

# TRABAJOS LIBRES ORALES

0-01

## BLASTOCISTOS OBTENIDOS A PARTIR DE OPN: RESULTADOS GENÉTICOS Y CLÍNICOS

PAZ M VALERIA, CHIERA MARIEL, HOVANYECZ PAULA, CICARÉ JULIANA, PERFUMO PATRICIA, VENTURA VIVIANA

*Servicio de Medicina Reproductiva, Instituto Gamma, Rosario*

**Objetivo:** El chequeo de las fertilizaciones debe realizarse en un momento preciso que se acota a las 18 hs  $\pm$  2 hs post inseminación/inyección. En ocasiones, al no disponer de Time Lapse, no se logra visualizar la formación de los pronúcleos (OPN). En nuestro centro el 27% de los ovocitos con OPN dividen, y de éstos, el 35% llega a formar un blastocisto. El objetivo de este trabajo fue analizar los resultados genéticos y clínicos de blastocistos formados a partir de ovocitos con OPN luego de una FIV/ICSI. **Diseño:** observacional retrospectivo.

**Materiales y Métodos:** Se incluyeron pacientes < 40 años que realizaron una FIV/ICSI con ovocitos propios y que tuvieron blastocistos a partir de ovocitos con OPN. Período en estudio: desde enero de 2015, hasta abril de 2018. Se analizaron los resultados clínicos de las transferencias de blastocistos con OPN en fresco y diferidas. Se excluyeron las transferencias mixtas de blastocistos con OPN y 2PN que hayan formado sólo un saco gestacional. Por otro lado, se analizaron los resultados genéticos, obtenidos por NGS, de blastocistos OPN biopsiados de todas las pacientes que ingresaron al programa de PGT-A.

**Resultados:** Se obtuvieron 79 blastocistos utilizables a partir de ovocitos con OPN, en 58 pacientes que realizaron FIV/ICSI. Al ser blastocistos de buena calidad, se criopreservaron y se priorizaron para transferir aquellos en los que se visualizaron los 2PN. Sólo fueron transferidos embriones OPN en caso de no contar con embriones fertilizados normalmente. Se realizaron 9 transferencias simples (1 blastocisto con OPN), 5 transferencias dobles puras (2 blastocistos con OPN) y 8 transferencias dobles mixtas (blastos OPN/2PN que formaron 2 sacos); resultando en una tasa de embarazo evolutivo del 33,3%, 60% y 62,5% respectivamente (Tabla 1). En total, se transfirieron 27 blastocistos con OPN obteniendo una tasa de implantación del 44,4%. Hasta la fecha se reportaron 8 nacidos vivos a partir de la transferencia de estos blastocistos.

Tabla 1: Resultados clínicos de la transferencia de blastocistos OPN.

Nº ET	Nº Embriones OPN Transferidos	Tasa E. Clínico	Tasa implantación		Partos hasta la fecha	RNVP	OPN
			OPN	Evolutivo			
ET SIMPLES OPN	9	33,30% (3/9)	33,30% (3/9)	33,30% (3/9)	1	1	
ET DOBLES OPN	5	60,00% (3/5)	40,00% (4/10)	60,00% (3/5)	2	3	
ET DOBLES MIX (OPN/2PN)	8	62,50% (5/8)	62,50% (5/8)	62,50% (5/8)	4	4	
TOTAL	22	50,00% (11/22)	44,40% (12/27)	50,00% (11/22)	7	8	

**Resultados del testeo genético preimplantatorio para aneuploidias:**

Se biopsiaron 17 blastocistos con OPN. Los resultados obtenidos por NGS fueron los siguientes:

4 embriones 46XX, 3 embriones 46XY y 10 embriones aneuploides con distintas monosomias o trisomias. Con estos resultados se podría afirmar que 76,4% (13/17) de los embriones que presentaron OPN el día de la fertilización eran diploides (cariotipo 46XY y aneuploides). En los 4 embriones 46XX, no se puede confirmar la diploidía, por la limitación de la técnica en detectar haploidías completas balanceadas (no distingue 23X de 46XX).

**Conclusiones:** El 76,4% de los blastocistos OPN fueron diploides y por otro lado 44,4% de los blastocistos OPN sin resultado genético implantaron y nacieron hasta la fecha 8 bebés sanos. En base a estos resultados, concluimos que si los ovocitos con OPN dividen, deben llevarse a cultivo prolongado y ser considerados de manera segura para ser transferidos.

0-02

## ESTUDIO COMPARATIVO: DESCARGA CON AGONISTAS DE LA GNRH VS HCG IMPACTO SOBRE LA CALIDAD EMBRIONARIA

MACHADO CARMEN, SACUR SILVESTRE PAULA, ROMANO VERÓNICA, PÉREZ STARACCI ANDRÉS, GÓMEZ VITOLLO MAYRA, PENÉ ALICIA

*Centro de Reproducción y Genética Humana (GRECER) Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina*

La utilización del agonista de la Hormona Liberadora de Gonadotropinas (aGnRH) en la inducción final de la maduración ovocitaria, "descarga", presentó como principal ventaja la disminución significativa del Síndrome de Hiperestimulación Ovárica. En los últimos años dicha descarga ha comenzado a utilizarse en otras situaciones tales como, la doble estimulación, "DuoStim", la realización de estudios genéticos pre-implantatorios, entre otras. Han surgido controversias acerca de la menor calidad ovocitaria y embrionaria en pacientes que recibieron descarga con aGnRH, en comparación con Gonadotropina Coriónica humana (hCG). El objetivo del presente estudio fue comparar los resultados obtenidos entre las pacientes que recibieron descarga con aGnRH y hCG.

**Diseño.** Estudio comparativo, transversal y retrospectivo.

**Materiales y Métodos.** El estudio fue realizado desde marzo de 2016 a noviembre 2017. Se incluyeron 88 pacientes con diagnóstico de esterilidad, de 26 a 37 años, que durante la estimulación ovárica controlada generaron  $\leq$  20 folículos. Se excluyeron casos con factor masculino, obesidad, endometriosis y Poliquistosis Ovárica. Se establecieron 2 grupos: descarga con aGnRH y descarga con hCG. Análisis estadístico: Anova y regresión lineal, con distribución Poisson o Binomial de acuerdo a la distribución de los datos.

**Resultados.** La cantidad de ovocitos recuperados, embriones obtenidos, tasa de fertilización y de clivaje, no presentaron diferencias significativas (Tabla Nº 1). La calidad de los embriones de 72 hs. presentó diferencia significativa entre ambos grupos ( $p$  0.034), siendo de menor calidad en el grupo de pacientes descargadas con aGnRH (OR 0.957 IC 95% 0.633-1.593).

Tabla Nº 1. Comparación de resultados: Descarga con Agonista de la GnRH vs hCG.

Tipo de Descarga	hCG		aGnRH		p
	Media	DS	Media	DS	
Nº folículos	9.70	4.51	14.85	4.28	NS
Nº do ovocitos	7.22	3.70	11.62	3.76	NS
Tasa de recuperación	74.96	19.28	73.85	15.68	NS
Tasa de fertilización	81.49	19.58	77.21	21.90	NS
Tasa de clivado adecuado	72.75	27.11	71.05	22.72	NS
Tasa de embriones 72 hs.	93.72	15.66	89.48	15.06	NS
Embriones 72 hs. buena calidad (%)	48.30	24.27	33.04	20.51	0.034
Blastocisto buena calidad (%)	68.10	25.40	62.72	27.90	NS

hCG: gonadotropina Corionica Humana. GnRH: Hormona liberadora de Gonadotropina. DS: desvío estándar. %: porcentaje. Embriones 72 hs: calidad embrionaria según clasificación de Bolton. Blastocisto: calidad embrionaria según clasificación de Gardner modificada. Diferencia significativa  $p < 0.05$ . NS: no significativo.

**Conclusiones.** Si bien no se encontraron diferencias en cuanto a los resultados en general, la calidad embrionaria fue significativamente mejor en las pacientes que recibieron descarga con hCG. La menor calidad embrionaria podría deberse a los efectos de la descarga con aGnRH sobre

la calidad ovocitaria. Algunos autores sugieren que éste efecto podría revertirse agregando una dosis baja de hCG a la descarga con aGnRH. Posteriores estudios randomizados y aleatorizados deberían llevarse a cabo a fin de corroborar dichos resultados.

**0-03**

**RESULTADOS CLÍNICOS EN OVODONACIÓN: OVOCITOS FRESCOS VS OVOCITOS VITRIFICADOS**

CICARÉ JULIANA, HOVANYECZ PAULA, PERFUMO PATRICIA, VENTURA VIVIANA, DOMENECH LUCIANA Y PAZ M VALERIA

*Servicio de Medicina Reproductiva, Instituto Gamma, Rosario*

**Objetivo:** Las técnicas de vitrificación de ovocitos han evolucionado en los últimos tiempos lo que ha permitido desarrollar bancos de ovocitos a nivel mundial. Contar con un banco propio de ovocitos vitrificados en un programa de ovodonación permite más flexibilidad a la hora de programar a las receptoras, aunque supone un estrés extra para los ovocitos ya que deben sobrellevar el proceso de vitrificación. Por este motivo, el objetivo del presente trabajo fue comparar los resultados clínicos obtenidos en nuestro programa de ovodonación entre ovocitos frescos y ovocitos vitrificados.

**Diseño:** Observacional comparativo retrospectivo.

**Materiales y Métodos:** Se incluyeron 192 receptoras que tuvieron una sola transferencia en fresco o diferida en el período comprendido entre enero de 2015 a abril de 2018. Se excluyeron del estudio los factores masculinos severos (concentraciones inferiores a 5 mill/mL, PESA y TESE). El rango etario de las receptoras fue de 27 a 50 años. En total se analizaron 207 ciclos de FIV/ICSI, de los cuales 175 fueron realizados con "ovocitos frescos" y 32 con "ovocitos vitrificados". Para la vitrificación / descongelamiento se utilizaron medios y protocolos de Kitazato. Se analizaron las tasas de fertilización, sub-beta positiva, embarazo clínico, embarazo evolutivo e implantación. El análisis estadístico se realizó por el método exacto de Fisher.

**Resultados:** En el grupo en fresco se inseminaron 1222 ovocitos y en el de ovocitos vitrificados 182, dando un promedio de 6,98 y 5,7 ovocitos por ciclo respectivamente, siendo homogénea la distribución dentro de los grupos. La sobrevida de los ovocitos vitrificados fue del 93%. No se encontraron diferencias significativas entre grupos en ninguno de los resultados clínicos estudiados (Tabla 1). Sin embargo, se observó una tendencia en la tasa de fertilización a favor de los ovocitos frescos ( $p=0,08$ ).

Tabla 1: Resultados clínicos en ovodonación utilizando ovocitos frescos y vitrificados.

	Tasa de fertilización	Tasa de Sub-beta positiva	Tasa de embarazo clínico	Tasa de embarazo evolutivo	Tasa de implantación
Ovocitos frescos	76,60% (936/1222)	58,86% (103/175)	50,29% (88/175)	41,14% (72/175)	38,38% (114/297)
Ovocitos vitrificados	70,33% (128/182)	53,13% (17/32)	46,88% (15/32)	43,75% (14/32)	38,60% (22/57)
Valor-p	0,08	0,68	0,87	0,93	>0,99

**Conclusiones:** De acuerdo a nuestros resultados, no se han encontrado diferencias significativas en las tasas de embarazo e implantación según la fuente de ovocitos, por lo que podríamos considerar seguro el uso de ovocitos vitrificados en el programa de ovodonación. Esto permite contar con un banco de ovocitos de uso propio, lo que abre más opciones a la hora de programar a las receptoras. Sin embargo, sería conveniente aumentar el número de ciclos realizados con ovocitos vitrificados y realizar un seguimiento de los recién nacidos para una mejor evaluación.

**0-04**

**TRANSFERENCIA DE UN ÚNICO BLASTOCITO DISMINUYE LAS TASAS DE EMBARAZO MÚLTIPLE Y ABORTOS SIN MODIFICAR LA TASA DE EMBARAZO CLÍNICO**

TORRES MONSERRAT VALENTINA<sup>1</sup>, MORENO IGNACIO<sup>1</sup>, DELPICCOLO MARÍA CECILIA<sup>1</sup>, CARIZZA NICOLÁS<sup>1</sup>, NAVALL ESTEFANÍA<sup>1</sup>, CARIZZA CARLOS<sup>1</sup>

*<sup>1</sup>Fertya Medicina Reproductiva de Grupo Oroño*

**Objetivo:** Comparar las tasas de embarazo clínico, embarazo múltiple y aborto de transferencias con 1 o 2 embriones en estadio de clivaje o blastocito de ciclos en fresco de fertilización asistida (FA).

**Diseño:** Análisis retrospectivo de tres estrategias de transferencia en fresco de todas aquellas pacientes que iniciaron ciclos de FA desde octubre 2015 hasta diciembre 2017. Se compararon 3 grupos: Grupo 1 (G1) 93 transferencias de 2 embriones en estadio de clivaje, Grupo 2 (G2) 39 transferencias de 2 embriones en estadio de blastocito, y Grupo 3 (G3) 259 transferencias de 1 embrión en estadio de blastocito.

**Materiales y Métodos:** Todos los embriones de pacientes que comenzaron un nuevo ciclo de FA en nuestra clínica fueron incubados con medios de cultivo Sage® o Global Total® dentro de incubadoras K-System® G-185 o ThermoFisher Scientific® Heracell 150i. El análisis estadístico se realizó utilizando la prueba de independencia de Chi cuadrado y la prueba exacta de Fisher para comparar entre los 3 grupos a estudiar las variables de embarazo clínico, implantación, embarazos múltiples y abortos. Cuando las pruebas de independencia resultaron significativas, las pruebas de comparación paramétrica y no paramétrica se usaron en pares. Además, se informaron los odds ratios obtenidos para cada variable.

**Resultados:** Los resultados muestran que no se encontró diferencia significativa en las tasas de embarazo clínico al transferir embriones en estadio de clivaje o blastocito ( $p=0,8352$ ). Sin embargo, hay una reducción importante en los embarazos múltiples logrados cuando se transfirió sólo un blastocito (1%) en comparación con las transferencias de dos embriones en estadio de clivaje (33%) o en estadio de blastocito (33%). La independencia entre grupos y embarazos múltiples es rechazada ( $p<0,0001$ ). La comparación de proporciones es significativa entre G1 y G3 ( $p<0,0001$ ) y entre G2 y G3 ( $p<0,0001$ ). Además, la tasa de implantación mejoró significativamente cuando sólo se transfirió un blastocito (39%) en comparación con la transferencia de dos blastocitos (26%) o dos embriones en estadio de clivaje (24%), la independencia es rechazada ( $p<0,0001$ ). La comparación de proporciones es significativa entre G1 y G3 ( $p=0,0007$ ), y entre G2 y G3 ( $p=0,0375$ ). La odds ratio para las tasas de implantación obtenidas, con el G1 como referencia, fue 1.1129 para G2 y 2.0967 para G3. Finalmente, se observa una disminución en la tasa de abortos, con un 20% para G1, un 5% para G2 y un 10% para G3. No hay una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos ( $p=0,1352$ ) pero existe una tendencia a que la transferencia en etapa de blastocito produce menos abortos que en la etapa de clivaje. La principal limitación de este trabajo es la diferencia en el número de pacientes dentro de cada grupo.

Tabla 1: Tasas analizadas para cada Grupo estudiado desde Oct 2015 hasta Dic 2017

Grupos	Sub Beta >20 UI	Tasa Embarazo Clínico	Tasa de Implantación	Tasa Embarazo Múltiple	Tasa de Abortos
G1	40,9% (38/93)	35,5% (33/93)	23,6% (44/186)	33,3% (11/33)	20,4% (9/44)
G2	46,1% (18/39)	38,5% (15/39)	25,6% (20/78)	33,3% (5/15)	5,0% (1/20)
G2	48,6% (126/259)	39,0% (101/259)	39,4% (102/259)	1,0% (1/101)	9,8% (10/102)

**Conclusiones:** Se concluye que la transferencia de un único blastocito en ciclos de FA en frescos disminuye las tasas de embarazo múltiple y aborto y aumenta las tasas de implantación sin afectar el número de embarazos clínicos logrados.

## 0-05

**MODELO PARA LA PREDICCIÓN DE LA TASA DE EMBARAZO CLÍNICO EN CICLOS DE FERTILIZACIÓN ASISTIDA TRANSFIRIENDO UN ÚNICO BLASTOCITO**

TORRES MONSERRAT VALENTINA<sup>1</sup>, CUETO SANTIAGO<sup>2</sup>,  
BELTRAMONE PABLO<sup>2</sup>, DELPICCOLO MARÍA CECILIA<sup>1</sup>,  
MORENO IGNACIO<sup>1</sup>, CARIZZA CARLOS<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fertya Medicina Reproductiva; <sup>2</sup>Universidad Nacional de Rosario

**Objetivo:** Diseñar un modelo de regresión que utilice los parámetros morfológicos de blastocitos y la edad materna para predecir la tasa de embarazo clínico de ciclos en fresco de fertilización asistida (FA) al transferir un embrión en día cinco de desarrollo.

**Diseño:** Estudio de cohorte retrospectivo de 233 transferencias de único embrión en estadio de blastocito en ciclos en frescos de FA desde enero 2016 hasta diciembre 2017.

**Materiales y métodos:** Se analizaron los valores de los tres parámetros morfológicos de blastocito de los embriones transferidos y la edad materna para diseñar un modelo de regresión logística como predictor de la tasa de embarazo clínico. La morfología del blastocito se evaluó usando la clasificación del Consenso de Estambul, usando el número 1 al 6 para el grado de expansión y 1 a 3 para la calidad del macizo celular interno y del trofoectodermo. La edad de las pacientes se consideró como una variable independiente adicional y fue dividida en 3 grupos: Grupo 1 (G1): <35 años, Grupo 2 (G2): 35-39 años y Grupo 3 (G3): ≥40 años. Se utilizó la prueba de regresión logística para explicar, modelar y predecir la ocurrencia o no del embarazo clínico, a través de los tres parámetros morfológicos y la edad materna actuando como covariables. Además, se obtuvieron los odds-ratios para las variables consideradas y se construyó la curva ROC para evaluar la capacidad de predicción y etiquetado del modelo.

**Resultados:** El modelo obtenido resulta parsimonioso, logra un buen ajuste de los datos en lo que respecta al modelado explicativo y presenta una capacidad predictiva precisa con respecto a la tasa de embarazo clínico, según los registros retrospectivos disponibles. El grado de expansión y la edad de la paciente fueron las variables que resultaron estadísticamente significativas, con un nivel de significancia de 0,2. Los odds ratios para la variable de edad de la paciente (G1 como referencia) disminuyen en 0,44 y 0,32 para los G2 y G3 respectivamente. Para la variable grado de expansión (como referencia grado 2), la razón de posibilidades aumenta con los grados 3 y 4, pero disminuye con el grado 5. Los odds ratio de las otras variables tienen comportamiento errático. La curva ROC construida, con un área bajo la curva de 0,714, presenta valores de sensibilidad y especificidad del 85,1% y 55,8% respectivamente.

Tabla: Coeficiente del modelo con efectos principales

	Estimación	SE	valor Pr(> z )	Odds Ratio	IC (Odds Ratio)
<b>Intercepto</b>	-0,3946	0,5249	0,4522	0,6739	(0,34, 13,07)
<b>EDAD2</b>	-0,3503	0,3924	0,0172	0,3926	(0,23, 0,64)
<b>EDAD3</b>	-1,1119	0,5387	0,039	0,3289	(0,16, 0,64)
<b>CE3</b>	0,6789	0,4819	0,1589	19,716	(10,78, 37,3)
<b>CE4</b>	-14,524	971,3826	0,9881	0,0000	-
<b>CMCI2</b>	-0,3856	0,3507	0,2716	0,6801	(0,43, 10,64)
<b>CMCI3</b>	0,6291	0,9425	0,5044	18,760	(0,54, 63,77)
<b>CT2</b>	-0,0966	0,339	0,7757	0,9079	(0,59, 14,03)
<b>CT3</b>	-0,8666	0,8964	0,3337	0,4204	(0,12, 12,5)

**Conclusiones:** Se logró construir un modelo con buena capacidad predictiva de la tasa de embarazo clínico para los ciclos en frescos de FA cuando

se transfiriere un blastocito. La capacidad predictiva del embarazo clínico en el caso que la paciente en verdad presenta el embarazo es del 85,1% y la proporción de veces que se predice un embarazo negativo pero la paciente en verdad presenta el embarazo es del 55,8%. La actualización del modelo con más número de datos permitiría lograr un mejor ajuste del mismo y brindaría la posibilidad de obtener un aumento de la tasa de embarazos clínicos ante la utilización del mismo como herramienta de laboratorio.

## 0-06

**ANÁLISIS DE PRODUCTOS DE CONCEPCIÓN POR SECUENCIACIÓN MASIVA**

LORENZI DANIELA<sup>1</sup>, BILINSKI MELINA<sup>1</sup>, NICOTRA PERASSI PAMELA<sup>1,2</sup>,  
ARTAZCOZ SANTIAGO<sup>2</sup>, FISZBAJN GABRIEL<sup>1,2</sup>, PAPIER SERGIO<sup>1,2</sup>

*Institución:* <sup>1</sup>Novagen, <sup>2</sup>CEGYR

**Objetivo:** Las aneuploidías cromosómicas son la principal causa de aborto espontáneo en el primer trimestre (50-70% de los casos). El cariotipo convencional es el método tradicional para el análisis cromosómico de los productos de concepción. Sin embargo, esta técnica tiene como desventajas las altas tasas de fracaso en el crecimiento del cultivo celular y la posibilidad de contaminación con células maternas (CCM). El cariotipo molecular por secuenciación masiva (NGS) supera las limitaciones de otras técnicas ya que no requiere cultivo celular y permite la detección de todos los cromosomas. El objetivo de este estudio es describir nuestra experiencia en el estudio de material de aborto mediante NGS.

**Diseño:** estudio retrospectivo.

**Materiales y métodos:** Se recibieron 35 muestras de productos de concepción obtenidas a partir de abortos espontáneos (11), legrado/aspiración (10) o histeroscopia/embrioscopia (14). A su vez, se solicitó el envío de sangre materna. Luego de la extracción de ADN, las muestras de material de aborto se procesaron y analizaron mediante NGS (VeriSeq-Illumina). Cuando se obtuvo un resultado femenino normal (46, XX) se realizó un estudio adicional para determinar CCM y triploidia XXX mediante la comparación de 16 marcadores de STRs entre el ADN aislado de la sangre materna y el ADN del material de aborto.

**Resultados:** La edad materna promedio fue de 35,4 años y el tiempo promedio de detención de embarazo fue de 7,8 semanas (5,6-11). De las 35 muestras analizadas, 2 (0,7%) fueron no concluyente debido a CCM, 9 (27,3%) fueron euploides y 24 (72,7%) aneuploides. En mujeres ≤35 años la tasa de aneuploidia fue del 56,25% y en >35 años del 79%. Se detectaron 19 muestras con trisomías (57,8%), incluido un caso con doble trisomía (cromosoma 15 y 21) y otro caso con trisomía mosaico del cromosoma 10 de bajo grado (20-40%). Hasta el momento, la trisomía 16 fue la más prevalente (5 casos, 26,3% de las trisomías). Respecto a las monosomías, hubo un caso con Síndrome de Turner, dos casos con Monosomía del X en mosaico de alto grado (40-80%) y un caso con monosomía mosaico del cromosoma 18 de bajo grado.

**Conclusiones:** El análisis de productos de concepción por NGS resultó ser un método rápido y con una baja tasa de no resultado en comparación con el cariotipo convencional. En nuestra experiencia, se obtuvo resultado en el 94,3% de los casos. En solo dos muestras (obtenidas por aborto espontáneo) no fue posible dar un resultado ya que se confirmó CCM. Este estudio está destinado a toda paciente que sufra un aborto espontáneo de embarazos naturales o secundarios de técnicas de reproducción asistida y consideramos de especial interés en parejas con abortos a repetición. Conocer la causa que dio lugar a la pérdida del embarazo es de suma importancia para poder estimar el riesgo de recurrencia, determinar qué otros estudios realizar y planificar nuevas estrategias reproductivas.

**0-07**

**DIFERENCIAS EN LOS RESULTADOS GENÉTICOS DE MATERIAL DE ABORTO DE ACUERDO AL ORIGEN DE LA GESTACIÓN**

LUCINI CARLOTA, NICOLAO GIMENA, PAZO EVA, BAUM EUGENIA, OLIVA TAMARA, PASQUALINI AGUSTÍN

*Halitus Instituto Médico*

**OBJETIVO:** Describir los resultados genéticos de material de aborto según el origen del embarazo. **DISEÑO:** Estudio retrospectivo y observacional. **MATERIALES Y MÉTODOS:** Las muestras se obtuvieron a través de embrioscopías, punción de vellosidades y AMEU (aspiración manual endouterina) desde 01/2008 a 01/2018 inclusive. El promedio de EG (edad gestacional), en la cual se detuvieron los embarazos fue de 8.4 semanas (5-12). Los embarazos se produjeron en forma espontánea, con RSP (relaciones sexuales programadas), IUI (inseminación intrauterina), alta complejidad y OD (Ovodonación). Al principio se usó la embrioscopia, luego la punción de vellosidades vía vaginal y finalmente el AMEU. La técnica utilizada para analizar el material en la mayoría de los casos fue la citogenética, para ser luego reemplazada por NGS (Next Generation Sequency) Se usó SPSS versión 16 para el análisis de los datos. **RESULTADOS:** Se analizaron 196 muestras de embarazos detenidos o POC (productos de concepción). El 46.9% (92) de los mismos se obtuvo por embrioscopia, el 51.5% (101) por punción de vellosidades coriales vía vaginal y el 1.5% (3) por AMEU. El 94.4% (185) de los POC fue analizado por citogenética, el

5.6%(11) por NGS. Los características de la población según el origen del embarazo se pueden ver en la tabla 1 y los resultados de los POC según el origen del embarazo se pueden ver en la tabla 2.

(1) Prueba ANOVA de un factor. Diferencias estadísticamente significativas: a) espontáneo / OD ( $p < 0,001$ ), la edad promedio de mujeres con OD es significativamente más alta que la edad promedio de las mujeres con embarazo espontáneo. b) OD / ART ( $p = 0,037$ ), la edad promedio de pacientes con OD es significativamente más alta que la edad promedio de las pacientes con ART. (2) Prueba de Chi2. Relación estadísticamente significativa entre tipo de esterilidad y origen de la gestación. En casos de esterilidad primaria es menos probable el embarazo espontáneo y más probable OD y ART. (3) Prueba ANOVA de un factor; no hay diferencias significativas. (4) Prueba de Brown-Forsythe. Diferencias estadísticamente significativas: espontáneo / ART ( $p < 0,005$ ), es más alto el promedio de abortos previos en embarazos espontáneos que en ART. **CONCLUSIÓN:** El análisis de los POC es fundamental para determinar la causa de la pérdida del embarazo y así orientar al estudio del paciente. Si bien no se observaron diferencias significativas en los resultados de POC en los distintos tipos de tratamientos, el grupo de OD tuvo más normales que el resto de los grupos pero su n fue muy bajo. Los grupos no fueron homogéneos, observándose mayor tasa de abortos previos en los embarazos espontáneos y las RSP, y mayor tasa de infertilidad primaria en OD y técnicas de alta complejidad. La citogenética es una técnica útil, pero limitada por la alta tasa de células que no cultivan, que en nuestro caso fue del 35%. Seguramente sea reemplazada por nuevas tecnologías como NGS y CGH a (Comparative Genome Hibridation). Necesitamos estudios con mayor n, prospectivos y randomizados que con nuevas tecnologías evalúen los POC.

Tabla 1. Características de la población y origen del embarazo.

	Embarazo espontaneo	RSP	IUI	OD	ART con óvulos propios	Total	p
Cantidad de casos	98 (50%)	11 (5,6%)	17 (8,7%)	19 (9,7%)	51 (26,0%)	196 (100,0%)	-
Promedio de edad de la mujer	35,8	36,5	37,1	40,7	37,5	36,9	F= 6,112; p<0,001 (1)
Esterilidad primaria	27 (33,8%)	2 (2,5%)	8 (10,0%)	13 (16,2%)	30 (37,5%)	80 (100,0%)	Chi2=22,585; p<0,001 (2)
Esterilidad secundaria	71 (61,2%)	9 (7,8%)	9 (7,8%)	6 (5,2%)	21 (18,1%)	116 (100,0%)	
Promedio de BMI	22,4	23,0	22,3	23,6	23,1	22,8	F=0,390; p=0,816 (3)
Promedio de abortos previos	2,01	1,91	1,47	1,00	1,12	1,63	F=6,103; p<0,001 (4)

Tabla 2. Resultados de acuerdo al origen de la gestación.

	Embarazo Espontaneo	RSP	IUI	OD	ART con óvulos propios	TOTAL
Cantidad de casos	98 (50%)	11 (5,6%)	17 (8,7%)	19 (9,7%)	51 (26,0%)	196 (100,0%)
Sin metafases	36 (36,7%)	3 (27,3%)	8 (47,1%)	8 (42,1%)	15 (29,4)	70 (35,7%)
Contaminación materna	1 (1,0%)	0	0	0	1 (2,0%)	2 (1,0%)
Material insuficiente	1 (1,0%)	0	0	0	0	1 (,5%)
Normales	21 (21,4%)	3 (27,3%)	4 (23,5%)	7 (36,8%)	15 (29,4%)	50 (25,5%)(1)
Anormales	39 (39,8%)	5 (45,5%)	5 (29,4%)	4 (21,1%)	20 (39,2%)	73 (37,2%)(1)
Normales femeninos	8 (13,3%)	2 (25,0%)	2 (22,2%)	4 (36,4%)	7 (20,0%)	23 (18,7%)(2)
Normales masculinos	13 (21,7%)	1 (12,5%)	2 (22,2%)	3 (27,3%)	8 (22,9%)	27 (22,0%)(2)
Trisomías	29 (48,3%)	4 (50,0%)	4 (44,4%)	2 (18,2%)	17 (48,6%)	56 (45,5%)
Trisomías dobles	1 (1,7%)	0	0	0	0	1 (0,8%)
Monosomías de cromosomas sexuales	3 (5,0%)	1 (12,5%)	1 (11,1%)	2 (18,2%)	2 (5,7%)	9 (7,3%)
Mola	5 (8,3%)	0	0	0	0	5 (4,1%)
Otro	1 (1,7%)	0	0	0	1 (2,9%)	2 (1,6%)

(1)(2) Pueba Chi2 no hubo diferencias significativas

**0-08**

**DOBLE ESTIMULACIÓN EN UN MISMO CICLO OVÁRICO. FASE FOLICULAR Y FASE LÚTEA: ESTUDIO PRELIMINAR**

BRANZINI CONSTANZA, WOLFENSON GUILLERMO, LOPEZ MARIANA, LANCUBA STELLA

*CIMER (Centro de investigaciones en medicina reproductiva)*

**OBJETIVO:** La estimulación ovárica doble en un mismo ciclo, duo stim, es una alternativa que puede lograr recuperar mayor número de óvulos en pacientes con baja respuesta folicular. Su base fisiológica es la existencia de un patrón de olas o "waves" en la maduración folicular que hace posible recuperar más de una cohorte de ovocitos en un mismo ciclo durante estimulación en fase lútea. El objetivo es evaluar resultados preliminares en nuestra experiencia de estimulación de fase lútea en pacientes que realizan FIV. **DISEÑO:** Análisis retrospectivo. **MATERIALES Y METODOS:** Se realizaron 14 aspiraciones foliculares asociadas a estudio genético preimplantacional (PGT) en 7 pacientes estimuladas con gonadotropinas recombinantes. Promedio de edad materna 39.8 años. Evaluamos resultado clínico incluyendo parámetros de Laboratorio de FIV (cantidad de ovocitos. Tasa de fecundación, clivaje euploidía y embarazo clínico. **RESULTADOS:**

Paciente	edad		Aspiración fase folicular	Aspiración fase lútea
1	34	N° ovocitos recuperados	8	6
		MII	8	6
		N° fecundados	5 (62,5%)	6 (100%)
		N° biopsiados 72 hs.	5 (100%)	5 (100%)
		Euploides	1 (20%)	3 (60%)
2	43	N° ovocitos recuperados	4	5
		MII	4	5
		N° fecundados	4 (100%)	3 (60%)
		N° biopsiados 72 hs.	2 (50%)	2 (66,6%)
		Euploides	0	0
3	41	N° ovocitos recuperados	4	1
		MII	3	1
		N° fecundados	3 (100%)	1 (100%)
		N° biopsiados 72 hs.	1 (33,33%)	1 (100%)
		Euploides	0	0
4	40	N° ovocitos recuperados	10	2
		MII	7	2
		N° fecundados	6 (85,7%)	0
		N° biopsiados 72 hs.	6 (100%)	0
		Euploides	0	0
5	38	N° ovocitos recuperados	6	4
		MII	6	4
		N° fecundados	6 (100%)	2 (50%)
		N° biopsiados 72 hs.	5 (83,33%)	2 (100%)
		Euploides	0	1 (50%)
6	41	N° ovocitos recuperados	0	0
		N° ovocitos recuperados	3	1
		MII	3	1
7	42	N° fecundados	3 (100%)	1 (100%)
		N° biopsiados 72 hs.	No realiza PGS	No realiza PGS
		Euploides	Sin evaluar	Sin evaluar
			<b>Aspiración fase folicular</b>	<b>Aspiración fase lútea</b>
<b>Cant ovocitos totales</b>			31 (62%)	19 (38%)
<b>Fecundados</b>			27 (87%)	13 (68,4%)
<b>evolutivos 72 hs</b>			22	11
<b>evolutivos 72 ha biopsiados</b>			19	10
<b>Euploides</b>			1 (5,3%)	4 (40,0%)

Solo se transfirieron las pacientes n°1 y n°5 que obtuvieron embriones euploides. Ambas pacientes lograron embarazo. La paciente n°7 no realizó screening pre implantacional y no logró embarazo con la transferencia embrionaria. **DISCUSIÓN Y CONCLUSION:** Los hallazgos de este estudio preliminar muestra la factibilidad de obtener ovocitos competentes en la estimulación ovárica en fase lútea. La estimulación en fase lútea puede ser una nueva alternativa para la recuperación de ovocitos en determinadas pacientes en las cuales puede observarse la formación de embriones euploides en esta fase.

**0-09**

**TRANSFERENCIA DE 2 EMBRIONES EN D3 VS 1 EMBRIÓN EN D5 EN UN PROGRAMA DE OVODONACIÓN**

QUINTEIRO RETAMAR ANDREA, DE CARVALHO PAULA, ORTIZ MAFFEI NOELIA, ESPINAL MILFRA, NODAR FLORENCIA, FISZBAJN GABRIEL

**Introducción:** La transferencia de un único embrión (SET) es una tendencia mundial, de la cual los programas de ovodonación no pueden quedar exentos. Para ello se necesita contar con un buen programa de cultivo a blastocisto, con el objetivo de igualar o mejorar las tasa de embarazo de pacientes que transfieren 1 embrión en dicho estadio vs aquellos que transfieren 2 embriones en estadios previos de evolución.

**Objetivo:** El objetivo de nuestro trabajo es demostrar que la transferencia de 1 embrión en estadio de blastocisto no solo iguala o mejora la tasa de embarazo, sino que además contribuye a disminuir las tasas de embarazo múltiple, frente aquellas pacientes que transfieren 2 embriones en día 3.

**Diseño.** Estudio retrospectivo

**Material y Métodos:** Se analizaron los resultados de las transferencias del programa de ovodonación realizadas en d3 vs d5, de los años 2015 a 2017. Durante este período 1123 pacientes recibieron ovocitos de las cuales 821 (73,10%) pacientes transfirieron embriones en fresco, 222 pacientes realizaron transferencia diferida o PGT (19,77%) y 80 pacientes cancelaron la transferencia por ausencia de embriones transferibles (7,12%). De las 821 pacietnes 145 (17,66%) transfirieron embriones en día 3 y 676 pacientes transfirieron embriones en estadio de blastocisto. Para el desarrollo del trabajo, solo se tuvieron en cuenta aquellas pacientes que hayan realizado la transferencia de 1 embrión en estadio de blastocisto (407 pacientes), a fin de realizar la comparación con aquellas que hayan realizado la transferencia de 2 embriones en día 3.

**Resultados:** En el grupo de pacientes que realizaron la transferencia en D2-3 de evolución, se asignaron un promedio de 5,65 ovocitos por pareja, de los cuales el 75,64% fertilizó normalmente. Se realizó la transferencia de 2 embriones en las 145, lograndose una tasa de embarazo del 51,73%, con una tasa de embarazo evolutivo del 40,69%. De estos el 75,58% fueron embarazos simples y el 25,42% embarazos dobles.

En el grupo de pacientes que realizaron transferencia en estadio de blastocisto, se asignaron un promedio de 9,11 ovocitos por pareja de los cuales el 75,52% fertilizó normalmente. 407 pacientes transfirieron un embrión en estadio de blastocisto, teniendo una tasa de embarazo 60,93%, siendo de estos un 47,91% embarazos evolutivos (p=0.055). En este caso, el porcentaje de embarazos simples fue de un 98,46% vs 1,53% de embarazos dobles. (p=<0.0000001)

**Conclusión:** Lograr un niño sano en casa debería ser nuestra prioridad. Es por eso que decidir la transferencia de un solo embrión en estadio de blastocisto, es el mejor camino para lograrlo. De esta manera no solo mejora la probabilidad de embarazo sino que además permite disminuir el riesgo de un embarazo múltiple, y así los tratamientos de ovodonación continúan siendo los más efectivos con la menor cantidad de riesgos hacia la descendencia.

**0-10**

**EN BÚSCA DEL EMBRIÓN EUPLOIDE: ¿CUÁNTOS OVOCITOS MADUROS SE NECESITAN?**

MIGUENS MARIANA, COSCIA ANDREA, FRANCO MARIA, LORENZI DANIELA, BILINSKI MELINA, PAPIER SERGIO

CEGYR (Centro de estudios en genética y reproducción)

OBJETIVO: Determinar el número de ovocitos maduros (MI) necesarios para obtener, al menos, un embrión euploide teniendo en cuenta la edad de la mujer en tratamientos con ovocitos propios y en tratamientos de ovodonación.

DISEÑO: Estudio retrospectivo, observacional y transversal con revisión de historias clínicas de abril de 2016 a mayo de 2018.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se incluyeron todos los pacientes (190 casos) que realizaron ciclos de test genético preimplantatorio para aneuploidias entre abril-2016 a mayo-2018. El análisis del material genético, obtenido por biopsia de trofoectodermo de embriones en estadio de blastocisto, se realizó mediante Next Generation Secuencing (NGS). Se dividieron las pacientes en diferentes grupos de edad (<35 años, 35-37 años, 38-40 años y >40 años) y Ovodonación. Las variables analizadas fueron: Número de ovocitos MI obtenidos, Tasa de blastulación y promedio de embriones euploides mediante ANOVA.

RESULTADOS: Los resultados obtenidos se observan en la siguiente tabla:

Categoría	Casos	Promedio MI	Tasa blastulación	Promedio embriones euploides	MI requeridos para un blastocisto euploide
<35	18	13,28	4,5	1,89	7,02 (CI95%:4.08-9.03)*
35-37	33	9,42	3,27	1,15	8.19 (CI95%:6.59-10.07)*
38-40	55	8,15	3,09	0,53	15,38 (CI95%:14.16-16.75)*
>40	44	8,18	2,27	0,29	28,2 (CI95%:26.83-29.6)*
Ovodonación	40	12,9	5,43	2,7	4,77 (CI95%:3.33-5.65)*

\*p< 0.05

CONCLUSION: Los resultados demuestran que en nuestra Institución el número promedio de ovocitos necesario para obtener un blastocisto cromosómicamente normal mediante NGS es de 8 en pacientes menores de 38 años. Sin embargo, éste número es mucho mayor en pacientes por encima de esta edad. En los casos de ovodonación el número mínimo de ovocitos MI necesarios para obtener un blastocisto euploide es de aproximadamente 5 ovocitos. Este dato resulta de utilidad para el manejo del programa de ovodonación.

Es de suma importancia conocer los resultados propios, no solo en el marco del estudio genético preimplantatorio sino como herramienta de asesoramiento para aquellas pacientes que congelan ovocitos para posponer la maternidad.

**0-11**

**UTILIZACIÓN DEL ESQUEMA DE DOBLE ESTIMULACIÓN OVÁRICA EN PACIENTES CON MAL PRONÓSTICO REPRODUCTIVO**

GNOCCI DIEGO, SOBERÓN MARÍA VICTORIA, TESSARI GRACIANO, CATTANEO ANTONIO, IRIGOYEN MARCELA, TESSARI LAUTARO

Fertilidad de San Isidro

Objetivo: Evaluar en esquemas de estimulación doble parámetros de pronóstico reproductivo como número de ovocitos maduros recuperados (M2), número de ovocitos fertilizados (2pn), número de embriones obtenidos, transferencia embrionaria y resultado de la misma.

Diseño: Estudio descriptivo

Materiales y Métodos: Se incorporaron al esquema de estimulación 5 pacientes baja respondedoras, con 2 o más tratamientos previos de alta

complejidad realizados y resultado negativo. Se utilizó el esquema de estimulación doble en el mismo ciclo. La dosis utilizada, descrita por Filippo Ubaldi, fue de 300 UI de FSHr y 75 UI de LHr desde el segundo día del ciclo con antagonistas de GnRH desde que el tamaño folicular alcanza 14 mm. La descarga se realizó con 3 ó más folículos de 17 mm con agonistas de GnRH (0.2 mg triptoreline). Luego de 5 días de la aspiración folicular se comenzó con el mismo esquema de estimulación en forma idéntica hasta la segunda aspiración folicular. En todos los casos, los ovocitos fueron inseminados por técnica de fertilización in vitro (FIV). La evaluación embrionaria se realizó según criterio de Gardner. Las transferencias de los ciclos fueron diferidas. La preparación endometrial para transferencia de embriones criopreservados fue ciclo natural. Todos los embriones fueron vitrificados y desvitrificados por método Cryotop, y se realizó assisted hatching con método mecánico a cada uno de ellos.

Resultados: Luego de realizado el esquema de estimulación descrito se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 1 Comparación sumatoria de ciclos estimulados previos (CP) vs protocolo de estimulación doble (DS) para cada paciente. (##) Se describe estadio del embrión al momento de transferencia. (\*) Los embriones se desvitrificaron en estadio de ET y se cultivaron hasta el estadio de blastocisto o día 5, obteniéndose 4 blastocistos. (\*\*) Se transfirieron embriones de ciclo estimulado anteriores, junto a los obtenidos por DS. (\*\*\*)Embriones de día 2. (BeE: Blastocisto en expansión; BHing: Blastocisto eclosionando; BT: Blastocisto temprano; ET: Embrión temprano; MC: Mórula compacta; Mór.: Mórula)

Paciente	1		2		3		4		5		
	Edad=40 DS	Edad=39 Σ CP=3	Edad=42 DS	Edad=41 Σ CP=3	Edad=41 DS	Edad=40 Σ CP=2	Edad=41 DS	Edad=40/41 Σ CP=3	Edad=40 DS	Edad= 39/40 Σ CP=2	
N° Ovocitos totales	5	8	1	3	5	4	7	9	14	3	
N° Ovocitos M2	5	4	1	2	5	4	2	4	9	2	
Porcentaje de Fertilización (%)	100	100	100	100	100	100	50	83,6	77,5	100	
Embriones obtenidos	ET (Día 3)	1 x 8-2-4	1 x 7-2-4/ 1 x 4-2-4	1 x 7-2-3	1 x 6-2-3/ 1 x 7-2-3	3 x 8-2-4 1 x 7-2-3(*)	1 x 8-2-4 + 1 x 6-2-4/ 1 x 4-2-4	1 x 4-2-4	1 x 4-2-4	---	1 x 3-2-4/ 1 x 6-2-4 (***)
	Bl. o Mór. (Día 5)	1 x BT(AB) 2 x MC (A)	---	---	---	---	---	---	---	1 x BeE.>50%(AA) 1 x BT (AB) 2 x BT (AA)	---
Embriones Transferidos (##)	En Fresco(#1)	---	1 x 4-2-4	---	1 x 7-2-3	---	1 x 4-2-4	---	1 x 4-2-4	---	1 x 3-2-4 (***)
	En Fresco(#2)	---	---	---	---	---	1 x 8-2-4 + 1 x 6-2-4	---	---	---	1 x 6-2-4 (***)
	Diferida (#1)	1 x 9-2-4 1 x MC (A) (**)	---	1 x 7-2-3 1 x 6-2-3 (**)	---	2 x BE (AA) (*)	---	1 x 5-2-4	---	2 x BE (AA)	---
	Diferida (#2)	---	---	---	---	---	---	---	---	1 x BHing (AA) 1 x BE (AA)	---
Embarazo	No	No	No	No	Sí	No/ No	No	No	No/ Sí	No/ No	
Evolución	---	---	---	---	1 saco	---	---	---	No/ 2 sacos	---	
Embriones remanentes	1 x BT(AB) 2 x MC (A)	No	No	No	2 x BHing (AA) (*)	No	No	No	No	No	

Conclusiones: La baja respuesta ovocitaria en tratamientos de alta complejidad es bastante frecuente en nuestra población e impacta negativamente sobre la tasa de embarazo. Esta técnica de doble estimulación en un mismo ciclo permite obtener mayor cantidad de óvulos en corto tiempo y la posibilidad de tener un embrión viable para conseguir el embarazo. También tiene utilidad en criopreservación de óvulos en pacientes oncológicas acortando el tiempo para continuar con su tratamiento. Faltan estudios prospectivos randomizados para demostrar su utilidad en este tipo de pacientes.

## 0-12

### BLASTOCITOS VITRIFICADOS EN DÍA 5 Y 6 TIENEN EL MISMO POTENCIAL IMPLANTATORIO EN CICLOS DIFERIDOS EN PACIENTES DE IGUAL EDAD

TORRES MONSERRAT VALENTINA<sup>1</sup>, MORENO IGNACIO<sup>1</sup>, DELPICCOLO MARÍA CECILIA<sup>1</sup>, CARIZZA NICOLÁS<sup>1</sup>, LEIVA TRINIDAD<sup>1</sup>, CARIZZA CARLOS<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Fertya Medicina Reproductiva de Grupo Oroño

Objetivo: Comparar la tasa de implantación en ciclos diferidos de embriones vitrificados en día 5 y 6 de desarrollo en pacientes dentro del mismo grupo de edad. Diseño: Estudio retrospectivo de los ciclos diferidos donde se transfirieron blastocitos de día 5 o 6 entre octubre 2015 y marzo 2018. Las pacientes fueron divididas en cuatro grupos según edades: Grupo 1 (G1) 112 pacientes <35 años, Grupo 2 (G2) 101 pacientes de 35-39 años, Grupos 3 (G3) 35 pacientes  $\geq$  40 años, y Grupo 4 (G4) 95 receptoras de óvulos donados. Se compararon las tasas de implantación entre y dentro de los cuatro grupos. Materiales y métodos: Los embriones obtenidos en ciclos en fresco de fertilización asistida se cultivaron hasta el día cinco o seis de desarrollo en incubadoras K-System® G-185 o ThermoFisher Scientific® Heracell 150i con medios de cultivo Sage® o Global Total®. Los blastocitos se vitrificaron y desvitrificaron con medios Kitazato®. Sólo se vitrificaron blastocitos que presentaban una expansión del blastocelulo  $>50\%$  del embrión. El análisis estadístico se realizó con la prueba de independencia Chi cuadrado y la prueba exacta de Fisher para comparar los resultados de los cuatro grupos de edades y entre los dos días de vitrificación. Cuando las pruebas de independencia fueron significativas, se informaron los odds ratios con sus IC (80%) para cada variable.

Resultados: Las tasas de implantación mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los cuatro grupos de edad cuando se transfirieron blastocitos de día cinco y seis ( $p=0.0127$  y  $p=0.0467$ ). La odds ratio entre los diferentes grupos de edad para las tasas de implantación obtenidas al transferir los blastocitos del quinto día fueron: con G1 como grupo de referencia, OR=0.5126 (0.3428-0.7611) para G2; OR=0.3228 (0.1437-0.659) para G3; y OR=1.1883 (0.8076-1.7489) para G4. Similares resultados se obtuvieron al transferir blastocitos criopreservados en día 6 de desarrollo: con G1 como grupo de referencia, OR=0.675 (0.2969-1.5074) para G2; OR=0.6136 (0.2146-1.6125) para G3; y OR=3.5357 (1.5702-8.2269) para G4. Al comparar los resultados entre los dos días de vitrificación embrionaria dentro del mismo grupo de edad no hubo diferencia estadísticamente significativa para la tasa de implantación:  $p=0.4773$  para G1;  $p=0.9552$  para G2;  $p=0.9999$  para G3;  $p=0.3295$  para G4.

Tabla: Grupos de pacientes estudiados.

Edad	Ciclo Desvitri Día 5	Ciclo Desvitri Día 6
	Tasa Implantación	Tasa Implantación
<35 años	40,8% (42/103)	30,8% (8/26)
35-39 años	26,1% (24/92)	23,1% (6/26)
$\geq$ 40 años	18,2% (4/22)	21,4% (3/14)
Receptoras	45,0% (36/80)	61,1% (11/18)

Conclusiones: Los blastocitos vitrificados en los días 5 y 6 de desarrollo tienen la misma tasa de implantación cuando se transfieren en ciclos diferidos en mujeres dentro del mismo grupo de edad. El potencial de implantación de los blastocitos vitrificados en día 5 y 6 disminuye a medida que aumenta la edad materna.

## 0-13

### ¿ES ÚTIL LA CUANTIFICACIÓN DEL ADN MITOCONDRIAL COMO BIOMARCADOR PARA LA SELECCIÓN ENTRE EMBRIONES EUPLOIDES?

BILINSKI MELINA<sup>1</sup>, LORENZI DANIELA<sup>1</sup>, FABBRO MÓNICA<sup>1</sup>, ROVERA VALERIA<sup>2</sup>, GALAIN MICAELA<sup>1</sup>, NODAR FLORENCIA<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Novagen, <sup>2</sup>CEGYR

Objetivo: Existen trabajos científicos controvertidos sobre la relevancia clínica de la cuantificación del ADN mitocondrial (ADNm) en blastocistos humanos. Estudios previos no han encontrado una asociación entre este parámetro y la ploidía embrionaria, la edad materna o la tasa embarazo. Sin embargo, algunos laboratorios basados en su evidencia, aplican esta cuantificación como un biomarcador de potencial implantatorio para seleccionar entre embriones euploides. Se han utilizado diferentes metodologías para la medición de ADNmt, principalmente secuenciación masiva (NGS) y reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR), con resultados concordantes entre ellas. El objetivo de este estudio fue evaluar si existe una relación entre la cantidad de ADNmt de blastocistos humanos y la edad materna, la ploidía embrionaria y la tasa de embarazo, estimada mediante datos de NGS.

Diseño: Estudio de cohorte retrospectivo.

Materiales y métodos: Se incluyeron 757 biopsias de blastocistos obtenidas de 254 parejas de estudios genéticos preimplantatorios para aneuploidías (PGT-A), llevados a cabo en un único centro entre abril de 2016 y junio de 2018. 233 blastocistos con mosaicismo del 20%-80%, aneuploidía segmentaria, tetrasomía o triploidía se excluyeron de este análisis. Las biopsias de trofoectodermo fueron evaluadas por NGS (Veriseq-Illumina). Para cada muestra, las lecturas se alinearon con el genoma de referencia humano (hg19) y el genoma de ADNmt, por separado. El número de lecturas asignadas al ADNmt se dividió por el número de lecturas asignadas al ADN nuclear para normalizar la variabilidad técnica. Los valores resultantes se ajustaron matemáticamente mediante factores de corrección (reportados por otros investigadores) para la aneuploidía (monosomías o trisomías completas) y el sexo del embrión. Se aplicó el estadístico T-test para analizar la cantidad de ADNmt respecto a la ploidía embrionaria, la edad materna y tasa de embarazo clínico.

Resultados: Se incluyeron 524 blastocistos, 285 (54,4%) euploides y 239 (45,6%) aneuploides. La cantidad de ADNmt fue significativamente mayor en los embriones aneuploides ( $P=0,0001$ ). La edad materna promedio fue de 35,1 años (20-46). Respecto a esta variable, la cantidad de ADNmt no fue estadísticamente diferente entre los embriones euploides de las mujeres más jóvenes (<38 años,  $n=226$ ) y las mujeres mayores ( $\geq$ 38 años,  $n=58$ ) ( $P=0.4320$ ). Durante el período mencionado, se realizaron 79 transferencias diferidas de embriones únicos, resultando en 36 embarazos evolutivos (45,6%). La cantidad de ADNmt de los blastocistos euploides que resultaron en embarazo evolutivo no fue significativamente diferente de aquellos que no lo lograron ( $P=0.3114$ ).

Conclusiones: La cantidad de ADNmt únicamente se asoció estadísticamente con la aneuploidía, lo que sugiere que altos niveles de ADNmt puede impactar negativamente y dar como resultado una segregación cromosómica inadecuada. Este estudio aporta evidencia de que la cuantificación del ADNmt en blastocistos humanos no tendría un impacto clínico en la tasa de embarazo, por lo que se concluye que el ADNmt no sería un biomarcador adecuado para la selección entre embriones euploides.

**0-14**

**TASAS DE ANEUPLOIDÍA POR CROMOSOMA A NIVEL EMBRIONARIO A PARTIR DE ESTUDIOS DE PGT-A**

LORENZI DANIELA<sup>1</sup>, MELINA BILINSKI<sup>1</sup>, MENAZZI SEBASTIÁN<sup>1</sup>, GLUJOVSKY DEMIÁN<sup>2</sup>, NODAR FLORENCIA<sup>1,2</sup>, PAPIER SERGIO<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Novagen, <sup>2</sup>CEGYR

**Objetivo:** El objetivo de este estudio fue analizar la contribución de cada cromosoma a la aneuploidía embrionaria y si dicha contribución se asocia con la edad materna, a partir de estudios genéticos preimplantatorios para aneuploidías (PGT-A).

**Diseño:** Estudio de cohorte retrospectivo.

**Materiales y métodos:** 353 ciclos de PGT-A se llevaron a cabo en un centro privado de Buenos Aires, entre los años 2013 y 2018. Se amplificó el ADN de 1199 biopsias de blastocistos (SurePlex-Illumina) y se analizaron por array de CGH o secuenciación masiva (NGS) (Illumina). Los embriones fueron clasificados en euploides o aneuploides. Se determinó la tasa de aneuploidía para cada cromosoma dividiendo la cantidad de alteraciones detectadas para cada cromosoma por el total de embriones estudiados. Se diferenció luego la proporción de aneuploidías por cada cromosoma según la edad materna (<=37 años, 38-40 años y >40 años). Para el análisis estadístico se utilizó la prueba exacta de Fisher.

**Resultados:** Se analizaron 1130 blastocistos (excluyendo embriones no amplificados, con ADN degradado y los no estudiados por decisión del paciente). De éstos, 44% (497) fueron normales, 39% (440) aneuploides y el 17% (192) presentaron mosaicismos cromosómicos (20-80% por NGS).

Se excluyeron del análisis los embriones con mosaicismo y los embriones triploides (15) y con aneuploidías segmentarias (3). Finalmente, 919 embriones fueron considerados para este análisis. Los cromosomas que presentaron mayor tasa de aneuploidía (trisomía o monosomía) fueron: cromosomas 13, 15, 16, 18, 19, 20, 21 y 22 (Tabla I). Estos cromosomas abarcaron el 61,3% del total de las alteraciones detectadas. La tasa de aneuploidía para el grupo de edad materna <=37 años fue del 29,9%, en el grupo de 38-40 años de 62,2% (p=0.00001), y de 79,1% en >40 años (p=0.0004), aumentado de manera significativa tanto trisomías como monosomías. Algunos cromosomas fueron más susceptibles a presentar aneuploidías con el aumento de la edad materna (Tabla II). En edad materna avanzada, los cromosomas con mayor prevalencia de alteraciones fueron, en orden decreciente, el 22, 16, 21, 15, 19, 13 y 20. Este hallazgo coincide parcialmente con informes previos sobre las aneuploidías más frecuentes presentes en material de aborto espontáneo.

Se calculó la probabilidad de embarazo con un niño afectado para las trisomías autosómicas más frecuentes compatibles con la vida extrauterina: 0,4% para trisomía 13, 0,65% para trisomía 18 y 0,97% para trisomía 21. Conclusiones: Las tasas de aneuploidías presentes en embriones sometidos a PGT-A aumentaron con la edad materna, y si bien este fenómeno se observó para todos los cromosomas, algunos de ellos fueron más susceptibles al riesgo. Los resultados fueron concordantes con lo reportado por otros investigadores. Este tipo de análisis permite entender el tipo de alteraciones presentes a nivel embrionario. Además, se resalta la importancia de realizar PGT-A en parejas con indicación del estudio, especialmente en caso de edad materna, con el fin de mejorar los resultados reproductivos y disminuir los riesgos de aborto y de un nacido afectado.

Tabla I: Tasa de aneuploidía de cada cromosoma.

Cromosoma	Monosomía	Trisomía	Total
1	1 0,1%	7 0,8%	8 0,9%
2	8 0,9%	11 1,2%	19 2,1%
3	4 0,4%	6 0,7%	10 1,1%
4	19 2,1%	6 0,7%	25 2,7%
5	8 0,9%	10 1,1%	18 2,0%
6	1 0,1%	9 1,0%	10 1,1%
7	15 1,6%	8 0,9%	23 2,5%
8	8 0,9%	11 1,2%	19 2,1%
9	3 0,3%	9 1,0%	12 1,3%
10	6 0,7%	4 0,4%	10 1,1%
11	11 1,2%	11 1,2%	22 2,4%
12	10 1,1%	9 1,0%	19 2,1%
13	19 2,1%	17 1,8%	36 3,9%
14	11 1,2%	11 1,2%	22 2,4%
15	14 1,5%	34 3,7%	48 5,2%
16	35 3,8%	40 4,4%	75 8,2%
17	5 0,5%	9 1,0%	14 1,5%
18	22 2,4%	11 1,2%	33 3,6%
19	13 1,4%	18 2,0%	31 3,4%
20	14 1,5%	17 1,8%	31 3,4%
21	33 3,6%	27 2,9%	60 6,5%
22	35 3,8%	52 5,7%	87 9,5%
X/Y			22 2,4%

Tabla II: Aumento de la tasa de aneuploidía por cada cromosoma según edad materna.

Cromosoma	Hasta 37 años	38 - 40 años	> 40 años
1	2 0,4%	4 1,7%	2 1,2%
2	7 1,4%	7 2,9%	5 3,1%
3	4 0,8%	3 1,2%	3 1,9%
4	11 2,1%	8 3,3%	6 3,7%
5	6 1,2%	6 2,5%	6 3,7%
6	2 0,4%	5 2,1%	3 1,9%
7	8 1,6%	7 2,9%	8 4,9%
8	5 1,0%	8 3,3%	6 3,7%
9	6 1,2%	2 0,8%	4 2,5%
10	2 0,4%	3 1,2%	5 3,1%
11	6 1,2%	7 2,9%	9 5,6%
12	3 0,6%	6 2,5%	10 6,2%
13	11 2,1%	13 5,4%	12 7,4%
14	7 1,4%	12 5,0%	3 1,9%
15	10 1,9%	17 7,1%	21 13,0%
16	24 4,7%	28 11,6%	23 14,2%
17	6 1,2%	4 1,7%	4 2,5%
18	9 1,7%	15 6,2%	9 5,6%
19	7 1,4%	10 4,1%	14 8,6%
20	9 1,7%	10 4,1%	12 7,4%
21	17 3,3%	21 8,7%	22 13,6%
22	22 4,3%	32 13,3%	33 20,4%
X/Y	8 1,6%	8 3,3%	6 3,7%
Total de blastocistos estudiados:	516	241	162



0-15

**FRAGMENTACIÓN DEL ADN ESPERMÁTICO: FACTORES QUE IMPORTAN MÁS DE LO ESPERADO**TVRDÁ EVA<sup>1</sup>, ARROYO FRANCISCA<sup>2</sup>, DURACKA MICHAL<sup>1</sup>,  
LÓPEZ-FERNÁNDEZ CARMEN<sup>2</sup>, GOSÁLVEZ JAIME<sup>2</sup><sup>1</sup>Departamento de Fisiología Animal, Universidad Eslovaca de Agricultura, Nitra, Eslovaquia, <sup>2</sup>Unidad de Genética, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España

Objetivo: Nuestro objetivo fue analizar los efectos de la concentración de los espermatozoides y del plasma seminal al daño registrado en el ADN de espermatozoides.

Diseño: Se obtuvieron muestras de semen de 30 donantes con un espermograma normal. Tras centrifugación, parte de la muestra de espermatozoides se resuspendió en el propio plasma seminal, mientras que la otra se resuspendió en un volumen equivalente de PBS. A su vez, la concentración de los espermatozoides se ajustó a 100, 50 y 25 M/mL.

Materiales y Métodos: Se estudiaron los valores de fragmentación del ADN espermático (sperm DNA fragmentation - SDF) en su nivel basal, así como los valores de SDF tras incubación de las muestras a 37°C durante 2, 6 y 24 h usando el Test de dispersión de la cromatina espermática Dyn-Halosperm®. También se calcularon las velocidades de degradación del ADN por tramos de incubación seleccionados. Las evaluaciones estadísticas se basaron en análisis comparativo Long Rank-Matel-Cox, Chi-cuadrado, la prueba de Dunnett y correlaciones de Pearson.

Resultados: La fragmentación del ADN difirió significativamente con respecto a la dilución y el tiempo (todos los valores p fueron menores que 0.001). La fragmentación del ADN en muestras de semen ajustadas a 100 M/mL fue aproximadamente 1.5 veces mayor cuando se comparó con muestras que contenían 50 M/mL y 2.16 veces más alta en comparación con muestras ajustadas a 25 M/mL tras la incubación de 2 h. El hallazgo general fue que las concentraciones más bajas de espermatozoides dieron como resultado una tasa más lenta de fragmentación del ADN. Mientras tanto, recordamos un aumento estadísticamente significativo de SDF en todos los grupos de plasma seminal en comparación con el grupo de PBS después de todos tramos de tiempo (p 0.000). Con respecto a la longevidad del ADN espermático, la pérdida más dramática de la calidad del ADN espermático ocurrió durante las primeras 2 h de incubación. Curiosamente, se encontró que la tasa de SDF (tSDF) variaba significativamente entre individuos, lo que se confirmó con correlaciones significativas en todos los intervalos temporales de tSDF (p 0.000).

Conclusiones: Co-incubación de muestras de semen en plasma seminal tras la eyaculación aumenta el daño iatrogénico de los espermatozoides. Al mismo tiempo, la intensidad de este daño está significativamente interrelacionada con la concentración de los espermatozoides. Para fines de reproducción asistida, el plasma seminal debe eliminarse rápidamente tras la colección de muestra. Además, la incubación de espermatozoides debe realizarse siguiendo un ajuste de la concentración por debajo de 25 M/mL para evitar una mayor susceptibilidad de la molécula de ADN espermático hacia la fragmentación.

El presente trabajo se financió con el proyecto del Programa Retos RTC-2016-4733-1 y con el proyecto APVV-15-0544.

0-16

**PRIMER SCREENING DE PORTADORES DE ENFERMEDADES RECESIVAS MEDIANTE NGS REALIZADO ÍNTEGRAMENTE EN ARGENTINA**FABBRO MÓNICA, LORENZI DANIELA, BILINSKI MELINA, MENAZZI  
SEBASTIÁN, GALAIN MICAELA, FERNÁNDEZ CECILIA

Novagen

Objetivo: Tradicionalmente, a las parejas con riesgo aumentado de tener hijos afectados con una enfermedad recesiva se les ofrece la realización de estudios en los que se analiza un gen a la vez en búsqueda de mutaciones. El avance de las tecnologías de secuenciación masiva (Next Generation Sequencing, NGS) ha permitido el desarrollo de paneles amplios para el screening de portadores (SP) en los que se evalúan múltiples genes simultáneamente, lo que acorta tiempos y permite mejorar la estimación de los riesgos y considerar otras opciones reproductivas de ser necesario. El objetivo de este trabajo fue desarrollar e implementar localmente un panel de SP para enfermedades monogénicas recesivas (autosómicas y ligadas al cromosoma X) mediante el uso de NGS.

Diseño: Estudio de cohorte retrospectivo.

Materiales y Métodos: Se aisló ADN de sangre periférica de 120 pacientes. Se llevó a cabo la secuenciación masiva dirigida a las regiones codificantes de 483 genes (asociados con 688 enfermedades recesivas) utilizando un Nextseq 550. Los datos resultantes fueron analizados mediante un algoritmo bioinformático diseñado en la institución, que permitió la búsqueda e identificación de variantes en los genes estudiados. Para la interpretación de las variantes se utilizaron las guías de la American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) y criterios institucionales. El informe de las variantes se realizó según la nomenclatura de la Human Genome Variation Society (HGVS).

En paralelo, para el estudio de Atrofia Muscular Espinal y Fragilidad del Cromosoma X se aplicaron las técnicas de MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) y TP-PCR (Triplet repeat Primed PCR) respectivamente. Todos los pacientes contaron con asesoramiento genético previo y posterior al test.

Resultados: La secuenciación generó un promedio de 10.5 millones de secuencias por paciente. La cobertura promedio fue de 285X por paciente, con un 98,6% de los genes estudiados cubiertos a más de 20X. Cada paciente obtuvo un promedio de 4742 variantes. Sin embargo, luego de aplicar filtros bioinformáticos y de la interpretación y clasificación de las variantes se lograron identificar 83 variantes patogénicas/probablemente patogénicas. Un tercio de los pacientes resultaron ser portadores de al menos una variante patogénica/probablemente patogénica. Las enfermedades con mayor prevalencia fueron Fibrosis quística, Fiebre Mediterránea Familiar y Deficiencia de Biotinidasa (Tabla I).

Conclusiones: Se logró implementar un test íntegramente realizado en nuestro laboratorio, lo que posibilita controlar cada etapa del proceso. La calidad de los datos obtenidos fue buena lo que permitió continuar con los análisis posteriores. Mediante el algoritmo bioinformático desarrollado se lograron analizar los datos y arribar a las variantes de cada paciente, las cuales fueron interpretadas con los criterios previamente establecidos. El uso de tecnologías de NGS permite la valoración simultánea y rápida de cientos de genes, y es una herramienta eficaz para la identificación de individuos y parejas portadores de enfermedades recesivas. De este modo, permite optimizar el asesoramiento genético y la toma de decisiones reproductivas informadas.

Tabla I: Enfermedades con mayor prevalencia

Enfermedad	Gen	Prevalencia	Variantes Patogénicas/probablemente patogénicas
Fibrosis Quística	CFTR	1:12	c.1210-11T>G
			c.1521_1523delCTT
			c.1647T>G
			c.1727G>C
			c.2554dupT
			c.3484C>T
Fiebre Mediterránea Familiar	MEFV	1:17	c.948delT
			c.1105C>T
			c.1223G>A
			c.2084A>G
Deficiencia de Biotinidasa	BTD	1:30	c.2230G>T
			c.1330G>C
			c.1629C>A
Sordera No Síndrómica y Pérdida de audición asociada a GJB2	GJB2	1:30	c.109G>A
			c.167delT
			c.334_335delAA
Displasia odontoóncodérmica	WNT10A	1:30	c.35delG
			c.682T>A
Tirosinemia, tipo I	FAH	1:40	c.1021C>T
Citrulinemia, tipo I	ASS1	1:40	c.554-1G>T
Síndrome de hiperinmunoglobulinemia D	MVK	1:40	c.323G>T
			c.1129G>A
Síndrome autoinmune poliglandular, tipo I	AIRE	1:60	c.803T>C
			c.1322C>T
Síndrome de Usher	CDH23	1:60	c.769C>T
			c.3178C>T
Deficiencia de carnitina palmitoiltransferasa II	CPT2	1:60	c.3625A>G
			c.338C>T
Deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa	G6PD	1:60	c.466A>G
			c.653C>T

**0-17**

**PROTOCOLO PARA TESE-ICSI EN PACIENTES CON AZOOSPERMIA NO OBSTRUCTIVA: RESULTADOS REPRODUCTIVOS CON ESPERMATOZOIDES TESTICULARES FRESCOS O PREVIAMENTE CRIOPRESERVADOS**

OSÉS R, ZAPPACOSTA PÍA, MEDEL P, GARCÍA MB, VIOLA J, VALCÁRCCEL A.

*Instituto de Ginecología y Fertilidad (IFER), Buenos Aires, Argentina*

Objetivo: Comparar los resultados reproductivos obtenidos con TESE-ICSI en parejas con azoospermia no obstructiva (AZNO) utilizando espermatozoides frescos o criopreservados con anterioridad.

Diseño: Estudio clínico retrospectivo.

Material y Métodos: Desde noviembre 1995 a junio 2017 identificamos 399 pacientes con el diagnóstico histológico de AZNO y que realizaron su primera biopsia testicular con intento de recuperación espermática. Estos

procedimientos fueron realizados en el día de la captación ovocitaria de la mujer o por motivos diagnósticos y eventual criopreservación. Cuando la recuperación espermática fue exitosa, los espermatozoides fueron utilizados inmediatamente para inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) (Grupo 1, TESE sincronizado) o fueron criopreservados para futuros ciclos de ICSI (Grupo 2, TESE asincrónico). Todas las pacientes realizaron hiperestimulación ovárica controlada de manera similar, dependiendo de los protocolos existentes en un período de más de 20 años. Resultados: Pudimos obtener espermatozoides en 239 de los 399 pacientes con el diagnóstico histológico de AZNO (59,9%). Todas las pacientes que contaron con al menos un ovocito para la inyección y que tenían espermatozoides disponibles para ICSI fueron incluidas en el análisis. Ciento cincuenta y cinco pacientes realizaron ICSI con espermatozoides testiculares frescos (Grupo 1) y 112 pacientes realizaron ICSI con espermatozoides previamente criopreservados (Grupo 2). Las características de las pacientes y los resultados están resumidos en la Tabla 1.

Tabla 1. Características y resultados reproductivos en pacientes que realizaron ICSI con espermatozoides testiculares frescos (Grupo 1) o previamente criopreservados (Grupo 2).

	Grupo 1 (N = 155)	Grupo 2 (N = 119)	p
Edad (años)	33,61±6,1	33,68±4,58	0,89
Ovocitos maduros captados (M2)	7±4,44	7,09±4,391	0,86
M2 inseminados	6,69±4,213	6,77±4,067	0,59
Tasa de fertilización (%)	66,78±22,2	68,23±23,1	0,59
Nº de embriones transferidos	2,4±1,2	2,5±1,1	0,49
Tasa de embarazo (%)	29,7 (46/155)	30,2 (36/119)	1
Tasa de recién nacido vivo (%)	18,7 (29/155)	19,32 (23/119)	1
Tasa de aborto (%)	38,8 (14/36)	33,33 (11/23)	0,59

Conclusiones: No hubo diferencias en los resultados reproductivos obtenidos con TESE-ICSI en pacientes con AZNO utilizando espermatozoides testiculares frescos o criopreservados con anterioridad. Todas las biopsias diagnósticas en hombres azoospermicos deberían contemplar la búsqueda inmediata de espermatozoides y su eventual criopreservación.

## 0-18

### DETECCIÓN DE MOLÉCULAS VINCULADAS AL MANTENIMIENTO Y ACTIVACIÓN DE LA RESERVA GERMINAL EN EL OVARIO HUMANO

ALBAMONTE MARIA ITATI<sup>1</sup>, CALABRO LARA YASMIN<sup>1</sup>, ALBAMONTE MIRTA SUSANA<sup>1</sup>, ZUCCARDI LUIS<sup>2</sup>, STELLA INÉS<sup>1,3</sup>, VITULLO ALFREDO DANIEL<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Reproducción humana. Departamento de Investigaciones Biomédicas y Biotecnológicas. Universidad Maimónides. Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>Hospital de niños Dr. Ricardo Gutiérrez. Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>Hospital Rivadavia. Buenos Aires, Argentina.

El objetivo del presente trabajo es la detección de FOXO3 y PTEN, ambos involucrados en el mantenimiento de la reserva germinal y pertenecientes a la vía de señalización PI3K/AKT, en muestras de ovario humano fetal, infantil, puberal y adulto.

Durante el desarrollo del ovario humano, se originan aproximadamente 7 millones de oogonias de las cuales muchas se pierden antes e inmediatamente después del nacimiento. Esta muerte celular continúa y al inicio de la pubertad permanecen unos 400.000 oocitos viables. Considerando dicha pérdida, la función reproductiva femenina requiere del cuidado y uso moderado del pool de folículos primordiales y primarios cuyo desarrollo comienza con la activación de algunos de ellos para iniciar su crecimiento mientras el resto permanece inactivo. Este proceso continuo lleva a una disminución del pool original y para controlarlo existen factores intraováricos estimuladores e inhibitorios. Estudios previos demostraron que la vía de señalización PI3K/AKT es crítica para regular las funciones ováricas. FOXO3 y PTEN son factores implicados en esta vía, los cuales parecen ejercer cierta actividad para mantener el pool de folículos de reserva en estado inactivo.

Se incluyeron un total de 88 muestras de ovarios humanos: fetales (n=23) desde la semana 8 a la 41 de gestación, infantiles y puberales sin patología oncológica (n=13) de 6 a 16 años, infantiles y puberales con patología oncológica extragonadal (n=29) de 7 a 19 años y adultos (n=23) de 29 a 52 años. La detección de FOXO3, pFOXO3 y PTEN fue por inmunohistoquímica, inmunofluorescencia, western blot y real time-PCR.

FOXO3 resultó negativa en el período fetal. En el período infanto-puberal se observó en oocitos de folículos de reserva y en célula granulosa (CG) de folículos avanzados. En la etapa adulta, fue positivo en núcleo oocitario de folículos primordiales y en CG de folículos avanzados. pFOXO3 se detectó en período infanto-puberal en folículos de reserva en citoplasma oocitario. PTEN se observó en el período infanto-puberal en CG de folículos avanzados y en citoplasma oocitario de algunos folículos tempranos. El patrón de expresión de FOXO3, pFOXO3 y PTEN a lo largo del desarrollo ovárico se encuentra sincronizado en espacio y tiempo, y presenta variaciones relacionadas con las características y necesidades de cada período. En el ovario fetal, estos factores aún no se expresan en grandes cantidades teniendo en consideración que este momento se caracteriza por la formación de las estructuras foliculares y el establecimiento y determinación del pool de reserva germinal. Por lo que se evitaría una activación de dicha masa germinal hasta más cercano al momento del nacimiento. En la vida postnatal, con la activación del eje hormonal y el inicio del reclutamiento cíclico se requiere tanto de mecanismos involucrados en la activación e inhibición folicular para generar reclutamientos iniciales de manera controlada. La presencia de estos tres marcadores en el pool de folículos primordiales de reserva evidenciaría un uso moderado de la reserva germinal ovárica. El presente trabajo otorga conocimientos básicos que permitirán desarrollar un sistema de cultivo folicular in vitro para obtención de oocitos maduros aptos para fecundación.

## 0-19

### RESULTADOS DEL PROGRAMA DE TEST GENÉTICO PREIMPLANTATORIO (PGT) EN UN CENTRO DE REPRODUCCION ASISTIDA

DEMATTEIS ANDREA, HERNÁNDEZ MARIANA, D'AGOSTINO ANAHÍ, FRAUTSCHI CAMILA, PERETTI CONSTANZA, ESTOFAN GUSTAVO

CIGOR - Centro Integral de Ginecología, Obstetricia y Reproducción. Córdoba

Objetivo: analizar los resultados obtenidos durante un programa de PGT en relación a euploidía y tasa de implantación.

Diseño: Estudio retrospectivo realizado entre Octubre 2016 y Abril 2018. Materiales y métodos: Se analizaron genéticamente 122 blastocistos de 46 pacientes que realizaron ICSI-PGT.

Procedimiento de PGT: Se realizó apertura de la zona pelúcida mediante láser el día 3 de cultivo. En día 5 a 7 se realizó biopsia del trofoectodermo (TE) a los blastocistos expandidos y se los vitrificó. Las biopsias fueron enviadas a un laboratorio de referencia para PGT-NGS. Se transfirieron blastocistos euploides en ciclo diferido.

Se analizaron los porcentajes de euploidía de los blastocistos en relación a la edad de las pacientes, día 5 vs 6 de desarrollo y morfología de los blastocistos (considerando TE y masa celular interna, MCI, evaluada al momento de realizar la biopsia según el criterio de Gardner).

Se compararon las tasas de implantación de 25 transferencias de blastocistos euploides de buena morfología con 116 transferencias de blastocisto único desvitrificado sin estudio genético de pacientes de hasta 35 años realizadas durante 2016-2017.

Análisis estadístico: se usaron test de Kruskal Wallis, Chi-cuadrado o Chi-cuadrado para tendencia lineal. Un  $p < 0.05$  se consideró significativo.

Resultados: La tasa de euploidía disminuyó significativamente con la edad (Tabla 1). La euploidía de blastocistos de día 5 vs 6 fue estadísticamente comparable: en pacientes de 30 a 34 años, 64% vs 56%; en pacientes de 35 a 39 años, 44% vs 33%; y en pacientes de 40 años o más, 28% vs 33%. La euploidía de blastocistos AA fue de 75%, de blastocistos AB, BA y BB fue de 39%; y la de blastocistos CA, AC, CB, BC y CC fue de 31% ( $p=0.0207$ ). La euploidía de blastocistos con TE grado A, B y C fue de 65%, 38% y 27% ( $p=0.0335$ ); y con MCI grado A, B y C fue de 47%, 38% y 38% (NS).

Al comparar transferencias de blastocistos euploides vs no estudiados, las tasas de implantación e implantación en curso fueron de 72% vs 46% (p=0,0074), y de 60% y 38% (p=0,0032).

Tabla 1. Resultados del análisis genético de los blastocistos estudiados

PGT*	PGTa - edad de la paciente				
	total PGTa	30-34	35-39	≥40	
pacientes	7	39	10	16	13
Pacientes con ≥1 euploide	71%	64%	70%	63%	62%
blastocistos estudiados	27	95	25	40	30
euploides	33%	39%	56%a	38%b	27% <sup>c</sup>
aneuploides/anormales	67%	51%	32%	50%	67%
mosaicos	0%	9%	12%	13%	0%
no informativos	0%	2%	0%	0%	7%

\*pacientes con enfermedades monogénicas y traslocaciones. abc p=0,027.

Conclusiones: La euploidía de los blastocistos fue estadísticamente diferente según la edad de las pacientes y la calidad del TE. No encontramos relación entre euploidía y calidad de MCI o día de desarrollo 5 o 6. El uso de PGTa aumentó las tasas de implantación de blastocistos de buena morfología.

La aplicación de un programa de PGT puede ayudar a acortar el tiempo de tratamiento, permitiendo la rápida identificación y transferencia de embriones euploides.

**0-20**

**ASOCIACIÓN ENTRE CALIDAD DE BLASTOCISTOS Y RESULTADOS EN TRANSFERENCIA DE UN ÚNICO BLASTOCISTO EN CICLO DIFERIDO**

D'AGOSTINO ANAHÍ BELÉN, FRAUTSCHI CAMILA ANDREA, PERETTI CONSTANZA, ESTOFAN GUSTAVO, HERNÁNDEZ MARIANA Y DEMATTEIS ANDREA

Centro de Ginecología, Obstetricia y Reproducción (CIGOR) - Córdoba

Introducción. En un programa de reproducción, el uso de una clasificación embrionaria se debe validar de modo tal que, siempre que se use, tenga capacidad de predecir los resultados, y que exista acuerdo entre operadores sobre dicha clasificación.

Objetivos. 1) Evaluar la concordancia entre operadores en la clasificación de blastocistos.

2) Determinar el valor predictivo del criterio de clasificación usado, evaluando la relación entre la calidad de blastocistos y la tasa de implantación (%TI).

Diseño. Retrospectivo. No se realizó intervención.

Materiales y métodos. Se analizaron 645 transferencias de blastocistos únicos de día 5 y 6 desvitrificados entre 2015 y abril de 2018, de pacientes hasta 35-38 años y pacientes <35 años o receptoras de ovocitos (donantes <35 años). Se consideró la calidad del blastocisto evaluada al momento de la transferencia, mediante evaluación de expansión, masa celular interna (MCI) y trofoectodermo (TE), según criterio de Gardner complementado con la indicación de tamaño de MCI de ASEBIR.

Se evaluó:

1. la concordancia para clasificación entre 4 operadoras.
2. La proporción de blastocistos de buena calidad obtenidos (3BB o mejor) y %TI en los grupos etarios, según calidad y día de desarrollo.

3. El valor predictivo de la morfología de blastocistos, dado por el orden de implantación descendente de 22 categorías de calidad.

Cuando se pudo, el análisis estadístico se realizó mediante Chi-cuadrado. Un p<0.05 se consideró estadísticamente significativo.

Resultados.

1. La concordancia entre operadores fue de 99%, 83%, 87% y 69% en la evaluación de expansión, MCI, TE y blastocisto completo, respectivamente.
2. No hubo diferencias en la implantación de blastocistos de buena calidad de acuerdo a la edad o el día de desarrollo. Pacientes de más edad tuvieron menos proporción de buenos blastocistos

	35-38 años		< 35 años		p
	N	%	N	%	
% blastocistos de buena calidad obtenidos	274	68%	371	81%	p=0.0002
% Implantación					
Blastocisto de calidad regular	88	18%	71	21%	NS
Blastocisto de buena calidad	186	38%	300	43%	NS
Blastocisto de buena calidad D5	124	39%a	217	43% <sup>c</sup>	
Blastocisto de buena calidad D6	62	35% <sup>b</sup>	83	45% <sup>d</sup>	
	ab NS		cd NS		

3. Al listar las categorías de morfología por implantación descendente, el orden obtenido fue el esperado:

	Blastocistos transferidos	Blastocistos Implantados	%
6AA	3	3	100%
5AA	33	23	70%
6BB	2	1	50%
4AA	124	59	48%
5AB/BA	23	10	43%
3AA	12	5	42%
3AB/BA	25	10	40%
5BB	30	12	40%
4BB	71	24	34%
4AB/BA	87	30	34%
3BB	76	23	30%
4BC/CB	58	16	28%
3BC/CB	27	7	26%
2xx	22	5	23%
5BC/CB	5	1	20%
1XX	16	2	13%
3CC/XX	12	0	0%
4CC/XX	14	0	0%
5CC	2	0	0%
6BC/CB	3	0	0%
6CC	0	0	
6AB/BA	0	0	
Total	645	231	36%

Discusión. Este trabajo nos ha permitido validar el uso de esta clasificación para evaluar la viabilidad de blastocistos descongelados en día 5 y 6, mostrando correlación entre la evaluación de operadores y una relación esperada entre la calidad evaluada y la implantación.

## 0-21

### PUESTA EN MARCHA DE UN PROGRAMA DE CULTIVO A BLASTOCISTO

FRAUTSCHI CAMILA, PERETTI CONSTANZA, D'AGOSTINO ANAHÍ, HERNÁNDEZ MARIANA, ESTOFAN GUSTAVO, DEMATTEIS ANDREA

*CIGOR. Centro Integral de Ginecología, Obstetricia y Reproducción. Córdoba*

Objetivo: evaluar la eficacia del programa de transferencia en día 5, comparando los resultados acumulados obtenidos entre pacientes que realizan cultivo, transferencia y criopreservación de embriones solo hasta día 3, mixto y solo hasta día 5.

Diseño: retrospectivo de cohorte.

Materiales y Métodos: se analizaron 1849 tratamientos realizados entre 2011 y 2017, divididos en tres grupos de acuerdo a día de transferencia y/o vitrificación: Grupo Día 3 (911 ciclos), Grupo Mixto (530 ciclos), y Grupo Día 5 (408 ciclos).

Se comparó edad de las pacientes, cantidad de ovocitos fertilizados clivados, embriones detenidos, viables y transferidos, tasa de embarazo clínico por transferencia y acumulada por ciclo, y tasa de embarazo gemelar.

Se usaron test de Kruskal Wallis, y Chi-cuadrado o Chi-cuadrado para tendencia lineal.  $p < 0.05$  se consideró significativo.

	Día 3	Mixto	Día D5	p
N	911	530	408	
Edad	34.0±3.3a	34.2±3.5b	34.2±3.4c	NS
2pn clivados en día 2	5.9±1.9d	6.1±1.8e	6.0±1.7f	NS
2pn clivados detenidos	23%	36%	43%	<0.0001
Embriones viables obtenidos	4.6±1.6	3.9±1.5	3.4±1.5	<0.0001
Embriones por transferencia	1.89±0.3	1.63±0.4	1.21±0.4	<0.0001
Transferencias realizadas por ciclo	1.91±0.8	1.75±0.9	1.67±0.9	<0.0001
Embarazo clínico por transferencia	30%a	31%b	40%c	ac<0.0001 bc=0.0002
Embarazo clínico acumulado por ciclo	58%d	55%e	65%f	df=0.0204 ef=0.0020
Embarazos gemelares	19%	12%	5%	=0.0002

Resultados: Los grupos Día 3, Mixto y Día 5 tuvieron resultados significativamente diferentes, mostrando porcentajes crecientes de embriones detenidos, promedio decreciente de embriones viables, menos transferencias realizadas por paciente y menos embriones transferidos en cada transferencia.

Entre los grupos D3 y Mixto las tasas de embarazo clínico por transferencia y de embarazo acumulado por ciclo fueron comparables, mientras que las del grupo Día 5 fueron significativamente mayores

La tasa de embarazo múltiple disminuyó significativamente entre los grupos D3, Mixto y D5.

Conclusión: Nuestro programa a blastocisto logró una mejor selección embrionaria, permitiendo transferir el mejor embrión en menor tiempo; disminuyendo las tasas de embarazo múltiple, alcanzando iguales o mayores tasas de embarazo y disminuyendo la cantidad de embriones criopreservados.

## 0-22

### OLEADAS FOLICULARES Y STATUS DE MADURACION OVOCITARIA. DETECCIÓN DE CASPASAS COMO INDICADOR DE APOPTOSIS EN OVOCITOS INMADUROS

MACHADO CARMEN<sup>1</sup>, CASCO AGUSTINA<sup>1</sup>, RÍOS GLENDA<sup>2</sup>, CASANOVA PÍA<sup>1</sup>, BUSCHIAZZO JORDELINA<sup>2</sup>, PENÉ ALICIA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Reproducción y Genética Humana (CRECER), Mar del Plata.

<sup>2</sup>Laboratorio de Biotecnología de la Reproducción, Departamento de Producción Animal, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), EEA Balcarce. (Convenio I+D - INTA de Balcarce y CONICET). Buenos Aires - Argentina

Objetivos. Establecer la relación entre el número de folículos  $\leq 14$ mm, los ovocitos inmaduros en estadio de vesícula germinal (VG) y la duración de la estimulación ovárica controlada (EOC). Determinar el status apoptótico de los ovocitos VG mediante la identificación de caspasas activas. Establecer la relación entre las oleadas foliculares, los ovocitos VG y su viabilidad según la prueba de caspasas.

Diseño: estudio transversal de cohortes, prospectivo.

Materiales y Métodos. Se incluyeron 27 pacientes en tratamiento de fertilidad, de las cuales se obtuvieron 61 ovocitos VG. Periodo de estudio, noviembre de 2017 a mayo de 2018. Análisis estadístico: ANOVA, regresión lineal y Test Chi2.

Resultados. Un aumento del número de folículos  $\leq 14$ mm, se relacionó con un aumento de ovocitos VG recuperados. Cuando la duración de la estimulación ovárica fue  $\leq 9$  o  $\geq 11$  días, la recuperación de ovocitos VG fue mayor con respecto a 10 días. El incremento en el número de folículos de la 2ª oleada, fue directamente proporcional al número ovocitos VG. Se recuperó un número mayor de ovocitos VG de los folículos de la 2ª oleada folicular. Conclusión. La duración de la EOC influyó significativamente en la recuperación de ovocitos VG, mostrando que estimulaciones cortas o prolongadas incrementan la cantidad de ovocitos inmaduros recuperados. El número de ovocitos VG recuperados de los folículos  $\leq 14$ mm de la 2ª oleada aumenta la disponibilidad de ovocitos plausibles de someterse a maduración in vitro.

## 0-23

### RELACIÓN ENTRE CALIDAD EMBRIONARIA EN DÍA 2 Y 3 CON EUPLOIDÍA EN UN PROGRAMA DE TEST GENÉTICO PREIMPLANTATORIO (PGT)

DEMATTEIS ANDREA, HERNÁNDEZ MARIANA, D'AGOSTINO ANAHÍ, FRAUTSCHI CAMILA, PERETTI CONSTANZA Y ESTOFAN GUSTAVO

*CIGOR. Centro Integral de Ginecología, Obstetricia y Reproducción, Córdoba*

Objetivos. Evaluar la relación entre multinucleación de blastómeras en día 2 y morfología embrionaria en día 3 con la euploidia de blastocistos analizados genéticamente, en un programa de ICSI-PGT.

Diseño. Análisis retrospectivo.

Materiales y métodos. Se incluyeron 41 ciclos PGT realizados entre octubre de 2016 y abril de 2018, en pacientes de 27 a 44 años. Se analizaron 180 embriones que en día 2 tuvieron 2-6 células y  $\leq 20\%$  fragmentos,

cultivados individualmente hasta blastocisto expandido para realizar la biopsia de trofoectodermo (TE) y estudio de aneuploidías.

Biopsia de TE: en el día 3 se perforó la zona pelúcida, y a partir del día 5 a 7 se biopsiaron los blastocistos expandidos, retirando 4-6 células, y se vitrificaron. Las biopsias se estudiaron mediante Secuenciación de Nueva Generación (NGS).

Evaluación embrionaria: Según los núcleos visibles en día 2, los embriones se clasificaron como mononucleados, multinucleados o 0-núcleos (alguna blastómera sin núcleos visibles). Según el número de células, fragmentación y simetría en día 3, los embriones se agruparon como calidad buena, regular o mala. La morfología de los blastocistos fue evaluada según Gardner.

Análisis de datos y estadística: Se analizó la proporción de euploidía de los blastocistos estudiados según la edad de las pacientes y la morfología de los blastocistos al momento de la biopsia.

Se analizó la proporción de euploidía de los blastocistos estudiados y la proporción de embriones detenidos no estudiados:

- según la multinucleación en día 2
- según la calidad embrionaria en día 3

Se usaron Chi-cuadrado o Chi-cuadrado para tendencia lineal. Un  $p < 0.05$  se consideró estadísticamente significativo.

Resultados. De los 180 embriones de día 2, 89 se detuvieron en cultivo y 91 fueron biopsiados.

En pacientes de 30-34, 35-39 años y  $\geq 40$  años, se detuvieron 51%, 47% y 55% embriones (NS). La tasa de euploidía de los blastocistos fue de: 58%, 38% y 31% ( $p=0.0499$ ).

De acuerdo a la morfología en día 5, las tasas de euploidía fueron 75%, 39% y 31% para blastocistos AA; AB/BA/BB; y Cx/xC ( $p=0.0207$ )

Entre embriones mononucleados, 0-núcleos y multinucleados en día 2, se detuvieron 35%, 60% y 60% ( $p < 0.0001$ ). La proporción de euploidía en blastocistos provenientes de estos embriones fue 42%, 41% y 40% (NS). Entre embriones de calidad buena, regular y mala, se detuvieron 26%, 56% y 88% ( $p < 0.0001$ ). La proporción de euploidía en blastocistos provenientes de estos embriones fue 41%, 44% y 40% (NS).

Conclusiones. Al analizar un embrión, la multinucleación en día 2 y la morfología en día 3 nos pueden indicar su chance de llegar a blastocisto, pero no tienen correlación con su estatus cromosómico. Un 40-42% de los blastocistos fueron euploides independientemente de los parámetros de día 2 y 3.

Los parámetros de día 2 y 3 no tienen valor en la predicción de euploidía de los blastocistos estudiados mediante NGS.

## 0-24

### MORFOLOGÍA EMBRIONARIA EN ESTADIO DE CLIVAJE: SU VALOR PREDICTIVO EN DÍA 5.

HERNÁNDEZ MARIANA, DEMATTEIS ANDREA, D'AGOSTINO ANAHÍ, FRAUTSCHI CAMILA, PERETTI CONSTANZA, ESTOFAN GUSTAVO

*CIGOR, Centro Integral de Ginecología, Obstetricia y Reproducción, Córdoba*

Objetivo. Analizar la relación entre la morfología embrionaria en días 2 y 3 y el desarrollo, calidad e implantación en estadio de blastocisto.

Materiales y métodos. Se incluyeron 499 ciclos de mujeres de  $\leq 38$  años, y 178 transferencias en fresco de blastocisto realizadas entre noviembre de

2016 y abril de 2018. Se evaluó calidad y desarrollo de 1944 embriones cultivados individualmente hasta blastocisto, que en día 2 presentaron 2-6 células y  $\leq 20\%$  fragmentos.

Los embriones se clasificaron según los parámetros: [1] núcleos visibles en día 2 (mononucleados, multinucleados o sin núcleos visibles); [2] número de células en día 3; [3] morfología en día 3 (buena, regular o mala); [4] desarrollo y expansión (detenidos, expandidos grado 1 a 6), y [5] morfología de blastocisto en día 5 (según Gardner).

Análisis de datos y estadística. Se analizó la relación individual y combinada de los parámetros de día 2-3 con los de día 5. Se analizaron las tasas de implantación (%IR) de acuerdo a calidad en día 5 ( $\geq 4BB$  vs otros) y en día 3 ( $\geq 8$  células y buena calidad mononucleados o sin núcleos vs otros). Se usó Chi-cuadrado para el análisis estadístico.

Resultados. Los parámetros [1], [2] y [3] correlacionaron individualmente con [4] y [5]: la proporción de embriones detenidos, o de blastocistos de mala calidad fue mayor en embriones de mal pronóstico según cada parámetro de día 2-3 ( $p < 0.0001$ ); y el desarrollo hasta blastocisto expandido fue mayor en embriones de buen pronóstico según cada parámetro de día 2-3 ( $p < 0.0001$ ).

La tabla 1 muestra la correlación de parámetros combinados de día 2-3 vs desarrollo y calidad de día 5, de 1565 embriones no multinucleados en día 2 ( $p < 0.0001$ ).

Tabla 1

	Día 2-3: células y calidad de mejor a peor					
	$\geq 8$ buena 1N	$\geq 8$ buena 0N	6-7 buena	$\geq 6$ regular	$\geq 6$ mala	$< 6$ mala
d5 $\geq 4BB$	43%	27%	14%	15%	6%	2%
d5 $\geq 3BB$ y $< 4BB$	11%	11%	9%	10%	5%	4%
d6 $\geq 3BB$	14%	14%	21%	14%	7%	10%
Otros blastocistos	16%	23%	31%	23%	25%	23%
Embriones detenidos	15%	25%	25%	38%	57%	62%

La tabla 2 muestra la relación entre morfología de día 2-3 y día 5 e implantación. La morfología de día 5 distingue dos grupos de blastocistos con diferente %IR (60% vs 32%,  $p=0.0005$ ). Dentro de cada grupo, la morfología de día 2-3 no permite distinguir una mejor o peor implantación (59% vs 65% vs 57%, NS; 35% vs 27% vs 31%, NS).

Tabla 2

	$\geq 4BB$		Otros blastocistos		Total	
	N	%IR	N	%IR	N	%IR
$\geq 8$ buena calidad 1N	68	59%	23	35%	91	53%
$\geq 8$ buena calidad 0N	20	65%	11	27%	31	52%
otros embriones	21	57%	35	31%	56	41%
	109	60%	69	32%	178	49%

Conclusión. La morfología embrionaria de día 2-3 tiene capacidad para predecir desarrollo y calidad de blastocistos. En día 5, la morfología de blastocistos tiene capacidad de predecir implantación, y este valor predictivo no mejora cuando se consideran además los parámetros de día 2-3.