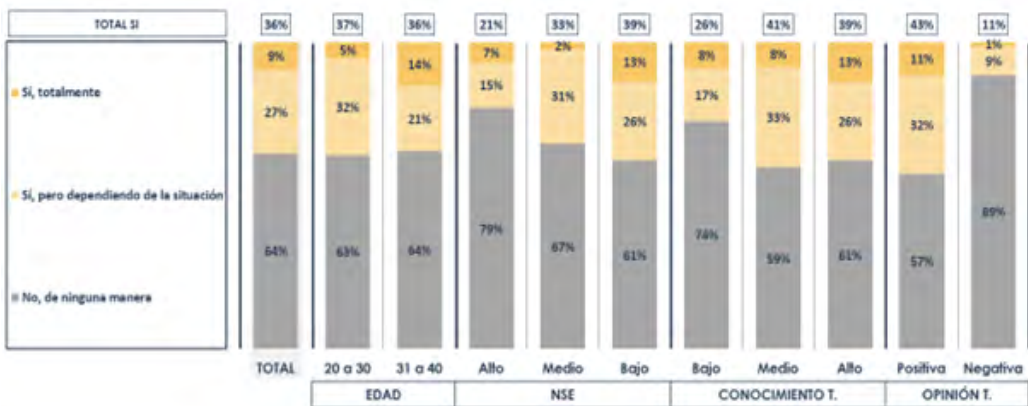


Cuando se evaluó la predisposición de las encuestadas a officiar como gestantes, los datos no fueron alentadores, ya que el 64% no estaría dispuesta a gestar para terceros, sin evidenciarse diferencias entre los grupos etarios analizados. La negativa a participar fue mayor en mujeres de alto NSE, respecto a las de bajo NSE (79% vs 61%). El mayor rechazo se objetivó en aquellas mujeres con menor conocimiento de la técnica. Dentro de las que mostraron predisposición para ser gestantes, sólo el 9% lo haría sin dudar, mientras que un 27% lo evaluaría según la situación (Tabla 3).

El principal motivo para no ser gestante tiene que ver con lo emocional, incluso el 23% considera que no hay remuneración económica que compense el proceso de ser gestante.

Dentro de los miedos sobre el rol de gestar, el 46% de las mujeres temen generar un lazo afectivo estrecho con el recién nacido, el 37% le preocupa tener complicaciones de su salud a lo largo del embarazo, el 21% tiene miedo al arrepentimiento durante el proceso y a un 15% lo inquieta no sentirse acompañada por su núcleo familiar o el equipo médico (Tabla 4).

**Tabla 3.** Predisposición a ser gestante según edad, NSE, conocimiento de la técnica y opinión de la misma.



**Tabla 4.** Miedos sobre ejercer como gestante.



Entre las mujeres que rechazan la idea de ser gestante, sólo un 25% modificaría su decisión prevaleciendo el pedido de un familiar (12%) al de un amigo (9%). Sólo un 3% cambiaría de opinión, ante una mejor oferta económica.

Entre las potenciales mujeres gestantes, se evidenció un alto nivel de apoyo y aceptación por las diferentes conformaciones familiares que recurrirían a la GS como tratamiento para tener un hijo, con una preferencia del 95% para gestar para parejas heterosexuales, por sobre el 80% para parejas de hombres, 78% para mujeres solas, 78% para parejas de mujeres y 73% para hombres solos.

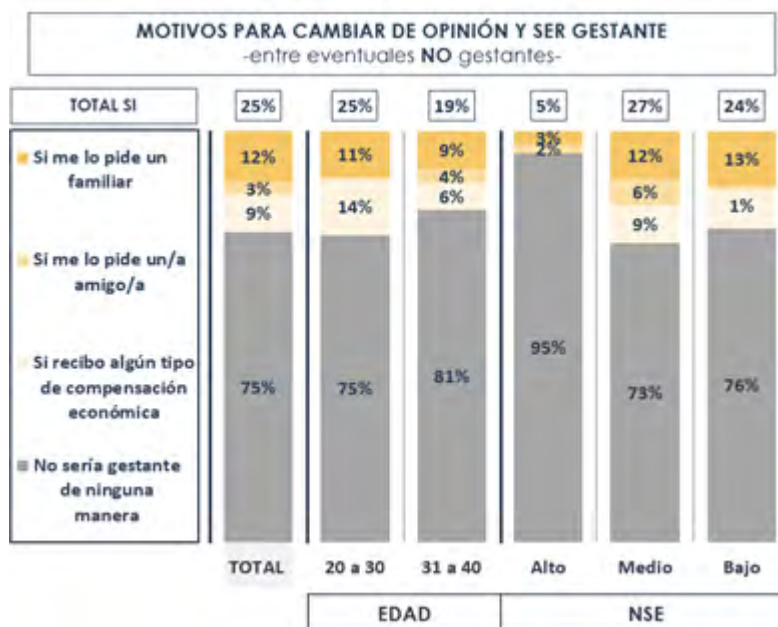
Si bien el 30% de las encuestadas se percibiría en el rol de gestante sin requerir una compensación económica, el 70% de las encuestadas coincide en que la práctica debe contemplar una remuneración. El 9% estaría de acuerdo en percibir menos de 10.000 dólares, el 15% entre 10.000 y 19.999 dólares, un 19% entre 20.000 y

30.000 dólares, un 27% incluso más de 30.000 dólares.

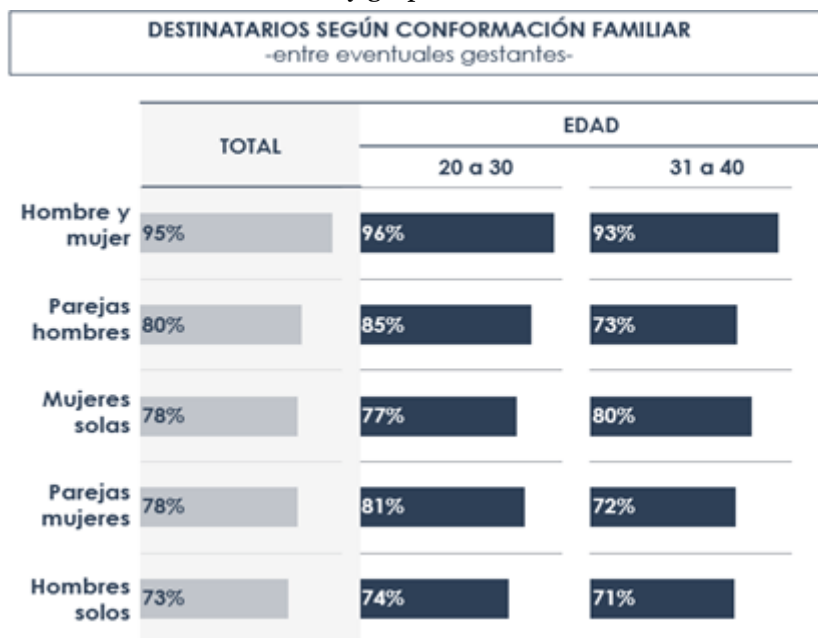
Ante la situación de un embarazo complicado, el 58% de las eventuales gestantes estarían de acuerdo en interrumpir voluntariamente el mismo. Sobre todo si se tratase de situaciones médicas que comprometan su vida (37%). El 11% sólo interrumpiría el embarazo ante malformaciones fetales y un 10% accedería a la interrupción ante la petición de los padres de intención sin razón médica. Por el contrario, el 42% de las posibles gestantes no accedería a interrumpir el embarazo a pesar de una complicación médica. Se objetivó mayor negativa al aborto entre las mujeres mayores a 35 años y practicantes de la religión.

Existe un marcado desconocimiento sobre el marco legal de los tratamientos sobre GS. Un 49% no sabe si el tratamiento es legal o ilegal en Argentina. El mayor nivel de conocimiento se objetivó en el grupo etario de mayor edad y en las de NSE más alto.

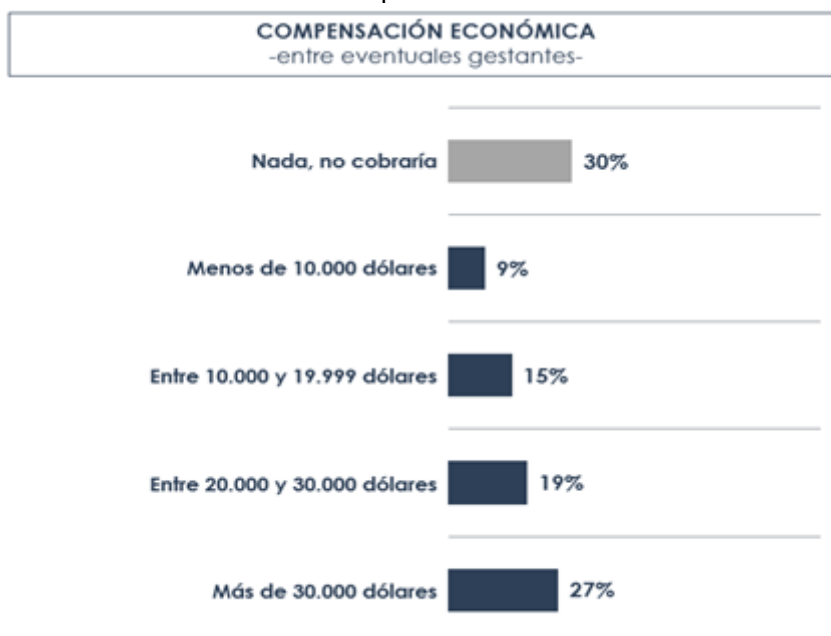
**Tabla 5.** Destinatarios entre eventuales gestantes, según conformación familiar y grupo etario.



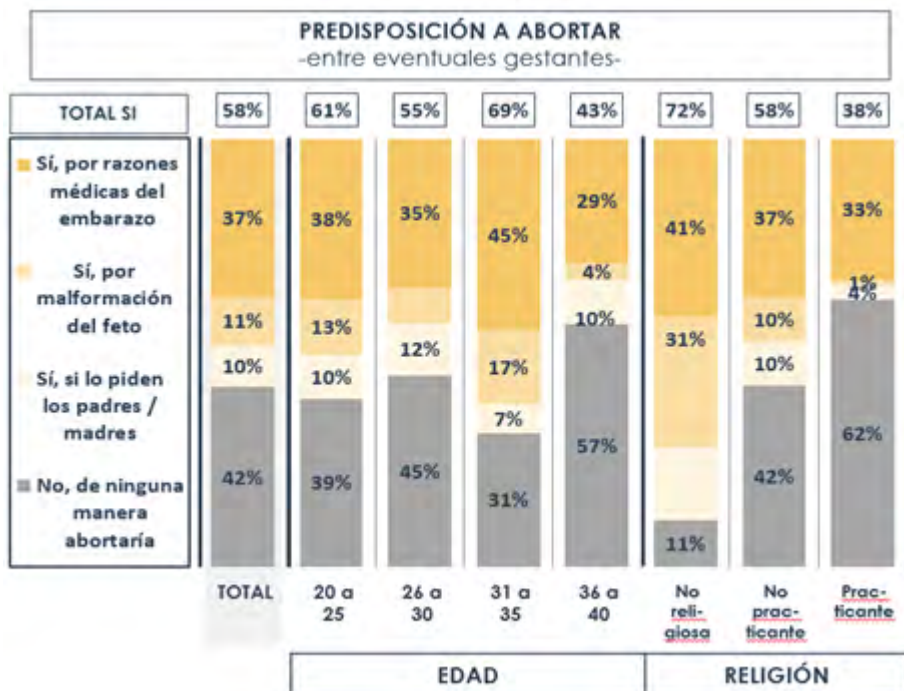
**Tabla 5.** Destinatarios entre eventuales gestantes, según conformación familiar y grupo etario.



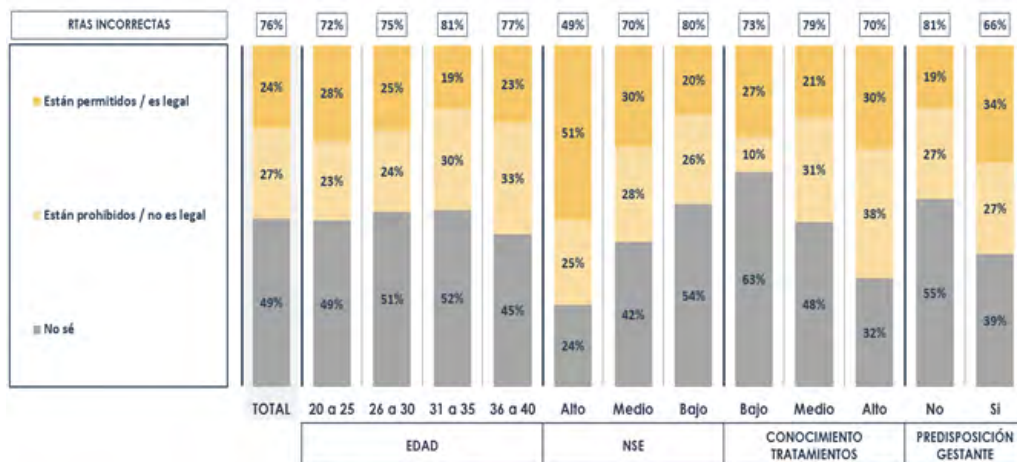
**Tabla 6.** Compensación económica.



**Tabla 7.** Predisposición a interrumpir el embarazo, según edad y práctica de la religión.



**Tabla 8.** Conocimiento sobre el marco legal según edad, nivel socio económico, conocimiento del tratamiento y predisposición a ser gestante.



## DISCUSIÓN

La Gestación por Sustitución es actualmente, un tratamiento que genera gran desafío dentro de las técnicas de Reproducción Asistida (TRA). Contribuir biológicamente al nacimiento de un niño, ya no implica directamente paternidad o maternidad. La gestación subrogada ha revolucionado esta idea y las creencias tradicionales sobre sexualidad, reproducción y filiación.

El mundo atraviesa profundos cambios respecto a las relaciones interpersonales y familiares, y las TRA han contribuido enormemente a la modificación de paradigmas tradicionales para dar lugar a que nuevas conformaciones familiares logren el sueño de tener un hijo.

Actualmente lograr un embarazo trasciende el encuentro sexual entre un hombre y una mujer. Es posible la reproducción sin sexo, así como la no relación filial entre los diferentes protagonistas que participan en la concepción de un bebé.

Los avances médicos de los últimos cuarenta años han supuesto una auténtica revolución en el dominio biológico de la reproducción. La continuidad biológica ya no es sinónimo de verdadera paternidad o maternidad, lo que genera un impacto social y jurídico en la adquisición del parentesco. La parentalidad es más una consecuencia emocional que la participación en un acto reproductivo, el proporcionar material genético o el gestar un bebé en el útero.

La historia de las diversidades familiares no puede comprenderse, sin entender los progresos de las tecnologías en materia de reproducción asistida. La GS, en este caso, proporciona enormes posibilidades tanto como debates en el ámbito jurídico, social, psicológico, político y ético, sin que hasta la fecha podamos hablar de un consenso internacional de la práctica.

En la subrogación uterina, una mujer de forma voluntaria, por una motivación altruista o comercial, se compromete a gestar un bebé y entregarlo a los padres de intención posterior al nacimiento. Tras un acuerdo legal previo entre las partes, la gestación se da como resultado de una fertilización *in vitro*, en el que se utilizan gametas propias o donadas.

La GS es una realidad que no puede ser silenciada. Si bien cada país tiene su postura hacia este tratamiento, el alcance internacional del fenómeno presiona y genera una tendencia hacia la regulación del mismo: solo así se evitaría la clandestinidad, la desprotección de la gestante y el recién nacido, y el turismo reproductivo. Un marco jurídico garantista con respecto a la GS asegura, más allá de los deberes y derechos de todas las partes, la abolición de los abusos y las malas praxis.

En nuestro trabajo evidenciamos que, en si bien en términos generales el nivel de conocimiento sobre los tratamientos de gestación es elevado, todavía este conocimiento es segmentado y parcial. Los sectores que manifiestan conocer menos sobre el tema son las mujeres más jóvenes, de 20 a 30 años, y las de menor nivel socioeconómico. Independientemente del conocimiento, los tratamientos tienen un alto nivel de aceptación en todos los segmentos, sobre todo en las mujeres de 31 a 40 años.

A pesar de los elevados niveles de aceptación, la mayoría de las mujeres consultadas no estarían dispuestas a ser gestantes. Comparativamente, se registra mayor predisposición en las mujeres de 31 a 40 años, en los niveles socioeconómicos bajos, y en aquellas que manifiestan tener bastante información sobre los tratamientos. Por el contrario, se evidencia mayor rechazo en las mujeres de mayores recursos, de

menor conocimiento sobre la temática, y en aquellas que tienen una opinión negativa sobre los tratamientos.

El principal motivo para no ser gestante tiene que ver con lo emocional. Luego le siguen cuestiones de salud, y la idea de que no hay dinero que compense el hecho de ser gestante. Por otro lado, es baja la predisposición a cambiar de opinión y ser eventualmente gestante, sobre todo en las mujeres de más de 30 años y en las de mayor NSE. La razón del cambio está más vinculada al pedido de familiares o amigos que al hecho de recibir una compensación económica.

Para las potenciales mujeres gestantes, los familiares serían los principales destinatarios, por sobre los amigos. En términos de las conformaciones familiares se registra un alto nivel de apoyo y aceptación general, priorizando aun las parejas heterosexuales clásicas. Comparativamente, el menor grado de aceptación sería para ser gestantes de hombres solos.

El 70% de las mujeres que serían gestantes aceptarían una compensación económica. En relación al aborto, mayormente las eventuales gestantes estarían dispuestas a interrumpir el embarazo, sobre todo si se trata de cuestiones médicas personales. El rechazo al aborto está presente en general en las mujeres que se manifiestan como religiosas y practicantes.

Encontramos tres grandes temores al pensar en la gestación por sustitución: encariñarse con él bebe, tener complicaciones en el parto y arrepentirse de ser gestante.

Notamos un marcado desconocimiento sobre el marco legal de los tratamientos de GS en Argentina: aproximadamente, 3 de cada 4 mujeres consultadas no saben o dan respuestas incorrectas sobre el tema. Comparativamente, el mayor nivel de

conocimiento se da en las mujeres de alto nivel socioeconómico y en las que serían eventualmente gestantes.

Argentina se ha convertido en un país emergente para GS tanto para pacientes locales como extranjeros. Pero como todo cambio de paradigma requiere tiempo para que la sociedad lo deconstruya, lo madure y lo incorpore. El contexto socio-político internacional, la situación económica global, y en particular en nuestro país, los altos estándares de medicina reproductiva que manejamos, han creado un clima propicio para el desarrollo y avance de esta técnica en Argentina.

## CONCLUSIÓN

Este estudio de alcance nacional revela la postura de mujeres argentinas frente a la Gestación por Sustitución. Se trata de la primera encuesta en Latinoamérica que evalúa la opinión, conocimiento y percepción de mujeres en edad reproductiva en condiciones médicas de ser gestantes. Encontramos que, a pesar de la alta aceptación de la GS, la mayoría de las mujeres consultadas no estarían dispuestas a ser gestantes.

Consideramos que existe un nexo entre la baja consideración para ser gestante y un déficit de información real sobre este rol. Desde ya, no cualquier mujer estaría dispuesta a gestar para un tercero, independientemente de si recibiera dinero por esto o no. Para pensarse en el rol de gestante debe existir un instinto de altruismo muy marcado, se debe entender que nunca existirá un vínculo biológico, ni jurídico ni de parentesco entre la gestante y el niño por nacer, y que la mujer candidata a gestar tiene que tener absoluta conciencia del tratamiento a realizar, tomar esa decisión con plena autonomía, libertad, tener gran compromiso para llevar a cabo este rol, y

siempre realizar este tipo de tratamiento en el marco de un equipo interdisciplinario.

Advertimos la necesidad de una mayor educación y difusión sobre la técnica y sus aspectos legales. Consideramos que comprender las opiniones de las mujeres candidatas a gestar permitiría el advenimiento de políticas de salud pública, para elaborar

proyectos educativos y normas legales que protejan tanto a la gestante como a los padres de intención.

Internacionalmente Argentina se posiciona de manera ascendente para esta práctica, ofrece la posibilidad de un tratamiento con estándares de alta calidad, a un costo atractivo y con un marco legal seguro.

## REFERENCIAS

1. Perkins, et al. Trends and outcomes of gestational surrogacy in the United States. *Fertil Steril*. 2016;106:435-442.
2. Noelia Igareda Gonzalez, Ph.D. Legal and ethical issues in cross-border gestational surrogacy. *Fertil Steril* 2020;113:916-9.
3. Nicotra Perassi P, Nabel A, Moscoso G, Cerisola M. El imaginario sobre fertilidad y técnicas de reproducción asistida en la opinión pública argentina". *Revista Reproducción*. Volumen 35. Número II, 2020. ISSN 0327-9294.
4. Ethics Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Consideration of the gestational carrier: an Ethics Committee opinion. *Fertil Steril*. 2018; 110:1017-21.
5. Consideration of the gestational carrier: a committee opinion. Ethics Committee of the American Society for Reproductive Medicine; *Fertil Steril* 2013;99:1838-41.
6. Caldwell CE. Baby got back? Enforcing guardianship in International surrogacy agreements when tragedy strikes. *Univ Memphis Law Rev* 2019:847- 82.
7. Utian WH, Sheean L, Goldfarb JM, Kiwi R. Successful pregnancy after in vitro fertilization and embryo transfer from an infertile woman to a surrogate. *N Engl J Med* 1985;313:1351 -1352.
8. Perkins, K. M., S. L. Boulet, D. J. Jamieson, and D. M. Kissin. 2016. "Trends and Outcomes of Gestational Surrogacy in the United States." *Fertility and Sterility* 106: 435-42.e2.
9. Shetty, P. 2012. "India's Unregulated Surrogacy Industry." *Lancet* 380: 1633-34.
10. So"derstro"m-Anttila, V., U.-B. Wennerholm, A. Loft, A. Pinborg, K. Aittoma"ki, L. B. Romundstad, and C. Bergh. 2016. "Surrogacy: Outcomes for Surrogate Mothers, Children and the Resulting Families—A Systematic Review." *Human Reproduction Update* 22: 260-76.
11. Deomampo, D. 2015. "Defining Parents, Making Citizens: Nationality and Citizenship in Transnational Surrogacy." *Medical Anthropology* 34: 210-25.

# Impacto del índice de masa corporal en la función ovárica y pronóstico reproductivo en los tratamientos de reproducción asistida

Impact of body mass index on ovarian function and reproductive prognosis in assisted reproduction treatment

Cabrera M.<sup>1</sup>, Boeykens G.<sup>2</sup>, Milocco N.<sup>2</sup>, Maximino S.<sup>2</sup>, Azcoaga R.<sup>3</sup>, Cagliaris L.<sup>4</sup>, Orsaria R.<sup>4</sup>, Knuttzen R.<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Directora Médica, Centro de Medicina Ginecológica y Fertilidad HAVVA, Paraná, Entre Ríos.

<sup>2</sup> Médica/ Staff de planta, Centro de Medicina Ginecológica y Fertilidad HAVVA, Paraná, Entre Ríos.

<sup>3</sup> Director de Laboratorio, Centro de Medicina Ginecológica y Fertilidad HAVVA, Paraná, Entre Ríos.

<sup>4</sup> Bqcas del Laboratorio, Centro de Medicina Ginecológica y Fertilidad HAVVA, Paraná, Entre Ríos.

## RESUMEN

**Pregunta de estudio:** ¿Existe una asociación entre el IMC > 25 kg/m<sup>2</sup>, la función ovárica, la reserva ovárica y/o los resultados reproductivos en mujeres que realizan tratamientos de fertilidad asistida?

**Lo que ya se sabe:** Existe una asociación entre la pérdida de fertilidad y valores elevados de FSH basal y disminuidos de la HAM. La obesidad y el sobrepeso podrían estar asociados a cambios en las concentraciones de estas hormonas generando resultados subóptimos en los TRA.

**Diseño del estudio:** Estudio trasversal, analítico.

**Materiales y Métodos:** Materiales y Métodos

Se incluyeron 23 mujeres de entre 25 a 38 años de edad, que presentaban un IMC > 25 kg/m<sup>2</sup> y 26 mujeres del mismo rango etario con un IMC < 25 kg/m<sup>2</sup>, sin factor masculino asociado a su diagnóstico de infertilidad, que realizaron un TRA en la Clínica HAVVA, Paraná, Entre Ríos; entre enero de 2022 y junio de 2023. Se analizaron

## ABSTRACT

**Study question:** *Is there an association between BMI >25 kg/m<sup>2</sup>, ovarian function, ovarian reserve, and/or reproductive outcomes in women undergoing assisted fertility treatments?*

**What is already known:** *There is an association between fertility loss and elevated basal FSH and decreased AMH levels. Obesity and overweight could be associated with changes in the concentrations of these hormones generating suboptimal results in ART.*

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

**Materials and Methods:** *The study included 23 women aged 25 to 38 with a BMI > 25 kg/m<sup>2</sup> and 26 women of the same age range with a BMI < 25 kg/m<sup>2</sup>; all without male factor associated to their infertility diagnosis, who underwent ART at HAVVA Clinic in Paraná, Entre Ríos; between January 2022 and June 2023. The values of AMH (ng/ml), basal FSH (UI/L) were analyzed as indicators of ovarian function and*

los valores de HAM (ng/ml) y FSH basal (UI/L) como parámetros indicadores de la función y reserva ovárica y el % de fertilización y % de llegada a blastocistos como indicadores de eficacia del TRA y se buscó su asociación con el IMC.

**Resultados:** Las mujeres presentaron, en promedio, valores de HAM y FSH basal dentro de los rangos de normalidad (media: 2,2 ng/ml y 6,99 UI/L, respectivamente). Si bien no se observó una asociación entre un IMC>25 y los distintos parámetros analizados, se pudo constatar que esta población con alto BMI presentó porcentajes de fertilización y de llegada a blastocistos por debajo de los esperados para considerar al tratamiento como óptimo (media: 78,17% y 47,83%, respectivamente). No se observó correlación de tipo lineal entre el valor del IMC y los valores de los parámetros analizados.

**Limitaciones del estudio:** Las limitaciones principales de este estudio incluyen el reducido tamaño de la muestra, la falta de consideración de otros factores predictores de falla ovárica y el solo uso del IMC >25 kg/m<sup>2</sup> como indicador de sobrepeso y/o obesidad, sin considerar la influencia de factores como el porcentaje de masa muscular y grasa.

**Implicancias de los hallazgos:** Estos resultados ponen en evidencia la necesidad del trabajo multidisciplinario con terapeutas y nutricionistas como estrategia para optimizar los resultados obtenidos durante los tratamientos de fertilización.

**Palabras clave:** tratamientos de reproducción asistida, índice de masa corporal, FSH, hormona antimülleriana, sobrepeso, obesidad.

*reserve, and the % of fertilization and % of blastocyst formation were considered as indicators of ART efficacy. The association of these parameters with BMI was also investigated.*

**Main results:** *On average, patients exhibited normal values for AMH and basal FSH (mean: 2.2 ng/ml and 6.99 IU/L, respectively). While no association was observed between BMI > 25 kg/m<sup>2</sup> and the various analyzed parameters, it was noted that this population showed fertilization and blastocyst formation percentage values below the expected percentages to consider the treatment as optimal (78.17% and 47.83%, respectively). No correlation was observed between the BMI and the values of the parameters analyzed in our cohort of women.*

**Limitations:** *The main limitations of this study include the small sample size, the lack of consideration of other predictors of ovarian failure and the only use of BMI >25 kg/m<sup>2</sup> as an indicator of overweight or obesity, without considering the influence of factors like the percentage of muscle mass.*

**Wider implications of the findings:** *The results observed here highlight the need for a multidisciplinary approach with therapists and nutritionists as a strategy in order to optimize the results obtained during fertilization treatments.*

**Key words:** *Assisted reproduction treatments, body mass index, FSH, antimüllerian hormone, overweight, obesity.*

## Introducción

La infertilidad constituye un desafío clínico significativo en la atención reproductiva contemporánea. La comprensión de los factores que alteran la función ovárica normal se ha vuelto, en consecuencia, esencial para el diagnóstico y manejo eficaz de la infertilidad femenina.

Es sabido que la pérdida de la fertilidad se encuentra íntimamente ligada a un desbalance de factores fisiológicos y endocrinos<sup>1,2</sup>. En este contexto, se ha observado una asociación estrecha entre la pérdida de fertilidad y cambios en las concentraciones de la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona antimülleriana (HAM), así como también una calidad comprometida de los ovocitos, presumiblemente debido al aumento del estrés oxidativo y al daño del ADN, así como a la reducción metabólica y meiótica<sup>3-5</sup>.

Aunque las condiciones que involucran la anovulación y las alteraciones en las gonadotropinas son multifactoriales, hay algunos factores que parecieran tener un mayor impacto en esta desregulación<sup>1,6-7</sup>. Uno de estos es el sobrepeso y la obesidad. La relación entre fertilidad y sobrepeso/obesidad es compleja. Los distintos estudios realizados hasta el momento no lograron definir de manera exacta cómo es que el sobrepeso impacta en la reducción de las tasas de fertilidad, la calidad de los ovocitos y la receptividad endometrial<sup>8-10</sup>.

Por otro lado, además de los efectos inherentes del sobrepeso sobre la calidad ovocitaria y el endometrio, la obesidad también se vio asociada a resultados subóptimos en los tratamientos de reproducción asistida (TRA)<sup>11-14</sup>. En primer lugar, las mujeres con obesidad tienen una menor respuesta a la estimulación ovárica junto con una duración de la inducción de la ovulación más prolongada lo que lleva a

aumentar la dosis de gonadotropinas, disminuir los niveles máximos de estradiol, el número de folículos maduros y el número de ovocitos recuperados, y aumentar la tasa de cancelación del ciclo<sup>15-16</sup>. También se vio que, durante los TRA, en las pacientes obesas existe una menor probabilidad de ovulación utilizando citrato de clomifeno, requiriendo dosis más altas de gonadotropinas y desarrollando un menor número de folículos<sup>17</sup>.

El sobrepeso y la obesidad se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud<sup>18</sup>. El índice de masa corporal (IMC) es un indicador simple de la relación entre el peso y la talla que se utiliza frecuentemente para identificar el sobrepeso y la obesidad en los adultos<sup>19-20</sup>. Se calcula dividiendo el peso de una persona en kilos por el cuadrado de su talla en metros (kg/m<sup>2</sup>). En el caso de los adultos, la OMS define el sobrepeso y la obesidad como se indica a continuación: sobrepeso: IMC igual o superior a 25 kg/m<sup>2</sup>; obesidad: IMC igual o superior a 30<sup>21</sup>.

Sobre la base de revisión de antecedentes, se plantea la hipótesis de que las mujeres de entre 25 a 38 años que presentan un IMC mayor a 25 kg/m<sup>2</sup>, al realizar un TRA, pueden presentar una función ovárica alterada con valores disminuidos de HAM y elevados de FSH basal, que se asocian a una mala calidad ovocitaria, baja tasa de fertilización y pobre desarrollo embrionario.

En función de la hipótesis, el objetivo del trabajo es evaluar si un IMC mayor a 25 kg/m<sup>2</sup> en mujeres entre 25 a 38 años afecta negativamente el TRA, generando una disminución en los valores de HAM y aumento de FSH basales asociados a una falla ovárica; correlacionando, además, con mala calidad ovocitaria, tasa de fertilización y desarrollo embrionario.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Diseño del estudio:** Estudio transversal analítico.

**Pacientes:** Se incluyeron 23 mujeres de entre 25 a 38 años de edad que presentaban un IMC mayor a 25 kg/m<sup>2</sup> y 26 mujeres del mismo rango etario pero con un IMC < 25 kg/m<sup>2</sup>, sin factor masculino asociado a su diagnóstico de infertilidad, que realizaron un TRA en la Clínica HAVVA, Paraná, Entre Ríos; entre enero de 2022 y junio de 2023.

**Recolección de datos:** Se recolectaron los datos clínicos de edad y el IMC. También se tomaron los valores de HAM (ng/ml) y FSH basal (UI/L) como parámetros indicadores de la función y reserva ovárica, considerándose alterados los niveles de HAM menor a 1 ng/ml y de FSH mayor a 8 UI/L.

Con respecto a los parámetros asociados al Laboratorio de Reproducción asistida, se recabaron los datos de porcentaje de fertilización y de llegada a blastocistos (%) como indicadores de eficacia del TRA. Se consideraron como resultados de fertilización subóptimos valores por debajo al 80% para el caso del porcentaje de fertilización y menores al 60% para el porcentaje de llegada a blastocisto, siguiendo los criterios referenciados en el último Consenso de Viena<sup>22</sup>.

**Análisis de datos:** El análisis estadístico se realizó utilizando el software GraphPad Prism (versión 8.0.2). Las variables

cuantitativas se describen con la media, su desvío estándar (SD) y valores máximo y mínimo. Para comparar las medias entre grupos, dada la distribución no normal de las variables se utilizó el test de Mann-Whitney. Para los análisis de correlación se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman para variables no paramétricas. Se consideró estadísticamente significativo una  $p < 0,05$ . En todos los casos para determinar si las variables poseían o no distribución normal se utilizó la prueba de Shapiro–Wilk.

## RESULTADOS

Las 23 mujeres incluidas presentaron una edad promedio de 34 años. De ellas, el 22% presentó un valor de HAM menor a 1 ng/ml de manera aislada mientras que un 31% tenía niveles de FSH basal mayor a 8 UI/L de manera aislada. Llamativamente, solo el 12,5% de las mujeres presentaron ambos parámetros alterados.

En la Tabla 1 se muestran los parámetros estadísticos promedio de la población de estudio.

Al analizar los valores de ambas hormonas se observa que la población de mujeres con IMC > 25 kg/m<sup>2</sup> presenta, en conjunto, valores dentro del rango de normalidad, siendo los valores promedios de 2,2 ng/ml para la HAM y de 6,99 UI/L para la FSH basal. Por otro lado, no se encontraron diferencias estadísticamente

**Tabla 1.** Valores promedio de los parámetros de interés analizados para la población de estudio (n=23)

Parámetro (unidad)	Media	SD	Mínimo	Máximo
HAM (ng/ml)	2,21	1,34	0,20	4,70
FSH basal (UI/L)	6,99	1,97	1,90	10,00
Nº ovocitos M2	5,61	3,51	1,00	14,00
% de fertilización	78,17	19,67	43,00	100
% de blastocistos	47,83	31,98	0,00	100

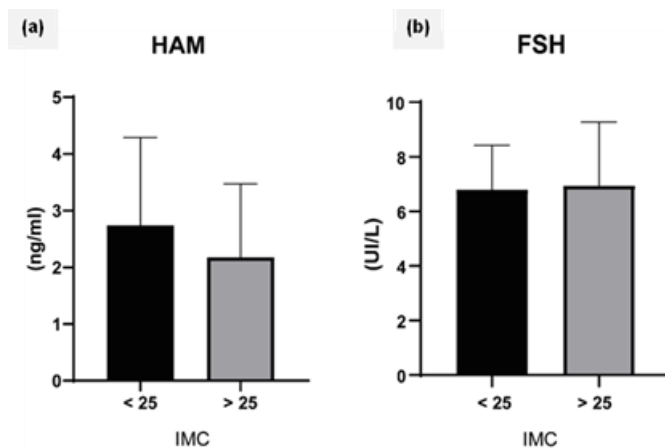
significativas en los valores medios de estas hormonas respecto a los valores que presentó el grupo de mujeres con  $IMC < 25 \text{ kg/m}^2$  [ $p=0,27$  (HAM) y  $p=0,78$  (FSH b), Mann Whitney Test] (Gráfico 1).

Por otro lado, tampoco se encontró una asociación estadísticamente significativa entre presentar un  $IMC > 25 \text{ kg/m}^2$  y el % de fertilización ( $p=0,76$ ; Mann Whitney Test) o el % de llegada a blastocisto ( $p=0,28$ ; Mann Whitney Test) (Gráfico 2). Independientemente a esto, se constató que ambos parámetros presentaron entre las mujeres con un  $IMC > 25 \text{ kg/m}^2$ , en

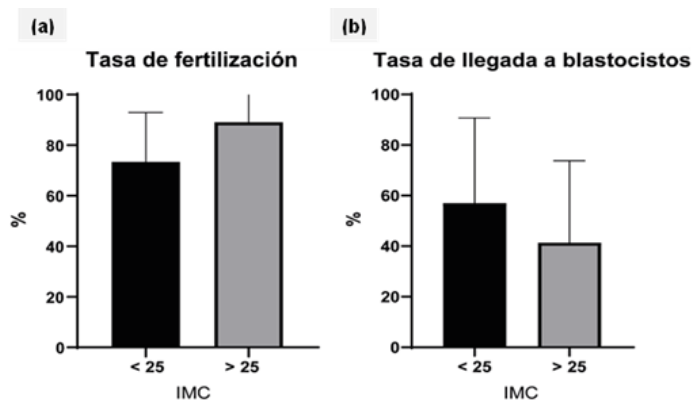
promedio, valores por debajo de los porcentajes esperados para considerar al tratamiento como óptimo (78,17% y 47,83%, respectivamente) (Tabla 1).

Finalmente, no se pudo constatar la existencia de una correlación de tipo lineal entre el valor del IMC y un aumento proporcional en los valores de ninguno de los parámetros analizados en nuestra cohorte de mujeres (HAM:  $p=0,73$   $r= -0,09$ ; FSH:  $p=0,51$   $r= -0,17$ ; % de fertilización:  $p=0,27$   $r=-0,29$  y % de llegada a blastocisto:  $p=0,33$   $r=0,26$ ; Spearman Test) (Gráfico 3).

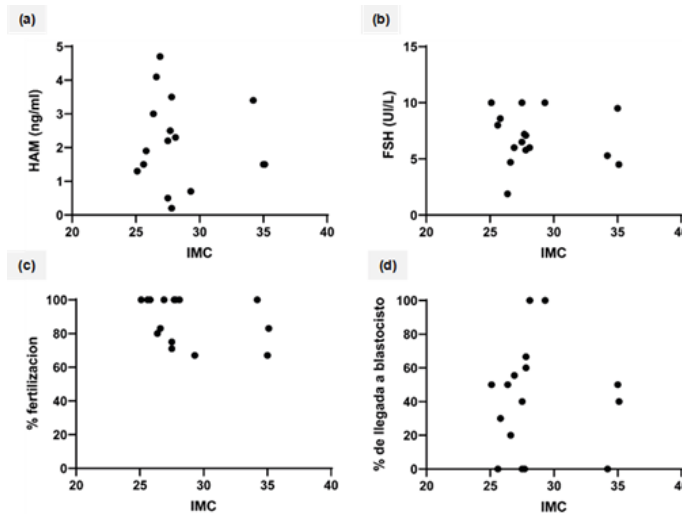
**Gráfico 1.** Asociación entre el IMC y los valores de (a) HAM y (b) FSH.



**Gráfico 2.** Asociación entre el IMC y los parámetros de laboratorio de fertilidad: (a) tasa de fertilización y (b) tasa de llegada a blastocistos.



**Gráfico 3.** Análisis de correlaciones entre el IMC y **(a)** la cc de HAM, **(b)** la cc de FSH basal, **(c)** la tasa de fertilización y **(d)** la tasa de llegada a blastocistos para las mujeres con un IMC >25.



## DISCUSIÓN

El sobrepeso y la obesidad han sido vinculados a resultados reproductivos desfavorables en mujeres en edad fértil, manifestándose en respuestas deficientes a los tratamientos de reproducción asistida. Este fenómeno abarca mayores requerimientos de gonadotrofinas estimuladoras, menor recuperación de ovocitos, tasas disminuidas de implantación y mayores índices de aborto, entre otros aspectos<sup>23-24</sup>. Aunque el efecto de la obesidad y el sobrepeso en la fertilidad femenina es multifactorial, se ha corroborado que estas pacientes exhiben un microambiente folicular alterado, contribuyendo a los resultados subóptimos en los tratamientos de fertilidad asistida<sup>25</sup>.

El índice de masa corporal (IMC) es un indicador ampliamente utilizado para categorizar el sobrepeso y la obesidad. No obstante, la evidencia disponible sobre sus efectos en los resultados de la terapia de reproducción asistida es contradictoria. En este contexto, el presente estudio se propuso identificar el impacto de un IMC > 25 kg/m<sup>2</sup> (indicativo de sobrepeso y obesidad)

en los valores de diversos parámetros de laboratorio asociados a la efectividad del tratamiento de fertilización asistida.

Los resultados revelaron que la población de mujeres con IMC > 25 kg/m<sup>2</sup> que recibió tratamiento de reproducción asistida presentó, en su mayoría, valores hormonales dentro de los rangos de referencia. Sin embargo, los estudios que evaluaron la relación entre el IMC y los niveles hormonales arrojaron resultados contradictorios. Por ejemplo, en un trabajo realizado por Ozekinki y col. en donde se evaluaron diferentes parámetros en un grupo de mujeres menores de 38 años sometidas a ciclos de fertilización in vitro divididas en tres grupos según el IMC (normopeso: 18,5 ≤ IMC < 25 kg/m<sup>2</sup>, sobrepeso: 25 ≤ IMC < 30 kg/m<sup>2</sup> y obesidad: IMC ≥ 30 kg/m<sup>2</sup>), al igual que en nuestro trabajo, no observaron diferencias en los valores de las distintas hormonas evaluadas<sup>13</sup>. Resultados similares fueron obtenidos por otros grupos que llevaron a cabo estudios en similares condiciones<sup>26</sup>. En contraposición, en una revisión sistemática realizada por Moslehi

y col. se informa que los marcadores de reserva ovárica eran significativamente más bajos en las mujeres obesas<sup>27</sup>.

Una posible explicación para estas disparidades podría radicar en la falta de consideración respecto de la reserva ovárica inicial al clasificar los grupos. Trabajos como el de Gorkem y col. evaluaron parámetros hormonales teniendo en cuenta tanto la reserva ovárica (normal, alta o baja) como el IMC evidenciando diferencias significativas en los valores basales de las hormonas en función de la reserva ovárica que presentara la paciente<sup>28</sup>. De igual manera, en una investigación llevada a cabo por Buyuk y col., se examinaron los niveles de HAM en mujeres con infertilidad y IMC > 30 kg/m<sup>2</sup>, categorizándolas en función de su reserva ovárica y observaron que los valores de HAM estaban significativamente elevados únicamente en aquellas pacientes con un IMC > 30 kg/m<sup>2</sup> y una reserva ovárica disminuida, no observando diferencias en aquellas cuya reserva ovárica era normal<sup>29</sup>.

Esta distinción es lógica si se tiene en cuenta que los niveles de HAM se correlacionan directamente con el número de folículos, por lo que cuanto mayor sea la reserva ovárica, mayores serán los niveles de HAM esperables.

por lo que incluir en un mismo grupo a mujeres con distintos valores de reserva ovárica puede generar falsas conclusiones, destacando la importancia de no agrupar mujeres con distintos valores de reserva ovárica para evitar conclusiones erróneas.

Por otro lado, en el contexto del presente trabajo también se exploró la relación entre el IMC y los indicadores de efectividad del TRA, específicamente los porcentajes de fertilización y la formación de blastocistos. Si bien no se identificó una asociación entre el IMC y estos parámetros, destacó

que el grupo de mujeres con un IMC > 25 kg/m<sup>2</sup> exhibió, en promedio, porcentajes por debajo de los esperados para considerar el tratamiento como efectivo. Nuevamente, los resultados reportados en literatura al respecto son discordantes.

En un estudio realizado por Luke y col. en los Estados Unidos, que abarcó un muestreo de más del 90% de las clínicas de fertilización del país, se observó una disminución en la proporción de embriones en estadio de blastocisto a medida que aumentaba el IMC. Sin embargo, se concluye que la edad avanzada resulta ser un factor de riesgo más importante que la obesidad en sí misma<sup>30</sup>. Estos resultados fueron consistentes con otros estudios, como los de García-Ferreira y col. quienes evaluaron a un grupo de 191 mujeres en tratamiento de fertilización asistida, clasificándolas en tres grupos según su IMC y en donde no se observaron diferencias significativas en las tasas de fertilización, pero se encontró una asociación negativa entre el IMC y el porcentaje de llegada a blastocistos<sup>31</sup>.

En contraposición, trabajos como los de Sarais y col.<sup>32</sup> o la revisión sistemática realizada por Amiri y Ramezani Tehrani<sup>33</sup> obtuvieron resultados similares a los nuestros, viéndose porcentajes de fertilización y llegada a blastocistos inferiores a los esperados en un TRA, pero que las diferencias no resultaron estadísticamente significativas respecto del IMC.

Cabe mencionar al respecto que incluso tasas de fecundación elevadas no necesariamente se traducen en mejores tasas de implantación, embarazo y/o nacidos vivos, pudiendo ser particularmente desfavorables en mujeres con sobrepeso y obesidad. Estos resultados ponen énfasis en evaluar los resultados a largo plazo del TRA en mujeres con diferentes niveles de peso.

Como principales limitaciones del presente estudio podemos mencionar el bajo número poblacional estudiado y la inclusión en un mismo grupo mujeres con sobrepeso (IMC > 25 kg/m<sup>2</sup>) y obesidad (IMC > 30 kg/m<sup>2</sup>). Cabe la posibilidad que los efectos del tejido adiposo y sus múltiples hormonas se observó a partir de la acumulación de tejido graso superior a la que presenta una persona con sobrepeso. Asimismo, es importante señalar que, aunque en este estudio se consideró un IMC > 25 kg/m<sup>2</sup> como indicador de sobrepeso y obesidad, la discusión actual se centra en la exactitud de este parámetro para reflejar el sobrepeso, considerando que el IMC no distingue entre masa muscular y grasa.

Los resultados aquí obtenidos sugieren la necesidad de llevar a cabo trabajos científicos que incluyan el estudio de un mayor número de mujeres para establecer conclusiones más sólidas. Además, sería relevante analizar la función ovárica en conjunto con otros factores predictores de falla ovárica y/o peor pronóstico del tratamiento de reproducción asistida, como el consumo de alcohol, tabaquismo y enfermedades como la diabetes o la hipertensión.

A pesar de estas consideraciones, se observa una tendencia causal entre la presencia de sobrepeso y obesidad y una posible

alteración en el tratamiento de reproducción asistida debido a valores hormonales anómalos. Esto sugiere la necesidad de abordajes diferenciados para pacientes con sobrepeso, priorizando aspectos psicoemocionales y minimizando experiencias negativas evitables o prevenibles.

## CONCLUSIÓN

En este trabajo se pudo determinar que el IMC > 25 kg/m<sup>2</sup> en una población con edad materna entre 25 a 38 años, sin factor masculino asociado, presenta en promedio valores dentro del rango de normalidad de HAM y de FSH basal. Por otro lado, si bien no se encuentra asociación o correlación entre el IMC y los parámetros evaluados, se observa que las mujeres con sobrepeso u obesidad presentan una disminución en el porcentaje de fertilización y de llegada a blastocistos.

Se pone así en evidencia la necesidad del trabajo multidisciplinario con terapeutas y nutricionistas como estrategia para mejorar tasas de positivos desde lo institucional de la salud reproductiva, y a su vez mejorar hábitos y calidad de vida en la paciente como medida inicial, la que claramente tendrá menos factores de riesgo para luego transitar un embarazo saludable que finalice a término evitando complicaciones.

**CONFLICTO DE INTERESES:** Los autores no presentan conflicto de intereses alguno.

## REFERENCIAS

1. Vural B, Cakiroglu Y, Vural F, Filiz S. Hormonal and functional biomarkers in ovarian response. *Arch Gynecol Obstet.* 2014;289(6):1355-61.
2. Damario MA. General aspects of fertility and infertility. *Methods Mol Biol.* 2014;1154:3-23.
3. Buratini J, Dellaqua TT, Dal Canto M, La Marca A, Carone D, Mignini Renzini M, Webb R. The putative roles of FSH and AMH in the regulation of oocyte developmental competence: from fertility prognosis to mechanisms underlying age-related subfertility. *Hum Reprod Update.* 2022;28(2):232-254.
4. Gözükarar İ, Yılmaz N, Ceran MU, Atalay E, Kahyaoglu İ, Gülerman HC, Engin-Üstün Y. The role of FSH to AMH ratio in poor prognosis patients undergoing ICSI cycle. *J Turk Ger Gynecol Assoc.* 2022;23(3):184-189.
5. Kaltsas A, Zikopoulos A, Moustakli E, Zachariou A, Tsirka G, Tsiampali C, Palapela N, Sofikitis N, Dimitriadis F. The Silent Threat to Women's Fertility: Uncovering the Devastating Effects of Oxidative Stress. *Antioxidants (Basel).* 2023 Jul;12(8):1490.
6. Macaluso M, Wright-Schnapp TJ, Chandra A, Johnson R, Satterwhite CL, Pulver A, Berman SM, Wang RY, Farr SL, Pollack LA. A public health focus on infertility prevention, detection, and management. *Fertil Steril.* 2010;93(1):1-10.
7. Carson SA, Kallen AN. Diagnosis and Management of Infertility: A Review. *JAMA.* 2021;326(1):65-76.
8. Broughton DE, Moley KH. Obesity and female infertility: potential mediators of obesity's impact. *Fertil Steril.* 2017;107(4):840-847.
9. Silvestris E, de Pergola G, Rosania R, Loverro G. Obesity as disruptor of the female fertility. *Reprod Biol Endocrinol.* 2018;16(1):22.
10. Marinelli S, Napolitano G, Straccamore M, Basile G. Female obesity and infertility: outcomes and regulatory guidance. *Acta Biomed.* 2022;93(4):e2022278.
11. Brewer CJ, Balen AH. The adverse effects of obesity on conception and implantation. *Reproduction.* 2010;140(3):347-64.
12. Zain MM, Norman RJ. Impact of obesity on female fertility and fertility treatment. *Womens Health (Lond).* 2008;4(2):183-94.
13. Ozekinci M, Seven A, Olgan S, Sakinci M, Keskin U, Akar ME, Ceyhan ST, Ergun A. Does obesity have detrimental effects on IVF treatment outcomes? *BMC Womens Health.* 2015;15:61.
14. Shah DK, Missmer SA, Berry KE, Racowsky C, Ginsburg ES. Effect of obesity on oocyte and embryo quality in women undergoing in vitro fertilization. *Obstet Gynecol.* 2011;118(1):63-70.
15. Tamer Erel C, Senturk LM. The impact of body mass index on assisted reproduction. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2009;21(3):228-35.
16. Sciorio R, Bellaminutti S, Tramontano L, Esteves SC. Impact of obesity on medically assisted reproductive treatments. *Zygote.* 2022;30(4):431-439.
17. Andreu A, Casals G, Vinagre I, Flores L. Obesity management in women of reproductive age. *Endocrinol Diabetes Nutr (Engl Ed).* 2023;70 Suppl 1:85-94.
18. Donini LM, Busetto L, Bischoff SC, et al. Definition and Diagnostic Criteria for Sarcopenic Obesity: ESPEN and EASO Consensus Statement. *Obes Facts.* 2022;15(3):321-335.
19. Nimptsch K, Konigorski S, Pischon T. Diagnosis of obesity and use of obesity biomarkers in science and clinical medicine. *Metabolism.* 2019;92:61-70.
20. Smith KB, Smith MS. Obesity Statistics. *Prim Care.* 2016;43(1):121-35, ix.

21. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
22. ESHRE Special Interest Group of Embryology and Alpha Scientists in Reproductive Medicine. The Vienna consensus: report of an expert meeting on the development of ART laboratory performance indicators. *Reprod Biomed Online*. 2017;35(5):494-510.
23. Pinborg A, Gaarslev C, Hougaard CO, Nyboe Andersen A, Andersen PK, Boivin J, et al. Influence of female bodyweight on IVF outcome: a longitudinal multicentre cohort study of 487 infertile couples. *Reprod Biomed Online*. 2011;23(4):490-9.
24. Moragianni VA, Jones SM, Ryley DA. The effect of body mass index on the outcomes of first assisted reproductive technology cycles. *Fertil Steril*. 2012;98(1):102-8.
25. Sessions-Bresnahan DR, Schauer KL, Heuberger AL, Carnevale EM. Effect of Obesity on the Preovulatory Follicle and Lipid Fingerprint of Equine Oocytes. *Biol Reprod*. 2016;94(1):15.
26. Malhotra N, Bahadur A, Singh N, Kalaivani M, Mittal S. Does obesity compromise ovarian reserve markers? A clinician's perspective. *Arch Gynecol Obstet*. 2013;287(1):161-6.
27. Moslehi N, Shab-Bidar S, Ramezani Tehrani F, Mirmiran P, Azizi F. Is ovarian reserve associated with body mass index and obesity in reproductive aged women? A meta-analysis. *Menopause*. 2018;25(9):1046-1055.
28. Gorkem U, Kucukler FK, Togrul C, Gungor T. Anti-Müllerian hormone exhibits a great variation in infertile women with different ovarian reserve patterns. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2017;57(4):464-468.
29. Buyuk E, Seifer DB, Illions E, Grazi RV, Lieman H. Elevated body mass index is associated with lower serum anti-müllerian hormone levels in infertile women with diminished ovarian reserve but not with normal ovarian reserve. *Fertil Steril*. 2011;95(7):2364-8.
30. Luke B, Brown MB, Stern JE, Missmer SA, Fujimoto VY, Leach R; SART Writing Group. Female obesity adversely affects assisted reproductive technology (ART) pregnancy and live birth rates. *Hum Reprod* 2011;26(1):245-252.
31. García-Ferreya J, Carpio J, Zambrano M, Valdivieso-Mejía P, Valdivieso-Rivera P. Overweight and obesity significantly reduce pregnancy, implantation, and live birth rates in women undergoing In Vitro Fertilization procedures. *JBRA Assist Reprod*. 2021;25(3):394-402.
32. Sarais V, Pagliardini L, Rebonato G, Papaleo E, Candiani M, Viganò P. A Comprehensive Analysis of Body Mass Index Effect on in Vitro Fertilization Outcomes. *Nutrients*. 2016;8(3):109.
33. Amiri M, Ramezani TF. Potential Adverse Effects of Female and Male Obesity on Fertility: A narrative Review. *Int J Endocrinol Metab*. 2020;18(3):e101776.

# Control de riesgos en el laboratorio de reproducción asistida

Risk control in the assisted reproduction laboratory

Papayannis M., De Martino E., Filardi P., Chiarello M., Magri L., Soberón V., Oubiña G., Figueroa C., Lombardi C., De Zúñiga I., Oubiña AL., Kopcow L., Sobral F., Horton M., Bisioli C.

Pregna Medicina Reproductiva, Buenos Aires, Argentina

## RESUMEN

**Pregunta de estudio:** ¿Cuál es la frecuencia y tipo de eventos adversos en un laboratorio de FIV?

**Respuesta resumida:** Nuestros resultados proporcionan más información sobre el origen de los errores en los laboratorios de FIV, indicando que son poco frecuentes y se asocian principalmente a errores humanos y de comunicación. La coincidencia de nuestros datos con otros informes publicados sugiere que nuestros resultados podrían ser útiles para que otros embriólogos y médicos anticipen y minimicen los riesgos.

**Lo que ya se sabe:** Los errores forman parte de los efectos naturales secundarios de todas las actividades humanas. La complejidad de los laboratorios de reproducción asistida (RA) hace que ningún embriólogo, independientemente de sus capacidades, experiencia y calificaciones, esté exento de cometerlos.

**Diseño del estudio:** Descriptivo, retrospectivo, observacional.

**Materiales y Métodos:** Análisis retrospectivo de todos los eventos adversos

## ABSTRACT

**Study question:** *What is the frequency and type of adverse events in an IVF laboratory?*

**Summary answer:** *Our results provide more information on the origin of non-conformances in IVF laboratories, indicating that they are rare and are mainly associated with human and communication errors. The coincidence of our data with other published reports suggests that our results could be useful for other embryologists and clinicians to anticipate and minimize risks.*

**What is already known:** *Errors are part of the natural secondary effects of all human activities. The complexity of assisted reproduction (AR) laboratories means that no embryologist, regardless of his or her abilities, experience and qualifications, is exempt from committing them.*

**Study design:** *Descriptive, retrospective, observational.*

**Materials and Methods:** *Retrospective analysis of all adverse events in our database between January 2012 and December 2018. The 29,357 procedures*

en nuestra base de datos entre enero de 2012 y diciembre de 2018. Los 29.357 procedimientos realizados en este período comprendieron la extracción de ovocitos, transferencias de embriones frescos y congelados, vitrificaciones, estudios genéticos preimplantacionales y prácticas de andrología.

**Resultados:** Se documentaron 64 eventos adversos durante el período de estudio. El 99,78% de los procedimientos no presentaron eventos adversos. El 50,00 % (32/64) fueron errores mínimos, 18,75 % (12/64) moderados, 31,25 % (20/64) importantes, sin que se hayan ocurrido errores graves. Observamos que el 43,75 % (28/64) de los eventos adversos se debieron a errores humanos, 29,69 % (19/64) a problemas de comunicación, 15,63 % (10/64) a fallas en equipos o suministros, 7,81 % (5/64) a problemas o quejas de los pacientes y 3,13 % (2/64) fueron por motivos ajenos al laboratorio. El laboratorio de embriología fue el lugar donde ocurrieron el 53,13 % (34/64) de los errores, el 31,25% (20/64) tuvieron lugar en la unidad de criopreservación, el 12,50 % (8/64) en el sector de andrología, 1,56 % (1/64) en el laboratorio de PGT y 1,56 % (1/64) fueron externos al laboratorio.

**Limitaciones del estudio:** Análisis de eventos adversos en un solo Centro.

**Implicancias de los hallazgos:** A pesar de los complejos procedimientos que normalmente se realizan en un laboratorio de reproducción asistida (RA) y el énfasis puesto en las medidas de control de calidad, los informes y análisis de los errores en el entorno de la RA son escasos.

**Palabras clave:** control de calidad, gestión de riesgos, administración de personal, 37 reproducción asistida.

*performed in this period included oocyte retrieval, fresh and frozen embryo transfers, vitrifications, preimplantation genetic studies and andrology practices.*

**Main results:***The 29,357 procedures performed in this period included oocyte extraction, fresh and frozen embryo transfers, vitrifications, preimplantation genetic testing (PGT) and andrology practices. A total of 64 nonconformances were documented during the study period. 99.78% of procedures did not present non-conformances. When we analyzed them according to their impact, 50.00 % (32/64) were minimal errors, 18.75 % (12/64) moderate, 31.25 % (20/64) significant, without major errors having occurred. 43.75 % (28/64) of nonconformances were due to human error, 29.69 % (19/64) to communication problems, 15.63 % (10/64) to equipment or supplies failures, 7.81 % (5/64) to problems or complaints from patients and 3.13 % (2/64) were due to external factors. 53.13 % (34/64) of errors occurred in the embryology laboratory was, while 31.25% (20/64) took place in the cryopreservation unit, 12.50 % (8/64) in the andrology sector, 1.56 % (1/64) in the PGT laboratory and 1.56 % (1/64) were external to the laboratory.*

**Limitations:***Analysis of adverse events in a single Center.*

**Wider implications of the findings:***Despite the complex procedures typically performed in an assisted reproduction (AR) laboratory and the emphasis placed on quality control measures, reporting and analysis of errors in the AR environment is lacking on literature evidence.*

**Key words:** *control de calidad, gestión de riesgos, administración de personal, 37 reproducción asistida.*

## Introducción

Los errores forman parte de los efectos naturales secundarios de todas las actividades humanas. La complejidad de los laboratorios de reproducción asistida (RA) hace que ningún embriólogo, independientemente de sus capacidades, experiencia y calificaciones, esté exento de cometerlos. Nadie es ajeno al error y que éstos sucedan es sólo una cuestión de tiempo. Más aún, es bastante probable que el desencadenante de la falla vuelva a aparecer. Sería mejor que en este tipo de situaciones se tomen todas las precauciones disponibles para que la posibilidad de cometer errores disminuya, y que cuando inevitablemente sucedan sea por una razón de fuerza mayor y no debido a nuestra impericia.

Para minimizar las posibilidades de error es indispensable conocer y controlar los riesgos que puedan amenazar la seguridad de un laboratorio. Para hacerlo, autores y sociedades recomiendan seguir los siguientes pasos<sup>1,2</sup>:

1. Identificar los puntos débiles.
2. Responder a la pregunta ¿Qué puedo hacer para prevenir errores?
3. Responder a la pregunta ¿Qué voy a hacer si igualmente ocurren?

Los puntos débiles en el flujo de trabajo del laboratorio pueden identificarse al analizar los eventos adversos que suceden en él. Estos eventos adversos pueden ser clasificados para tratar de entender sus causas últimas, y así remontarnos a nuestro punto débil. Sakkas y col.<sup>3</sup> proponen las siguientes categorías de análisis para los errores en el laboratorio de RA:

1. Un error mínimo es aquel problema que no disminuye considerablemente la probabilidad de éxito de un ciclo de RA. Por ejemplo, un error al anotar el número de ovocitos capturados.
2. Un error moderado es aquel que afecta

de forma negativa a un ciclo de RA, pero no hasta el punto de que ese ciclo se pierda o se vea seriamente comprometido. Por ejemplo, una distracción que haga prolongar el tiempo de deshidratación durante una vitrificación.

3. Un error importante sucede cuando se pierde o se ve seriamente comprometido un ciclo o futuro ciclo de descongelación debido a la pérdida o incorrecta manipulación de la mayoría de los gametos o embriones, o cuando ocurre una desviación aislada pero significativa del protocolo, afectando a múltiples pacientes. Por ejemplo, una desnudación de cumulus con una pipeta inadecuada que provoca la lisis del 50% de los ovocitos.
4. Los errores graves son problemas sistémicos (es decir, que perturban a la totalidad del sistema) y que afectan de manera significativa a múltiples pacientes en un período de tiempo dado. Ejemplos: descongelación de todas las muestras conservadas en un tanque que ha perdido su contenido de nitrógeno líquido, confundir identidades de semen, ovocitos o embriones, transferencia de embriones equivocados, perder muestras del criobanco.

El Código de Prácticas y Directivas de la Autoridad en Fertilización y Embriología Humanas del Reino Unido<sup>4</sup> define seis áreas claves susceptibles de sufrir lo que esta oficina gubernamental denomina como “eventos adversos”:

1. Identificación incorrecta de gametos y embriones.
2. errores en los consentimientos.
3. Daño o pérdida de gametos y embriones.
4. Contaminación cruzada de gametos, embriones o pacientes.
5. Embarazo múltiple.

## 6. Información incorrecta o incompleta sobre donantes.

El área de criopreservación es especialmente sensible a errores<sup>5</sup>. Tomlinson<sup>6</sup> se dedicó especialmente a este tema, señalando que esta área presenta varios riesgos a considerar, principalmente los siguientes:

1. Daño al personal.
2. Pérdida de muestras.
3. Errores en la identidad de las muestras.
4. Descongelación prematura por errores de comunicación.
5. Transmisión de enfermedades infecciosas.

En el mismo trabajo se encuentra una tabla asignando valores arbitrarios para la gravedad de la consecuencia de los errores y para la probabilidad de que éstos ocurran (Tabla 1).

Multiplicando la gravedad de la consecuencia por la probabilidad de ocurrencia de la misma, Tomlinson construyó una escala numérica para indicar cuánto debemos preocuparnos por prevenir cada error, asignándoles un orden de prioridades. La consecuencia de una falla en los detectores de nivel de oxígeno ambiental puede conducir a un accidente fatal múltiple debido a muerte por asfixia (consecuencia de gravedad de valor 5), pero su probabilidad de ocurrencia es muy baja (valor 1). El daño por quemaduras con nitrógeno líquido sobre piel y ojos es un evento con

una consecuencia seria (consecuencia de gravedad de valor 2) y de alta probabilidad de ocurrencia (valor 4), por lo cual debería ser considerado con un grado mayor de cuidado y atención. Este sistema puede ser aplicado a otras áreas de trabajo dentro del laboratorio de reproducción asistida. Diferentes laboratorios se beneficiarían ampliamente tras realizar sus propias evaluaciones de posibles incidentes y sus probabilidades de ocurrencia. Conocer qué es lo que puede ir mal y qué es recomendable hacer para prevenirlo, son sinónimos. Tener un correcto registro de los accidentes, los errores, las fallas en la comunicación, las quejas, los eventos adversos y la ocurrencia de situaciones fuera de lo habitual puede resultar tedioso o parecer inútil, pero la recompensa de la perseverancia en anotar es aprender a evitar accidentes.

A pesar de los complejos procedimientos que normalmente se realizan en un laboratorio de RA y el énfasis puesto en las medidas de control de calidad, los informes y análisis de los errores en este contexto son llamativamente escasos<sup>7</sup>. Las instancias de incumplimiento a los protocolos de trabajo establecidos en una estructura sanitaria se denominan en inglés como “*non-conformances*”, “*nonfulfillments of a requirement*” o “*non-compliance to protocol*”. Estos términos indican, en resumidas cuentas, el momento en que se actuó

**Tabla 1.** Consecuencia y probabilidad de ocurrencia de los errores. Adaptado de Tomlinson y col. (2015)<sup>6</sup>

CONSECUENCIA		PROBABILIDAD	
Despreciable	0	Imposible	0
Menor	1	Raro	1
Serio	2	Improbable	2
Importante	3	Posible	3
Fatal	4	Probable	4
Fatal múltiple	5	Seguro	5

sin ajustarse al protocolo, lo cual condujo a cometer errores.

El objetivo del presente trabajo fue contabilizar y clasificar las instancias de incumplimiento a los protocolos de trabajo según su impacto, categoría y área de ocurrencia que se sucedieron en Pregna Medicina Reproductiva (PMA) (Buenos Aires, Argentina) en un periodo de tiempo.

### Materiales y métodos

En el año 2019 se analizaron en Pregna Medicina Reproductiva (PMR) todos los incumplimientos a los protocolos de trabajo que sucedieron entre enero de 2012 y diciembre de 2018. Se definió como “procedimientos” a las captaciones de ovocitos, las prácticas habituales de FIV, ICSI y cultivo embrionario, las transferencias de embriones frescos y descongelados, las vitrificaciones, las biopsias embrionarias para PGT y las prácticas del laboratorio de Andrología.

Los errores detectados fueron clasificados y registrados según 4 grados de impacto (mínimos, moderados, importantes y graves), 6 áreas de ocurrencia (comunicación, factores externos, instalaciones (edilicias), equipos y suministros, factor humano, problemas o quejas de pacientes) y 5 sectores de ocurrencia (laboratorios de embriología, criopreservación, andrología, genética -biopsias embrionarias para estudios genéticos preimplantatorios, PGT en su sigla en inglés- y por causas externas a nuestros laboratorios). Los grados de impacto y áreas de ocurrencia fueron utilizados siguiendo

el criterio establecido por Sakkas y col.<sup>7</sup>. No se tomaron datos referidos a los errores ocurridos en documentos y registros ni en los controles de calidad y estadística.

### Resultados

El resultado del análisis de nuestra base de datos indicó que en 7 años de trabajo se realizaron 29.357 procedimientos, durante los cuales se documentaron 64 eventos adversos. Al realizar el análisis según su impacto, se observó que el 50,00% de los eventos adversos fueron mínimos (32/64), el 18,75% (12/64) moderados y el 31,25% (20/64) importantes, sin reportarse errores graves (Tabla 2).

El 43,75% (28/64) de los eventos adversos reportados se debieron a errores humanos, un 29,69% (19/64) a problemas de comunicación, 15,63% (10/64) a fallas en equipos o suministros, 7,81% (5/64) a problemas o quejas de pacientes y 3,13% (2/64) a causas externas. No se informaron eventos adversos ocurridos en instalaciones, documentos y registros o controles de calidad (Tabla 3).

El laboratorio de embriología fue el sitio donde ocurrieron el 53,13% (34/64) de los errores, mientras que el 31,25% (20/64) de ellos ocurrieron en la unidad de criopreservación y almacenamiento de muestras, el 12,50% (8/64) en el sector de andrología, 1,56% en el laboratorio de PGT (1/64) y 1,56% (1/64) fueron externos (o sea, en otro laboratorio con alguna muestra biológica criopreservada enviada o recibida por PMR) (Tabla 4).

**Tabla 2.** Eventos adversos clasificados según su impacto.

Impacto	%	(N)
Mínimo	50,00	(32/64)
Moderado	18,75	(12/64)
Importante	31,25	(20/64)
Grave o severo	0	(0/64)

**Tabla 3.** Eventos adversos clasificados según su área de ocurrencia.

Categoría	%	(N)
Errores humanos	43,75	(28/64)
Problemas de comunicación	29,69	(19/64)
Fallas en equipos o suministros	15,63	(10/64)
Quejas de pacientes	7,81	(5/64)
Causas externas	3,13	(2/64)
Problemas en las instalaciones	0	(0/64)

**Tabla 4.** Errores según el sector de ocurrencia.

Sector donde ocurrió el error	%	(N)
Embriología	53,13	(34/64)
Criopreservación	31,25	(20/64)
Andrología	12,50	(8/64)
PGT	1,56	(1/64)
Externo	1,56	(1/64)

Si se consideran sólo los errores moderados e importantes, la tasa de incumplimientos fue de 1 por cada 917 procedimientos (0,11%) y de 1 de por cada 399 ciclos (0,25%) (siendo “ciclos” las recuperaciones de ovocitos y las transferencias de embriones congelados). Esto significa que en el 99,89 % de los procedimientos y en el 99,75% de los ciclos en que se intervino, no se cometieron errores.

## Discusión

Al igual que lo observado en otros campos de la medicina o en otras actividades humanas tales como la aviación comercial, los pocos informes en RA con que contamos indican que la mayoría de los errores son de origen humano y de comunicación. Cabe destacar que se han escrito numerosos libros, artículos de revisión y editoriales sobre cómo ordenar el trabajo en un laboratorio minimizando las probabilidades de caer en errores. No obstante, es sorprendente la escasez de artículos publicados que presenten tasas de ocurrencia de incumplimiento a los protocolos de

trabajo en ambientes clínicos reales. Más de estos informes serían beneficiosos para el campo de la RA en su conjunto. Compartir y discutir dificultades encontradas en la organización y ejecución del trabajo diario es una herramienta fundamental para aumentar la eficiencia y eficacia del laboratorio. Adicionalmente, sin estudios como el presente, que compilen la tasa de incumplimientos sobre un gran número de procedimientos, un director de laboratorio puede encontrarse en la extraña situación de no saber si está operando dentro de parámetros de ocurrencia de errores aceptables. Los resultados de este estudio retrospectivo de 7 años de monitoreo de incumplimientos a los protocolos de trabajo en el centro PMR reveló una tasa de incumplimientos de 1 por cada 917 procedimientos (0,11%) y de 1 de por cada 399 ciclos (0,25%) (siendo “ciclos” las recuperaciones de ovocitos y las transferencias de embriones congelados). La coincidencia con otros informes publicados sugiere que esta información podría ser útil para otros laboratorios con el fin de anticipar y

minimizar los riesgos. Sakkas y col.<sup>3</sup> reportaron que en Boston IVF el porcentaje de veces que se actuó conforme al protocolo (sin cometer errores) durante 12 años de trabajo fue del 99,96% y 99,77% respectivamente. Sin embargo, se debe ser prudente al extrapolar estos resultados debido a los diferentes ambientes, sistemas de cultivo y clasificaciones de errores en uso.

Con la mejora del programa de control de calidad en PMR la documentación de errores ha logrado ser más precisa a lo largo de los años. Los resultados obtenidos proporcionaron más información sobre el origen de los errores. El 43,75% (28/64) de los eventos adversos reportados se debieron a errores humanos, un 29,69% (19/64) a problemas de comunicación, 15,63% (10/64) a fallas en equipos o suministros, 7,81% (5/64) a problemas o quejas de pacientes y 3,13% (2/64) a causas externas. Que la mayoría de los errores sean de origen humano o de comunicación nos enseña, entre otras cosas, que es importante pensar antes de actuar. Nada peor que los comportamientos automatizados para conducir al error<sup>8</sup>. Hay que saber detenerse y tomarse un instante para pensar en lo que se va a hacer (lo que en inglés denominan “time outs” y en el fútbol “parar la pelota”). Es fundamental confirmar siempre en presencia de un testigo las identificaciones únicas (y en lo posible triples) de cada paciente (nombre, fecha de nacimiento, número de documento de identidad) y el tipo de procedimiento que se va a realizar, antes de llevarlo a cabo. Esta confirmación debe repetirse con los pacientes antes de las captaciones ovocitarias y las transferencias embrionarias. Al final del día hay que verificar si se cumplieron todas las tareas programadas y si el laboratorio está correctamente preparado para el día

siguiente. Nada es tan eficaz como la atención, la concentración y la responsabilidad del embriólogo<sup>9</sup>.

A menudo los errores ocurren porque el embriólogo es interrumpido mientras realiza una tarea. Por lo tanto, las siguientes deben convertirse en reglas de oro: 1. No distraerse (ni ser distraído). 2. No permitir interrupciones en el laboratorio. 3. Realizar un doble chequeo antes de descartar cápsulas de cultivo embrionario. 4. Establecer una firma de cierre para cada procedimiento.

Hay dos cosas que un Programa Integral de Control de Riesgos en RA no es capaz de detectar. La primera es obvia: las acciones no documentadas. La segunda depende de la ética de los embriólogos: los comportamientos inescrupulosos o ajenos a la responsabilidad profesional<sup>10,11</sup>.

Una de las preguntas que surgen durante este tipo de cacería de errores es “si son inevitables, ¿qué voy a hacer cuando ocurren?”. En principio, hay que saber advertir que hay un problema. En segundo lugar, no negarlo ni ocultarlo, sino admitirlo e informarlo. Descubrir que hay un problema parece una tontería, pero no lo es.

“Panchindrya” es una palabra hindú que podría traducirse como “evaluación sensorial”. El tacto, la vista, el olfato y el oído pueden aún ser utilizados para saber si una platina está recalentando, si hay bacterias en una placa de cultivo, si alguien ha entrado al laboratorio con perfumes o si una campana de flujo laminar está funcionando incorrectamente. Si el problema persiste y su origen no es evidente con la información que está a nuestro alcance inmediato, habrá que buscar la raíz del inconveniente mediante un proceso de identificación y resolución de problemas, lo que en inglés se denomina como *troubleshooting*, es decir: apuntar y disparar al origen del error.

El primer paso del *troubleshooting* es definir el área involucrada. En este estudio el laboratorio de embriología fue el sitio donde ocurrieron el 53,13% (34/64) de los errores, mientras que el 31,25% (20/64) de ellos ocurrieron en la unidad de criopreservación y almacenamiento de muestras, el 12,50% (8/64) en el sector de andrología, 1,56 % en el laboratorio de PGT (1/64) y 1,56% (1/64) fueron externos. El siguiente paso del *troubleshooting* es recolectar información y tratar de interpretarla para así poder cercar y definir mejor el problema. Luego lo ideal sería poder diseñar un experimento que permitiese encontrar dónde se originó el problema. El proceso, en resumidas cuentas, consiste en<sup>12</sup>:

1. Descubrir que hay un problema.
2. Recolectar información.
3. Analizar esos datos.
4. Definir el problema.
5. Diseñar un experimento.
6. Recolectar datos.
7. Identificar la raíz del problema.
8. Diseñar una acción correctiva.
9. Compartir la experiencia con el equipo y, de ser necesario, realizar una capacitación al staff haciendo hincapié en el área problemática.

El ya citado trabajo de Tomlinson no es otra cosa que la aplicación en un área de la RA de un método que se usa fuera de la medicina para la mejora de procesos industriales o comerciales. El “Análisis en modo de fallos y sus efectos” (en inglés, *Failure Mode and Effects Analysis*) es una suerte de *troubleshooting* “proactivo”, que consiste en identificar los procesos que están más sujetos a error y asignarles un número de prioridad de atención. Recientemente este método ha tomado un nuevo impulso para ayudar a decidir cuáles son las áreas más proclives a sufrir eventos adversos. Varios grupos de trabajo están usando esta información para definir dónde sería más beneficioso implementar nuevos sistemas de testigos electrónicos<sup>12-16</sup>.

Mortimer y col. (2015)<sup>2</sup> nos dicen que asumir que “seguridad” significa “sin riesgo” es incorrecto y una situación que no existe en la vida diaria de un embriólogo de RA, y que una definición más realista es la que menciona la norma ISO 14971 para la seguridad de los productos sanitarios: “libre de riesgos inaceptables”. Repitiendo una verdad de Perogrullo pero que sin embargo es a menudo torpemente olvidada: es mejor estar seguro de antemano que lamentarse después.

## REFERENCIAS

1. ASRM. Guidelines for development of an emergency plan for IVF programs. *Fertil Steril* 2008; 90:S131.
2. Mortimer ST, Mortimer D. *Quality and Risk Management in the IVF Lab*. 2nd ed. Cambridge University Press, 2015.
3. Sakkas D, Barrett CB, Alper MM. Types and frequency of non-conformances in an IVF laboratory. *Hum Reprod* 2018; 33:1-9.
4. HFEA. Code of Practice and Directions 2020; <https://www.hfea.gov.uk/about-us/news-and-press-releases/2019-news-and-press-releases/new-version-of-the-code-of-practice-has-been-launched/>
5. Schiwe MC, Freeman M, Whitney JB, Vermilyea MD, Jones A, Aguirre M, Leisinger C, Adaniya G, Synder N, Chilton R, Behnke EJ. Comprehensive assessment of cryogenic storage risk and quality management concerns: best practice guidelines for ART labs. *J Assist Reprod Genet* 2019; 36:5-14.
6. Tomlinson M. Managing risk associated with cryopreservation. *Hum Reprod* 2005; 20:1751-6.
7. Sakkas D, Pool TB, Barrett CB. Analyzing IVF laboratory error rates: highlight or hide? *Reprod Biomed Online* 2015; 31:447-8.
8. Gawande A. *The Checklist Manifesto*. Picador Eds, New York, 2009.
9. Wiemer K, Kelk D. Before things go wrong: Minimizing Drama in the Embryo Lab. ASRM Interactive Session, 72nd Annual Meeting of the American Society for Reproductive Medicine. Salt Lake City, UT, USA, October 15-19, 2016.
10. Bender L. To Err is Human: ART Mix-Ups. A Labor-Based, Relational Proposal. *Iowa Journal of Race, Gender & Justice* 2006; 9(3).
11. Harper JC, Kennett D, Reisel D. The end of donor anonymity: how genetic testing is likely to drive anonymous gamete donation out of business. *Hum Reprod* 2016; 31:1135-40.
12. Elder K, Van der Bergh M, Woodward B. *Troubleshooting and Problem-Solving in the IVF Lab*. Cambridge University Press, 2015.
13. Rienzi L, Bariani F, Della Zorza M, Romano S, Scarica C, Maggiulli R, Nanni Costa A, Ubaldi FM. Failure mode and effects analysis of witnessing protocols for ensuring traceability during IVF. *Reprod Biomed Online* 2015; 31:516-22.
14. Rienzi L, Bariani F, Dalla Zorza M, Albani E, Benini F, Chamayou S, Minasi MG, Parmegiani L, Restelli L, Vizziello G, Nanni Costa A, and on behalf of the Italian Society of embryology, Reproduction and Research (SIERR), Italy. Comprehensive protocol of traceability during IVF: the result of a multicentre failure mode and effect analysis. *Hum Reprod* 2017; 32:1612-20.
15. Chamayou S, Ragolia C, Guglielmino A. Traceability in IVF depends on each of us. *Current Trends in Clinical Embryology* 2017; 4:1-7.
16. Cimadomo D, Ubaldi FM, Capalbo A, Maggiulli R, Scarica C, Romano S, Poggiana C, Zuccarello D, Giancani A, Vaiarelli A, Rienzi L. Failure mode and effects analysis of witnessing protocols for ensuring traceability during PGD/PGS cycles. *Reprod Biomed Online* 2016; 33:360-9.

# 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<sup>1,2</sup>. 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 biológico<sup>3</sup>.

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 O<sub>2</sub> o CO<sub>2</sub> (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 funcionamiento<sup>5</sup>. 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 pCO<sub>2</sub> estable para equilibrar el pH del medio tamponado con bicarbonato y una pO<sub>2</sub> 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 embriones<sup>5</sup>.

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 gas<sup>4</sup>.

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<sup>8,9</sup>. 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<sup>6,7</sup>.

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<sup>10,11</sup>. 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

# Experiencia latinoamericana de tratamiento con folitropina delta

Follitropin delta: first Latin America experience

De Zuñiga I.<sup>1</sup>, Rossi L.<sup>2</sup>, Sanhueza C<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> PREGNA, Buenos Aires.

<sup>2</sup> Ferring Pharmaceuticals, SOLA Cluster, Buenos Aires.

## RESUMEN

**Pregunta de estudio:** ¿Cuál es la efectividad de la folitropina delta en el ámbito de la reproducción asistida en el mundo real en América Latina?

**Respuesta resumida:** la folitropina delta permite lograr resultados preliminares semejantes a los obtenidos en los ensayos clínicos.

**Lo que ya se sabe:** la folitropina delta es un tratamiento eficaz en comparación con otras gonadotropinas en estudios controlados y aleatorizados.

**Diseño del estudio:** retrospectivo, observacional, multicéntrico.

**Materiales y métodos:** se reunieron datos demográficos, de métodos complementarios y de resultados de mujeres que recibieron folitropina delta como monoterapia o en asociación con menotropina altamente purificada en 16 centros de reproducción asistida en Argentina y Colombia.

**Resultados:** participaron 58 mujeres

## ABSTRACT

**Study question:** *What is the effectiveness of follitropin delta in real-world assisted reproduction in Latin America?*

**Summary answer:** *Follitropin delta allows achieving preliminary results similar to those obtained in clinical trials.*

**What is already known:** *Follitropin delta is an effective treatment compared to other gonadotropins in randomized controlled studies.*

**Study design:** *Retrospective, observational, multicenter.*

**Materials and methods:** *Demographic, complementary methods and outcome data were collected from women who received follitropin delta as monotherapy or in association with highly purified menotropin in 16 assisted reproduction centers in Argentina and Colombia.*

**Main results:** *58 women participated (mean age: 33.4 years, with heterogeneous distribution of associated risk factors for*

(media de edad: 33,4 años, con distribución heterogénea de los factores de riesgo asociados para infertilidad). El tratamiento se asoció con la recuperación de un promedio de  $10,4 \pm 7,8$  ovocitos por cada mujer, con una elevada proporción de ovocitos MII. Se identificaron diferencias en la respuesta en función de la edad y el nivel basal de hormona antimülleriana.

**Limitaciones del estudio:** diseño retrospectivo, tamaño de la muestra.

**Implicancias de los hallazgos:** el uso de follitropina delta es efectivo y podría personalizarse según las características de cada mujer.

**Palabras clave:** Reproducción asistida; follitropina delta; hormona antimülleriana

*infertility). Treatment was associated with the recovery of an average  $10.4 \pm 7.8$  oocytes per woman, with a high proportion of MII oocytes. Differences in response were identified as a function of age and baseline antimüllerian hormone level.*

**Limitations:** Retrospective design, sample size.

**Wider implications of the findings:** The use of follitropin delta is effective and could be personalized according to the characteristics of each woman.

**Key words:** Assisted reproduction; follitropin delta; antimüllerian hormone

## Introducción

La respuesta ovárica a la estimulación con gonadotropinas exógenas es un factor fundamental para el éxito de los procedimientos de fertilización asistida<sup>1,2</sup>. No obstante, la estandarización de una dosis segura y eficaz puede resultar difícil, dadas las diferencias en la respuesta individual de cada mujer a una misma dosis de gonadotropinas<sup>2</sup>. Asimismo, ciertas características como la edad, el recuento de folículos antrales (RFA) y los niveles de hormona foliculoestimulante (FSH), tienen una asociación inconsistente con la respuesta ovárica a las gonadotropinas<sup>2</sup>.

La folitropina delta es una nueva FSH recombinante que se expresa en una línea celular de retina fetal humana; su principal diferencia con la folitropina alfa reside en el perfil de glicosilación<sup>3</sup>. Como consecuencia, la folitropina delta se caracteriza por una mayor exposición, con menor aclaramiento sérico y una mayor respuesta ovárica en comparación con la folitropina alfa cuando se emplea en dosis equivalentes de actividad biológica<sup>4</sup>. Asimismo, en un análisis post hoc de los datos de dos estudios controlados y aleatorizados, se ha descrito que una dosis diaria de 10 µg de folitropina delta se asocia con una respuesta ovárica similar a la observada con el uso de 150 unidades internacionales (UI)/día de folitropina alfa<sup>5</sup>. Se postula que la dosificación puede individualizarse en función del peso y los niveles basales de hormona antimülleriana (HAM) de cada mujer.

El objetivo de nuestro trabajo es describir la experiencia inicial de tratamiento con folitropina delta en 16 centros especializados de América Latina.

## Materiales y métodos

### Diseño del estudio

Se presentan los resultados retrospectivos de una experiencia pionera de tratamiento

con folitropina delta en la cual participaron 11 centros de Argentina y 5 centros de Colombia. Se incluyeron datos de mujeres de 18 a 45 años, sometidas a su primer ciclo de fertilización in vitro/inyección intracitoplasmática de espermatozoides, con infertilidad por factor tubárico, endometriosis grado I/II, factor masculino o inexplicada. Se permitió también la participación de mujeres con intenciones de ovodonación o criopreservación. Se excluyeron aquellas con antecedentes de abortos a repetición. Se consideró la participación de hasta cinco pacientes por centro y que estas consintieran el uso de los datos obtenidos para ser presentados en la investigación. Los datos de los centros argentinos se recolectaron entre agosto y octubre de 2021; los datos de los centros colombianos se reunieron entre marzo y mayo de 2022.

El tratamiento sugerido consistía en la indicación de folitropina delta, ya sea como monoterapia o bien en asociación con menotropina altamente purificada, de acuerdo con los protocolos implementados en cada uno de los centros. La dosificación se estableció en función de la calculadora de dosis de folitropina delta que considera el peso y el nivel de HAM. Se reunieron los datos demográficos, bioquímicos (niveles hormonales), de estudios complementarios por imágenes (RFA) y relacionados con el tratamiento: dosis de folitropina delta y menotropina altamente purificada, número de ovocitos (totales, maduración II [MII], a fertilizar, fertilizados) y recuento de embriones.

### Aspectos éticos

Todas las mujeres que participaron firmaron un consentimiento informado. Dada la naturaleza retrospectiva y descriptiva del estudio, no se requirió la aproba-

ción de los comités de ética locales para cada institución.

### Análisis estadístico

Los datos reunidos fueron anonimizados y se llevó a cabo un análisis descriptivo. Dada la naturaleza descriptiva del estudio, no se procedió a un cálculo basal del tamaño de la muestra. Las variables numéricas se caracterizaron según el patrón de distribución mediante media  $\pm$  desviación estándar o mediana y rango. Se efectuó además un análisis comparativo en subgrupos definidos por la edad (hasta 36 años vs. 37 años o más) y el nivel de HAM (hasta 2,1 ng/ml vs.  $\geq$ 2,1 ng/ml). Las comparaciones se efectuaron por medio de la prueba T de Student o la prueba U de Mann-Whitney, según la distribución de cada variable. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa Stata 12.0 (StataCorp, Texas). y se definió como significativo un valor de  $p < 0,05$ .

### Resultados

Un total de 64 mujeres fueron enroladas en los 16 centros participantes, de las cua-

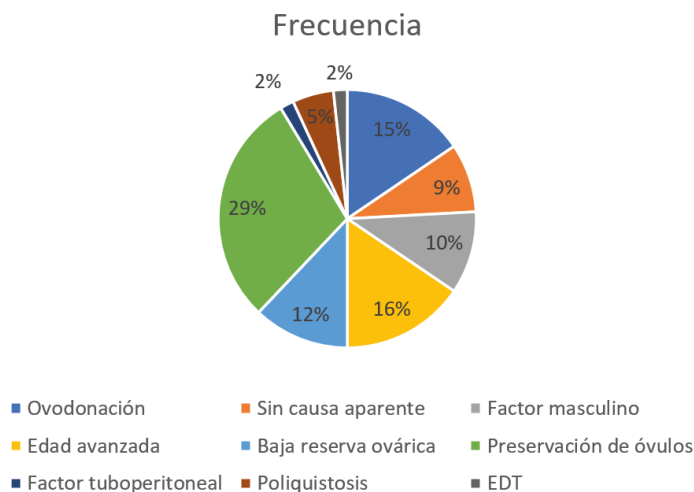
les 58 (90,62 %) recibieron el tratamiento de estimulación. Se efectuaron punciones para recuperación de óvulos en las 58 mujeres. El promedio de edad fue de  $33,4 \pm 5,7$  años (rango: 19 a 41); el 60,34 % ( $n = 35$ ) tenía hasta 36 años. El promedio del peso fue de  $61,8 \pm 10,4$  kg (rango: 42 a 94). Los factores de riesgo para infertilidad se resumen en la Figura 1. El promedio de la determinación basal de HAM fue de  $2,4 \pm 1,9$  pg/ml (rango: 0,3 a 8,7).

La dosis diaria de folitropina delta fue de  $10,3 \pm 2,1$   $\mu$ g (rango: 5 a 12), con una dosis total de  $97,9 \pm 33,4$   $\mu$ g (rango: 50 a 156). En el 81,03 % de las mujeres ( $n = 47/58$ ), se indicó en asociación con menopausia altamente purificada (dosis diaria:  $129,4 \pm 76,6$  UI, rango: 75 a 375; dosis total:  $997,3 \pm 590,5$  UI, rango: 750 a 2400).

En promedio, se recuperaron  $10,4 \pm 7,8$  ovocitos por paciente (rango: 2 a 39), con una media de  $8,4 \pm 6,8$  ovocitos MII (rango: 2 a 33). Los resultados del tratamiento se detallan en la Tabla 1.

Cuando se compararon las características del tratamiento entre las mujeres de hasta 36 años con aquellas  $\geq 37$  años, se

**Figura 1.** Factores de riesgo asociados con infertilidad ( $n = 58$ )



reconoció en las de menor edad un número significativamente mayor de RFA ( $p < 0,01$ ), así como el uso de una dosis diaria significativamente menor de folitropina delta ( $p = 0,03$ ). El número de ovocitos fertilizados fue significativamente mayor en el subgrupo de mujeres de menor edad ( $p = 0,03$ ). Los resultados totales se describen en la Tabla 2.

En la comparación de los subgrupos definidos a partir de los niveles de HAM,

las mujeres con una concentración plasmática inferior a 2,1 ng/ml se caracterizaron por su menor edad, un menor RFA y el uso de una dosis diaria y total más elevada de folitropina delta ( $p < 0,01$  para todas las comparaciones). Los resultados completos se describen en la Tabla 3.

Dada la pequeña muestra de mujeres que concurren específicamente para ovodonación ( $n = 9$ ), no se efectuó un análisis diferenciado de dicho subgrupo.

**Tabla 1.** Resultados del tratamiento

Parámetro	Mujeres, n (%)	Promedio $\pm$ DE	Rango
Ovocitos (recuento)	58 (100 %)	10,4 $\pm$ 7,8	2-39
Ovocitos MII (recuento)	57 (98,27 %)	8,4 $\pm$ 6,8	2-33
Tasa de ovocitos MII (%)	57 (98,27 %)	77,3 $\pm$ 25,1	30-100
Ovocitos a fertilizar (recuento)	32 (55,17 %)	8,4 $\pm$ 6,8	2-33
Ovocitos fertilizados (recuento)	32 (55,17 %)	6,5 $\pm$ 4,2	0-18
Tasa de fertilización (%)	32 (55,17 %)	80,5 $\pm$ 24,0	0-100
Embriones transferidos en total (recuento)	19 (32,76 %)	1,5 $\pm$ 1	1-2
Embriones criopreservados (recuento)	27 (46,55 %)	4,4 $\pm$ 3,8	0-19

**Tabla 2.** Comparación entre las pacientes según el grupo etario

	Mujeres $\leq 36$ años (n = 35)	Mujeres $\geq 37$ años (n = 23)	Valor de p
Edad, años	30,3 $\pm$ 5,3	38,3 $\pm$ 1,2	< 0,01
Peso, kg	60,9 $\pm$ 7,3	63,3 $\pm$ 14	0,4
HAM, pg/ml	2,8 $\pm$ 2,1	1,8 $\pm$ 1,6	0,06
RFA	14,7 $\pm$ 8,1	9,2 $\pm$ 4,2	< 0,01
Dosis de folitropina delta*			
Diaria	9,8 $\pm$ 2,2	11,0 $\pm$ 1,7	0,03
Total	96,4 $\pm$ 29,5	121,5 $\pm$ 70,6	0,6
Dosis de menotropina (UI)*			
Diaria	121,5 $\pm$ 70,6	139,8 $\pm$ 84,4	0,3
Total	928,8 $\pm$ 575,9	1082,1 $\pm$ 611,4	0,4
Días de estímulo †	10,2 $\pm$ 1,5	9,6 $\pm$ 1,6	0,6
Ovocitos			
Totales†	11,5 $\pm$ 8,6	8,9 $\pm$ 6,4	0,2
MII†	9,3 $\pm$ 7,6	7,2 $\pm$ 4,9	0,3
A fertilizar‡	10,2 $\pm$ 7,9	5,4 $\pm$ 2,5	0,05
Fertilizados‡	7,6 $\pm$ 4,5	4,5 $\pm$ 2,7	0,03
Tasa de fertilización	82,1 $\pm$ 26,7	77,7 $\pm$ 19,5	0,6

Todos los valores corresponden a la media  $\pm$  desviación estándar, \* n = 29; † n = 35; ‡ n = 20

**Tabla 3.** Comparación entre las pacientes según el nivel de HAM

	HAM $\leq 2,1$ ng/ ml (n = 29)	HAM $> 2,1$ ng/ ml (n = 29)	Valor de p
Edad, años	35,9 $\pm$ 3,5	30,9 $\pm$ 6,4	<0,01
Peso, kg	63,5 $\pm$ 12,1	60,2 $\pm$ 8,4	0,2
RFA	7,8 $\pm$ 3,1	17,1 $\pm$ 7,4	<0,01
Dosis de folitropina delta			
Diaria	11,8 $\pm$ 0,5	8,7 $\pm$ 1,9	<0,01
Total	112,5 $\pm$ 28,6	83,3 $\pm$ 31,9	<0,01
Dosis de menotropina (UI)*			
Diaria	136,1 $\pm$ 77,9	121,8 $\pm$ 76,0	0,4
Total	1075 $\pm$ 469,5	916,3 $\pm$ 696,3	0,5
Días de estímulo	9,8 $\pm$ 1,7	10,1 $\pm$ 1,4	0,08
Ovocitos			
Totales	7,7 $\pm$ 5,5	13,2 $\pm$ 8,8	<0,01
MII	5,5 $\pm$ 3,8	11,3 $\pm$ 7,7	<0,01
A fertilizar <sup>†</sup>	5,3 $\pm$ 2,6	10,2 $\pm$ 7,9	0,04
Fertilizados <sup>†</sup>	4,4 $\pm$ 2,9	7,7 $\pm$ 4,3	0,02
Tasa de fertilización <sup>†</sup>	74,7 $\pm$ 29,8	83,3 $\pm$ 19,8	0,3

Todos los valores corresponden a la media  $\pm$  desviación estándar

\* n = 24; † n = 12 y n = 20 para los respectivos subgrupos

## Discusión

En esta experiencia pionera multicéntrica, internacional y del mundo real, el tratamiento con folitropina delta como monoterapia o en asociación con menotropina se relacionó con la recuperación de un promedio de  $10,4 \pm 7,8$  ovocitos por cada mujer, con una elevada proporción de ovocitos MII. Estos resultados se lograron en una población con una media de edad de 33,4 años y con diversos factores de riesgo asociados para infertilidad.

Las mujeres participantes de nuestro estudio retrospectivo presentaban un grupo etario medio, una distribución por edades y un peso corporal comparables a los descritos en el estudio ESTHER-1<sup>6</sup>. Si bien los criterios principales de valoración en dicho estudio eran diferentes (tasa de embarazo e implantación), se destaca que el número de ovocitos recuperados fue comparable al logrado en nuestro análisis de la vida real ( $10 \pm 5,6$  ovocitos en el estudio

ESTHER-1 y  $10,4 \pm 7,8$  en el presente ensayo).

Por otra parte, en las mujeres de hasta 36 años que participaron del estudio, la dosis diaria administrada de folitropina delta fue significativamente menor en comparación con aquellas de mayor edad, pese a lo cual se alcanzó un mayor RFA. Estos resultados son consistentes con la literatura disponible<sup>7</sup> y, al igual que las diferencias observadas en función de los valores de HAM, parecen ratificar en el mundo real los datos reunidos en ensayos clínicos, en los que se propone una individualización del esquema de tratamiento para cada mujer<sup>6,8</sup>.

Se reconocen algunas limitaciones de nuestro estudio, que incluyen su diseño retrospectivo, la reducida cantidad de participantes y la falta de datos iniciales sobre la posterior evolución de los embarazos. No obstante, se distinguen también algunas fortalezas, entre las que sobresalen su carácter multicéntrico, la heterogeneidad

de los factores de riesgo para infertilidad, la reducida tasa de datos perdidos y su condición de estudio pionero para la región.

Concluimos que el uso de folitropina delta es un recurso eficiente en el ámbito de la reproducción asistida, con resultados comparables a los descritos en los ensayos clínicos. Se requiere mayor investigación en cohortes más numerosas para confirmar estos resultados.

## REFERENCIAS

1. Sunkara SK, Rittenberg V, Raine-Fenning N, Bhattacharya S, Zamora J, Coomarasamy A. Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment cycles. *Hum Reprod.* 2011;26(7):1768-74.
2. Bissonnette F, Minano Masip J, Kadoch IJ, Librach C, Sampalis J, Yuzpe A. Individualized ovarian stimulation for in vitro fertilization: a multicenter, open label, exploratory study with a mixed protocol of follitropin delta and highly purified human menopausal gonadotropin. *Fertil Steril.* 2021;115(4):991-1000.
3. Olsson H, Sandström R, Grundemar L. Different pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of recombinant follicle-stimulating hormone (rFSH) derived from a human cell line compared with rFSH from a non-human cell line. *J Clin Pharmacol.* 2014 ;54(11):1299-1307.
4. Koechling W, Plaksin D, Croston GE, Jepsen JV, Macklon KT, Andersen CY. Comparative pharmacology of a new recombinant FSH expressed by a human cell line. *Endocr Connect.* 2017 ;6(5):297-305.

## Agradecimientos

Se agradece a los directores y al equipo médico de los centros participantes de Argentina (CEGYR, CIGOR, CIMER, Fertilis, FERTYA, GAMMA, Halitus, PROAR, PROCREARTE y WeFIV) y Colombia (IMBANACO, INSER Bogotá, INSER Medellín, PROCREAR y Reptotec).

5. Arce JC, Larsson P, García-Velasco JA. Establishing the follitropin delta dose that provides a comparable ovarian response to 150 IU/day follitropin alfa. *Reprod Biomed Online.* 2020; 41(4):616-622.
6. Nyboe Andersen A, Nelson SM, Fauser BC, García-Velasco JA, Klein BM, Arce JC; ESTHER-1 study group. Individualized versus conventional ovarian stimulation for in vitro fertilization: a multicenter, randomized, controlled, assessor-blinded, phase 3 noninferiority trial. *Fertil Steril.* 2017;107(2):387-396.e4.
7. Doroftei B, Ilie OD, Anton N, Marcu OA, Scripcariu IS, Ilea C. A Narrative Review Discussing the Efficiency of Personalized Dosing Algorithm of Follitropin Delta for Ovarian Stimulation and the Reproductive and Clinical Outcomes. *Diagnostics (Basel).* 2023; 13(2):177.
8. Qiao J, Zhang Y, Liang X, et al. A randomised controlled trial to clinically validate follitropin delta in its individualised dosing regimen for ovarian stimulation in Asian IVF/ICSI patients. *Hum Reprod.* 2021;36(9):2452-2462.

# Cultivo de tejido ovárico para el desarrollo folicular *in vitro*: futura estrategia de restauración de la fertilidad

Ovarian tissue culture for follicular development in vitro: future fertility restoration strategy

Vitale F.

Médico Ginecólogo-Obstetra. Polo de investigación en Ginecología, Universidad Católica de Lovaina, Bruselas, Bélgica.

## RESUMEN

**Pregunta de estudio:** ¿Es posible la restauración de la fertilidad mediante el desarrollo folicular *in vitro* de folículos primordiales (FPs) contenidos en corteza ovárica criopreservada, en pacientes con contraindicaciones para el autotrasplante de tejido ovárico?

**Respuesta resumida:** La técnica de desarrollo folicular *in vitro* a partir de tejido ovárico criopreservado se presenta como una estrategia prometedora, todavía en estado experimental, para este tipo de pacientes. Aunque todavía enfrenta desafíos, como la baja tasa de viabilidad folicular y la pobre eficiencia de la técnica, su potencial para generar ovocitos maduros ha sido demostrado, siendo necesario optimizar las condiciones de cultivo.

**Lo que se sabe:** Los tratamientos antineoplásicos en niñas prepuberales y mujeres de edad fértil causan daño gonadal, generando una disminución en la fertilidad. La criopreservación y el autotrasplante de tejido ovárico son la única opción de preservación de la fertilidad disponible en niñas prepuberales y pacientes que no pueden retrasar el inicio del tratamiento. Sin embargo, en algunos tipos de cáncer

## ABSTRACT

**Study question:** *Is fertility restoration possible through in vitro follicle development of primordial follicles (PFs) contained in cryopreserved ovarian cortex in patients with contraindications for ovarian tissue autotransplantation?*

**Summary answer:** *The in vitro follicle development technique from cryopreserved ovarian tissue emerges as a promising, still experimental, strategy for such patients. Although it still faces challenges, such as a low follicle viability rate and poor technique efficiency, its potential to generate mature oocytes has been demonstrated, requiring the optimization of culture conditions.*

**What is already known:** *Antineoplastic treatments in prepubertal girls and childbearing-aged women cause gonadal damage, resulting in decreased fertility. Cryopreservation and autotransplantation of ovarian tissue are the only available fertility preservation options for prepubertal girls and patients who cannot delay treatment initiation. However, in certain cancer types like leukemia and Burkitt lymphoma, there is a risk of reintroducing hidden malignant*

hematológicos como leucemia y linfoma de Burkitt, existe la posibilidad de reintroducir células malignas ocultas en el tejido ovárico trasplantado. Esta clase de pacientes podrían beneficiarse con la técnica de desarrollo folicular *in vitro* de folículos. Esta técnica, todavía en estado experimental, consiste en el crecimiento *in vitro* de folículos primordiales (FP) contenidos en la corteza ovárica, hasta alcanzar folículos maduros con ovocitos en estadio de metafase II (MII).

**Diseño del estudio:** El artículo presenta una revisión narrativa que recopila información sobre la foliculogénesis, las vías de señalización involucradas, diversos sistemas de cultivo *in vitro*, estrategias de optimización de la activación folicular *in vitro*, y direcciones futuras de investigación para mejorar la técnica.

**Resultados:** Si bien ya se ha demostrado que la técnica es factible en tejido humano, todavía existen limitaciones como la baja viabilidad folicular y la pobre eficiencia de la técnica. Todavía se necesitan nuevos estudios para optimizar las condiciones de cultivo y mejorar la tasa de éxito de esta técnica. Con una optimización y un perfeccionamiento continuo, el desarrollo folicular *in vitro* podría eventualmente ofrecer una valiosa opción de restauración de la fertilidad en el entorno clínico.

**Limitaciones del estudio:** Aunque la técnica de desarrollo folicular *in vitro* muestra potencial, todavía presenta desafíos como la activación no controlada de folículos, la eficiencia limitada, y la falta de evaluación a largo plazo en la estabilidad genética ovocitaria y descendencia futura.

**Palabras clave:** Foliculogénesis, desarrollo folicular *in vitro*, preservación de la fertilidad, tejido ovárico criopreservado, activación folicular, cultivo *in vitro*.

*cells into transplanted ovarian tissue. Patients in this category could benefit from the in vitro follicle development technique. This experimental procedure involves the in vitro growth of primordial follicles (PF) contained in the ovarian cortex, progressing to mature follicles with metaphase II (MII) oocytes.*

**Study Design:** *The article presents a narrative review that compiles information on folliculogenesis, involved signaling pathways, various in vitro culture systems, strategies for optimizing in vitro follicle activation, and future research directions to enhance the technique.*

**Main results:** *While the feasibility of the technique in human tissue has been demonstrated, limitations such as low follicle viability and poor technique efficiency persist. Further studies are needed to optimize culture conditions and improve the success rate of this approach. With ongoing optimization and continuous refinement, in vitro follicle development could eventually offer a valuable fertility restoration option in the clinical setting.*

**Limitations:** *Although the in vitro follicle development technique shows great potential, it still presents challenges such as uncontrolled follicle activation, limited efficiency, and a lack of long-term evaluation of oocyte genetic stability.*

**Key words:** *Folliculogenesis, in vitro follicle development, fertility preservation, cryopreserved ovarian tissue, follicle activation, in vitro culture.*

## Introducción

Recientes avances en tratamientos antineoplásicos han generado una notable disminución en la mortalidad en pacientes oncológicas<sup>1</sup>. Sin embargo, las pacientes de edad fértil y niñas prepuberales que reciben esta clase de tratamiento, como la quimioterapia o la radioterapia, inevitablemente experimentarán un daño gonadal iatrogénico, con deterioro de la fertilidad y de la función endocrina<sup>2,3</sup>. La quimioterapia genera un efecto citotóxico inmediato sobre las células en división, afectando en primera instancia a los folículos ováricos en crecimiento. Además, provoca inflamación tisular y destrucción de los componentes vasculares y de las células del estroma, generando eventualmente una insuficiencia ovárica prematura (IOP)<sup>4</sup>. Con respecto a la radioterapia, la posibilidad de causar una IOP se relaciona con la dosis de radiación utilizada. Una dosis de irradiación de 3-5 Gy, destruye el 60% de los folículos ováricos, mientras que una dosis de 5 Gy, destruye el 100% de los folículos<sup>5</sup>.

Existen varias estrategias de preservación de la fertilidad en pacientes que deben recibir un tratamiento gonadotóxico, como la preservación de embriones y/o de ovocitos, la transposición ovárica, y la criopreservación y el autotrasplante de tejido ovárico<sup>1,6</sup>, según sea el caso a tratar. Esta última, es la única alternativa disponible para niñas en etapa prepuberal, y pacientes que no pueden retrasar el inicio de su tratamiento<sup>7,8</sup>. Sin embargo, la técnica de autotrasplante de tejido ovárico conlleva el riesgo de reintroducir células malignas ocultas, especialmente en enfermedades onco-hematológicas, neuroblastoma y cáncer de mama<sup>9,10</sup>. Para esta clase de pacientes, la restauración de la fertilidad solo podría lograrse de manera segura a través del desarrollo folicular *in*

*vitro*, generando ovocitos maduros en metafase II (ovocito MII) a partir de folículos primordiales (FP) contenidos en el tejido ovárico criopreservado.

A pesar de tratarse de una técnica alentadora, el desarrollo folicular *in vitro* se encuentra en fase experimental, ya que todavía no se comprenden completamente todos los mecanismos involucrados en la activación, crecimiento y maduración folicular. El objetivo de esta revisión es presentar una actualización sobre la técnica de cultivo de tejido ovárico para el desarrollo folicular *in vitro* como potencial estrategia de preservación de la fertilidad, sus limitaciones y posibles estrategias de optimización.

## Nociones biológicas de la foliculogénesis

### Estadios de desarrollo folicular

El folículo es la unidad morfo-funcional del ovario y está compuesto por un ovocito rodeado de células somáticas, como las células de la granulosa (CG)<sup>11</sup>. Los folículos se clasifican en distintos estadios del desarrollo según características estructurales y funcionales en: (1) primordiales: aquellos que presentan un ovocito rodeado de una monocapa de CG aplanadas; (2) primarios: ovocito rodeado de una monocapa de CG cuboidales; (3) secundarios: ovocitos rodeados de dos o más capas de CG, y la adquisición de células especializadas llamadas células de la teca (CT); y (4) antrales: luego de la formación de un espacio de líquido intrafolicular, llamado antro, entre las multicapas de CG que conforman el complejo ovocito-cumulus (COC). Las primeras etapas del desarrollo son reguladas principalmente por factores paracrinos producidos por células somáticas circundantes, y estímulos del propio entorno intraovárico, como el crecimiento cercano de

otros folículos<sup>12</sup>. Las etapas foliculares posteriores, son más sensibles y luego agudamente dependientes de las gonadotropinas: la hormona luteinizante (LH) y la hormona foliculo-estimulante (FSH)<sup>13,14</sup>. Lograr una completa foliculogénesis *in vitro* consiste en la activación inicial de los FP en estado quiescente, su posterior crecimiento y progresión a través de las diferentes etapas de desarrollo, y la maduración ovocitaria final antes de que puedan ser utilizados para la fertilización *in vitro*. Muchos de estos mecanismos regulatorios de la activación folicular se desconocen, pero, dado que los FP carecen de receptores hormonales gonadotrópicos y poseen una vascularización limitada, se cree que su activación está controlada mediante vías de señalización entre células intrafoliculares y del entorno ovárico adyacente<sup>14</sup>.

### Activación folicular *in vitro*

#### Vías de señalización de activación folicular

*Vía de señalización fosfatidilinositol-3'-quinasa/protein-quinasa B (PI3K/AKT)*

La vía de PI3K/AKT es una importante cascada de señalización molecular que regula una variedad de procesos celulares, incluyendo el crecimiento, la supervivencia, la proliferación y el metabolismo<sup>15</sup>. Esta vía es activada por varios factores de crecimiento, como la insulina o el kit ligando, lo que promueve la conversión del fosfolípido fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP2) en otro fosfolípido llamado fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato (PIP3). De esta forma, PIP3 atrae y fosforila a AKT y, en consecuencia, esto genera la translocación de FOXO3 (*forkhead box O3*) al citoplasma celular. Esta translocación promueve la síntesis de proteínas, provocando activación y crecimiento folicular<sup>16</sup>. mTOR

(*mammalian target of rapamycin*) es otro componente clave en esta vía de señalización. Este complejo, activado por AKT, también regula el proceso de crecimiento y activación folicular mediante síntesis de proteínas<sup>17</sup>. Estudios previos han demostrado la implicación de la vía PI3K/AKT en la regulación de la activación de los FP<sup>18</sup>. Una vez activada, estimula la síntesis de proteínas y el crecimiento celular, fomentando la activación y proliferación folicular temprana<sup>19,20</sup>. PTEN (*Phosphatase and Tensin Homolog*) en contraparte, actúa como regulador negativo de esta vía, convirtiendo PIP3 nuevamente en PIP2. Estudios previos han demostrado una disminución en la señalización de PTEN al analizar perfiles transcriptómicos de ovocitos durante la transición de FPs a folículos primarios<sup>21</sup>.

#### *Vía de señalización Hippo*

Esta vía molecular desempeña un papel esencial en la regulación del crecimiento celular y de los tejidos<sup>22</sup>, y parece interrumpirse al extraer el tejido ovárico de su entorno fisiológico. Tras los estímulos mecánicos, los efectores moleculares YAP (*yes-associated protein 1*) y TAZ (*transcriptional co-activator with PDZ-binding motif*) son trasladados al núcleo, promoviendo el crecimiento y la proliferación celular<sup>23</sup>. Cheng y colaboradores demostraron que la fragmentación de los ovarios de ratón aumentaba la polimerización del actina, lo que inhibía la señalización de Hippo, llevando finalmente al crecimiento de los folículos y los ovocitos<sup>24</sup>. Del mismo modo, mediante técnicas de inmuno-tinción en tejido ovárico humano se ha demostrado una relación entre la inhibición de la señalización de Hippo y la activación folicular<sup>25</sup>.

### *Comunicación ovocito-CG*

La comunicación entre el ovocito y las CG que lo rodean involucran vías de señalización esenciales en la activación de los FP. Estudios previos sugieren que GDF9 (*Growth differentiation factor 9*) y BMP15 (*Bone morphogenetic protein 15*), dos miembros de la superfamilia TGF- $\beta$  secretados específicamente por los ovocitos, podrían estar involucrados en el inicio del crecimiento folicular y la posterior transición a folículo secundario<sup>26,27</sup>. Se ha documentado que, tras la activación del folículo, el ovocito reclutado inicia la secreción de GDF9 y BMP15, los cuales promueven la proliferación y expansión de las CG, causando así la transición folicular<sup>26,27</sup>. De hecho, en ratones knock-out para GDF9 se observa una significativa alteración en el desarrollo folicular, lo que dificulta la progresión más allá de la etapa de folículo primario<sup>28</sup>. Por otro lado, los ratones con deficiencia de BMP15 muestran subfertilidad, con tasas reducidas de ovulación y fertilización<sup>29</sup>. Además, el suplemento de GDF9 y BMP15 recombinantes al cultivo *in vitro* de tejido ovárico humano promueve la activación de los FP y una mayor producción de estradiol<sup>30</sup>.

Además de las vías descriptas anteriormente, la hormona anti-mülleriana (HAM) ejerce un rol regulatorio esencial sobre la reserva ovárica. La HAM es producida por las CG durante la edad reproductiva de la mujer. Su síntesis se inicia a partir de la etapa de folículo primario, y alcanza sus niveles más altos en la etapa de folículo secundario y antral<sup>31</sup>. Esta hormona ejerce un efecto inhibitorio en la activación de los folículos en estado latente<sup>32</sup>, con el propósito de mantener un desarrollo folicular equilibrado y coordinado. Los ratones *knock-out* para HAM exhiben un número reducido de FP y un incremento

notable de folículos secundarios y antrales pequeños<sup>33</sup>. Asimismo, la adición de HAM al medio cultivo de tejido ovárico humano demostró inhibir la tasa de activación de los FP<sup>34</sup>.

### **Diversos sistemas de cultivo *in vitro***

Desde el primer reporte exitoso de la producción de embriones de ratón a partir de un sistema completo de crecimiento folicular *in vitro*<sup>35</sup>, varios grupos de investigación han propuesto diferentes estrategias de cultivo para imitar el proceso en humanos. El principal desafío de esta técnica *in vitro* consiste en emular de la mejor manera el microambiente intraovárico. Principalmente, se han descrito dos enfoques: el cultivo de FP aislados, y el cultivo de FP *in situ* en la corteza ovárica.

#### *Cultivo de FP aislados*

Los métodos de aislamiento folicular se dividen en tres categorías: enzimáticos<sup>36-38</sup>, mecánicos<sup>18,39,40</sup>, o una combinación de ambas<sup>41-45</sup>.

La digestión enzimática implica el uso de colagenasas y/o liberasas para degradar la matriz extracelular que contiene a los folículos. Esta estrategia genera una mayor cantidad de folículos en menor cantidad de tiempo en comparación con la técnica mecánica. Sin embargo, conlleva un mayor riesgo de degradación de la membrana celular y pérdida de la integridad morfológica del folículo. En contraste, el aislamiento mecánico generalmente emplea técnicas de microdissección (con agujas finas) para separar los folículos del estroma circundante. Aunque requiere más tiempo, este enfoque da como resultado una mejor conservación de la integridad y morfología folicular. Por otro lado, varios estudios<sup>41-45</sup> informaron resultados efectivos utilizando una combinación de

ambos protocolos que incluían una breve digestión enzimática, seguida de un aislamiento por microdissección individual.

En su inicio, los experimentos de crecimiento folicular *in vitro* duraban solo unos pocos días, y la estrategia de cultivo en superficies planas (2D) parecía funcionar adecuadamente. Sin embargo, a medida que se establecieron cultivos a largo plazo, el enfoque en 2D mostró limitaciones significativas, como la pérdida de comunicación entre células y la detención del crecimiento de los folículos<sup>46</sup>. El sistema de cultivo en entorno tridimensional (3D) con la utilización de biomateriales ha ganado una atención sustancial en los últimos años debido a sus notables ventajas. Este enfoque permite una mejor imitación del entorno celular natural, promoviendo la comunicación entre células y el crecimiento de tejidos, replicando mejor las condiciones *in vivo*. Numerosos trabajos han demostrado el crecimiento y la supervivencia folicular en sistemas de cultivo que utilizan biomateriales como Matrigel, una matriz de membrana basal solubilizada o esferas de alginato<sup>39,41,47</sup>.

#### *Cultivo de FP in situ en la corteza ovárica*

A pesar de los logros obtenidos con los folículos aislados, existe un consenso creciente que destaca la superioridad del enfoque de cultivo de FP *in situ* dentro de la corteza ovárica, ya que, los folículos permanecen en su entorno natural, conservando las señales bioquímicas intraováricas y su integridad estructural. Esta técnica generalmente implica el cultivo de fragmentos corticales finos, de no más de 1 mm de espesor<sup>40,48</sup>. Telfer y col. fueron los primeros en reportar el desarrollo de ovocitos MII humanos a partir de FP contenidos en fragmentos de corteza ovárica, cultivados en un sistema de múltiples pasos<sup>48</sup>. Según

este protocolo, el primer paso consiste en la activación de los FP en estado latente. El siguiente paso implica el aislamiento de aquellos folículos que hayan alcanzado el estadio secundario, mediante microdissección del estroma circundante, y un posterior cultivo individual en placas con forma de V, hasta alcanzar la etapa de folículo antral. El tercer paso implica una correcta expansión del COC, para lograr finalmente una maduración ovocitaria. Este equipo reportó la obtención de 9 ovocitos MII a partir de 160 fragmentos iniciales de corteza ovárica, en un sistema de cultivo de 21 días de duración. Si bien este estudio representa un paso esencial hacia la consecución de una completa foliculogénesis *in vitro*, también pone en manifiesto los resultados poco eficientes de esta técnica. Los autores describen una rápida activación folicular a los pocos días de iniciado el cultivo, pero también reportan bajas tasas de folículos en estadio secundario al finalizar el primer paso. Este acelerado reclutamiento folicular, posiblemente desencadenado por la liberación de los mecanismos inhibitorios del microambiente ovárico, difiere notablemente con lo que sucede fisiológicamente durante el ciclo ovárico *in vivo*. Es posibles que esta diferencia sustancial en el crecimiento folicular sea la causante de la pobre calidad y viabilidad folicular. A su vez, los autores observaron cuerpos polares aberrantes y anormales con respecto al tamaño en los ovocitos obtenidos. Cabe resaltar que futuros estudios transcriptómicos son necesarios para evaluar la integridad genética de estos ovocitos generados completamente en sistemas *in vitro*.

#### **Composición del medio de cultivo**

La composición del medio de cultivo desempeña un papel fundamental en el

mantenimiento de la viabilidad, el crecimiento y la proliferación de células *in vitro*. Los medios de cultivo basales más utilizados para la foliculogénesis *in vitro* en seres humanos son el medio  $\alpha$ MEM<sup>37-39, 41,44,49-55</sup> y el medio McCoy's 5a<sup>40,48, 56-61</sup>. Sumado a esto, se agregan diversos suplementos con el fin de mejorar la supervivencia y el crecimiento de los folículos. Por ejemplo, glucosa y aminoácidos, como la L-glutamina, son utilizados generalmente como fuentes de energía; se añade también insulina, transferrina y selenio para aumentar la captación de precursores metabólicos solubles en el medio; y se utilizan antibióticos, como la penicilina y la estreptomina, para prevenir el crecimiento bacteriano. Además, a menudo se añaden antioxidantes solubles como el ácido ascórbico, ya que se ha demostrado que reduce la apoptosis celular y aumenta la integridad de los folículos<sup>62</sup>. La suplementación con hormona estimuladora del folículo (FSH) y Activina A se utiliza con frecuencia debido a sus efectos en el crecimiento y expansión de las CG<sup>48</sup>. Estos últimos suplementos son especialmente importantes en la segunda etapa del sistema de cultivo de múltiples pasos, donde los folículos secundarios aislados son cultivados individualmente<sup>48</sup>. En este estadio, los folículos se vuelven dependientes de las gonadotropinas<sup>63</sup>, ya que las CG comienzan a expresar receptores de FSH. Otros aditivos de cultivo han demostrado mejorar la viabilidad y desarrollo folicular, como el factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF)<sup>42</sup>, y plasma rico en plaquetas, que contiene altas concentraciones de factores de crecimiento<sup>38,45</sup>.

En cuanto al reemplazo del medio de cultivo, la práctica estándar es reemplazar la mitad cada dos días<sup>40,48</sup>. Este procedimiento es de suma importancia, ya que

el reemplazo regular del medio permite eliminar productos de desecho celular acumulados y suministrar los nutrientes esenciales necesarios para mantener la viabilidad y funcionalidad celular.

### Estrategias de optimización de la activación folicular *in vitro*

La activación folicular ocurre de forma espontánea después de unos pocos días de cultivo *in vitro*<sup>19,40,48,60,61</sup>. Se cree que esto puede deberse a una disrupción de los mecanismos de supresión de la activación folicular luego de que el fragmento cortical es extraído de su entorno natural<sup>64</sup>. Esto provoca una desregulada activación *in vitro* que contrasta fuertemente con el proceso fisiológico natural, en el que los FP son reclutadas gradualmente. Esto, sin duda, plantea dudas sobre la calidad y la integridad genómica de los folículos derivados del desarrollo *in vitro*. De hecho, estudios previos<sup>40,48</sup> observaron que, a pesar de esta activación espontánea *in vitro*, solo una proporción limitada de FP es capaz de avanzar a la siguiente etapa de crecimiento, mientras que la mayoría enfrenta la muerte celular programada o detención del desarrollo. Aparentemente, no todos los folículos activados logran crecer y desarrollarse hasta etapas posteriores<sup>48</sup>. Aún es difícil determinar si el problema radica en la activación inicial no restringida o en alguna etapa posterior del desarrollo.

En los últimos años, numerosas investigaciones se han centrado en aumentar la activación *in vitro* de los folículos utilizando agentes farmacológicos con el fin de mejorar la eficiencia del cultivo de tejido ovárico. Por ejemplo, la exposición breve a dosis bajas de inhibidores de PTEN como el Bisperoxovanadio(pic) [bpV(pic)] o el Bisperoxovanadio(HOpic) [bpV(HOpic)] mejoró la activación y el crecimiento de

las FP *in vitro* en humanos<sup>18,65</sup> y aumentó la secreción de estradiol<sup>65</sup>. Además, Kawamura y col. documentaron embarazos luego de autotransplante de tejido ovárico previamente expuesto a un inhibidor de PTEN en pacientes con IOP<sup>66</sup>. Sin embargo, forzar la activación de los folículos de esta manera podría ser perjudicial para la salud de los mismos. PTEN desempeña un papel en el mantenimiento de la estabilidad genómica<sup>67,68</sup>. Estudios previos demostraron que la inhibición de PTEN provocaba un mayor daño al ADN y una capacidad de reparación del ADN deficiente en folículos bovinos<sup>69</sup> además de aumentar la tasa de anormalidad histo-morfológica, como la pérdida de contactos entre las CG y el oocito, defectos en la esteroidogénesis y una baja supervivencia de los folículos en crecimiento<sup>18,55,59</sup>.

A su vez, otro grupo de investigadores han planteado la hipótesis de que un sistema de cultivo *in vitro* ideal debería restringir la activación masiva de los folículos para imitar el entorno intraovárico natural. Se ha utilizado la inhibición farmacológica de mTOR, un efector posterior de la vía PI3K/AKT, para atenuar la activación *in vitro* de los folículos. La exposición a Rapamicina, un inhibidor de mTORC1, mostró altas tasas de pérdida de ovocitos y un patrón de “folículo vacío” en el cultivo de tejido ovárico<sup>56</sup>. Sorprendentemente, se observaron mejores resultados con everolimus (EVE), un análogo de la rapamicina. EVE ha sido recientemente documentado como un agente protector que mantiene la quiescencia de los FP y evita la activación espontánea<sup>59</sup>. Además, la adición de HAM al cultivo de tejido ovárico podría servir como un enfoque valioso para controlar el reclutamiento folicular masivo. Recientemente, se ha informado que la exposición de teji-

do ovárico humano a HAM recombinante redujo significativamente la tasa de activación folicular<sup>70</sup>.

La tensión de oxígeno (O<sub>2</sub>) es otro factor ambiental crucial que afecta los resultados del cultivo *in vitro*. Es difícil determinar la tensión óptima de O<sub>2</sub> para el cultivo folicular. Se estima que los FP quiescentes residen en la corteza ovárica dentro de una tensión de O<sub>2</sub> fisiológica que oscila entre el 2% y el 8%<sup>71</sup>. Una tensión elevada de O<sub>2</sub> puede provocar una acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que conduce a daños por estrés oxidativo y disfunción celular. En consecuencia, la exposición de los FPs a una tensión de O<sub>2</sub> por encima de los niveles fisiológicos podría resultar en un mayor estrés celular y una menor tasa de viabilidad. De acuerdo con estos datos, un estudio informó que el tejido ovárico cultivado por 6 días a baja tensión de O<sub>2</sub> (5%) demostró una menor tasa de apoptosis folicular, principalmente debido a menos daño por estrés oxidativo y menos roturas de doble cadena de ADN<sup>60</sup> en comparación con el cultivo al 20% de tensión de O<sub>2</sub>. Además, se ha demostrado que la hipoxia induce el estado de reposo en los ovocitos a través de FOXO3, un efector de la vía de señalización PI3K/AKT<sup>72</sup>, por lo que el cultivo *in vitro* a una tensión de O<sub>2</sub> atmosférico podría ser la causante de esta activación espontánea masiva.

Si bien la regulación de la activación folicular *in vitro* parecería una alternativa para optimizar los resultados del cultivo, no debería subestimarse el deterioro y la afectación folicular previamente descritos. Asimismo, aún no se han evaluado los impactos a largo plazo en la inestabilidad genética ovocitaria y la descendencia futura. Aun se requieren investigaciones adicionales acerca de cómo la manipulación

de la activación *in vitro* podría afectar la calidad de los ovocitos y futuros embriones.

### Direcciones futuras

Nuevas investigaciones apuntan a optimizar el ambiente de cultivo *in vitro* utilizando técnicas como modelos microfluídicos dinámicos<sup>73-75</sup>. Este enfoque tiene como objetivo proporcionar un flujo constante de medio de cultivo alrededor del tejido, promoviendo un intercambio continuo de metabolitos y nutrientes, imitando el entorno ovárico fisiológico. Algunos estudios ya han demostrado resultados beneficiosos utilizando este método en otras tecnologías dentro de la asistencia reproductiva, como el cultivo testicular<sup>75</sup> y modelos de espermatogénesis *in vitro*<sup>74</sup>.

De manera similar, los enfoques de co-cultivo han mostrado una mejora sustancial en los resultados. Diferentes tipos de células madre mesenquimales (CMM), como las derivadas de médula ósea o del tejido adiposo, han sido utilizadas en sistemas de co-cultivo junto con tejido ovárico, mostrando un efecto proliferativo y anti-apoptótico sobre los folículos ováricos<sup>76</sup>. Las CMM ejercen sus funciones

biológicas paracrinas a través de la liberación de factores de crecimiento y citoquinas dentro de vesículas llamadas exosomas<sup>77</sup>. Investigaciones futuras deberían centrarse en optimizar estrategias de recolección de exosomas derivados de CMM para ser agregados como aditivos en medios de cultivo.

### Conclusiones

El desarrollo folicular *in vitro* a partir de tejido ovárico criopreservado se plantea actualmente como una estrategia de notable potencial para la restauración de la fertilidad en pacientes con alto riesgo de reintroducción de células malignas en el autotransplante. A pesar de los desafíos actuales asociados con la técnica *in vitro*, varios estudios han demostrado la capacidad de esta técnica para generar ovocitos MII a partir de folículos en etapas tempranas. Sin embargo, todavía se necesitan nuevos estudios para optimizar las condiciones de cultivo y mejorar la tasa de éxito de esta técnica. Con una optimización y un perfeccionamiento continuo, el desarrollo folicular *in vitro* podría eventualmente ofrecer una valiosa opción de restauración de la fertilidad en el entorno clínico.

### REFERENCIAS

1. J. Donnez, M.-M. Dolmans, Fertility Preservation in Women. *N Engl J Med* 377, 1657–1665 (2017).
2. K. Schmidt, E. Larsen, C. Andersen, A. Andersen, Risk of ovarian failure and fertility preserving methods in girls and adolescents with a malignant disease: Fertility preserving methods in girls with cancer. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology* 117, 163–174 (2010).
3. L. A. Kondapalli, et al., Quality of life in female cancer survivors: is it related to ovarian reserve? *Qual Life Res* 23, 585–592 (2014).
4. N. Spears, et al., Ovarian damage from chemotherapy and current approaches to its protection. *Human Reproduction Update* 25, 673–693 (2019).
5. K. D. Dinas, Impact of Breast Cancer Treatment on Fertility. *Adv Exp Med Biol* 1252, 175–179 (2020).
6. M.-M. Dolmans, et al., European REcommendations for female FERtility preservation (EU-REFER): A joint collaboration between oncologists and fertility special-

- ists. *Crit Rev Oncol Hematol* 138, 233–240 (2019).
7. W. H. B. Wallace, T. W. Kelsey, R. A. Anderson, Fertility preservation in pre-pubertal girls with cancer: the role of ovarian tissue cryopreservation. *Fertility and Sterility* 105, 6–12 (2016).
  8. D. Shai, et al., Ovaries of patients recently treated with alkylating agent chemotherapy indicate the presence of acute follicle activation, elucidating its role among other proposed mechanisms of follicle loss. *Fertility and Sterility* 115, 1239–1249 (2021).
  9. M.-M. Dolmans, V. Luyckx, J. Donnez, C. Y. Andersen, T. Greve, Risk of transferring malignant cells with transplanted frozen-thawed ovarian tissue. *Fertility and Sterility* 99, 1514–1522 (2013).
  10. R. Abir, et al., Ovarian minimal residual disease in chronic myeloid leukaemia. *Reprod Biomed Online* 28, 255–260 (2014).
  11. A. Gougeon, Dynamics of follicular growth in the human: a model from preliminary results. *Hum Reprod* 1, 81–87 (1986).
  12. L. Li, X. Shi, Y. Shi, Z. Wang, The Signaling Pathways Involved in Ovarian Follicle Development. *Front Physiol* 12, 730196 (2021).
  13. K. Oktay, D. Briggs, R. G. Gosden, Ontogeny of Follicle-Stimulating Hormone Receptor Gene Expression in Isolated Human Ovarian Follicles 1. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 82, 3748–3751 (1997).
  14. H. Kishi, Y. Kitahara, F. Imai, K. Nakao, H. Suwa, Expression of the gonadotropin receptors during follicular development. *Reprod Med Biol* 17, 11–19 (2018).
  15. B. D. Manning, L. C. Cantley, AKT/PKB signaling: navigating downstream. *Cell* 129, 1261–1274 (2007).
  16. D. H. Castrillon, L. Miao, R. Kollipara, J. W. Horner, R. A. DePinho, Suppression of Ovarian Follicle Activation in Mice by the Transcription Factor Foxo3a. *Science* 301, 215–218 (2003).
  17. D. Adhikari, et al., Tsc/mTORC1 signaling in oocytes governs the quiescence and activation of primordial follicles. *Hum Mol Genet* 19, 397–410 (2010).
  18. M. McLaughlin, H. L. Kinnell, R. A. Anderson, E. E. Telfer, Inhibition of phosphatase and tensin homologue (PTEN) in human ovary *in vitro* results in increased activation of primordial follicles but compromises development of growing follicles. *Molecular Human Reproduction* 20, 736–744 (2014).
  19. C. Terren, M. Nisolle, C. Munaut, Pharmacological inhibition of the PI3K/PTEN/Akt and mTOR signalling pathways limits follicle activation induced by ovarian cryopreservation and *in vitro* culture. *J Ovarian Res* 14, 95 (2021).
  20. R. Masciangelo, et al., Role of the PI3K and Hippo pathways in follicle activation after grafting of human ovarian tissue. *J Assist Reprod Genet* 37, 101–108 (2020).
  21. E. H. Ernst, et al., Dormancy and activation of human oocytes from primordial and primary follicles: molecular clues to oocyte regulation. *Human Reproduction* 32, 1684–1700 (2017).
  22. D. Pan, Hippo signaling in organ size control. *Genes Dev.* 21, 886–897 (2007).
  23. A. J. W. Hsueh, K. Kawamura, Y. Cheng, B. C. J. M. Fauser, Intraovarian Control of Early Folliculogenesis. *Endocrine Reviews* 36, 1–24 (2015).
  24. Y. Cheng, et al., Actin polymerization-enhancing drugs promote ovarian follicle growth mediated by the Hippo signaling effector YAP. *FASEB j.* 29, 2423–2430 (2015).
  25. C. De Roo, S. Lierman, K. Tilleman, P. De Sutter, In-vitro fragmentation of ovarian tissue activates primordial follicles through the Hippo pathway. *Hum Reprod Open* 2020, hoaa048 (2020).
  26. R. B. Gilchrist, M. Lane, J. G. Thompson, Oocyte-secreted factors: regulators of cumu-

- lus cell function and oocyte quality. *Human Reproduction Update* 14, 159–177 (2008).
27. T. S. Hussein, J. G. Thompson, R. B. Gilchrist, Oocyte-secreted factors enhance oocyte developmental competence. *Developmental Biology* 296, 514–521 (2006).
  28. J. Dong, et al., Growth differentiation factor-9 is required during early ovarian folliculogenesis. *Nature* 383, 531–535 (1996).
  29. C. Yan, et al., Synergistic Roles of Bone Morphogenetic Protein 15 and Growth Differentiation Factor 9 in Ovarian Function. *Molecular Endocrinology* 15, 854–866 (2001).
  30. A. Kedem, et al., Growth Differentiating Factor 9 (GDF9) and Bone Morphogenetic Protein 15 both Activate Development of Human Primordial Follicles in vitro , with Seemingly More Beneficial Effects of GDF9. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 96, E1246–E1254 (2011).
  31. C. Weenen, et al., Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. *Mol Hum Reprod* 10, 77–83 (2004).
  32. M.-C. Meinsohn, et al., Single-cell sequencing reveals suppressive transcriptional programs regulated by MIS/AMH in neonatal ovaries. *Proc Natl Acad Sci U S A* 118, e2100920118 (2021).
  33. A. L. Durlinger, et al., Control of primordial follicle recruitment by anti-Müllerian hormone in the mouse ovary. *Endocrinology* 140, 5789–5796 (1999).
  34. I. B. Carlsson, et al., Anti-Müllerian hormone inhibits initiation of growth of human primordial ovarian follicles in vitro. *Hum Reprod* 21, 2223–2227 (2006).
  35. J. J. Eppig, Development in vitro of mouse oocytes from primordial follicles. *Biology of Reproduction* 54, 197–207 (1996).
  36. C. A. Amorim, A. Van Langendonck, A. David, M.-M. Dolmans, J. Donnez, Survival of human pre-antral follicles after cryopreservation of ovarian tissue, follicular isolation and in vitro culture in a calcium alginate matrix. *Hum Reprod* 24, 92–99 (2009).
  37. R. Abir, Pilot study of isolated early human follicles cultured in collagen gels for 24 hours. *Human Reproduction* 14, 1299–1301 (1999).
  38. L. Hosseini, et al., Platelet-rich plasma promotes the development of isolated human primordial and primary follicles to the preantral stage. *Reprod Biomed Online* 35, 343–350 (2017).
  39. S. Xiao, et al., In vitro follicle growth supports human oocyte meiotic maturation. *Sci Rep* 5, 17323 (2015).
  40. E. E. Telfer, M. McLaughlin, C. Ding, K. J. Thong, A two-step serum-free culture system supports development of human oocytes from primordial follicles in the presence of activin. *Human Reproduction* 23, 1151–1158 (2008).
  41. M. Xu, et al., In vitro grown human ovarian follicles from cancer patients support oocyte growth. *Hum Reprod* 24, 2531–2540 (2009).
  42. T. Wang, et al., Basic fibroblast growth factor promotes the development of human ovarian early follicles during growth in vitro. *Hum Reprod* 29, 568–576 (2014).
  43. X. Xia, et al., Mesenchymal Stem Cells Facilitate In Vitro Development of Human Pre-antral Follicle. *Reprod. Sci.* 22, 1367–1376 (2015).
  44. M.-C. Chiti, et al., Ovarian extracellular matrix-based hydrogel for human ovarian follicle survival in vivo: A pilot work. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 110, 1012–1022 (2022).
  45. C. Subiran Adrados, et al., Human platelet lysate improves the growth and survival of cultured human pre-antral follicles. *Reprod Biomed Online* 47, 103256 (2023).
  46. L. J. Green, A. Shikanov, In vitro culture methods of preantral follicles. *Theriogenology* 86, 229–238 (2016).

47. H. Yin, S. G. Kristensen, H. Jiang, A. Rasmussen, C. Y. Andersen, Survival and growth of isolated pre-antral follicles from human ovarian medulla tissue during long-term 3D culture. *Hum Reprod* 31, 1531–1539 (2016).
48. M. McLaughlin, D. F. Albertini, W. H. B. Wallace, R. A. Anderson, E. E. Telfer, Metaphase II oocytes from human unilaminar follicles grown in a multi-step culture system. *Mol Hum Reprod* 24, 135–142 (2018).
49. A. Camboni, et al., Alginate beads as a tool to handle, cryopreserve and culture isolated human primordial/primary follicles. *Cryobiology* 67, 64–69 (2013).
50. M. M. Laronda, et al., Alginate encapsulation supports the growth and differentiation of human primordial follicles within ovarian cortical tissue. *J Assist Reprod Genet* 31, 1013–1028 (2014).
51. R. Abir, et al., Mechanical isolation and *in vitro* growth of preantral and small antral human follicles. *Fertil Steril* 68, 682–688 (1997).
52. O. Hovatta, R. Silye, R. Abir, T. Krausz, R. M. Winston, Extracellular matrix improves survival of both stored and fresh human primordial and primary ovarian follicles in long-term culture. *Hum Reprod* 12, 1032–1036 (1997).
53. J. G. Hreinsson, et al., Growth Differentiation Factor-9 Promotes the Growth, Development, and Survival of Human Ovarian Follicles in Organ Culture. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 87, 316–321 (2002).
54. J. E. Scott, I. B. Carlsson, B. D. Bavister, O. Hovatta, Human ovarian tissue cultures: extracellular matrix composition, coating density and tissue dimensions. *Reprod Biomed Online* 9, 287–293 (2004).
55. G. Lerer-Serfaty, et al., Attempted application of bioengineered/biosynthetic supporting matrices with phosphatidylinositol-triphosphate-enhancing substances to organ culture of human primordial follicles. *J Assist Reprod Genet* 30, 1279–1288 (2013).
56. M. McLaughlin, et al., mTOR kinase inhibition results in oocyte loss characterized by empty follicles in human ovarian cortical strips cultured *in vitro*. *Fertility and Sterility* 96, 1154–1159.e1 (2011).
57. F. Khosravi, et al., *In vitro* development of human primordial follicles to preantral stage after vitrification. *J Assist Reprod Genet* 30, 1397–1406 (2013).
58. E. Asadi, et al., Ovarian tissue culture in the presence of VEGF and fetuin stimulates follicle growth and steroidogenesis. *J Endocrinol* 232, 205–219 (2017).
59. J. Grosbois, I. Demeestere, Dynamics of PI3K and Hippo signaling pathways during *in vitro* human follicle activation. *Human Reproduction* 33, 1705–1714 (2018).
60. F. Vitale, et al., Importance of oxygen tension in human ovarian tissue *in vitro* culture. *Human Reproduction* 38, 1538–1546 (2023).
61. C. Hossay, et al., Follicle outcomes in human ovarian tissue: effect of freezing, culture, and grafting. *Fertility and Sterility* 119, 135–145 (2023).
62. D. Tagler, et al., Promoting extracellular matrix remodeling via ascorbic acid enhances the survival of primary ovarian follicles encapsulated in alginate hydrogels. *Biotechnol Bioeng* 111, 1417–1429 (2014).
63. D. Bhartiya, H. Patel, An overview of FSH-FSHR biology and explaining the existing conundrums. *J Ovarian Res* 14, 144 (2021).
64. G. Nagamatsu, S. Shimamoto, N. Hamazaki, Y. Nishimura, K. Hayashi, Mechanical stress accompanied with nuclear rotation is involved in the dormant state of mouse oocytes. *Sci Adv* 5, eaav9960 (2019).
65. E. Novella-Maestre, S. Herraiz, B. Rodríguez-Iglesias, C. Díaz-García, A. Pellicer, Short-Term PTEN Inhibition Improves *In Vitro* Activation of Primordial Follicles,

- Preserves Follicular Viability, and Restores AMH Levels in Cryopreserved Ovarian Tissue From Cancer Patients. *PLoS One* 10, e0127786 (2015).
66. J. Li, et al., Activation of dormant ovarian follicles to generate mature eggs. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107, 10280–10284 (2010).
  67. W. H. Shen, et al., Essential Role for Nuclear PTEN in Maintaining Chromosomal Integrity. *Cell* 128, 157–170 (2007).
  68. K. Jagarlamudi, et al., Oocyte-Specific Deletion of Pten in Mice Reveals a Stage-Specific Function of PTEN/PI3K Signaling in Oocytes in Controlling Follicular Activation. *PLoS ONE* 4, e6186 (2009).
  69. M. Maidarti, Y. L. Clarkson, M. McLaughlin, R. A. Anderson, E. E. Telfer, Inhibition of PTEN activates bovine non-growing follicles in vitro but increases DNA damage and reduces DNA repair response. *Human Reproduction* 34, 297–307 (2019).
  70. I. B. Carlsson, et al., Anti-Müllerian hormone inhibits initiation of growth of human primordial ovarian follicles in vitro. *Hum Reprod* 21, 2223–2227 (2006).
  71. G. P. Redding, J. E. Bronlund, A. L. Hart, Mathematical modelling of oxygen transport-limited follicle growth. *Reproduction* 133, 1095–1106 (2007).
  72. S. Shimamoto, et al., Hypoxia induces the dormant state in oocytes through expression of Foxo3. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 116, 12321–12326 (2019).
  73. J. B. Nagashima, R. El Assal, N. Songsasen, U. Demirci, Evaluation of an ovary-on-a-chip in large mammalian models: Species specificity and influence of follicle isolation status. *J Tissue Eng Regen Med* 12, e1926–e1935 (2018).
  74. S. Önen, et al., A pumpless monolayer microfluidic device based on mesenchymal stem cell-conditioned medium promotes neonatal mouse in vitro spermatogenesis. *Stem Cell Res Ther* 14, 127 (2023).
  75. S. Sharma, B. Venzac, T. Burgers, S. Le Gac, S. Schlatt, Microfluidics in male reproduction: is ex vivo culture of primate testis tissue a future strategy for ART or toxicology research? *Molecular Human Reproduction* 26, 179–192 (2020).
  76. M. Hosseini, et al., Improvement of in situ Follicular Activation and Early Development in Cryopreserved Human Ovarian Cortical Tissue by Co-Culturing with Mesenchymal Stem Cells. *Cells Tissues Organs* 208, 48–58 (2019).
  77. V. Smolinská, M. Boháč, L. Danišovič, Current status of the applications of conditioned media derived from mesenchymal stem cells for regenerative medicine. *Physiol Res* 72, S233–S245 (2023).

## **REVISTA REPRODUCCIÓN**

WWW.revistareproduccion.org.ar - editorial@revistareproduccion.org.ar  
ISSN 2796-7689 (versión en línea)

### **Entidades editoras**

Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva (SAMeR) y  
Sociedad Argentina de Embriología Clínica (SAEC)

### **Dirección postal**

Av. Córdoba 971, 1er. Piso. CABA, Argentina (CP 1054)  
Tel. +54 11 5032 2834



Revista

---

# Reproducción

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

