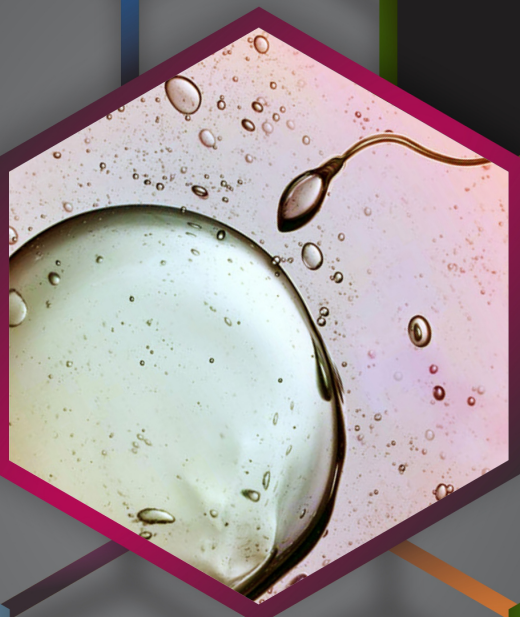


Reproducción

ÓRGANO OFICIAL DE LA SOCIEDAD ARGENTINA DE MEDICINA REPRODUCTIVA

Volumen: 35 / Año 2020 / N° 1

ISSN: 0327-9294



SAMeR
Sociedad Argentina de
Medicina Reproductiva

Editora en Jefe:

PROF. SERPA, IDELMA

MD – PhD – Médica Ginecóloga Especialista en medicina Reproductiva, Grupo Gamma Rosario; Profesora Doctorado en Ciencias Biomédicas, Instituto Universitario Italiano de Rosario (IUNIR).

Editor Honorario:

PROF. TOZZINI, ROBERTO

MD – PhD – Médico cirujano, Especialista en Ginecología y Medicina Reproductiva; Ex – Presidente de SAMeR; Profesor Honorario UNR, Rosario.

Directora Editorial:

LANCUBA, STELLA

MD – PhD- Médica Ginecóloga Especialista en Medicina Reproductiva y Directora de CIMER; Presidente Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva (SAMER).

Secretario Comité Editorial:

FISZBAJN, GABRIEL

MD – Director Asociado y Director Dpto. Medicina Reproductiva, CEGYR; Secretario Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva (SAMeR), Bs. As.

Secretaria Editorial:

KANZEPOLSKY, LAURA

MD – Médica Asociada Especialista en Medicina Reproductiva, Procreatearte; Médica adherente, CEGYR; Buenos Aires, Argentina; Miembro Comisión Directiva Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva (SAMER).

ÁLVAREZ SEDO, CRISTIAN

Lic. – PhD – Director, Laboratorio de Embriología FERTILIA y Director Científico FERTILIA, Tucumán.

AVENDAÑO, CONRADO

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

BELTRAMONE, FERNANDO

MD – Médico Tocoginecólogo, Especialista en Medicina Reproductiva y Cirugía videoasistida, CIGOR; Médico Asociado, Hospital Privado y Hospital Allende; Director Programa Ovodonación, CIGOR, Córdoba.

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 Mini invasiva; Docente del Curso Superior BIANUAL de Medicina Reproductiva, SAMeR.

ELENA, HERNÁN

MD – Especialista en Medicina Reproductiva y Ginecología, Médico Adherente, CEGYR, Bs As; Director Consultorio de Medicina Reproductiva y Ginecología (CMR) y Médico Titular, Servicio de Ginecología Clínica 25 de Mayo, Mar del Plata.

ESTOFÁN, GUSTAVO

MD – Médico Tocoginecólogo Especialista en Medicina Reproductiva y Codirector, CIGOR, Córdoba; Vicepresidente, Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva (SAMeR).

GANZER, LUCIANO

MD – Staff Médico Ginecología y Medicina Reproductiva, CIGOR; Staff Médico Ginecología y Medicina Reproductiva, Hospital Privado Universitario de Córdoba; Instructor Docente, Instituto Universitario de Ciencias Biomédicas de Córdoba (IUCBC). Staff Médico en Instituto Universitario Medicina Reproductiva (IUMER. FCM. UNC), Córdoba.

HERNÁNDEZ, MARIANA

Biol – Especialista en Embriología Clínica y Codirectora Laboratorio de Embriología CIGOR, Córdoba.

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.

MAERO, KARINA

MD – Staff Médico, CIGOR; Instructora Docente II Cátedra Clínica Ginecológica, Facultad de Ciencias Médicas (UNC); Staff Médico Instituto Universitario Medicina Reproductiva (IUMER), Córdoba.

MARTÍNEZ, MARCELO

MD – Médico Especialista en Tocoginecología y Reproducción Humana, Procrearte; Director Médico, Centro Médico Larrea, Bs. As.

NICOTRA, PAMELA

MD – Médica Especialista en Medicina Reproductiva Staff, Cegyr-Eugin; Coordinadora Médica, Novagen; Docente Curso Bianual de Medicina Reproductiva, SAMeR.

PASQUALINI, AGUSTÍN

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

PESCE, ROMINA

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

SAD LARCHER, JOSÉ

MD- Médico Cirujano, Especialista en Ginecología y Obstetricia, Especialista en Medicina Reproductiva, Jefe de Servicio de Ginecología y Obstetricia, Hospital Privado Universitario de Córdoba; Jefe de Sección Esterilidad, Hospital Privado Universitario de Córdoba; Profesor Titular Cátedra de Ginecología del IUCBC (Instituto Universitario de Ciencias Biomédicas de Córdoba).

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 adscripta de la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires.

VIGLIERCHIO, MARÍA INÉS

MD – Médica Especialista en Tocoginecología y Medicina Reproductiva, Coordinadora Departamento de Investigaciones, IFER; Docente adscripta, Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires (UBA), Bs. As.

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.

Como todos los años, renovamos nuestro entusiasmo, compartiendo una vez más las novedades a través de Revista Reproducción.

Desde una perspectiva global, debo mencionar la fructífera labor de numerosos miembros en las diferentes áreas, capitalizando lo mejor de nuestros antecedentes y aportando nuevas actividades para continuar fortaleciendo la Sociedad.

La interacción y los lazos de camaradería logrados en estos años se han consolidado en los diversos grupos de trabajo multidisciplinarios.

Al iniciar la gestión de la Comisión Directiva electa por el período 2019-2020, nos propusimos desarrollar nuevos cambios cualitativos en el área de publicaciones de la sociedad. Para ello, como también en otras áreas, llevamos a cabo cursos de capacitación específicos que fueron cumpliéndose escalonadamente por los integrantes del Comité Editorial. Por todo ello hoy nos complace informar que esos nuevos conocimientos adquiridos por el grupo de trabajo, comienzan a plasmarse en este nuevo número que con mucho gusto presentamos

Sin duda, una de las fortalezas de SAMER es el crecimiento del área de Certificación profesional dado que la temática de certificación y recertificación de especialistas, conjuntamente a la Academia Nacional de Medicina ha adquirido alta valoración por entidades externas.

En tal sentido observamos que la certificación otorgada por SAMER se ha constituido en un requisito básico para el ejercicio profesional en numerosas provincias situación que sin duda retroalimenta el área



Dra. Stella Lancuba
Presidente de SAMER

Participamos activamente de la elaboración de normas de calidad asistencial junto a Ministerios de Salud nacionales y provinciales.

Nuestros comités de acreditaciones continúan optimizando los sistemas de control de calidad de los centros. Otorgando la acreditación plena en el momento actual a 25 de ellos.

Invitamos a todos los centros del país a acercarse a nuestra Sociedad para adquirir herramientas que contribuyan a la mejora continua de calidad de los mismos.

Continuamos realizando las numerosas actividades científicas que nos caracterizan y el Comité científico se encuentra trabajando intensamente en la organización del XIX Congreso Argentino a realizarse el próximo mes de septiembre; han comprometido su participación numerosos y calificados profesionales nacionales y extranjeros.

En relación al desarrollo presente y futuro de nuevos criterios para la elaboración de la revista, ello ha significado la introducción de cambios cualitativos requeridos para su indexación. El equipo editorial se abocó a estudiar la temática y luego de un arduo y valioso esfuerzo, se propuso establecer nuevas pautas con la finalidad de cumplir con los requisitos establecidos para el logro a futuro de dicho objetivo. Este proceso se plasma en la presente publicación y

esperamos que futuras comisiones logren perpetuarlo en el tiempo.

Agradecemos con profundo reconocimiento a todo el equipo editorial por dar los primeros pasos en este nuevo desafío que entendemos no es tarea sencilla.

Sumamos el agradecimiento a todas las personas que enriquecen a SAMER con su trabajo, calidad profesional, compromiso y participación activa en numerosas actividades realizadas proyectándonos a un futuro mejor.

A todos los colegas que con entusiasmo y compromiso continúan transformando nuestra especialidad, los invitamos a publicar experiencias e investigaciones en nuestra revista y a mantener la particular sinergia que nos enriquece, además hacemos extensiva esta invitación participar activamente y presentar trabajos científicos en nuestro próximo Congreso Argentino de Medicina Reproductiva, el cual tendrá lugar en la ciudad de Rosario de 2 a 4 de septiembre 2020.

Valoramos compartir este espacio con todos ustedes, en relación a los aspectos profesionales y académicos, abiertos a escuchar propuestas, recibirlos con la hospitalidad de nuestra nueva sede y fomentar y profundizar de este modo nuestros valiosos vínculos.

GRACIAS A TODOS

Síndrome de Burnout en embriólogos clínicos: Análisis de factores relacionados con su desarrollo y prevalencia.

Burnout syndrome in clinical embryologists: Analysis of factors related to its development and prevalence.

Cullere Marcela¹, Fernanda Raffo¹, Ignacio Moreno¹, Lucía Aguzzi², Nasi Lisandro², Claudio Bisioli¹, Idelma Serpa² e Iván Anduaga Marchetti¹

Filiación institucional de los autores: 1 Sociedad Argentina de Embriólogos Clínicos (SAEC), 2 Instituto Universitario Italiano de Rosario (IUNIR), Rosario, Argentina, Institución donde se realizó el trabajo: Sociedad Argentina de Embriología Clínica (SAEC); Instituto Universitario Italiano de Rosario (IUNIR).

RESUMEN

Pregunta del estudio: ¿Existen condiciones laborales que pueden generar estrés laboral, cansancio físico, desgaste emocional y aparición del síndrome de Burnout en la población de embriólogos miembros de la Sociedad Argentina de Embriología Clínica?

Respuesta: Se identificaron diversos factores capaces de generar estrés laboral y desgaste emocional en la población bajo análisis y fue posible observar una prevalencia del 14% del síndrome de Burnout.

Lo que ya se sabe: Los profesionales que trabajan en condiciones de estrés laboral con el tiempo pueden desarrollar emociones tales como ansiedad, cansancio y aburrimiento. Si no son manejados adecuadamente, estos sentimientos pueden agravarse llevando a la aparición del síndrome de Burnout

Diseño del estudio: Descriptivo de corte transversal. Se realizó una encuesta cerrada que

ABSTRACT

Study question: Are there working conditions that can generate occupational stress, physical fatigue, emotional exhaustion and the appearance of Burnout syndrome in the population of embryologists who are members of the Argentine Society of Clinical Embryology?

Summary answer: Various factors capable of generating work stress and emotional exhaustion were identified in the population under analysis, and it was possible to observe a prevalence of 14% of Burnout Syndrome.

The already known: Professionals who work under stressful conditions over time can develop emotions such as anxiety, tiredness and boredom. If not managed properly, these feelings can be aggravated leading to the onset of Burnout Syndrome.

Study design: Descriptive cross-section

fue distribuida entre los socios de la Sociedad Argentina de Embriología Clínica durante los meses noviembre de 2018 y enero de 2019.

Materiales y métodos: Se confeccionó un cuestionario con preguntas relacionadas con aspectos sociales, de salud general y de condiciones laborales. Además se utilizaron dos formularios validados para el análisis del grado de estrés y desgaste profesional del trabajador: SF-12 y Maslach Burnout Inventory-MBI.

Resultados: Se analizaron las 57 encuestas recibidas durante el periodo de recolección de datos. En términos generales, el 71,9% de los embriólogos opinó que se encuentra cómodo en el trabajo diario. El 82,5% de los embriólogos manifestó que la luminosidad dentro del laboratorio es suficiente y un 71,8 % consideró que la ventilación es adecuada; sin embargo el 66,7% consideró que el lugar de trabajo es ruidoso. Por otro lado, el 68,7% refirió que el centro donde trabaja le brinda medidas de seguridad laboral adecuadas; el 38,6% refirió que su centro aún no cuenta con un plan de formación de profesionales en embriología y/o andrología y sólo un 22% recibe capacitación profesional permanente. El 65% de los embriólogos encuestados considera que su estado de salud general es muy bueno.

Según las subescalas del Maslach Burnout Inventory (MBI) pudo observarse que el cansancio emocional está presente en la mitad de los trabajadores (49%), los valores relacionados con la despersonalización llegan a un porcentaje intermedio (37%) y se observaron altos porcentajes en los sentimientos de autoeficacia laboral (81%). La prevalencia del Síndrome de Burnout en los embriólogos que participaron fue del 14%. Se encontró además que 19 embriólogos presentan riesgo moderado (33%) y 3 un alto riesgo (5,3%) de padecer el síndrome de Burnout.

Limitaciones del estudio: Al tener la modalidad de respuesta voluntaria, la encuesta sólo

study. A closed survey was conducted among the members of the Argentine Society of Clinical Embryology during the months of November 2018 and January 2019.

Materials and methods: A questionnaire was prepared with questions related to social aspects, general health and working conditions. In addition, two validated forms were used: SF-12 and Maslach Burnout Inventory-MBI.

Results: The 57 surveys received during the data collection period were analyzed. In general terms, 71.9% of embryologists considered that they are comfortable in daily work. 82.5% of embryologists stated that the luminosity within the laboratory is sufficient and 71.8% considered that ventilation is adequate; however 66.7% considered the workplace to be noisy. On the other hand, 68.7% reported that the Reproduction Center where they work provides adequate job security measures; 38.6% reported that the Center does not yet have a training plan for professionals in embryology and / or andrology and only 22% receive permanent professional training. 65% of the embryologists surveyed consider that their general health is very good.

According to the Maslach Burnout Inventory (MBI) subscales, it was observed that emotional fatigue is present in half of the workers (49%), the values related to depersonalization reach an intermediate percentage (37%), and high percentages were observed in feelings of work self-efficacy (81%). The prevalence of Burnout Syndrome on the participating embryologists was 14%. It was also found that 19 embryologists have a moderate risk (33%) and 3 a high risk (5.3%) of suffering from Burnout syndrome.

Limitations of the study: Having the voluntary response modality, the survey was only answered by 46% of the total number

fue respondida por el 46% del total de los socios al momento del cierre de la recolección de datos.

Implicancia de los hallazgos: El análisis de las condiciones laborales, físicas y emocionales, así como la identificación de los agentes que causan estrés en la población de embriólogos resulta de fundamental importancia para detectar a tiempo el riesgo de desarrollar síndrome de Burnout en esta población. Indagar sobre estos aspectos permitirá en el futuro generar nuevas herramientas para mejorar la situación laboral de los embriólogos y en consecuencia, mejorar los resultados de los procedimientos de reproducción asistida que ellos realizan.

Palabras claves: embriólogos clínicos, estrés laboral, Burnout.

of partners at the time of closing the data collection.

Findings Implications: Analysis of working, physical and emotional conditions, as well as the identification of agents that cause stress in the population of embryologists is important to detect early risk of developing Burnout Syndrome in this population. Investigating these aspects will allow in the future to generate new tools to improve the work situation of embryologists and, consequently, improve the results of the assisted reproduction procedures that they carry out.

Key words: clinical embryologists, occupational stress, Burnout.

INTRODUCCIÓN

Los embriólogos clínicos son parte esencial del equipo multidisciplinario enfocado al tratamiento de los problemas de infertilidad. Son los encargados de realizar en el laboratorio las técnicas de fertilización humana asistida de baja y alta complejidad. Tienen como misión la de actuar clínicamente sobre gametos y embriones, así como la de aportar información sobre la utilidad clínica de los procedimientos diagnósticos y terapéuticos de pacientes infértiles en tratamiento.

Estas competencias inherentes a la profesión implican gran responsabilidad y minuciosidad. La mayoría de las técnicas que deben realizar son manuales, implican pasar muchas horas frente a un microscopio, manipulando material microscópico de gran relevancia, haciendo uso de mucha precisión y concentración. También son los responsables del registro de toda la información de los resultados del laboratorio y

del control de calidad y trazabilidad, lo que implica muchas horas al frente de computadoras y trabajo administrativo adicional al manual. A estas tareas de alta responsabilidad se les suman otros factores ambientales importantes, tales como el trabajo a niveles muy bajos de luminosidad (debido a que el tipo de células con las que se trabaja en el laboratorio de embriología no deben exponerse a la luz), el riesgo de contagio al que se exponen por la manipulación de fluidos corporales y muestras biológicas y la exposición a nitrógeno líquido durante las tareas de criopreservación de gametos y embriones.

Toda la rutina del embriólogo se ve atravesada por la necesidad de poner un alto grado de atención y concentración en todo momento, a fines de evitar la ocurrencia de errores y accidentes que pudieran afectar integridad física de colegas, la viabilidad de gametos y embriones, el destino de los mismos o daño al instrumental y equipamiento.

Los embriólogos clínicos tienen además la obligación, como todo profesional, de vigilar que los procedimientos sigan estrictas normas éticas, de subrayar los desvíos o errores a esas normas y de negarse a actuar en casos de violación a las mismas. Todas estas tareas de alta responsabilidad que definen al trabajo del embriólogo podrían favorecer de manera directa al desarrollo de trastornos psicológicos y físicos, implicando riesgos graves para la salud (1) si no fueran identificados a tiempo. De la misma manera, el desarrollo de este tipo de trastornos podría representar un factor de riesgo para el bienestar y el desempeño laboral del equipo de trabajo, afectando así la eficiencia del laboratorio en la ejecución de los procedimientos diarios.

Entre los trastornos psicológicos laborales más comunes observados en las últimas décadas, se encuentra el síndrome de desgaste o agotamiento profesional, también conocido como Síndrome de Burnout. La definición más aceptada actualmente es la de C. Maslach, que lo describe como una forma inadecuada de afrontar el estrés crónico, cuyos rasgos principales son el agotamiento emocional, la despersonalización y la disminución del desempeño personal (2). Se reconoce como un estado de agotamiento intenso y persistente, pérdida de energía, baja motivación y extrema irritabilidad, tanto en el medio laboral como en el familiar, además de la manifestación de sentimientos de enojo, agresividad y desmoralización (3). En el año 2000 el Síndrome de Burnout fue declarado por la OMS como un factor de riesgo laboral por su capacidad para afectar la calidad de vida, la salud mental e incluso poner en riesgo la vida del individuo que lo sufre (1).

Existen numerosos trabajos en América latina que describen el desarrollo de este

síndrome en personal vinculado al área de la salud (4-6): en médicos y enfermeras (3), auxiliares de enfermería (7), psicólogos (8), psiquiatras, fisioterapeutas (9), fonaudiólogos y odontólogos (10). Las causas que lo generan son varias, tales como presión sostenida en el tiempo, ausencia de reconocimiento y gratificación en el ámbito laboral, falta de autocontrol y/o pérdida de la autonomía en el trabajo, conflictos entre la carrera y/o la familia, sentimientos de aislamiento, así como falta de tiempo debido a la obligación de realizar tareas de investigación y/o docencia sumadas a su labor principal (7).

Si bien los embriólogos clínicos forman parte del equipo de salud y se encuentran expuestos a los factores causantes del síndrome, así como a las numerosas responsabilidades y riesgos mencionados anteriormente, no existe suficiente bibliografía que analice cómo se ven afectados frente a estas circunstancias. De hecho, para nuestro conocimiento, existe únicamente un trabajo realizado por Jimena y cols, donde analizaron las respuestas de 787 miembros de ASEBIR (Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción), donde encontraron que el 90% de los embriólogos encuestados presentaba problemas musculoesqueléticos asociados a la postura, 45% presentaba cefaleas y 46% reportaron pérdida de la agudeza visual. Además, hallaron una puntuación de los niveles de salud mental significativamente menores que la población española general aunque con mejores hábitos de salud física (11).

Debido a la escasez de trabajos que abordan esta problemática en este grupo específico de profesionales, el objetivo de este trabajo fue el de aportar evidencias acerca del grado de estrés, cansancio físico y emo-

cional al que se enfrentan los embriólogos que pertenecen a la Sociedad Argentina de Embriología Clínica. Particularmente, se indagó acerca de la incidencia del síndrome de Burnout mediante el análisis de las condiciones de trabajo, el grado de conformidad con el ambiente laboral, la realización profesional y personal; y las características físicas autopercebidas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio descriptivo de corte transversal. Se encuestó a los socios de la Sociedad Argentina de Embriología Clínica (SAEC) durante los meses de noviembre de 2018 y enero de 2019. Se confeccionó un cuestionario cerrado con 30 preguntas relacionadas con aspectos sociales, de salud general y de condiciones de trabajo (salud y seguridad laborales) en el laboratorio (Tabla 1) y dos formularios validados para el análisis del grado de estrés, presencia del síndrome de Burnout y el riesgo de desarrollar el síndrome de Burnout: SF-12 y Maslach Burnout Inventory-MBI (Tabla 2, 3 y 4 respectivamente).

El cuestionario final fue confeccionado a partir de lo propuesto por Carrillo y cols., para la evaluación de los embriólogos españoles (12) y enviado mediante correo electrónico a los 123 socios para que fuera respondido de forma voluntaria.

El cuestionario de Salud SF-12 proporciona un perfil del estado de salud y es una de las escalas genéricas más utilizadas en la evaluación de resultados clínicos. Consta de 12 ítems que conforman ocho dimensiones:

- 1) Función física (FF): grado de limitaciones para realizar las actividades de rutina;
- 2) Rol físico (RF): grado en que la salud física interfiere en el trabajo y otras activi-

dades diarias, incluyendo el rendimiento menor que el deseado, limitación en el tipo de actividades realizadas o la dificultad en la realización de actividades;

- 3) Dolor corporal (DC): intensidad del dolor y su efecto en el trabajo habitual, tanto fuera de casa como en el hogar;
- 4) Salud general (SG): valoración personal de la salud;
- 5) Vitalidad (VT): sensación de vitalidad frente a sentimiento de cansancio y agotamiento;
- 6) Función social (FS): grado en que los problemas de salud física o emocional interfieren en la vida cotidiana;
- 7) Rol emocional (RE): grado en que los problemas emocionales interfieren en el trabajo o las actividades cotidianas;
- 8) Salud mental (SM): sensación de tranquilidad, desánimo o tristeza.

Las opciones de respuesta forman escalas de tipo Likert que evalúan intensidad o frecuencia. El número de opciones de respuesta oscila entre tres y seis, dependiendo del ítem.

El cuestionario de Maslach mide los 3 aspectos del síndrome: cansancio emocional, despersonalización y realización personal. Tiene una alta consistencia interna y una fiabilidad cercana al 90% para el diagnóstico de Síndrome de Burnout. Los 22 ítems están agrupados en 3 sub-escalas:

1. Agotamiento emocional. Se analiza según 9 ítems. Valora la sensación de estar exhausto emocionalmente por las demandas del trabajo.
2. Despersonalización. Se analiza según 5 ítems. Valora el grado en que cada uno reconoce actitudes de frialdad y distanciamiento.

3. Realización personal. Se compone de 8 ítems con las que evalúa la realización personal y auto-eficacia laboral.

Para realizar el cálculo de las puntuaciones se suman las respuestas dadas a cada uno de los ítems, como se señala en la Tabla 5. Para determinar si una persona presenta el síndrome de Burnout es requisito que el aspecto “cansancio emocional” supere los 26 puntos, que el aspecto “despersonalización” supere los 9 puntos y el aspecto “realización personal” esté por debajo de los 34 puntos. Cualquier otra combinación no implica presencia del síndrome en la persona encuestada.

Para evaluar el riesgo potencial de desarrollar el Síndrome de Burnout se realizaron 34 preguntas en las que se evaluó impotencia, desinformación, conflicto, pobre trabajo en equipo, sobrecarga, aburrimiento,

comunicación con el superior, relación con el superior, integración con el equipo, ambigüedad, ausencia de retribuciones y conflicto de valores (Tabla 4). Las puntuaciones de la respuesta están en relación al riesgo de desarrollar el Síndrome, así puntuaciones entre 48 a 168 indican bajo riesgo, entre 169 y 312 riesgo moderado y más de 313 alto riesgo.

El análisis de las encuestas se realizó conforme a la ley Argentina 25.326 que garantiza la protección de datos personales.

Para el análisis estadístico se utilizó software estadístico SPSS versión 2.2. Los datos numéricos fueron resumidos en tablas descriptivas y los datos categóricos con tablas de frecuencia, posibilitando una revisión de los datos para la corrección de posibles errores en la transcripción de los mismos.

Tabla 1. Cuestionario de aspectos sociales, laborales y de salud

1.	¿Podrías elegir la opción correcta con respecto a tu género?
2.	¿Qué edad tienes?
3.	¿Podría escribir su peso?
4.	¿Podría escribir su altura?
5.	¿Está en pareja?
6.	De ser afirmativa la respuesta anterior, ¿puede indicar hace cuantos años?
7.	¿Tiene hijos?
8.	¿De ser afirmativa la respuesta anterior, ¿puede indicar cuántos hijos tiene?
9.	¿Cuántos años hace que trabaja en un centro de reproducción asistida?
10.	¿Cuántos años hace que trabaja en el centro en el que está ahora?
11.	¿Cómo es su contrato de trabajo?
12.	¿Cuántas horas trabaja por semana en el centro de reproducción?
13.	¿Cuántos embriólogos son en su Centro?
14.	¿Los embriólogos desarrollan ambas actividades en laboratorios de andrología y embriología?
15.	¿Considera suficiente el número de embriólogos en su centro para llevar a cabo las tareas del laboratorio de embriología?

16.	¿Considera que en el laboratorio donde trabaja, la luz es suficiente?
17.	¿Considera que el lugar es ruidoso? (sea por ruidos externos al laboratorio o por equipos dentro del laboratorio)
18.	¿Considera que la ventilación es suficiente?
19.	Considera que trabaja cómodo/a en el laboratorio?
20.	¿Usa guantes para manipular muestras de semen?
21.	¿Usa de guantes para manipular líquido folicular?
22.	¿Usa protección para nitrógeno líquido? ¿Cuáles?
23.	¿En su Centro, le facilitan formación sobre medidas preventivas?
24.	¿En su Centro, tienen un plan de formación de profesionales de embriología y/o andrología?
25.	¿En su Centro, recibe capacitación profesional?
26.	¿Realiza usted actividades de formación profesional fuera de lo que ofrece la institución donde trabaja?
27.	Su crecimiento profesional lo podría considerar como: muy bueno, bueno, regular o malo
28.	Con respecto a la vacunación para VHB y gripe: ¿el centro le garantiza acceso gratuito?
29.	¿Realiza actividad física?
30.	¿Con qué frecuencia semanal realiza actividad física?

Tabla 2. Cuestionario SF-12

1.	En general, usted diría que su salud es: excelente, muy buena, buena, regular
2.	¿Cuánto lo limitan los esfuerzos moderados, como mover una mesa, pasar la aspiradora, jugar a los bolos o caminar más de 1 hora?
3.	¿Cuánto lo limitan subir varios pisos por la escalera?
4.	¿Hizo menos de lo que hubiera querido hacer?
5.	¿Tuvo que dejar de hacer algunas tareas en su trabajo o en sus actividades cotidianas?
6.	¿Hizo menos de lo que hubiera querido hacer, por algún problema emocional?
7.	¿No hizo su trabajo o sus actividades cotidianas tan cuidadosamente como de costumbre por algún problema emocional?
8.	Durante las 4 últimas semanas, ¿hasta qué punto el dolor le ha dificultado su trabajo habitual (incluido el trabajo fuera de casa y las tareas domésticas)?
9.	Durante las 4 semanas últimas ¿se sintió calmado y tranquilo?
10.	Durante las 4 semanas últimas ¿tuvo mucha energía?
11.	Durante las 4 semanas últimas ¿se sintió desanimado y triste?
12.	Durante las 4 últimas semanas ¿con qué frecuencia la salud física o los problemas emocionales le han dificultado sus actividades sociales (como visitar a los amigos o familiares)?

Tabla 3. Cuestionario Maslach Burnout Inventory-MBI para determinar presencia del síndrome de Burnout

1.	¿Me siento emocionalmente agotado por mi trabajo?
2.	Cuando termino mi jornada de trabajo ¿me siento vacío?
3.	Cuando me levanto por la mañana y me enfrento a otra jornada de trabajo ¿me siento fatigado?
4.	¿Siento que puedo entender fácilmente a los pacientes?
5.	¿Siento que estoy tratando a algunos pacientes como si fueran objetos impersonales?
6.	¿Siento que trabajar todo el día con la gente me cansa?
7.	¿Siento que trato con mucha eficacia los problemas de mis pacientes?
8.	¿Siento que mi trabajo me está desgastando?
9.	¿Siento que estoy influyendo positivamente en la vida de otras personas a través de mi trabajo?
10.	¿Siento que me he hecho más duro con la gente?
11.	¿Me preocupa que este trabajo me esté endureciendo emocionalmente?
12.	¿Me siento con mucha energía en mi trabajo?
13.	¿Me siento frustrado en mi trabajo?
14.	¿Siento que estoy demasiado tiempo en mi trabajo?
15.	¿Siento que realmente no me importa lo que les ocurra a mis pacientes?
16.	¿Siento que trabajar en contacto directo con la gente me cansa?
17.	¿Siento que puedo crear con facilidad un clima agradable con mis pacientes?
18.	¿Me siento desestimado después de haber atendido/trabajado con mis pacientes?
19.	¿Creo que consigo muchas cosas valiosas en este trabajo?
20.	¿Me siento como si estuviera al límite de mis posibilidades?
21.	¿Siento que en mi trabajo los problemas emocionales son tratados de forma adecuada?
22.	¿Me parece que los pacientes me culpan de alguno de sus problemas?

Tabla 4: Cuestionario Maslach Burnout Inventory-MBI para determinar riesgo de padecer síndrome de Burnout

1.	¿No puedo darle solución a los problemas que se me asignan?
2.	¿Estoy atrapado en mi trabajo sin opciones?
3.	¿Soy incapaz de influenciar en las decisiones que me afectan. Estoy incapacitado y no hay nada que pueda hacer al respecto?
4.	No estoy claro sobre las responsabilidades en mi trabajo. No tengo la información necesaria para trabajar bien.
5.	Las personas con las que trabajo no comprenden mi rol. No comprendo el propósito de mi trabajo.
6.	Me siento atrapado en medio. Debo satisfacer demandas conflictivas.

7.	Estoy en desacuerdo con las personas en mi trabajo. Debo violar procedimientos para hacer mi trabajo.
8.	Mis compañeros de trabajo me subestiman. La dirección muestra favoritismo.
9.	La burocracia interfiere con la realización de mi trabajo. Las personas en mi trabajo compiten en vez de cooperar.
10.	Mi trabajo interfiere con mi vida personal.
11.	Tengo demasiadas cosas que hacer en muy poco tiempo. Debo trabajar en mi propio tiempo.
12.	Mi carga de trabajo es abrumadora.
13.	Tengo pocas cosas que hacer.
14.	El trabajo que realizo actualmente no está acorde con mi calificación. Mi trabajo no es desafiante.
15.	La mayoría del tiempo lo utilizo en labores de rutina.
16.	No sé qué es lo que hago bien o mal.
17.	Mi superior (supervisor) no me retroalimenta en mi trabajo. Obtengo la información demasiado tarde para utilizarla.
18.	No veo los resultados de mi trabajo.
19.	Mi superior (supervisor) es crítico.
20.	Los créditos por mi trabajo los obtienen otros. Mi trabajo no es apreciado.
21.	Soy culpado por los errores de otros.
22.	Estoy aislado de los demás.
23.	Soy solo un eslabón en la cadena organizacional.
24.	Tengo poco en común con las personas con las que trabajo.
25.	Evitar decirles a las personas donde trabajo.
26.	Las reglas están cambiando constantemente. No sé qué se espera de mí.
27.	No existe relación entre el rendimiento y el éxito.
28.	Las prioridades que debo conocer no están claras para mí.
29.	Mi trabajo no me satisface. Tengo realmente pocos éxitos
30.	El progreso en mi carrera no es lo que he esperado
31.	Nadie me respeta.
32.	Debo comprometer mis valores.
33.	Las personas desaprueban lo que hago. No creo en la Institución.
34.	Mi corazón no está en mi trabajo.

Tabla 5. Aspectos evaluados, ítem y puntaje obtenido para describir el síndrome de Burnout, según el cuestionario de Maslach.

Aspecto evaluado	Ítems evaluados	Síndrome Burnout
Cansancio emocional	1,2,3,6,8,13,14,16,20	Más de 26
Despersonalización	5,10,11,15,22	Más de 9
Realización personal	4,7,9,12,17,18,19,21	Menos de 34

RESULTADOS

El total de socios de la Sociedad Argentina de Embriología Clínica en el momento de la distribución de la encuesta fue de 123 embriólogos, de los cuales el 78,9% fueron mujeres y 21,2% varones. Durante el período de recolección de datos se recibieron 57 encuestas completas (46,3% del total de socios). La mayoría de las respuestas fueron enviadas por mujeres (73,7%) y de un rango etario comprendido entre los 30 a los 50 años (71,4%).

Cuando se analizaron los *aspectos personales y socio-familiares* de los embriólogos, la mayoría (75,4%) respondió que se encuentran en pareja. La duración de la última relación estable fue de 1 a 5 años para el 38,6% y de más de 10 años para el 36,8%. El 56% tiene hijos (22,8% con uno, 26,3% con dos y 7% con tres o más hijos).

Con respecto a los *aspectos relacionados con las condiciones laborales*, los embriólogos participantes de la encuesta presentaron una mediana de 9 años de antigüedad trabajando en reproducción asistida, con un mínimo de 2 y máximo de 35 años. La mediana de años de trabajo en el centro en el que trabajan actualmente fue de 5 años (con un rango entre 1 y 35 años).

Con respecto a la cantidad de personal en el laboratorio, el 35,1% respondió que en su centro trabajan 1-2 embriólogos, el 31,6% que el grupo de trabajo está compuesto por 3-4 embriólogos y el 33,3% mencionó que el equipo está conformado por más de 5 embriólogos. El 63,2% desarrolla actividades laborales tanto en los laboratorios de andrología como en los de embriología y el 42,1% de los encuestados consideró que el número de embriólogos es insuficiente para desarrollar las tareas que demandan dichos laboratorios. En cuanto a la jornada laboral, la mayoría de los

embriólogos (59,6%) tienen una jornada laboral de acuerdo a la ley 20.744 que establece hasta 45 horas semanales, repartidas en días hábiles hasta 8 horas y sábado hasta 5 horas. (Tabla 6).

Tabla 6: Rango de horas de trabajo de los embriólogos por semana.

Horas trabajo/semana	n	%
<35	13	22,8
35-45	34	59,6
>45	10	17,6
Total	57	100

Cuando se indagó específicamente acerca de las *condiciones de trabajo en el laboratorio*, el 66,7% de los embriólogos respondió que considera que su lugar de trabajo es ruidoso (sea por ruidos externos al laboratorio o generados por equipos dentro del mismo), el 82,5% manifestó que la luminosidad dentro del laboratorio es suficiente y el 71,8% también consideró que la ventilación es suficiente. En términos generales, el 71,9% de los embriólogos opinó que se encuentra cómodo en el trabajo diario de laboratorio.

En relación a las *medidas de seguridad laboral* ofrecidas por los Centros de fertilidad, el 68,7% refirió que el centro donde trabaja le brinda medidas de seguridad laboral adecuadas para las actividades diarias. Con respecto al uso de guantes, la mitad respondió que los usa siempre para sus actividades de rutina (56,1% para manipular muestras de semen; 49,1% para manipular fluido folicular), un porcentaje menor los usa sólo a veces (35,1% para manipular muestras de semen; 21% para manipular fluido folicular) y el resto manifestó no usarlos para ningún tipo de procedimiento. Con respecto a la protección

utilizada para la manipulación de nitrógeno líquido, la mayoría (40,3%) no utiliza ninguna medida de protección; 21% utiliza sólo guantes, 22,8% guantes y gafas y el 1,75% utiliza gafas únicamente durante la manipulación del nitrógeno.

En relación a la *formación profesional*, el 38,6% de los encuestados refirió que su centro aún no cuenta con un plan de formación de profesionales en embriología y/o andrología. Con respecto a la frecuencia de la formación recibida, el 22,8% respondió que recibe capacitación profesional en forma periódica, otro 22,8% nunca obtuvo formación por parte de la institución y un 54,4% manifestó que alguna vez ha tenido algún tipo de capacitación. Por otro lado, el 80,7% consideró que debió realizar actividades para su formación profesional fuera de lo que ofrece la institución donde trabaja. Finalmente, la mayoría opinó que su crecimiento profesional lo podría considerar como bueno (46,7%) y muy bueno (49,1%).

Con respecto a la *salud física*, el 68,4% presentó normopeso (peso adecuado para la talla), y el 71,9% manifestó realizar actividad física, en promedio 3 veces por semana. En el mismo sentido, dentro de las respuestas correspondientes al cuestionario de salud SF-12,

el 65% consideró que su estado de salud general es muy bueno, el 24,5% bueno, el 8,8% excelente y sólo el 1,7% refirió que es regular. El 91% de los encuestados respondió que los esfuerzos moderados no los limitan en nada a realizar actividades cotidianas y el resto que los limitan un poco. En respuesta a la pregunta si en las últimas cuatro semanas antes del cuestionario presentaron problemas en su trabajo o vida cotidiana a causa de su salud física, el 81% respondió que no.

Con respecto a la presencia de problemas laborales a raíz de sentirse triste, deprimido o ansioso, el 82,5% refirió no haberlos presentado. En relación a si tuviese algún dolor y este lo perturbó en su trabajo o vida cotidiana en las últimas 4 semanas, el 68,5% respondió negativamente. El 35% respondió que algunas veces pudieron sentirse calmados y tranquilos, el 35% se sintió con mucha energía algunas veces y el 37% se sintió desanimado y triste algunas veces. En cuanto a la existencia de limitaciones para realizar sus actividades sociales a causa de problemas con su salud física o emocional la mayoría (47%) respondió que nunca las percibió en el último tiempo. En la tabla 7 se describe el total de porcentajes para cada categoría de las preguntas anteriores.

Tabla 7: Porcentajes asignados a cada valor de los aspectos evaluados en las últimas 4 semanas.

Aspecto evaluado	Siempre	Casi siempre	Muchas veces	Algunas Veces	Solo una vez	Nunca
¿Se sintió calmado y tranquilo?	5,2%	21%	31,6%	35%	0%	5,2%
¿Tuvo mucha energía?	8,8%	28%	26,4%	35%	0%	1,8%
¿Se sintió desanimado y triste?	0%	4%	14%	37%	19%	26%
¿La salud física o emocional han dificultado sus actividades sociales?	1,8%	7%	5,7%	29,8%	8,7	47%

Los resultados obtenidos en las diferentes subescalas del *Cuestionario Maslach Burnout Inventory* (MBI) fueron los siguientes:

1. Referente al cansancio emocional el 33,3% obtuvo un nivel alto;
2. En cuanto a la despersonalización el 21,1% obtuvo un nivel alto;
3. En relación a la realización personal el 45,6% obtuvo un nivel alto (Tabla 8).

La combinación de estas variables para determinar la existencia del Síndrome de Burnout en la población bajo análisis arrojó una prevalencia del 14% (n=8). Además se encontró que 19 embriólogos (33%) presentaron riesgo moderado de padecer el síndrome y 3 un alto riesgo (5,3%).

Tabla 8: Subescalas del Maslach Burnout Inventory.

Aspecto	Niveles		
	alto	Medio	bajo
Cansancio emocional	33,3%	15,8%	50,9%
Despersonalización	21,1%	15,8%	63,1%
Realización personal	45,6%	29,8%	24,6%

CONCLUSION Y DISCUSION

Este trabajo permitió indagar acerca de las condiciones de trabajo, el grado de conformidad con el ambiente laboral y las características psicológicas y físicas de una muestra de embriólogos que forman parte de la Sociedad Argentina de Embriología Clínica, con el objetivo de analizar sobre la posibilidad de que los mismos estén en riesgo de desarrollar el Síndrome de Burnout. En resumen, ha sido posible describir a esta

población como un grupo que presenta, en su mayoría, un buen estado de salud física, un grado de conformidad con el ámbito laboral moderado, altos puntajes en lo correspondiente al estrés y moderada posibilidad de presentar síndrome de Burnout.

Considerando que el síndrome de Burnout es un proceso multicausal, altamente complejo y que necesita una rigurosa evaluación e interpretación para determinar su presencia, se utilizó en este trabajo el test de Maslach Burnout Inventory (MBI) diseñado especialmente para tal fin. Por otro lado, esta investigación incluyó en su cuestionario los principales causales de estrés, entre los que se documentaron aspectos personales y socio-familiares, de condiciones laborales, de trabajo dentro del laboratorio, sobre medidas de seguridad y de formación profesional. Además el cuestionario incluyó el test SF-12 que proporciona un perfil del estado de salud de la persona.

En cuanto a la salud, un alto porcentaje de los encuestados afirmó sentirse saludable, realizar actividad física con frecuencia, sentirse con un buen estado físico, tener un peso adecuado y no presentar impedimentos en la vida diaria generados por el trabajo en el laboratorio. Numerosos estudios han relacionado las ventajas de la actividad física con la disminución de los niveles de estrés laboral (13), por lo que estos resultados son alentadores a la hora de evaluar la salud de la población estudiada.

Cuando se interrogó acerca de las condiciones laborales, en términos generales se manifestó suficiente comodidad en el laboratorio, pero cuando se indagó sobre ciertas condiciones específicas (cantidad de embriólogos en el laboratorio, ruido, iluminación, ventilación) las respuestas fueron variadas y se evidenció una menor coinci-

dencia en cuanto a esa “comodidad” que se experimenta en el contexto de trabajo. En este sentido, el 66% de la población encuestada consideró que el nivel de ruido es muy alto en su ámbito laboral. La variable ruido dentro de los laboratorios, generado principalmente por los motores de los flujos laminares y heladeras en espacios generalmente reducidos, es un factor importante que perturba en la actividad cotidiana y puede generar dolor de cabeza, mareos y reducción de la audición (14, 15). Por otro lado, la mayoría de los embriólogos considera que la luz en su lugar de trabajo es suficiente, sin embargo, no debería olvidarse que los niveles de luminosidad en los laboratorios de fertilización *in vitro* deben ser notablemente menores con respecto a las oficinas u otros ambientes, debido a los efectos perjudiciales comprobados de la exposición a la luz sobre ovocitos y embriones (16). Finalmente, el 28% de los encuestados manifestaron percibir falta de adecuada ventilación en su lugar de trabajo, esto también representa un factor importante dentro de los causales de estrés laboral en el laboratorio, probablemente dado por ausencia de sistemas de filtración y/o ausencia de climatización ambiental. Con respecto a la cantidad de personal de trabajo, el 63% de los embriólogos respondieron que realizan actividades tanto en el laboratorio de embriología como en el de andrología, en su mayoría (59,6%) con una jornada laboral de 8 horas y un 17% por arriba de lo establecido en la ley laboral Argentina. Si bien el número de embriólogos por centro es variado, el 42,1% refiere que la cantidad de personal es insuficiente para el tamaño del centro y para las actividades que éste demanda. Esta situación genera sobrecarga laboral en los profesionales y afecta de manera directa la

seguridad, la relación entre compañeros de trabajo, el rendimiento y la actitud frente al trabajo diario (17).

De la misma manera, fueron muy variadas las respuestas relacionadas con las condiciones de seguridad personal utilizadas en la práctica diaria y el acceso a formación profesional por parte de la institución en la que los embriólogos trabajan.

Específicamente, el 32% de los embriólogos manifestaron un acceso incompleto a las medidas de seguridad laboral, sólo el 49% mencionó que usa siempre guantes para manipular líquido folicular y un 56% siempre al momento de manipular semen, mientras que el resto dijo sólo hacerlo periódicamente. La mayoría (60%) dijo que utiliza alguna medida de protección al momento de manipular nitrógeno. Estas situaciones pueden generar cierto grado de estrés al evaluar el grado de protección física o el riesgo al que están sometidos frente a la exposición a posibles agentes infecciosos o peligrosos. Cuando se evaluó el nivel de capacitación profesional, solo el 22% de los encuestados respondió que recibió alguna formación por parte de la institución en la que trabaja a pesar de que el 61,4% de ellas tiene diseñado un plan de capacitación profesional. Por otro lado, resulta interesante destacar que el 80% de los embriólogos encuestados realizó actividades de formación por su cuenta, independientemente de las ofrecidas por la institución donde trabajan. Esto podría interpretarse como un alto nivel de motivación e interés por el desarrollo de su profesión, característica altamente valorada en los equipos de trabajo. Es importante destacar que la formación profesional representa un aspecto muy importante en el desarrollo de un individuo, está íntimamente relacionado con la valoración de uno mis-

mo y aumenta la sensación de realización personal/profesional mejorando el desempeño en los equipos de trabajo, en las relaciones interpersonales, en el liderazgo y el profesionalismo (18). Una disminución en la capacidad de realizar mejoras continuas en los laboratorios o de resolver situaciones de conflicto durante la manipulación de gametos y embriones, así como una menor capacidad para adaptarse a nuevas tecnologías. Como resumen, puede decirse que el 46,5% de los encuestados consideró su crecimiento profesional bueno y el 49% como muy bueno.

Finalmente, cuando se evaluaron las sub-escalas del Maslach Burnout Inventory el cansancio emocional pudo observarse en la mitad de los trabajadores (49%), mientras que el aspecto de despersonalización se registró en el 37% y altos porcentajes en los sentimientos de auto-eficacia laboral (81%). Todos estos aspectos permitieron encontrar en la población estudiada una prevalencia del síndrome de Burnout del 14%. Resulta importante señalar que un 5,3% de los embriólogos presenta un riesgo alto de padecer el síndrome y para esta población es urgente la necesidad de tomar acciones correctivas que impidan el desarrollo de la enfermedad. Por otro lado, para el 33% restante, en donde se observó un riesgo moderado, se recomienda comenzar con un plan de actividades diseñado para evitar el aumento de los riesgos en un corto o mediano plazo.

En general todos los factores generadores de estrés en el ámbito laboral mencionados anteriormente pueden generar en los equipos de trabajo falta de capacidad para realizar las tareas; conflicto de rol entre las

tareas y los valores de la profesión; falta de participación en las tomas de decisiones; imposibilidad de progreso/ascenso en el trabajo y las relaciones conflictivas con colegas y compañeros. Con respecto a la tarea propiamente dicha, la falta de elementos adecuados y el exceso de expectativas en cuanto a los resultados son factores que producen también importante estrés emocional. Existen medidas preventivas para evitar estas situaciones (19, 20, 21, 22) entre las que podemos mencionar algunas relacionadas con el apoyo emocional (existencia de afecto, confianza y preocupación que provienen de la organización y los colegas), apoyo instrumental (adecuado acceso a recursos instrumentales y económicos necesarios para realizar las tareas cotidianas) y apoyo informativo (formación continua de la profesión en lo posible reglada dentro de la jornada laboral).

Resulta importante considerar que este es, para nuestro conocimiento, el primer estudio realizado para indagar acerca de las condiciones laborales, físicas y de los agentes que causan estrés en la población de embriólogos pertenecientes a la Sociedad Argentina de Embriología Clínica. Este estudio, descriptivo de corte transversal, estuvo realizado en base a encuestas que fueron respondidas de manera voluntaria por los socios, de manera que la interpretación de los resultados puede aparecer un poco sesgada y las conclusiones se aplican a una subpoblación en particular. Sin embargo, este abordaje representa un primer paso en el camino de detectar falencias y sugerir mejoras en las condiciones laborales de los embriólogos.

Agradecimiento: a los miembros de la Sociedad Argentina de Embriología Clínica, a su comisión directiva por la aprobación del mismo, a Francisco Parera Déniz por su lectura y aportes constructivos.

Roles de autor: CM: redacción y supervisión, FR: confección de preguntas y supervisión del documento, IG: aprobación final como en representación de SAEC, LA: análisis estadístico, NL: análisis estadístico, CB: confección de preguntas y supervisión del documento, IS e IAM ambos por igual: idea del trabajo, confección de preguntas, redacción y aprobación final.

REFERENCIAS

1. Aceves, G. A. (2006). Síndrome de burnout. Archivos de Neurociencias, 11, 4, 305-309.
2. Maslach C, Schaufeli WB Leiter, MP. Job burnout. Annual Review of Psychology 2001;52:397-422.
3. Vinaccia, S. & Alvarán, L. (2004). El síndrome Burnout en auxiliares de enfermería. Terapia Psicológica, 22, 9-16.
4. Klein J, Grosse Frie K, Blum K, et al. Burnout and perceived quality of care among German clinicians in surgery. Int J Qual Health Care 2010;22:525-30.
5. Rozo, M. (2007). Evaluación del síndrome de estrés asistencial en los profesionales de la salud en una institución hospitalaria de III nivel en la ciudad de Bogotá. *Psychologia: Avances de la Disciplina*, 1(1), 185-214.
6. Sanabria Ferrand, Pablo & Paredes, Olga. (2008). Prevalencia del Síndrome de Burnout en residentes de especialidades médico quirúrgicas, su relación con el bienestar psicológico y con variables sociodemográficas y laborales. *Revista Med de la Facultad de Medicina*, ISSN 0121-5256, Vol. 16, N° 1, 2008 págs. 16.
7. Silveira, N., y Rodríguez, R. (2007). El estrés laboral, la satisfacción laboral y el síndrome de Burnout en profesionales de la salud de Uruguay. En P. Gil-Monte, y B. Moreno-Jiménez, *El Síndrome de Quemarse por Trabajo (Burnout)*, Grupo profesionales de riesgo. Madrid: Pirámide.
8. Flórez Alarcón, L., y Rodríguez, A. (2007). Una mirada al síndrome de Burnout en Colombia de Bogotá. *Psicología: Avances en la Disciplina*, 1(1), 185-214.
9. Campos, L.V., Córdoba, A.J., Silva, J.L., y Illera, D. (2008). Prevalencia del síndrome de Burnout y sus principales factores de riesgo en fisioterapeutas del municipio de Popayán. Departamento de Fisioterapia, Facultad de Salud, Universidad del Cauca. Popayán, Colombia.
10. Thomae, M.N., Ayala, E.A., y Sphan, M. (2006). Etiología y prevención del síndrome de burnout en los trabajadores de la salud. *Revista de Posgrado de la VI Cátedra de Medicina*, 153, 18-21.
11. López-Lería B, Jimena P, Clavero A, et al. Embryologists' health: a nationwide online questionnaire. *J Assist Reprod Genet*. 2014;31(12):1587-1597. doi:10.1007/s10815-014-0352-7.
12. Silvia Carrillo PJ, Gonzalvo MC, Clavero A, López-Regalado ML, Serrano M, López B, Orozco I, Mantilla A, Rodríguez M, Castilla JA. Aspectos relevantes de la salud

- de los embriólogos clínicos. *Rev Asoc Est Rep* 2013; 18: 45-52.
13. Silvia Carrillo PJ, Gonzalvo MC, Clavero A, López-Regalado ML, Serrano M, López B, Orozco I, Mantilla A, Rodríguez M, Castilla JA. Aspectos relevantes de la salud de los embriólogos clínicos. *Rev Asoc Est Rep* 2013; 18: 45-52.
 14. Stults-Kolehmainen MA y R Sinha. (2014). The Effects of Stress on Physical Activity and Exercise. *Sports Med*, 44(1), 81–121. doi:10.1007/s40279-013-0090-5.
 15. Sułkowski W, Owczarek K y J Olszewski. (2017). Contemporary noise-induced hearing loss (NIHL) prevention. *OTOLARYNGOL POL*, 7 (4), 1-5. doi:10.5604/01.3001.0010.2241.
 16. Kim J, Lee W, Won JK, et al. (2017). The relationship between occupational noise and vibration exposure and headache/ eyestrain, based on the fourth Korean Working Condition Survey (KWCS). *PLoS ONE*, 12(5) e0177846. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177846>.
 17. Petra W y Gardner D. (2015). The effects of chemical and physical factors on mammalian embryo culture and their importance for the practice of assisted human reproduction. *Human Reproduction update*, 22(1),2-22. doi: 10.1093/humupd / dmv 034
 18. Turner N, Chmiel N, Sandy Hershcovis M, et al. (2015). Life on the line: Job demands, perceived co-worker support for safety, and hazardous work events. *J Occup Health Psychol*, 15(4),482-493.
 19. Filipe HP, Silva ED, Stulting AA, et al. (2014). Continuing Professional Development: Best Practices. *Middle East African Journal of Ophthalmology*, 21(2),134-142.
 20. Rodríguez Carvajal R de Rivas Herмосilla S. (2011). Los procesos de estrés laboral y desgaste profesional (burnout): diferenciación, actualización y líneas de intervención. *Med Segur Trab*, 57(1),72-88.
 21. Alba Martín R. (2015). Burnout en enfermería: prevalencia y factores relacionados en el medio hospitalario. *Rev Cient Soc Esp Enferm Neurol*. 2015; 41 (1):9-14. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sedene.2015.02.001>.
 22. Grau A, Flichtentrei D, Suñer R, et al. (2009). Influencia de factores personales, profesionales y transnacionales en el síndrome de burnout en personal sanitario hispanoamericano y español. *Rev Esp Salud Pública*, 83(2),215-30.
 23. Gil-Monte P, García-Jueas JA y Caro Hernández M. (2008). Influencia de la Sobrecarga Laboral y la Autoeficacia sobre el Síndrome de Quemarse por el Trabajo (burnout). *Interam J Psychol*, 42(1),113-18.

Resultados de PGT-A realizados en el Instituto de Fertilidad.

Results of PGT-A at the Fertility Institute.

Colabianchi Matías, Colabianchi Ramiro, Roble María Susana, Perez Audero María Eugenia y Fontela Sol

Institución donde se realizó el trabajo: Instituto de Fertilidad Asistida Dr. J. Colabianchi. Rosario, Argentina.
info@institutocolabianchi.com

RESUMEN

PREGUNTA DE ESTUDIO:

El test genético preimplantatorio para aneuploidías (PGT-A), ¿es una herramienta válida para la selección y transferencia de embriones euploides, logrando mayores tasas de implantación y reduciendo las tasas de aborto?

RESPUESTA: La implementación del PGT-A aumentó la tasa de implantación y redujo la tasa de aborto.

LO QUE YA SE SABE: La transferencia selectiva de embriones euploides mejora los resultados clínicos de los pacientes que realizan Fertilización In Vitro, particularmente en aquellos con riesgo de aneuploidía fetal. Los resultados difieren según la técnica utilizada para la biopsia y el diagnóstico genético.

MATERIALES Y METODOS: Se incluyeron 273 ciclos de PGT-A entre diciembre 2012 y febrero 2019. Las biopsias se realizaron en Día 5, 6 ó 7. Las amplificaciones de DNA se llevaron a cabo en el Laboratorio de Biología Molecular del Instituto de Ferti-

SUMMARY

STUDY QUESTION:

Is preimplantation genetic test for aneuploidies (PGT-A) a valid tool for the selection of Euploid embryos to transfer, increasing the implantation rate, thus decreasing losses?

ANSWER: The use of the preimplantation study improved implantation rates and reduced abortion rates.

WHAT IS KNOWN ALREADY. Selective transfer of euploid embryos improves the clinical results of patients undergoing In Vitro Fertilization, particularly those at risk of fetal aneuploidy. The results are different depending on the techniques used for biopsy and genetic diagnosis.

DESIGN: Retrospective descriptive study.

MATERIALS AND METHODS: 273 cycles of PGT were included between December 2012 and February 2019. Biopsies were performed on Day 5, 6 or 7. DNA amplifications were done in Molec-

dad Dr. Julio Colabianchi de Rosario, desde 2012 hasta 2015 por arreglos de hibridación genómica comparativa (array CGH) y luego por secuenciación de nueva generación (NGS). Los resultados fueron analizados de acuerdo a la indicación de PGT-A: (A) Abortos a repetición, (B) Antecedentes genéticos, (C) Edad materna avanzada y (D) Fallas repetidas de FIV/ICSI (Fallas de implantación). En todos los casos se transfirió un embrión euploide en ciclo diferido. Se calcularon tasas de cancelación, euploidia, embarazo clínico y aborto.

RESULTADOS: Se obtuvieron blastocistos para biopsiar en 206 ciclos (75,4%) en ese período de tiempo. Se biopsiaron 548 embriones, resultando euploides el 32,3%, aneuploides un 55,2%, mosaicos un 6,8% y 5,6% resultaron sin diagnóstico. En los grupos con Antecedentes genéticos (B) y Edad materna avanzada (C) la tasa de aneuploidía fue alta (56% y 53,4% respectivamente). La mayor tasa de cancelación de biopsia se presentó en el grupo B (30,6%) y la menor en grupo A (11,5%). La tasa de euploidia fue de 30% en A, C y D y de 21,9% en B. La tasa de embarazo clínico fue más alta en el grupo B (66%) y más baja en el D (41,8%), en relación a los otros grupos. No se registraron abortos en los grupos A y B; la tasa de aborto en el grupo C fue 9,6% y 4,6% en el grupo D.

LIMITACIONES: El poder estadístico de este estudio retrospectivo se limita en el número de casos evaluados y en que se realizó en una sola clínica.

PALABRAS CLAVE: embrión euploide, biopsia embrionaria, blastocisto, secuenciación

ular Biology Laboratory of the Dr. Julio Colabianchi Fertility Clinic in Rosario city. Until 2015 by comparative genomic hybridization arrangements and then by new generation sequencing (NGS). Results were analyzed according to the indication of PGT: Repeated Abortions (A), Genetic History (B), Advanced Maternal Age (C) and Repeated IVF / ICSI Failures (D). In a delayed cycle Euploid embryo was transferred. Cancellation, euploidy, pregnancy and abortion rates were calculated.

RESULTS: A total of 206 (75.4%) cycles had embryos with quality to biopsy. 548 embryos were biopsied, resulting in Euploid 32.3%, Aneuploid 55.2%, Mosaic 6.8% and 5.6% without diagnosis. In the groups with a genetic history (B) and advanced maternal age (C), the proportion of cycles that did not obtain Euploid embryos was high (56% and 53.4%). The highest biopsy cancellation rate was found in group B (30.6%) and the lowest in group A (11.5%). The euploidy rate was 30% in A, C and D and 21.9% in B. The clinical pregnancy rate was highest in group B (66%) and lowest in group D (41.8%), in relation to the other groups. There were no abortions in groups A and B; the abortion rate in group C was 9.6% and 4.6% in group D.

LIMITATIONS: The statistical power of this retrospective study is limited in the number of cases evaluated.

KEYWORDS: euploid embryo, embryo biopsy, blastocyst, sequencing

INTRODUCCIÓN

El Test Genético Preimplantatorio para aneuploidías (PGT-A), llamado anteriormente Screening Genético Preimplantatorio (PGS) comenzó a usarse como herramienta para mejorar las tasas de éxito en los tratamientos de fertilidad en inicio de los '90. Inicialmente su utilidad fue cuestionada, pero el advenimiento de nuevas tecnologías permitió mejorar la sensibilidad y especificidad del test, y con ello sus resultados^{1,2}.

Su aplicación se basa en la hipótesis de que la transferencia selectiva de embriones euploides mejora los resultados clínicos de los pacientes que realizan Fertilización In Vitro, particularmente aquellos con riesgo de aneuploidia fetal por cariotipo parental alterado, pacientes con antecedentes de pérdidas recurrentes de embarazos o parejas con fallas de implantación en tratamientos de fertilización asistida de alta complejidad, evitando la transferencia de embriones con riesgo de anomalías cromosómicas, y contribuyendo así a la selección de embriones con mayor potencial de implantación y a la reducción en la tasa de aborto.

El objetivo del presente estudio es analizar los resultados de pacientes que realizaron PGT-A, de acuerdo a su diagnóstico previo, en el Instituto de Fertilidad Asistida Dr. Julio Colabianchi de la ciudad de Rosario.

MATERIALES Y METODOS:

DISEÑO: Estudio retrospectivo descriptivo.

Se incluyeron 273 ciclos de PGT-A realizados entre diciembre del 2012 y febrero del 2019. Las células del trofoectodermo fueron biopsiadas en Día 5, 6 o 7 y luego se vitrificaron los blastocistos hasta la transferencia en ciclo diferido. Las amplificaciones de DNA se realizaron en el Laboratorio de Bio-

logía Molecular del Instituto de Fertilidad Dr. Julio Colabianchi (SurePlex, Illumina). Hasta el año 2015 el PGT-A se realizó por arreglos de hibridación genómica comparativa (24Sure Cytochip, BlueGnome Illumina) y desde el año 2015 se realizó secuenciación de nueva generación (NGS) (MiSeq, Illumina). Los resultados fueron analizados de acuerdo a la indicación de PGT: abortos a repetición, Edad materna avanzada (considerada en mujeres a partir de los 35 años), Fallas repetidas de FIV/ICSI y Antecedentes genéticos (cuando algún miembro de la pareja era portador de una alteración estructural en su cariotipo, ejemplo translocación balanceada). En todos los casos se transfirió un embrión euploide luego de preparar el endometrio en ciclo diferido y se constató el embarazo clínico por la presencia de latidos cardiacos en saco gestacional por ecografía. Se calcularon también las tasas de abortos

RESULTADOS:

Un total de 206 (75,4%) ciclos se obtuvieron blastocistos con calidad para realizar la biopsia del trofoectodermo. Se biopsiaron 548 embriones, resultando euploides el 32,3%, aneuploides un 55,2%, mosaicos un 6,8% y 5,6% resultaron sin diagnóstico. No se registraron embarazos múltiples. Los resultados de acuerdo a la indicación del PGT-A se presentan a continuación en la Tabla 1.

La media de edad en mujeres con aborto a repetición fue de 35,27 años, obteniéndose un 32% de embriones euploides, y sobre 18 transferencias embrionarias se lograron 12 subunidad BETA positiva (66%), 10 embarazos clínicos (55%) y ningún caso de abortos.

En el grupo definido por antecedentes genéticos, se halló 21,9% de embriones eu-

Tabla 1. Resultados de los ciclos de PGT de acuerdo a su indicación médica

GRUPOS	Abortos a repetición	Antecedentes genéticos	Edad	Fallas Repetidas
Distribución de ciclos	26 9,5%	29 (10,6%)	147 (53,9%)	71 (26,0%)
Edad	35,27±2,85	32,97±4,47	40,05±2,06	35,59±2,56
Ciclos S/biopsia	3 (11,5%)	4 (13,7%)	45(30,6%)	14 (19,7%)
% euploides	32,0%	21,9%	30,8%	33,3%
Ciclos S/euploides	10 (43,4%)	14 (56%)	54 (53,4%)	18 (31,7%)
Transferencias	18	12	52	43
Sub Beta Positiva	12 (66%)	8 (66%)	32 (61,5%)	22 (51,1%)
Embarazo clínico	10 (55%)	8 (66%)	30 (57,6%)	18 (41,8%)
Tasa de aborto	0	0	5 (9,6%)	2 (4,6%)

ploides y de un total de 12 transferencias de embrión único 8 subunidad BETA positiva, 8 embarazos clínicos y ninguna interrupción del embarazo. La edad media de este grupo fue de 32,97 años. Cabe destacar que en un 56% de los ciclos no se obtuvieron embriones euploides.

En el grupo cuya indicación fue la Edad materna avanzada, la proporción de ciclos con embriones aneuploides fue alta de un 53,4%. La tasa de embarazo clínico fue 57,6% (30 de 52 transferencias embrionarias) con un 9,6% de abortos.

Finalmente, en el grupo de pacientes con Falla de implantación en ciclos previos, se obtuvieron un 33% de embriones euploides, menor tasa de aneuploidia que los otros grupos (31,7%) y se realizaron 43 transferencias con una tasa de implantación del 51%, tasa de embarazo clínico del 41,8% y tasa de aborto del 4,6%.

DISCUSIÓN

El éxito de la fertilización in vitro depende, en parte, de la adecuada selección embrionaria. Durante mucho tiempo esta selec-

ción se basó sólo en criterios morfológicos³. Una de las causas más frecuentes de falla en implantación e interrupción del embarazo son las anomalías cromosómicas.

De los embriones biopsiados, resultaron euploides el 32,3%, acorde con lo reportado en la literatura⁴.

En el presente análisis, en el 56% de los ciclos de parejas portadoras de una anomalía cromosómica no se obtuvieron embriones euploides, aunque la tasa de embarazo clínico en este grupo fue la más alta (66%).

El grupo de edad materna avanzada tuvo una alta tasa de cancelación debido a pacientes a las que no se le pudo biopsiar ningún embrión y una alta tasa de aneuploidia, mientras que la tasa de embarazo clínico fue similar a la de las mujeres jóvenes de los demás grupos.

Varios estudios demuestran tasas de natalidad más altas después del PGT-A y la transferencia electiva de un solo embrión, lo que sugiere la posibilidad de que este test disminuya el riesgo de gestaciones múltiples, aunque estos estudios tienen limitaciones importantes.

En nuestro estudio se observó una baja tasa de aborto, lo que sugiere que el PGT-A sería una herramienta útil en este aspecto; y, por otro lado, la transferencia de un embrión único disminuye la incidencia de embarazo múltiple.

CONCLUSIONES

El propósito de cualquier tratamiento de reproducción asistida se dirige a ofrecer la mejor oportunidad para el logro de un recién nacido vivo y sano.

Los porcentajes hallados en este estudio nos llevan a concluir que la aplicación de PGT-A en las diferentes indicaciones tienen como resultado lo planteado en la hipótesis, mejorar la tasa de implantación y disminuir la tasa de aborto.

Las diferencias obtenidas por cada indicación de PGT-A nos permiten confirmar que la edad materna avanzada influye negativamente en la calidad cromosómica de los embriones.

REFERENCIAS

1. Twisk M, Mastenbroek S, van Wely M, Heineman MJ, Van der Veen F, Repping S. Preimplantation genetic screening for abnormal number of chromosomes (aneuploidies) in in vitro fertilisation or intracytoplasmic sperm injection. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006 Jan25;(1):CD005291.
2. Harper J, Coonen E, De Rycke M, Fiorentino F, Geraedts J, Goossens V, Harton G, Moutou C, Pehlivan Budak T, Renwick P, Sengupta S, Traeger-Synodinos J, Vesela K. What next for preimplantation genetic screening (PGS)? A position statement from the ESHRE PGD Consortium Steering Committee. *Reprod.* 2010 Apr;25(4):821-3.
3. López-Rioja MJ, Aguinaga-Ríos M, Sánchez-González CM, Recio-López Y, Zavala-González PN, García-Sánchez R, Chávez-Badiola A. Estudio genético preimplantacional para aneuploidias: resultados de la transición entre diferentes tecnologías. *Ginecol Obstet Mex.* 2018 febrero;86(2):96-107.
4. Gianaroli L, Magli MC, Ferraretti AP. The in vivo and in vitro efficiency and efficacy of PGD for aneuploidy. *Mol Cell Endocrinol* 2001; 183(Suppl 1): p. S13-S18.
5. Practice Committees of the American Society for Reproductive Medicine and the Society for Assisted Reproductive Technology. The use of preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A): a committee opinion. *Fertil Steril.* 2018 Mar;109(3):429-436.

Comparación de un medio de cultivo secuencial y uno continuo para el desarrollo in vitro de embriones humanos

Comparison of a sequential and a continuous culture media for the in vitro development of human embryos

Lucio Dunogent, Estefanía Martínez, Antonio Cattaneo, Diego Gnocchi, Marcela Irigoyen, Lautaro Tessari, A. Gustavo Martínez

Filiación institucional de todos los autores: Medicina Reproductiva Fertilis - Av. Fondo de la Legua 277 - San Isidro - Buenos Aires - Argentina

RESUMEN

Pregunta del estudio: ¿Hay diferencias en los resultados de fecundación in vitro al emplear un medio de cultivo secuencial y uno continuo?

Respuesta: Se observó una mejora en la calidad de los embriones obtenidos en Día 5 en medio continuo.

Lo que ya se sabe: Los medios de cultivo secuenciales ofrecen al embrión los nutrientes específicos para cada estadio. Los medios continuos ofrecen todos los nutrientes a la vez permitiendo que el embrión seleccione los que necesita.

Diseño del estudio: Prospectivo. Se analizaron 189 embriones de 23 tratamientos de FIV. El estudio se realizó entre octubre y diciembre de 2019.

Materiales y métodos: Se utilizaron medios Vitrolife.

Primera evaluación: se analizaron embriones de 12 tratamientos. Los ovocitos fertilizados de cada paciente fueron separados en dos grupos: Un grupo fue colocado en G1 plus desde el Día 1 al 3 de cultivo para luego cambiarlos a G2 plus hasta el

ABSTRACT

Study question: Are there differences in the results of in vitro fertilization when using a sequential and continuous culture media?

Summary answer: An improvement in the quality of embryos obtained on Day 5 was observed in continuous media.

What is known already: Sequential culture media offer the embryo the specific nutrients for each stage. Continuous media offer all the nutrients at the same time allowing the embryo to select the ones it needs.

Study design: Prospective. One hundred and eighty-nine embryos from 23 IVF treatments were analyzed. The study was conducted between October and December 2019.

Materials & Methods: Vitrolife media were used. First evaluation: embryos from 12 treatments were analyzed, separated into two groups. A group was placed in G1 plus from Day 1 to 3 of culture, and then embryos were changed to G2 plus until Day 5; the other was pla-

Día 5; el otro fue colocado en medio TL plus desde el Día 1 al 3 de cultivo, renovando el medio en el Día 3 y cultivándolos hasta el Día 5. Segunda evaluación: se analizaron embriones de 11 pacientes. En este caso, el grupo cultivado en TL plus no se recibió recambio.

Se registraron las tasas de fecundación, de embriones evolutivos, de llegada al estadio de blastocisto y de llegada al estadio de blastocisto expandido, y calidad embrionaria.

El análisis estadístico se realizó empleando el test exacto de Fisher o el test de Mann-Whitney según correspondiera; valores de $p < 0.05$ fueron considerados significativos.

Resultados: En la primera evaluación no se encontraron diferencias significativas entre los dos medios. En la segunda se observó un aumento significativo en la calidad embrionaria de día 5 en favor del cultivo continuo.

Limitaciones del estudio: La evaluación no incluyó la tasa de nacimientos.

Implicancia de los hallazgos: Una mejora en la calidad de los embriones podría correlacionarse con un aumento de las tasas de embarazo y nacimiento.

Palabras clave: Cultivo – Secuencial – Continuo – One step

ced in TL plus medium from Day 1 to 3 of culture, renewing the medium in the Day 3 and cultivating them until Day 5. Second evaluation: embryos from 11 patients were used. In this case, the group grown in TL plus did not receive replacement.

Fertilization rates, embryo development, blastocyst stage, expanded blastocyst stage, and embryonic quality were recorded.

Statistical analysis was performed using Fisher test or Mann-Whitney test; p values < 0.05 were considered significant.

Main results: In the first evaluation, no significant differences were found between media. In the second evaluation, a significant increase in embryonic quality in Day 5 was observed in favour of continuous culture.

Limitations: The evaluation did not include the birth rate.

Wider implication of the finding: An improvement in the quality of embryos could be correlated with an increase in pregnancy and birth rates.

Key words: Culture – Sequential – Continuo – One step

INTRODUCCIÓN

En la búsqueda de mejorar los sistemas de desarrollo embrionario en el proceso de fecundación *in-vitro*, los medios de cultivo han evolucionado desde soluciones básicas conteniendo algunas sales y proteínas hasta la formulación de soluciones complejas muy semejantes al medio en el que el embrión se desarrolla en el aparato reproductor femenino (1). De esta forma se desarrollaron los “medios secuenciales”, los cuales tratan de darle al embrión la concentración de nutrientes adecuada para cada estadio de desarrollo (2). El uso de este tipo de medios implica colocar en el Día 1 de cultivo los óvulos fecundados en una primera solución con baja concentración de glucosa y alta concentración de piruvato como sustrato energético (3), en la que se incubarán hasta el Día 3 de cultivo, momento en el cual serán transferidos a una segunda solución con alta concentración de glucosa como fuente de energía, permaneciendo allí hasta el Día 5 de cultivo, para luego ser transferidos o criopreservados (3).

Recientemente han sido desarrollados los medios continuos (*one-step*), basados en la filosofía de darle todos los nutrientes al embrión y que este seleccione cuál incorporar (4). Esto ha cambiado el paradigma del cultivo secuencial, en el cual, como se mencionó anteriormente, la oferta de nutrientes estaba relacionada con el estadio de desarrollo embrionario.

El uso de medios continuos permite cultivar los ovocitos fecundados desde el Día 1 hasta el Día 5 de cultivo sin la necesidad de mover los embriones de la incubadora (5).

El objetivo del presente estudio fue evaluar los resultados obtenidos comparando un sistema de cultivo con medios secuenciales y uno con un medio continuo, cultivando los embriones hasta el Día 5.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio prospectivo fue llevado a cabo en el laboratorio de reproducción asis-

tida de Medicina Reproductiva Fertilis, San Isidro, Argentina, entre los meses de octubre y diciembre de 2019. La edad promedio de las pacientes fue 34.4 ± 3.6 años (rango 30 a 37 años de edad).

Todas las pacientes fueron estimuladas con FSH recombinante (Gonal-F, Merck-Serono, Alemania) combinada con HMG (Menopur, Ferring, Suecia). Se administró una dosis inicial de 150 a 300 IU de gonadotrofinas durante 5 días, ajustándola de acuerdo a la respuesta ovárica. Al alcanzar un diámetro folicular promedio de 14 mm o niveles de estrógenos de 300 pg/ml se administró una dosis diaria de antagonista de GnRh (Cetrorrelis, Cetrotide NR, Merck-Serono, Alemania) hasta el momento de la descarga, para la cual se administró una dosis simple de 10.000 IU de HCG (Gonacor 5000, Ferring Pharmaceuticals, Suiza) 34-36 hs antes de la aspiración folicular.

Luego de realizar la fecundación *in vitro*, el cultivo se llevó a cabo en incubadoras de mini volumen ESCO Miri, a 37°C, en ambiente con 5% de oxígeno y 6% de dióxido de carbono. Todas las transferencias se realizaron el Día 5 de cultivo, transfiriendo 1 embrión por paciente, empleando para ello un catéter Rocket-EchoCath (Rocket Medical, England) y criopreservando los embriones restantes.

Se registraron la tasa de fecundación, la tasa de embriones evolutivos (embriones de Día 3 con al menos 5 células), la calidad embrionaria, la tasa de llegada al estadio de blastocisto, y la tasa de llegada al estadio de blastocisto expandido.

Se realizaron dos evaluaciones consecutivas.

En la primera evaluación se analizaron embriones de 12 tratamientos. Los ovocitos fecundados de cada paciente fueron separados en dos grupos para ser colocados en medios de cultivos diferentes. Un grupo fue colocado en medio G1 plus (Vitrolife, Suecia) desde el Día 1 al 3 de cultivo para luego cambiar los embriones a medio G2 plus (Vi-

trolife, Suecia) desde el Día 3 al 5, mientras que el otro grupo fue colocado en medio TL plus (Vitrolife, Suecia) desde el Día 1 al 3 de cultivo, renovando el medio en el Día 3 y cultivándolos hasta el Día 5.

En la segunda evaluación se emplearon embriones de 11 tratamientos. Los ovocitos de cada paciente fueron separados en dos grupos. Un grupo fue colocado en medio G1 plus desde el Día 1 al 3 de cultivo para luego cambiar los embriones a medio G2 plus desde el Día 3 al 5, mientras que el otro grupo fue colocado en medio TL plus desde el Día 1 al 5 de cultivo sin renovación.

Los embriones no fueron observados en el Día 2 de cultivo. En aquellos grupos en los que se realizó el cambio de medio de cultivo en Día 3 se registró el número de células y la calidad embrionaria, la cual fue considerada como:

- Excelente: fragmentación <5%, células simétricas, sin multinucleación.
- Buena: fragmentación 5-10%, la mayor parte de las células simétricas, sin evidencia de multinucleación.
- Regular: fragmentación 10-20%, varias células asimétricas, eventualmente con multinucleación.
- Mala: severa fragmentación (>25%), sin simetría celular, evidencia de multinucleación.

En los embriones de Día 5 se registró el estadio de desarrollo:

- Mórula compacta
- Blastocisto en expansión <50%
- Blastocisto en expansión >50%
- Blastocisto expandido
- Blastocisto eclosionando

Por otra parte se registró la calidad de la masa celular interna y del trofoblasto, de la siguiente manera:

Masa celular interna

- Buena (A): prominente, fácil de identificar, con muchas células compactas y

estrechamente adheridas entre sí.

- Regular (B): fácil de identificar, con muchas células que están libremente agrupadas.
- Mala (C): difícil de identificar, con pocas células.

Trofoblasto:

- Bueno (A): muchas células que forman un epitelio cohesivo.
- Regular (B): pocas células que forman un epitelio malo.
- Malo (C): muy pocas células

Para realizar la comparación cualitativa de los embriones de cada grupo se utilizó un score embrionario a partir del cálculo de dos fórmulas que combinaban el grado de desarrollo y la calidad embrionaria. Para los embriones de Día 3 dicha fórmula consistió en la multiplicación de la cantidad de células y un valor asignado a la calidad embrionaria (4: excelente, 3: buena; 2: regular; 1: mala); mientras que para los embriones de Día 5 se asignó un valor progresivo según el grado de desarrollo embrionario (1: mórula compacta; 2: blastocisto en expansión <50%; 3: blastocisto en expansión >50%; 4: blastocisto expandido; 5: blastocisto eclosionando) el cual fue multiplicado por el valor asignado a la calidad de la masa celular interna y la del trofoblasto (3: A – buena; 2: B – regular; 1: C – mala).

El análisis estadístico se realizó empleando el test de Fisher o el test de Mann-Whitney no pareado según correspondiera. Valores de $p < 0.05$ fueron considerados significativos.

RESULTADOS

En la primera evaluación se compararon los resultados obtenidos de 12 tratamientos de FIV/ICSI luego del uso de medios secuenciales y continuos con recambio de ambos medios en Día 3. Se recuperó un promedio de 9.4 ± 2.5 ovocitos totales y un promedio de 9.0 ± 2.2 ovocitos maduros por

paciente, mientras que la tasa de fecundación global fue de 92% (97 fecundados de 105 ovocitos maduros inseminados).

No se encontraron diferencias en cuanto a la tasa de embriones evolutivos, score embrionario de Día 3 y Día 5, y la tasa de llegada al estadio de blastocisto y blastocisto expandido (Tabla 1).

En la segunda evaluación se compararon los resultados obtenidos de 11 tratamientos de FIV/ICSI donde no se realizó el recambio de medio continuo en Día 3. Se recuperó un promedio de 10.3 ± 2.7 ovocitos totales y un promedio de 9.9 ± 2.5 ovocitos maduros por paciente, mientras que la tasa de fecundación global fue de 87% (95 fecundados de 109 ovocitos maduros inseminados).

En este caso se encontraron diferencias significativas a favor del medio continuo en el score de los embriones de Día 5 (Tabla 2).

DISCUSIÓN:

En la búsqueda de darle al embrión desarrollado *in-vitro* el mejor ambiente de cultivo para su crecimiento, se han planteado diferentes estrategias, que van desde el uso de medios simples, pasando por el empleo de co-cultivos con líneas celulares hasta el desarrollo de medios secuenciales, y recientemente los medios continuos (6,7). Se han producido grandes avances en la investigación en este campo, los cuales han llevado a contar con medios de cultivo muy simila-

res al medio que encuentra el embrión en la trompa y en el útero (8,9).

La aparición de los medios continuos ha planteado un cambio en el paradigma que postulan los medios secuenciales, donde el embrión debe recibir los nutrientes específicos dependiendo del estadio de desarrollo. El diseño de los medios de cultivo continuos implica el uso simultáneo de todos los nutrientes permitiendo que el propio embrión se adapte y utilice lo que requiera según su estadio de desarrollo (3,4). Esto permite no realizar el recambio de medio en el Día 3.

En el presente estudio hemos comparado el uso de medios de cultivo secuenciales y continuos, buscando posibles diferencias tanto en la tasa de desarrollo de los embriones como en la calidad de los mismos.

Nuestros resultados mostraron que cuando se realiza un recambio del medio continuo en Día 3, ambos medios (secuenciales y continuos) se comportan de manera similar, como se observa en la Tabla 1. Mientras que al utilizar el cultivo continuo (sin recambio en Día 3), pese a obtener resultados similares en general, el score embrionario en Día 5 de cultivo fue significativamente mayor para el medio continuo. Esto muestra una mejor calidad de los embriones obtenidos en Día 5 en medio continuo.

Es posible pensar que esta mejor calidad embrionaria abra la posibilidad de tener mejores resultados en cuanto a tasa de im-

Tabla 1. Resultados obtenidos en la comparación de medios secuencial y continuo con recambio en Día 3 de cultivo.

	Secuencial	Continuo
Ovocitos fecundados asignados	48	46
Promedio de ovocitos fecundados asignados	4.0 ± 1.0	3.8 ± 1.3
Embriones evolutivos	48/48 (100%)	45/46 (98%)
Score embrionario en Día 3	24.1 ± 10.3	25.8 ± 10.1
Tasa de llegada al estadio de blastocisto	23/48 (48%)	26/46 (57%)
Tasa de llegada al estadio de blastocisto expandido	6/48 (13%)	7/46 (15%)
Score embrionario en Día 5	21.4 ± 9.0	21.8 ± 11.5

plantación, de embarazo y de nacimiento. Esto sería beneficioso principalmente en las pacientes con baja respuesta las cuales tendrán pocos embriones, mientras que en las pacientes normorreproductoras la posibilidad de tener embriones de buena calidad es mayor. Pese a ello, el beneficio para este úl-

timo grupo de pacientes puede verse reflejado en un aumento de la tasa acumulativa de embarazo.

Actualmente nos encontramos abocados a la evaluación de dichas tasas luego del empleo de estos medios de cultivo.

Tabla 2. Resultados obtenidos en la comparación de medios secuencial y continuo, sin recambio del medio continuo en Día 3 de cultivo.

	Secuencial	Continuo
Ovocitos fecundados asignados	50	45
Promedio de ovocitos fecundados asignados	4.6±2.2	4.1±2.1
Embriones evolutivos	50/50 (100%)	45/45 (100%)
Tasa de llegada al estadio de blastocisto	25/50 (50%)	25/45 (56%)
Tasa de llegada al estadio de blastocisto expandido	15/50 (30%)	13/45 (29%)
Score embrionario en Día 5	21.8±11.5 *	30.6±6.4 *

(*) Difieren significativamente, $p < 0.05$

BIBLIOGRAFÍA

1. Chronopoulou E, Harper JC. IVF culture media: past, present and future. *Hum Reprod Update* 2015; 21: 39-55.
2. Sunde A, Brison D, Dumoulin J, Harper J, Lundin K, Magli MC, Van den Abbeel E, Veiga A. Time to take human embryo culture seriously. *Hum Reprod*. 2016; 31:2174-2182.
3. Biggers JD, Racowsky C. The development of fertilized human ova to the blastocyst stage in KSOM(AA) medium: is a two-step protocol necessary? *Reprod Bio-Med Online*. 2002; 5:133-140.
4. Biggers JD, Summers MC. Choosing a culture medium: making informed choices. *Fertil Steril* 2008; 90:473-483.
5. Sfontouris I, Kolibianakis EM, Lainas GT, Venetis CA, Petsas GK, Tarlatzis BC, Lainas TG. Blastocyst utilization rates after continuous culture in two commercial single-step media: a prospective randomized study with sibling oocytes. *J Assist Reprod Genet*. 2017; 34:1377-1383.
6. Gardner DK, Lane M. Culture of viable human blastocysts in defined sequential serum-free media. *Hum Reprod*. 1998; 13(Suppl 3): 148-159.
7. Summers MC, Biggers JD. Chemically defined media and the culture of mammalian preimplantation embryos: historical perspective and current issues. *Hum Reprod Update*. 2003; 9:557-582.
8. Diedrich K, Fauser B, Devroey P, Griesinger G. Evian annual reproduction (EVAR) workshop group. The role of the endometrium and embryo in human implantation. *Hum Reprod Update*. 2007; 13:365-377.
9. Morbeck DE, Krisher RL, Herrick JR, Baumann NA, Matern D, Moyer T. Composition of commercial media used for human embryo culture. *Fertil Steril* 2014; 102:759-766.

¿Es posible mejorar las tasas de fecundación cuando hacemos ICSI? Aspectos prácticos para cualquier laboratorio.

Is it possible to improve fertilization rates (FR) after the intra cytoplasmic sperm injection (ICSI) technique?

Mercedes Pascual, Virginia Ferracuti, Maria Florencia Veiga, Dara Dobler, Ana Maria Biagini, Claudia Torres, Santiago Giordana, Fernando Neuspiller

Filiación institucional de los autores: IVI Buenos Aires, Capital Federal, Buenos Aires, Argentina
Institución donde se realizó el trabajo: IVI Buenos Aires, Capital Federal, Buenos Aires, Argentina

RESUMEN

¿Es posible mejorar las tasas de fecundación (TF) luego de la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI)?

Es posible, analizando y modificando el protocolo de ICSI.

Dentro del laboratorio de fertilización in vitro, gametas y embriones son expuestos inevitablemente a fluctuaciones en las condiciones de cultivo, lo cual impacta negativamente sobre los procesos celulares. Cualquier modificación que estabilice estas variaciones debería afectar positivamente sobre los resultados.

Estudio retrospectivo que compara las TF de 483 casos del primer semestre de 2018 contra 466 del primer semestre de 2019, luego algunos cambios en el protocolo de la técnica de ICSI.

Se incluyeron los ciclos de ICSI realizados entre el 01/01/2018 y el 30/06/2018 y entre el 01/01/2019 y el 30/06/2019. En 2018 fueron 374 casos con ovocitos propios (P18) y 109 de ovodonación (O18) y en 2019 370

ABSTRACT

Is it possible to improve fertilization rates (FR) after the intra cytoplasmic sperm injection (ICSI) technique?

It is possible, after analyzing and modifying the ICSI protocol.

The work within the in vitro fertilization laboratory implies an inevitable exposure of gametes and embryos to fluctuations in culture conditions, which negatively affects cellular processes. Any modification that aims to stabilize these variations is expected to positively impact the results.

Retrospective study that compares the FR of 483 cases in the first half of 2018 against 466 in the first half of 2019, after the modification of the ICSI protocol.

ICSI cycles performed between 01/01/2018 until 06/30/2018 and between 01/01/2019 until 06/30/2019 were included. Year 2018 encompassed 374 cases with standard patients (S18) and 109 of ovodonation (O18), while 2019 included 370 cases of standard patients (S19) and 96 ovodonation (O19). The

casos de propios (P19) y 96 de ovodonación (O19). Se obtuvo la TF por paciente, considerando aquellos cigotos con 2 pronúcleos sobre el total de ovocitos maduros microinyectados. Luego se calculó la TF promedio por grupo (O18, P18, O19 y P19) y por embriólogo. Las modificaciones abarcaron al medio de inyección, al aceite mineral y al tiempo de los ovocitos fuera del incubador. Además, incorporamos indicadores diarios de TF dentro al programa de control de calidad.

La TF promedio aumentó de manera significativa en los ciclos de propios (72,86% a 77,73%; $p < 0,05$) y de ovodonación (75,27% a 81,27%; $p < 0,05$). A su vez todos los embriólogos registraron aumentos en sus TF.

Al ser un estudio retrospectivo y al haber aplicado los cambios en simultáneo, no podemos cuantificar la contribución individual de cada uno de ellos al aumento en la TF.

Es posible mejorar las TF sin necesidad de cambios costosos. Este trabajo describe intervenciones sencillas al alcance de un gran porcentaje de laboratorios a nivel mundial.

Cigoto; Fertilización In Vitro; Inyecciones de Esperma Intracitoplasmáticas; Control de Calidad

FR was obtained for each patient, considering the number of zygotes with 2 pronuclei over the total of mature oocytes microinjected. The average FR was then calculated by group (O18, S18, O19 and S19) and by embryologist. The modifications involved the injection medium, mineral oil and the time of the oocytes outside the incubator. In addition, we incorporated the use of daily FR indicators into our quality control program.

The average FR increased significantly in standard and ovodonation cycles (72.86% to 77.73% and 75.27% to 81.27% respectively; $p < 0,05$). In turn all embryologists recorded increases.

Being a retrospective study and having applied the changes in simultaneous, we cannot quantify the individual contribution of each of them to the increase in the FR.

It is possible to improve FR without the need for drastic or costly changes. This work describes simple interventions available to a large percentage of laboratories worldwide.

Zygote; Fertilization in Vitro; Sperm Injections; Quality Control

INTRODUCCIÓN

La tasa de fecundación (TF) es el parámetro que mide el éxito de la técnica de inyección intracitoplasmática del espermatozoide (ICSI). Se calcula haciendo la razón entre el número de cigotos que, aproximadamente 17hs post inyección, exhiben 2 pronúcleos (PN) y 2 cuerpos polares (CP) sobre el número total de ovocitos maduros microinyectados (1; 2).

En el año 2017 la TF fue seleccionada como uno de los indicadores clave de performance (KPI, por sus siglas en inglés, *Key Performance Indicator*) de las prácticas de laboratorio (3), ya que es una medida objetiva de la calidad de las gametas que maneja el laboratorio como también de las habilidades del operador, cobrando así particular relevancia dentro de los programas de gestión de calidad (4). Como todo KPI, la TF debe tener sus correspondientes valores de referencia: un valor mínimo aceptable y un valor objetivo a alcanzar. Tradicionalmente, estos valores variaban entre 60% y 80% y entre 70% y 100% respectivamente, pero no existía un consenso internacional sobre un valor único. Fue recién en 2017, cuando la TF fue seleccionada como KPI, que se definieron sus valores de competencia y referencia. Estos se establecieron en 65% y 80% respectivamente (3).

Es importante hacer un monitoreo continuo y sistemático de las TF e introducir mejoras en el caso que no se alcance el valor mínimo, dado que los pacientes tendrán más posibilidades de éxito en un laboratorio con altas tasas y porque este valor es un indicador del correcto funcionamiento del laboratorio. Teniendo esto en cuenta y frente a la actualización en los valores, en IVI Buenos Aires nos planteamos revisar nuestras TF, las cuales si bien se encontraban por encima

del 70% no siempre alcanzaban el 75%. Es por ello que nos propusimos mejorar nuestros resultados, para lo cual analizamos los protocolos diarios de trabajo y diseñamos una serie de reformas. El objetivo que tiene este trabajo es analizar el impacto de una serie de cambios metodológicos introducidos en el laboratorio de reproducción asistida de alta complejidad sobre las tasas de fecundación.

MATERIALES Y METODOS

Diseño metodológico

Se compararon retrospectivamente las TF de todos los ciclos de ICSI realizados desde el 01/01/2018 hasta el 30/06/2018 y desde el 01/01/2019 hasta el 30/06/2019, a excepción de aquellos ciclos de pacientes que realizaron más de un intento, para los cuales se tuvo en cuenta solo el primero. Dentro del año 2018 se incluyeron 374 casos con ovocitos propios y 109 de ovodonación, con una edad promedio de pacientes de $36,81 \pm 3,81$ y de donantes de $25,17 \pm 3,69$. Mientras que dentro del año 2019 fueron 370 casos de propios y 96 de ovodonación, con las siguientes edades medias respectivamente: $37,40 \pm 3,83$ y $24,53 \pm 3,47$.

Estimulación ovárica

La estimulación ovárica controlada comenzó entre el primer y quinto día del ciclo, luego de una ecografía transvaginal, con la administración de 150 UI/día de FSHr + 75 UI/día de LHr (Pergoveris, Merck). La inhibición pituitaria se realizó con 0,25 mg/día de antagonistas de GnRH (Cetrotide, Merck). La ovulación se desencadenó con la combinación de 1500 UI de hCG (Ovidrel, Merck) y 0,2 mg de agonistas de

GnRH (Gonapeptyl daily, Ferring) cuando había 3 o más folículos de mínimo 18 mm en diámetro.

Aspiración folicular e ICSI

Las aspiraciones foliculares se realizaron 36hs luego de la inducción de la ovulación. Los complejos ovocito-cumulus (COCs) fueron lavados exhaustivamente en *Global Total HEPES* (LifeGlobal) y transferidos posteriormente a placas con gotas de *Global Total for Fertilization* (LifeGlobal) cubiertas con aceite mineral (Irvine).

Los ovocitos fueron denudados mecánica y enzimáticamente 3hs luego de la aspiración en aquellos casos en los que se utilizaron en fresco y a las 2hs aquellos que debían vitrificarse.

La vitrificación y desvitrificación se realizó según el protocolo de Kitazato, utilizando dichos medios.

Los ovocitos desvitrificados se micro-inyectaron 2hs post descongelamiento y los frescos transcurridas 4hs de la aspiración.

La técnica de ICSI se realizó en un microscopio invertido (Olympus) a 40X. Una vez terminado el procedimiento, los ovocitos se transfirieron a gotas de *Global Total* (LifeGlobal) cubiertas por aceite mineral (Irvine).

La evaluación de la fecundación se realizó aproximadamente 17hs luego de la inyección.

Todos los COCs, ovocitos denudados y micro-inyectados se cultivaron en incubadoras de mesada (*Cook*) a 37°C con 5%O₂ y 6%CO₂, excepto al momento de la micro-inyección, cuando las placas que no estaban en uso permanecieron en incubadoras *HeraCell* (Thermo Fischer).

Protocolo de micro-inyección.

Durante el periodo de tiempo transcurrido entre julio y diciembre de 2018 se aplicaron cambios en los siguientes aspectos del protocolo de la técnica de ICSI: a) Momento de preparación de las placas de inyección. b) Modelo de placa utilizada c) Cantidad empleada de aceite mineral (Este punto fue factible gracias cambio de modelo de placas). d) Tiempo de gaseo y atemperado del aceite y del medio de inyección. e) Lugar de mantenimiento de las placas que no estuvieran en uso. f) Número máximo de ovocitos a inyectar en cada placa. g) Tiempos de inyección: Se estableció un tiempo máximo desde que la placa sale del incubador hasta que se guarda nuevamente. En la tabla 1 se muestra una comparativa detallada entre el protocolo del año 2018 y del año 2019.

Además, incorporamos indicadores diarios de TF, los cuales debían ser completados todos los días con los valores de las tasas de cada embriólogo. Estos indicadores han de encontrarse fácilmente a la vista dentro del laboratorio, permitiendo visualizar rápidamente si algún embriólogo comienza a mostrar una caída en sus resultados.

Variables analizadas

Para cada paciente se obtuvo la TF, considerando el número de cigotos con 2 PN y 2CP sobre el total de ovocitos maduros microinyectados. Luego se calcularon las TF promedio para los ciclos de propios y ovodonación de 2018 y de 2019 y la TF de cada embriólogo.

Análisis estadístico

Los resultados fueron analizados estadísticamente mediante el test de *t-Student* con el software IBM SPSS *Statistcs*. Se consideraron significativos aquellos valores de *p* menores a 0,05.

RESULTADOS

La TF promedio aumentó de manera significativa tanto en los ciclos de propios (72,86% vs 77,73%; $p < 0,05$) como en los ciclos de ovodonación (75,27% al 81,27%; $p < 0,05$) (Tabla 2).

A su vez, los tres embriólogos incluidos en este estudio también registraron aumentos en sus TF. Estos resultaron significativos para dos de ellos (emb#1: 73,45% vs 75,66%; $p = 0,5$; emb#2: 75,47% vs 82,59%; $p < 0,05$; emb#3: 72,58% vs 79,94%; $p < 0,05$)

DISCUSIÓN

El conjunto de modificaciones introducidas impactan positivamente sobre las tasas de fecundación. Teniendo en cuenta que se trata de un estudio retrospectivo, no podemos cuantificar la contribución individual de cada cambio. Aun así, hipotetizamos que el aumento se debe a una suma de variables que en conjunto redundan en un menor tiempo de los ovocitos fuera del incubador, expuestos a la luz y sujetos a variaciones en parámetros físico químicos en la placa de micro-inyección.

Dentro del cuerpo humano, los posibles cambios en osmolaridad, pH y temperatura suceden de manera gradual, a diferencia del laboratorio, donde pueden ser grandes y rápidos, por lo que no hay duda que las condiciones del cultivo impactan sobre las gametas y embriones (5). Esto se explica en parte a que la división celular y la segre-

gación de los cromosomas dependen principalmente de una estructura dinámica como es el huso meiótico. Cualquier manipulación que lo altere, eventualmente afectará estos procesos. A pesar de los esfuerzos por mantener estables las condiciones en de las placas de cultivo, no es errado pensar que pueden existir fluctuaciones, aunque sea de manera transitoria, cuyo impacto dependerá de la duración y magnitud de las mismas.

La exposición de ovocitos humanos a temperatura ambiente produce cambios en la organización del huso meiótico. Estos incluyen disminución en su tamaño, disrupción del patrón de microtubulos o incluso ausencia total de los mismos. Dependiendo del tiempo de exposición también se ve afectada la ubicación de los cromosomas en la placa metafásica (6,7). Incluso la exposición de ovocitos sin denudar a bajas temperaturas impacta de manera negativa en elementos del retículo endoplasmático, aparato de Golgi, mitocondrias y citosol (8). El restablecimiento de la temperatura a 37°C no siempre restaura la morfología original, sino que la capacidad de un ovocito de volver a ensamblar su huso meiótico es tiempo y temperatura dependiente (6,9). Un control térmico riguroso permite estabilizar el huso meiótico y aumentar las tasas de fertilización y de embarazo frente a los sistemas tradicionales, en donde los ovocitos se enfrían a 33-34°C al ponerlos en la platina, incluso si la placa se encuentra previamente calentada (10). Sin embargo, este control riguroso se logra mediante el uso de cubreobjetos termostatzados y calentadores de objetivos, algo que no está al alcance de cualquier laboratorio. En este punto, creemos que el control de la temperatura se puede conseguir, aunque no de forma tan exacta, con cambios como los

que mencionamos en este trabajo: el uso de medios atemperados y gaseados desde el día previo, el empleo de un mayor volumen de aceite mineral, la preparación de placas con suficiente anticipación y el cambio de la platina calefactada por el incubador para su mantenimiento cuando no están en uso, son medidas que disminuyen la probabilidad de variaciones en la temperatura.

Si tenemos presente que la integridad del huso meiótico es crítica para la alineación de los cromosomas y su correcta segregación en el proceso de fertilización, y que anomalías en el citoesqueleto pueden dar lugar a aneuploidias o poliploidías, los cambios en la temperatura podrían impactar en la cantidad de cigotos fecundados con un número anormal de pronúcleos. Al calcular tasa de fecundación teniendo en cuenta solo aquellos cigotos con 2PN, se excluyen los poliploides y dado que nuestros resultados son altos, se desprende que el porcentaje de cigotos con varios pronúcleos es bajo, reforzando la idea que la temperatura se mantiene más estable.

Teniendo esto en cuenta, se puede pensar en un concepto de aneuploidias inducidas de manera iatrogénica, es decir, aberraciones que podrían surgir en cualquier punto de del manejo de gametas y embriones. En ese sentido, el momento de la microinyección sería clave, ya que es el momento en el que los ovocitos pasan el mayor tiempo fuera del incubador. Hay estudios en ovocitos de donantes como población control que muestran que las tasas de embriones euploides varían entre diferentes centros hasta en un 40% (11). Si bien no se conoce si estas diferencias se deben a errores en la meiosis o en la mitosis, en caso que fueran errores de naturaleza mitótica, habría que prestar especial atención al laboratorio de FIV y

sus condiciones. Los embriones resultantes en estos casos no serían aneuploides en su totalidad, sino mosaicos. Es conocido ya el hecho de que el mosaicisimo ocurre más frecuentemente en embriones de ratón cultivados *in vitro* que aquellos que crecen *in vivo* (12). De esto se desprende que resulta crucial intentar mantener constante la temperatura durante todos los eventos que transcurren dentro del laboratorio y que de realizarse cambios con este objetivo, pueden tener implicancias más allá de un aumento en las tasas de fecundación.

El pH de los medios de cultivo es otro motivo de especial atención. El mismo está determinado principalmente por la concentración de bicarbonato en los medios y el porcentaje de CO₂ en el incubador. Tradicionalmente, durante la técnica ICSI se han empleado medios con N-hidroxietilpiperazina-N-etanosulfonato (HEPES) como amortiguador de pH, ya que si la inyección se demora el mismo puede fluctuar. Incluso hay evidencia que sugiere que los ovocitos durante la meiosis carecen de una regulación robusta del pH (13), apoyando aún más el uso de un amortiguador en el medio. Sin embargo, hay trabajos que reportan efectos negativos de este compuesto sobre las gametas en varios modelos animales (14,15), sobre todo cuando el mismo es microinyectado dentro de los ovocitos (16), ya que inhibe la reiniciación de la meiosis. En cultivos de líneas celulares que incluían este compuesto, la exposición a la luz aumentó la presencia de productos citotóxicos capaces de inhibir la proliferación (17). También en humanos, el uso del HEPES ha resultado perjudicial: ovocitos microinyectados en este medio exhiben tasas significativamente mayores de degeneración y de cigotos tripronucleados y tasas significativamente

menores de embarazo e implantación al compararlos con ovocitos inyectados en medio sin HEPES (18). En este punto, el cambio hacia un medio de microinyección sin amortiguador puede haber impactado positivamente. No solo porque se evita el uso del HEPES, sino también porque esta modificación trae aparejada una mayor consciencia del tiempo empleado para micro-inyectar. De alguna manera, nos obligó a trabajar con rapidez para evitar el cambio en el pH y a su vez, ayudó a alcanzar el objetivo de micro-inyectar una placa en menos de 5 minutos. Esto a su vez, es ventajoso ya que se minimizan las perturbaciones externas en general. Haber disminuido la cantidad de ovocitos a trabajar a un máximo de 3 por placa también contribuyó a alcanzar esta meta.

Otro factor a tener en cuenta en la manipulación de gametas es la exposición a la luz. La misma puede resultar perjudicial para la viabilidad *in vitro*, teniendo en cuenta que los procesos a nivel fisiológico transcurren a oscuras. Si bien, no hay datos concluyentes que indican que la luz es dañina para los ovocitos y embriones humanos, hay suficiente evidencia que afecta a otras especies de mamíferos: existen estudios que han revelado que durante la manipulación *in vitro* la luz es causante de estrés. Se registran efectos deletéreos sobre la proliferación celular y el desarrollo embrionario al estadio de blastocisto, con aumentos en la expresión del gen de Hsp70 y producción de especies reactivas de oxígeno (19,20) respuestas celulares clásicas al estrés ambiental. Aunque falten datos sobre el efecto de la luz en los embriones humanos, es prudente tomar las medidas adecuadas para minimizar los posibles efectos nocivos, sobre todo porque también se desconoce si las gametas y embriones tienen un sistema de protección para la

luz. Un componente importante y a menudo pasado por alto sobre el cual también impacta la luz es el aceite mineral. Su composición puede verse adultera tras la exposición a la luz porque se forman peróxidos, lo que resulta en la transferencia de contaminantes hidrosolubles hacia el medio de cultivo (21; 22). Como se discute previamente, el hecho de haber mantenido las placas dentro del incubador en todo momento, haberlas sacado solo para micro inyectar y haber procurado hacerlo lo más rápido posible, hizo que se redujera drásticamente el tiempo que el aceite mineral fue expuesto a la luz, mientras que el hecho de haber micro-inyectado en menos tiempo redujo el tiempo de exposición de los ovocitos.

Finalmente, destacamos el uso de indicadores diarios de fecundación. El control de calidad interno es el paso inicial para implementar un sistema de gestión de calidad y constituye una herramienta para detectar el cumplimiento de los objetivos establecidos y en caso de errores, permite corregirlos y así garantizar la fiabilidad de los resultados (23; 24; 25). Si bien en IVI Buenos Aires implementábamos ya los indicadores mensuales y trimestrales como parte del programa de gestión de calidad, el uso de indicadores diarios dentro del laboratorio fue un gran recurso para los embriólogos, ya que permitía visualizar en tiempo real los resultados. De esta forma se detecta a tiempo una caída en las tasas, pudiendo revisar posibles causas en el momento y tomar medidas inmediatas con el objetivo de revertirla. Los indicadores mensuales y trimestrales, en cambio, son menos dinámicos y si bien también detectan alarmas, no permiten tomar acciones en tiempos tan cortos como los indicadores diarios y evitar así bajas sostenidas.

Tabla 1: Detalle comparativo de los protocolos de la técnica de ICSI en el año 2018 y 2019.

	AÑO 2018	AÑO 2019
Preparación de la placa de ICSI	En el momento previo a la inyección	Con 1h mínimo de anticipación
Placa utilizada	50x9 mm (Corning FALCON)	60x15mm (Corning FALCON)
Cantidad de aceite mineral empleada	3-4 mL	12-14 mL
Medio de inyección	<i>Global Total</i> HEPES	<i>Global Total for Fertilization</i>
Gaseado del medio y el aceite	Desde la mañana	Desde el día previo
Mantenimiento de placas que no estaban en uso	Sobre platina calefactada con apertura de CO ₂	Dentro del incubador
Máximo de ovocitos a micro-inyectar por placa	4-5	3
Monitoreo de los tiempos de inyección	Relajado. Máximo 10 minutos por placa	Riguroso. Máximo 5 minutos por placa
Uso de indicadores de TF	Mensuales	Mensuales y diarios

Tabla 2: Tasas de fecundación promedio en los ciclos de Ovodonación (OD) y Propios en el primer semestre de 2018 y 2019 (*: p<00,5)

	TF PROMEDIO 2018	TF PROMEDIO 2019
OD	75,27%	81,27%*
PROPIOS	72,86%	77,73%*

Tabla 3: Tasas de fecundación promedio para los tres embriólogos incluidos en el estudio. (*: p<00,5)

	TF PROMEDIO 2018	TF PROMEDIO 2019
EMB #1	73,45%	75,66%
EMB #2	75,47%	82,59%*
EMB #3	72,58%	79,94%*

Por último, es interesante recalcar que al seleccionar la TF como KPI, se menciona que es importante definir una población de referencia para su cálculo y se sugiere excluir aquellos casos en los que se anticipa una baja de fecundación, como puede ser el caso de biopsias testiculares o factores masculinos severos (3). En este trabajo, dichos casos fueron incluidos y aun así obtuvimos excelentes resultados.

CONCLUSIÓN

Es posible mejorar las tasas de fecundación sin necesidad de realizar cambios drásticos ni costosos, como puede ser la

adquisición de nuevos modelos de incubadores, cubreobjetos termostatizados y calentadores de objetivos. En cambio, las modificaciones aquí descritas son intervenciones sencillas que pueden alcanzar a un gran porcentaje de laboratorios a nivel mundial y cobran especial relevancia para aquellos pequeños que no cuentan con la última tecnología ni gran capacidad de inversión. Sólo se necesita analizar en detalle los protocolos en uso, introducir las mejoras que se crean necesarias, normalizar las prácticas entre operadores y tomar la determinación de monitorear los resultados.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Natalia Basile por su revisión crítica y aportes.

REFERENCIAS

1. Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Human Reproduction*. 2011; 26 (6):1270–1283.
2. Magli M.C, Jones G. M, Lundin K, Van den Abbeel E. Atlas of Human Embryology. *Human Reproduction*. 2012; 27 (S1): i2– i21.
3. ESHRE Special Interest Group of Embryology and Alpha Scientists in Reproductive Medicine, 2017. The Vienna consensus: report of an expert meeting on the development of art laboratory performance indicators. *Human Reproduction* 2017; 35(5):494-510.
4. Castilla J, Martos A. Indicadores de calidad en el laboratorio de embriología: definición y especificaciones. En ASEBIR. Cuadernos de embriología clínica 2016:34-60.
5. Wale P.L, Gardner D.K. The effects of chemical and physical factors on mammalian embryo culture and their importance for the practice of human assisted reproduction. *Human Reproduction Update*. 2016; 22 (1): 2-22.
6. Pickering S. J, Braude P. R, Johnson M. H, Cant A, Currie J. Transient cooling to room temperature can cause irreversible disruption of the meiotic spindle in the human oocyte. *Fertility and Sterility*. 1990; 54(1):102-8.
7. Almeida P.A, Bolto V. N. The effect of temperature fluctuations on the cytoskeletal organization and chromosomal constitution of the human oocyte. *Zygote*. 1995; 3(4):357-65.
8. Sathananthan A.H, Trounson A, Freemann L, Brady T. The effects of cooling human oocytes. *Human Reproduction*. 1998; 3(8):.968-977.
9. Wang W. H, Meng L, Hackett R.J, Oldenbourg R, Keefe D.L. Limited recovery of meiotic spindles in living human oocytes after cooling-rewarming observed using polarized light microscopy. *Human Reproduction*. 2001; 16(11):2374-8.
10. Wang W.H, Meng L, Hackett R.J, Oldenbourg R, Keefe D.L. Rigorous thermal control during intracytoplasmic sperm injection stabilizes the meiotic spindle and improves fertilization and pregnancy rates. *Fertility and Sterility*. 2002; 77(6):1274-7.
11. Munné S, Alikani M, Ribustello L, Colls P, Martínez-Ortiz P.A, McCulloh D.H. Euploidy in donor egg cycles significantly differ between fertility centers. *Human Reproduction*. 2017; 32(4):743-749.
12. Sabhnani T.V, Elaimi A, Sultan H, Alduraim A, Serhal P, Harper J.C. Increased incidence of mosaicism detected by FISH in murine blastocysts cultured in vitro. *Reproductive BioMedicine Online*. 2011. 22, 621–631.
13. Phillips K.P, Petrunewich M.A, Collins J.L, Baltz J.M. The intracellular pH-regulatory HCO₃⁻/Cl⁻ exchanger in the mouse oocyte is inactivated during first meiotic metaphase and reactivated after egg activation via the MAP kinase pathway. *Molecular Biology of the Cell*. 2002; 13(11):3800-10.
14. Suzuki K, Ebihara M, Nagai T, Clarke N.G, Harrison R.A. Importance of bicarbonate/CO₂ for fertilization of pig oocytes in vitro, and synergism with caffeine. *Reproduction, Fertility and Development*. 1994; 6(2):221-7.
15. Li M, Farley R.A, Lester H.A. Voltage-dependent transient currents of human and rat 5-HT transporters (SERT) are blocked

- by HEPES and ion channel ligands. *FEBS Letters*. **2002**; **513(2-3):247-52**.
16. Picard A, Dorée M. Intracellular microinjection of alkaline buffers reversibly inhibits the initial phase of hormone action in meiosis reinitiation of starfish oocytes. *Development Biology*. **1983**; **97(1):184-90**.
 17. Zigler, J.S, Lepe-Zuniga, J.L, Vistica, B. Analysis of the cytotoxic effects of light-exposed hepes-containing culture medium. *In Vitro Cellular & Developmental Biology*. 1985; 21 (5): 282-287.
 18. Morgia F, Torti M, Montigiani M, Piscitelli C, Giallonardo A, Schimberni M, Giannini P, Sbracia M. Use of a medium buffered with N-hydroxyethylpiperazine-N-ethanesulfonate (HEPES) in intracytoplasmic sperm injection procedures is detrimental to the outcome of in vitro fertilization. *Fertility and Sterility*. **2006**; **85(5):1415-9**.
 19. Schumacher A, Fischer B. Influence of visible light and room temperature on cell proliferation in preimplantation rabbit embryos. *Journal of Reproduction and Fertility*. 1988; 84(1):197-204.
 20. Oh S.J, Gong S.P, Lee S.T, Lee E.J, Lim J.M. Light intensity and wavelength during embryo manipulation are important factors for maintaining viability of preimplantation embryos in vitro. *Fertility and Sterility*. **2007**; **88(4 Suppl):1150-7**.
 21. Otsuki J, Nagai Y, Chiba K. Peroxidation of mineral oil used in droplet culture is detrimental to fertilization and embryo development. *Fertility and Sterility*. 2007; 88 (3): 741-743.
 22. Otsuki J, Nagai Y, Chiba K. Damage of embryo development caused by peroxidized mineral oil and its association with albumin in culture. *Fertility and Sterility*. 2009; 91(5):1745-9
 23. Kenny D, Fraser C.G, Hyltoft P, Kallner A. The Stockholm Consensus Conference on Quality Specifications in Laboratory Medicine 25 - 26 April 1999 Consensus agreement. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. 1999; 59 (7):585.
 24. Westgard J.O. Internal quality control: planning and implementation strategies. *Annals of Clinical Biochemistry*. 2003; 40(Pt 6):593-611.
 25. Marques-Garcia F, Garcia-Codesal M.F, Caro-Narros M.R, ContrerasSanFeliciano T. Importance of implementing an analytical quality control system in a core laboratory. 2015; 30(6):302---309

Embarazo triple monocigotico monocorionico triamniotico luego de la tranferencia de un unico embrión. Reporte de caso y revisión de la literatura.

Triamniotic monozygotic triple monozygotic pregnancy after the transfer of a single embryo. Case report and literature review.

Perfumo Patricia Roxana, Paz María Valeria, Petracco Agustin

Filiación institucional de los autores: Servicio de Medicina Reproductiva. Grupo Gamma. Rosario, Santa Fe. Argentina. Institución donde se realizó el trabajo: Servicio de Medicina Reproductiva, Grupo Gamma, Rosario, Argentina

RESUMEN

El embarazo múltiple, es una de las principales complicaciones de los tratamientos de fertilización asistida. La incidencia de gestación múltiple en embarazos espontáneos es del 1,6% del total de nacidos y se distribuye un 0,4% embarazos monocigóticos y 1,2% embarazos dicigóticos. Un tratamiento de fertilización asistida, FIV o ICSI, aumenta 20 veces el riesgo de embarazo gemelar (1). Esta publicación presenta un caso clínico de embarazo triple monocigótico monocoriónico triamniótico que resultó luego de la transferencia de un único embrión con 3 días de desarrollo. Nacieron tres niñas a las 30 semanas de gestación.

PALABRAS CLAVES: Embarazo monocigótico monocoriónico triamniótico. Embarazo múltiple. Tranferencia de único embrión.

ABSTRACT

Multiple pregnancy is one of the main complications of assisted fertilization treatments. The incidence of multiple pregnancy is 1.6% in spontaneous pregnancies and 0.4% are monozygotic pregnancies and 1.2% are dizygotic pregnancies. An assisted fertilization treatment, IVF or ICSI, increases the risk of twinning by 20 times (1).

This publication presents a clinical report of a monozygotic monochorionic triamniotic triplet pregnancy that resulted after transfer of a single embryo with 3 days of development. Three girls were born at 30 weeks gestation.

KEY WORDS: Monozygotic monochorionic triamniotic pregnancy. Multiple pregnancy. Single embryo transfer

INTRODUCCIÓN

El embarazo múltiple se asocia al manejo no protocolizado de los agentes inductores de la ovulación, sin estricto monitoreo foliular y al número de embriones transferidos por ciclo (2). Los tratamientos de alta complejidad tienen una tasa aproximada 19,4% de embarazo múltiple, estimada por Eshre en 2013 (3). La asociación de la gestación múltiple con morbilidades obstétricas como parto pretérmino, bajo peso al nacer, preclampsia y pérdida del co-gemelo justifican la preocupación en todas las sociedades de medicina reproductiva para reducir la tasa de embarazos múltiples en los tratamientos de reproducción asistida (TRA). Los embarazos múltiples, pueden dividirse en monocigótico o dicigótico, según se generen o no del mismo embrión. La literatura asocia a las gestaciones monocigóticas a las técnicas que conllevan la manipulación de los ovocitos y de la zona pelúcida, como la microinyección espermática (ICSI), la eclosión asistida y la perforación de la zona pelúcida (ZP) para la biopsia de blastómeros. También se propone la edad reproductiva, la hiperestimulación ovárica, el cultivo embrionario y las transferencias de embriones criopreservados como agentes promotores de la gemelación (4).

La morbilidad del embarazo gemelar y los gastos sanitarios que genera, llevó a promover la política de transferencia electiva de un embrión (single embryo transfer: SET) como una opción de disminuir las tasas de múltiples. Sin embargo, el embarazo múltiple puede ocurrir en 1,6% luego de SET, distribuyéndose en un 1,56% de dobles y un 0,04% de triples (5).

En nuestro caso, se produce la gemelación triple de un embrión único transferido en día 3 de desarrollo en una paciente de 39 años con muy baja reserva ovárica. El

desarrollo gestacional y el crecimiento de los tres fetos fue armónico y se interrumpió el embarazo por el aumento de marcadores plásmaticos y de tensión arterial materna debido a preclampsia.

OBJETIVO

Describir un caso de embarazo triple monocigótico, monocoriónico triamniótico luego de la transferencia de un sólo embrión con 3 días de desarrollo.

DISEÑO

Reporte de un caso y revisión de la literatura. Para la revisión, se ha consultado las bases de datos: Medline y Pubmed. Se han usado las palabras claves: monozygotic monochorionic triamniotic pregnancy, multiple pregnancy, single embryo transfer.

CASO CLÍNICO

Pareja igualitaria de mujeres que concurren a la consulta con deseo de embarazo. La paciente que va a aportar sus ovocitos y a gestar el embarazo tiene 39 años, es nuligesta. Con la evaluación inicial se identifica un cuadro de insuficiencia ovárica, con valores de AMH (hormona antimulleriana) 0,15 ng/ml y un recuento ecográfico de 4 folículos antrales. Como antecedentes de jerarquía, presenta una quistectomía de endometrioma derecho y es hipotiroidea medicada con levotiroxina 75 mg por día. Se le indicó ácido fólico 1 mg / día preconcepcional y DHEA 75 mg / día durante 3 meses previo al tratamiento. Otros estudios, histerosalpingografía mostró permeabilidad tubaria bilateral, cultivos de moco cervical negativos y la serología para virus de HIV, Hepatitis B y C negativos y anticuerpos para Toxoplasmosis negativos.

Realizó hiperestimulación ovárica controlada desde el día 3 al 7 del ciclo, con 100 mg de citrato de clomifeno agregando 150 U de HMG/ día desde el día 6 y 7. Al 8° día, se aumentó la dosis 225 U HMG / día y se administró 1 ampolla de cetrorelix 0,25 mg / día en un protocolo variable con un folículo de 14 mm de diámetro.

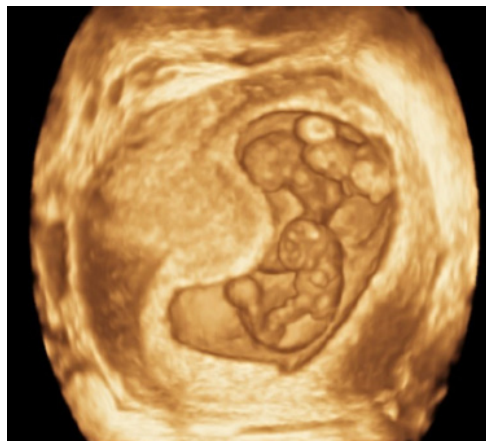
El día 11 del ciclo presentaba 2 folículos de 18 mm y 690 pg / ml de estradiol. Se descargó con 10.000 U de gonadotropina corionica (hCG). A las 35 hs de la administración de hCG se recuperaron 3 ovocitos por punción transvaginal bajo sedación y guía ecográfica. En el día 1 se verificó la fertilización de un ovocito (16-18 hs posinyección) que continuó en cultivo hasta el día 3 (Medio Vitrolife Serie G5). El embrión se clasificó como clase 2 según el consenso de Estambul (6) y se realizó la transferencia bajo guía ecográfica sin dificultad.

Se suplementó la fase lútea con 800 mg de progesterona micronizada por vía vaginal.

A los 12 días posterior a la transferencia el título de la subunidad Beta hCG cuantitativa fue de 89 mUI/ml duplicando las 48 hs.

A la semana 5,4 se realizó la primera ecografía donde se constató la presencia de una gestación monocigótica, monocoriónica biamniótica, quedando la sospecha de identificar un tercer saco. A la semana 7 de amenorrea se confirmó la presencia de tres embriones con actividad cardíaca. Cursó un embarazo con un crecimiento acorde y simétrico de los embriones que fue interrumpido a la semana 30 de gestación, por parto por cesárea. Nacieron 3 bebés femeninos vitales con pesos: 1080, 1190 y 1260 gr. Estuvieron en neonatología durante 70 días. Actualmente tienen 3 años y han crecido saludables y sin alteraciones del desarrollo ni cognitivas.

Fig 1: Ecografía 5 d gestacion monocigótica monocorial triamniótica



DISCUSIÓN

Las gestaciones monocigóticas (GMC) son consideradas de alto riesgo por las morbilidades obstétricas, ya que se asocian a mayor frecuencia de abortos, anomalías estructurales congénitas (gemelos acardios, siamese, acortamiento de las extremidades), retardo de crecimiento intrauterino, síndrome de transfusión feto-fetal, parto prematuro y morbilidad neurológica (7).

El patrón coriónico y amniótico de los embarazos monocigóticos depende del momento en que se dividen las blastómeras en dos contingentes celulares homocigóticos independientes. Si la división ocurre antes del día 3 de desarrollo se formará un embarazo bicorial- biamniótico, si ocurre entre el día 3 al 8 de la fertilización se determina un embarazo monocorial biamniótico y si la división ocurre entre el 8 al 13 día de evolución serán gemelos monocoriales – monoamnióticos y a partir del día 13° serán gemelos unidos o siameses (8).

La frecuencia de gestaciones monocigóticas se estima de 0,4%, con una frecuencia de triples monocigóticos de 0,004% en em-

barazos espontáneas (9). Los TRA presentan un aumento de 2 a 12 veces más de monocigóticos comparado con los embarazos espontáneos y con mayor riesgo de complicaciones que los embarazos dicigóticos (10).

La tranferencia de un único embrión se propuso para la reducción de los embarazos múltiples, sin embargo, numerosos autores reportaron un aumento entre 1,01 al 2,24% gemelos monocigóticos comparado con las tasas que se presenta en las concepciones espontaneas de 0,4% (11,12, 13, 14)

La gemelación de un embrión monocigótico es menos frecuente en embarazos que resultan de tranferencias de embriones en el día 3 de desarrollo, siendo del 1,71%, versus 2,50% en embriones que han llegado al estadio de blastocito y menos frecuente aún es que se genere la triplicación del macizo embrionario dando un embarazo triple monocigótico, monocorial, triamniótico como es el caso de esta paciente (15).

Los embarazos monocigóticos triples o cuádruples ocurren muy raramente, Ikemoto Y y col. publican una prevalencia de embarazo múltiple monocigóticos de 1,36%, luego de 937.848 tranferencias de un embrión. Hubo 81 embarazos triples con tres fetos luego de SET, que se distribuyeron 37 monocoriónicos, 17 dicoriónicos y 27 tricoriónicos, con una tasa de nacido vivo del 54,1%, 70,6%, y 81,5% respectivamente (5). Saravelos H y col. Reporta dos casos de embarazos monocoriónicos uno cuadruamniotico y otro triamniótico seguido de SET en el año 2016 (16).

Las causas, no está claramente identificado. Se asocia al cultivo prolongado con la debilidad en la unión de las células del macizo celular interno que permitiría su division (17)(18)(19). También se han vinculado a las técnicas que manipulan la zona

pelúcida como la eclosión asistida o asistid hactching (AH) y la biopsia de blastómeras, por la probable herniación celular y la división del blastocito durante su expansión. (20)(21). Es controvertido el impacto de la microinyeccion (ICSI), ya que hay publicaiiones que refieren un aumento hasta 20% de embarazos monocigoticos (22) y otros los concideran un evento independiente y no lo asociacion a la manipulacion del ovocito (23).

En nuestro caso, se debe resaltar que este embarazo triple monocigótico ocurrió de una tranferencia simple de un embrión en día 3, de desarrollo. Los fetos tuvieron un crecimiento armónico intraútero y nacieron por cesarea a la semana 30 de gestación con un peso acorde a las semanas de desarrollo y gestación múltipe. Fue interrumpido porque indicadores de preclampsia que pusieron en riesgo la evolución del embarazo.

CONCLUSIÓN

Se reporta un caso de un embarazo triple monocigótico monocoriónico triamniótico que se produce luego de la tranferencia de un **único embrión clase 2** (clasificación de Estambul) de 3 días de desarrollo, en una paciente de 39 años de edad con muy baja reserva ovárica. Los tres fetos tuvieron un crecimiento intrauterino armónico. Fue interrumpido por cesárea a la semana 30 de gestación por una preclampsia que complicó el embarazo. Los nacidos de sexo femenino tuvieron un peso promedio de 1100 gr y necesitaron cuidados neonatales intensivos por 70 días promedio. Las trillizas, actualmente de 3 años de edad, han crecido con desarrollo físico y cognitivo saludable.

La tranferencia de un único embrión, se indica y prioriza en los tratamientos

de fertilización asistida en todo el mundo para evitar los riesgos obstétricos asociados al embarazo múltiple, sin embargo, el embarazo gemelar monocigóticos se puede presentar en 1 a 2,5%.

Es por eso que los especialistas, debemos advertir a las parejas que, por causas no claramente identificadas, sigue presente en las transferencias de un embrión único un porcentaje bajo de riesgo de embarazo múltiple.

BIBLIOGRAFÍA

1. Martin PM, Welch HG. Probabilities for singleton and multiple pregnancies after in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1998; 70:478-81.
2. Jose G.F-J. Embarazo múltiple y reproducción asistida. Fertilidad y reproducción asistida. editorial Panamericana 2009 ISBN: 978-950-06-0124-5.
3. Ferraretti AP y col. Assisted reproductive technology in Europe 2009: results generated from Europe registers by ESHRE. *Human Reprod* 2013, 28(9):2318-2331.
4. Diego Rivera, E. y col Gestacion gemelar monocitorica asociada a técnicas de reproducción asistida. *Prog Obstet Ginecol* 2015; 58 (10):465-469.
5. Ikemoto Y, col. Prevalence and risk factors of zygotic splitting after 937848 single embryo transfer cycles. *Hum Reprod* 2018 Nov; 33(11):1894-1991.
6. The Istanbul Consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Hum Reprod* (internet) Advance Access published 18, 2011.0(0) :1-14 Disponible en <http://humrep.oxfordjournals.org/>
7. Pinborg A. IVF / ICSI twin pregnancies: risks and prevention. *Hum Reprod Update* 2005; 11:575.
8. Callen PW. Ecografía en Obstetricia y Ginecología. 5 edición España. Elsevier; 2009.
9. Vitthala S y col. The risk of monozygotic twins after assisted reproductive technology: A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2009; 15:45.
10. Rao A y col Obstetric complications of twin pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2004; 18 (4) 557-576.
11. Takeshina K y col. Impact of single embryo transfer policy on perinatal outcomes in fresh and frozen cycles analysis of the Japanese Assisted Reproduction Technology registry between 2007 and 2012. *Fert Steril* 2016; 105: 337-346.e333.
12. Derom C y col. Increased monozygotic twinning rate after ovulation induction. *Lancet* 1987; 1:1236-1238.
13. Kawachiya S y col Blastocyst culture is associated with an elevated incidence of monozygotic twins after single embryo transfer. *Fertil Steril* 2014; 101:683-689.
14. Nakasuji T y col, the incidence of monozygotic twinning in assisted reproductive technology: analysis based on results from the 2010 Japanese ART national registry. *J Assist Reprod Genet* 2014; 31: 803-807.
15. Kanter JR y col. Trends and correlates of monozygotic twinning after single embryo transfer. *Obstet Gynecol* 2015; 125 :111-117.
16. Saravelos S H. y col. Monochorionic quadramniotic and triamniotic pregnancies following single embryo transfers: two case reports and a review of the literature. *J Assist Reprod Genet* 2016; 33:27-32.

17. Steinman G, Valderrama E Mechanisms of twinning. III. Placentation, calcium reduction and modified compaction. *J Reprod Med* 2003; 48: 583-590.
18. Menezo YJ y col. Monozygotic twinning: is it related to apoptosis in the embryo? *Hum Reprod* 2002; 87:1028-1032.
19. Cassuto G y col. Culture conditions and not prolonged culture time are responsible for monozygotic twinning in human in vitro fertilization. *Fert Steril* 2003;80;462-463.
20. Skiadas CC y col. Risk factors associated with pregnancies containing a monozygotic pair following assisted reproductive technologies. *Hum Reprod* 2008; 23:1366-1371.
21. Sills ES y col. Human zona pellucida micromanipulation and monozygotic twinning frequency after IVF. *Hum Reprod* 2000;15 (4): 890-895.
22. Chang HJ, col: Impact of blastocyst transfer on offspring sex ratio and the monozygotic twinning rate: a systematic review and meta-analysis. *Fert Steril* 2009;91 (6):2381-2390.
23. Schachter M y col Monozygotic twinning after assisted reproductive technique: a phenomenon independent of micromanipulation. *Hum Reprod* 2001; 16 (6):1264-1269.

Cultivo ciego y su mejora en las tasas de blastocistos utilizables.

Blind culture and its improvement in usable blastocyst rates.

Carbonaro Marinés; Calvo Karina Lucrecia; Pérez Mariana Andrea; Brignardello Claudia Beatriz; López Carla Cintia; Iglesias Diego César; Solari Leticia; Morente Carlos Alberto.

Filiación institucional de los autores: PROAR Centro Médico, Rosario. Santa Fe.

Institución donde se realizó el trabajo: Centro Médico PROAR - Rosario. Santa Fe, Argentina

RESUMEN

Mejoran las tasas de embarazo y de Blastocistos utilizables (transferidos más vitrificados) cuando los embriones son cultivados de forma continua sin retirarlos de la incubadora hasta el día de la transferencia?

Minimizar la observación de los embriones mejora la tasa de Blastocistos utilizables, contando con más embriones para vitrificar, sin modificar la tasa de embarazo.

La evaluación del desarrollo embrionario requiere que se retiren los embriones del microambiente controlado de la incubadora y se evalúen en el microscopio, exponiendo los embriones a fluctuaciones de temperatura y pH que pueden tener un efecto negativo en el desarrollo, en particular en la formación de Blastocistos.

Diseño: estudio retrospectivo descriptivo de corte transversal. Se analizaron 219 pacientes que realizaron ICSI o FIV de enero a junio de 2019 con cultivo a Blastocisto.

Materiales y Métodos: 219 pacientes se dividieron en dos grupos **Grupo 1:** cultivos

ABSTRACT

Can clinical pregnancy rate and usable blastocysts (transfer + vitrified) be improved when embryos are cultured continuously without removing them from the incubator until the transfer day?

Blastocysts formation is enhanced upon decreasing the frequency of embryo inspection outside the incubator, so more embryos are available to be vitrified; although there were no significant differences in pregnancy rate.

Embryos are examined microscopically every morning to assess embryo development; consequently, the frequent exposure to non-optimal conditions outside the incubator may adversely affect embryonic development, particularly blastocyst formation.

Study design : descriptive retrospective cross-sectional study. From January to June 2019 a total of 219 ICSI/FIV patients were included in this study.

Materials and Methods: 219 patients

que fueron retirados del incubador luego de la fertilización al menos una vez antes de día 5 (cultivo convencional) y **Grupo 2:** cultivos en los que luego de evaluar fertilización no fueron retirados del incubador hasta día 5 (cultivo ciego).

Resultados: no hubo diferencias entre ambos grupos según edad, número de ovocitos inseminados, número de ovocitos fertilizados y tasa de fertilización. El grupo 2 presentó mayor tasa de blastocistos y mayor número promedio de embriones congelados respecto al grupo 1, sin evidenciar variación en la tasa de embarazo

Se necesitaría sumar mayor cantidad de casos y evaluar la tasa de embarazo por paciente para hacer más robusto este estudio.

Este hallazgo coincide con la literatura e incentiva a que los cultivos a Blastocisto no sean retirados de su microambiente controlado hasta el día de la transferencia.

Palabras clave: Embriología, Desarrollo embrionario, Blastocisto, Temperatura, pH, Reproducción.

were divided into two groups. Group 1: the embryos in this group were observed outside the incubator after insemination at least once before transfer day (conventional culture) and Group 2: embryos were observed only to assess fertilization and were not removed from the incubator until day 5 (blinded culture).

Results: the mean age, the number of injected and fertilized oocytes and fertilization rate were not statistically different between groups. In group 2 the number of blastocysts was increased and the number of cryopreserved blastocysts was higher than in group 1. No significant differences in the clinical pregnancy rate were observed between the two groups.

Although more patients should be included to confirm the conclusions, it must be noted that the higher number of cryopreserved blastocysts within the experimental group could possibly lead to a higher cumulative clinical pregnancy rate.

Our results are in concordance with the literature and further efforts should be done in order to not disturb the embryo environment until the transfer day.

Keywords: embryology, embryo development, blastocysts, temperature, pH, reproduction

INTRODUCCIÓN:

Aunque se ha investigado mucho sobre el metabolismo y cultivo embrionario, todavía no se sabe a ciencia cierta lo que el embrión necesita para sustentar un metabolismo óptimo *in vitro*. Sin embargo la adaptación a condiciones de cultivo subóptimas da como resultado un metabolismo embrionario alterado por lo tanto es esencial que las condiciones de cultivo embrionario se adecuen a la fisiología normal del embrión para evitar el estrés adaptativo (1,2).

Para evaluar el desarrollo embrionario en el laboratorio, las observaciones instantáneas requieren que se retiren los embriones del microambiente controlado de la incubadora y se evalúen en el microscopio, esto implica la exposición de los embriones a fluctuaciones de temperatura y pH que pueden tener un efecto negativo en el desarrollo, en particular en la formación de Blastocistos

Si bien los embriones tienen plasticidad de desarrollo y pueden adaptarse a su entorno, a veces los cambios que el embrión debe afrontar tiene un alto costo. El exceso de adaptación puede comprometer la viabilidad del embrión, su criotolerancia, el mantenimiento del embarazo, el crecimiento fetal y la salud de la descendencia (3).

Hay numerosas variables que influyen en el desarrollo embrionario, entre ellas se encuentran el pH, las concentraciones de CO_2 y O_2 , la temperatura, humedad, las exposiciones a la luz, especies oxígeno reactivas (ROS) y los medios de cultivo.

El mantenimiento de las condiciones de **pH** interno (pHi) es fundamental para la supervivencia y desarrollo del embrión. Pequeñas desviaciones por períodos cortos pueden tener un impacto dramático. Se observó que subiendo ligeramente el pH 0,15

unidades por 4 horas se afectaba significativamente el metabolismo embrionario (4).

Los embriones tempranos tienen una capacidad limitada para regular el pH interno y se encuentran por lo tanto a merced del pH externo para el control de su pH. Típicamente, los embriones tempranos requieren un pH ligeramente inferior antes de la activación del genoma, aunque la diferencia es fisiológicamente pequeña. Debido a la sensibilidad de los embriones al pH, es esencial para la calidad del embrión que se equilibren correctamente los medios de cultivo (4).

La minimización de las aperturas de las puertas de la incubadora mejora la estabilización del pH

La **temperatura** es otro parámetro fundamental y debe ser monitoreado cuidadosamente como parte de un programa integral de control de calidad. La apertura de la puerta para retirar una placa reduce la temperatura del interior de la incubadora, por lo tanto el número de apertura de puertas y el ancho de apertura son dos factores que deben ser minimizados. Una vez fuera de la incubadora, las placas que contienen embriones deben mantenerse a temperatura controlada por que se enfrían rápidamente, además hay pérdida de calor entre la platina térmica y la placa de cultivo, lo cual es perjudicial para el desarrollo embrionario (1)

Las **ROS** pueden perjudicar el desarrollo embrionario *in vitro*. Su formación se acelera a través de la utilización de niveles atmosféricos de oxígeno. El exceso de exposición a la luz, presencia de iones de metales pesados en el cultivo o deficiencias de los medios de cultivo pueden generar la formación de ROS (5).

Los **peróxidos** se forman a partir de la oxidación de los dobles enlaces dentro del

propio aceite, la exposición a la luz o al calor pueden formar peróxidos causando algún efecto negativo en el desarrollo embrionario (6,7).

La clasificación morfológica tradicional de embriones requiere una interrupción repetida del microambiente de la incubadora al sacarlos y observarlos al microscopio por lo que se planteó en nuestro laboratorio evaluar si los pacientes que realizaron Cultivo ciego (cultivo ininterrumpido en un entorno estable) tienen mayores tasas de blastocistos utilizables (transferidos más vitrificados) y tasas de embarazo que aquellos con cultivo convencional.

Materiales y Métodos: estudio retrospectivo descriptivo de corte transversal. Se analizaron 219 pacientes de enero a junio de 2019 en Centro Médico PROAR. Se incluyeron aquellos casos que realizaron ICSI o FIV con cultivo a blastocisto. Fueron excluidas del estudio las pacientes que transfirieron en día 3 y dejaron el resto de los embriones en cultivo a día 5.

Los embriones fueron incubados en gotas de 30ul de medio de cultivo continuo

(CSC Irvine) de a 1 o 2 embriones por gota. Se utilizaron incubadoras tri gas K-systems (G185 y G210), a 37 °C, y con 5% O₂ y 6% CO₂.

Se compararon 2 grupos, **Grupo 1:** cultivos que fueron retirados del incubador luego de la fertilización al menos una vez antes de día 5 (cultivo convencional) y **Grupo 2:** cultivos en los que luego de evaluar fertilización no fueron retirados del incubador hasta día 5 (cultivo ciego). Las variables cuantitativas se analizaron mediante test de Student o U Mann Whitney, mientras que las categóricas por test de Fisher, $p < 0,05$.

RESULTADOS:

Los grupos fueron comparables en edad, número de ovocitos fertilizados e inseminados y cantidad de embriones transferidos (Tabla 1). El grupo 2 presentó mayor tasa de blastocistos y mayor número promedio de embriones congelados respecto al grupo 1 (Tabla 1, Figura 1).

No hubo diferencias en las tasas de embarazo clínico o implantación (Tabla 1, Figura 2).

Tabla 1: Tabla de resultados. Grupo 1: cultivo convencional y Grupo 2: cultivo ciego.

Tabla 1	Grupo 1	Grupo 2	p	RR	RR IC 95%
Nº Pacientes	124	95			
Edad Media (IC 95%)	37,3(36,6-38,0)	36,5(35,7-37,4)	0,17		
Nº de ovocitos Inseminados Mediana (RI)	5(3-9)	7(4-9)	0,14		
Nº de ovocitos fertilizados Mediana (RI)	4(2-6)	5(3-7)	0,15		
Tasa de blastocistos utilizables	44%	53%	*<0,01	1,22	1,07-1,38
Tasa Bl. completamente expandidos D5	28%	36%	*<0,01	1,27	1,06-1,51
Cancelación n (%)	18(15%)	13(14%)	0,99		
Vitrificación total n (%)	35(28%)	22(23%)	0,44		
Transferencias en fresco n (%)	71(57%)	60(62%)	0,41		
Nº de embriones congelados Media (IC 95%)	1,4 (1,0-1,7)	2,1 (1,6-2,6)	*<0,01		
Nº de embriones transferidos Media (IC 95%)	1,2 (1,1-1,3)	1,1(1,0-1,2)	0,18		
Tasa de embarazo clínico n (%)	26(37%)	19(32%)	0,58		
Tasa de implantación	33%	30%	0,7		

Figura 1: Tasa de blastocistos. Grupo 1: cultivo convencional y Grupo 2: cultivo ciego.

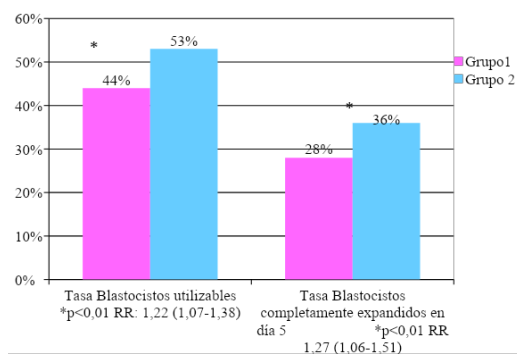
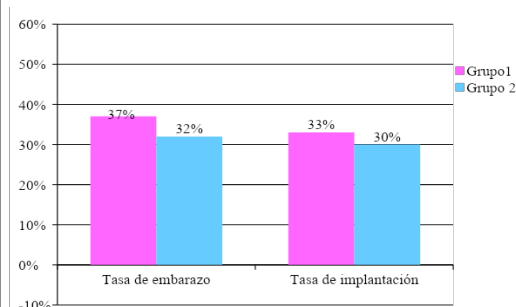


Figura 2: Tasas de embarazos. Grupo 1: cultivo convencional y Grupo 2: cultivo ciego.



DISCUSIÓN:

Un estudio de Zhang J y col (8) describió los efectos de reducir la frecuencia de las observaciones de los embriones fuera de la incubadora. Los resultados mostraron un aumento significativo en el desarrollo de los Blastocistos al día 5 junto con un aumento significativo de blastocistos de buena calidad y Blastocistos aptos para congelamiento. Por lo tanto, simplemente con reducir la observación microscópica el desarrollo del embrión a Blastocisto logro mejores resultados.

Con respecto a los dispositivos de lapsos de tiempo, como el Time lapse la cantidad total calculada de exposición a la luz para los embriones en dispositivos de lapsos de tiempo es menor que la que comúnmente se utiliza en la micromanipulación y evaluación tradicional de embriones. Rubio I y col (9) compara un grupo control en incubadoras convencionales con el grupo en estudio TMS (Time lapse), se observa un porcentaje estadísticamente significativo mayor de embriones óptimos en día 3 y día 5 para el grupo TMS vs el grupo control.

El cultivo ininterrumpido en nuestras condiciones de trabajo permitió obtener un 22 % más de Blastocistos utilizables con un consecuente incremento en el número de embriones vitrificados, también se observó un 27 % más de Blastocistos expandidos. No pudimos encontrar una mejora en la tasa de embarazo por transferencia en fresco aunque no determinamos la tasa de embarazo acumulativa.

El cultivo ciego parece ser beneficioso ya que se asemeja a las condiciones fisiológicas, no exponiendo a los embriones a cambios bruscos de pH, temperatura y luz. Esta medida es simple de realizar no implicando gastos económicos extra ni de infraestructura con lo cual cualquier laboratorio de Embriología lo podría implementar.

Para hacer más robusto este estudio se necesitaría sumar mayor cantidad de casos y evaluar la tasa de embarazo acumulativa por paciente.

La selección del embrión más apto sin llegar a métodos invasivos, para ser transferido al útero sigue siendo un desafío en los laboratorios de FIV

Le corresponde a cada laboratorio determinar que protocolo se adapta mejor a la totalidad de su sistema de cultivo.

CONCLUSIÓN:

En función de nuestra experiencia minimizar la observación de los embriones mejora la tasa de Blastocistos y aumenta el número de embriones vitrificados.

Agradecimientos

Los autores agradecen al equipo médico de PROAR por brindar soporte técnico y sugerencias valiosas para realizar este estudio.

REFERENCIAS

1. Leese HJ1, Baumann CG, Brison DR, McEvoy TG, Sturmev RG. Metabolism of the viable mammalian embryo: quietness revisited. *Mol Hum Reprod.* 2008;14(12):667-72.
2. Leese HJ, Sturmev RG, Baumann CG, McEvoy TG. Embryo viability and metabolism: obeying the quiet rules. *Hum Reprod.* 2007;22:3047-3050.
3. Lane M, Gardner, DK. Embryo culture medium: which is the best?. *Best practice and Research in Clinical Obstetrics and Gynaecology.* 2007; 21: 83-100
4. Lane M, Gardner, DK. Regulation of ionic homeostasis by mammalian embryos. *Seminars in Reproductive Medicine* 2000; 18: 195-204
5. Combelles CM, Hennes ML. Media composition: antioxidants/chelators and cellular function. *Methods Mol Biol.* 2012;912:129-59.
6. Otsuki J, Nagai Y, Chiba K. Peroxidation of mineral oil used in droplet culture is detrimental to fertilization and embryo development. *Fertil Steril.* 2007;88(3):741-3.
7. Otsuki J, Nagai Y, Chiba K. Damage of embryo development caused by peroxidized mineral oil and its association with albumin in culture. *Fertil Steril.* 2009;91(5):1745-9
8. Zhang J y col. Reduction in exposure of human embryos outside the incubator enhances embryo quality and blastulation. *Reproductive BioMedicine OnLine* 2010; 20, 510-515
9. Rubio I. y col. Clinical validation of embryo culture and selection by morphokinetic analysis: a randomized, controlled trial of the EmbryoScope. *Assisted Reproduction.* 2014; vol 102 NO 5 1287-1294

Gestación por sustitución y filiación en argentina

Gestational surrogacy and filiation in argentina

Lic. Flavia Navés¹; Lic. Cecilia Moscuza², Lic. Mariana Thomas Moro³, Lic. Gabriela Barontini⁴ y Lic. Irina Szkolnik⁵

1: Práctica Profesional: El rol del psicólogo en el ámbito de las TRHA. Facultad de Psicología de la Universidad de Buenos Aires. Concebir Asociación Civil. CABA. 2: Concebir Asociación Civil. CABA. 3: Concebir Asociación Civil. CABA. 4: Concebir Asociación Civil. CABA. 5: Concebir Asociación Civil. CABA
Institución en la que se realizó el trabajo: Concebir Asociación Civil. CABA. Argentina

RESUMEN

Pregunta de estudio. ¿En qué casos se aprueba la Gestación por Sustitución y quién es considerada la madre en cada modelo familiar?

Respuesta resumida. La aceptación de la gestación por sustitución, en cualquier modelo familiar, fue muy alta y la mayor parte de los encuestados no ubicó a la gestante en el rol de madre.

Lo que ya se sabe. La Ley Nacional N° 26.862 de “Acceso integral a los procedimientos y técnicas médico-asistenciales de reproducción médicamente asistida” introduce el concepto de derecho reproductivo permitiendo a parejas igualitarias y madres solteras por elección acceder a los tratamientos de reproducción asistida; pero, deja por fuera la gestación por sustitución y con ella, los derechos reproductivos de las parejas igualitarias masculinas, de los hombres solteros y de las mujeres que tienen imposibilidad de llevar a término un embarazo.

ABSTRACT

Study Question. In which cases is gestational surrogacy approved and who is considered the mother in each model of family?

Summarized answer. Gestational Surrogacy in all models of family was highly accepted and most part of the surveyed parties didn't identify the pregnant woman with the role of mother.

Currently known facts. National Act No 26.862 regarding ‘Comprehensive Access to Medical and Care Procedures and Techniques of Medical-Assisted Reproduction’ introduces the concept of Reproductive Rights allowing same sex couples and single mothers by choice to access assisted reproduction treatments. However, it sets aside gestational surrogacy and consequently neglects the reproductive rights of men couples, single men and of women who cannot carry the pregnancy safely to term.

Diseño del estudio: Estudio descriptivo transversal.

Materiales y Métodos. Se administró una encuesta estructurada y autoadministrable a una muestra compuesta por 870 participantes de los cuales el 93% eran mujeres, cuyas edades oscilan entre los 15 y los 72 años.

Resultados. Si bien el porcentaje de aceptación de la gestación por sustitución es muy alto conviven estereotipos y creencias arraigadas en el imaginario social que responden al modelo heteronormativo de familia y los modelos familiares emergentes. Esto dificulta el reconocimiento de las comitentes como madre.

Limitaciones del estudio: Se ha puesto especial atención en no incurrir en un sesgo poblacional al administrar la encuesta. A pesar de dicho esfuerzo, los alcances del presente estudio no son suficientes para extender sus resultados a la población en general.

Implicancias de los hallazgos: Los resultados sugieren la necesidad de consolidar espacios psicoeducativos para pacientes y público en general que permitan el reconocimiento y la visibilidad de los nuevos escenarios de filiación.

Palabras clave: gestación por sustitución; filiación; voluntad procreacional.

Study Design. Cross-disciplinary descriptive.

Methods and Materials. A structured survey was used and conducted to a group consisting of 870 participants, 93% women aged between 15 and 72 years old.

Results. Although the Gestational Surrogacy percentage of acceptance is high, stereotypes and deeply-rooted beliefs still remain in the social imaginary answering to the heteronormative model of family and the emerging models of family. Such circumstance hinders the recognition of the intended mother as the mother figure.

Study Limitations. Special attention has been paid not to fall into a population bias when conducting the survey. Nevertheless, the scope of this study is not enough to extend the results to the general population.

Results' Consequences. The results obtained suggest a need for strengthening psycho-educational spaces both for patients and for the general public that allow for the recognition and visibility of new family relationships scenarios.

Keywords: gestational surrogacy; filiation; procreational will

INTRODUCCIÓN

Así “el paciente deviene actor activo en la evolución favorable de su enfermedad” (1).

Al momento de la publicación de este estudio, los casos judicializados de gestación por sustitución que ya cuentan con un fallo favorable ascienden a cuarenta y dos, revelando la necesidad de un ordenamiento jurídico que garantice los derechos de las partes involucradas.

Según lo establecido en el Artículo 562 “Voluntad Procreacional” del Código Civil y Comercial Argentino madre es la que pare. En el caso de la gestación por sustitución ¿quién es considerada la madre? Ante la ausencia de una mujer en el proyecto parental o, por el contrario, si existe la presencia de una mujer o, tal vez dos, en el proyecto parental ¿es la gestante considerada la madre?

Según lo establecido en las Guías de Buenas Prácticas en Gestación por Sustitución elaboradas por CATRHA serán los comitentes (futuros padres) quienes deberán elegir a la gestante adecuada para llevar adelante el procedimiento; gestante que también elegirá a los comitentes y dará su consentimiento libre e informado para gestar el hijo de quien así lo requiera. Esta elección deberá ser motivada por el afecto mutuo y el altruismo de la gestante; por lo tanto, podría involucrar a gestantes intrafamiliares, es decir mujeres que gestan el hijo de sus hijas, hijas que gestan al hijo de su madre, hermanas que se ofrecen para gestar; o bien involucrar a gestantes conocidas o cercanas a él o los comitente/s como puede ser una amiga, una prima lejana, etc.

Algunas parejas o individuos priorizan el vínculo genético a la hora de tomar la decisión de elegir una gestante para preservar el patrimonio genético y el parentesco

con la familia. Sin embargo, a través de estas nuevas relaciones genéticas, que de otro modo serían imposibles, se modifica la dinámica familiar, afectando las relaciones resultantes entre la gestante, la persona concebida y el resto de la familia, teniendo los involucrados un rol activo en la evolución de los hechos (1,2,3,4). Es decir que el entramado filiatorio se complejiza ya que no sólo involucra a la pareja o persona que desea tener un hijo y/o a donantes de gametos, sino que involucra a una tercera persona; la mujer que debe gestar, quien además podrá pertenecer al entorno cercano de dichas parejas o personas.

Desde el marco normativo la trama filiatoria en TRHA se delimita por las figuras jurídicas de la Voluntad Procreacional y del Consentimiento libre e informado al afirmar que los nacidos por TRHA son hijos de quien dio a luz y del hombre o de la mujer que también han prestado su consentimiento previo, informado y libre, debidamente inscripto en el Registro del Estado Civil y Capacidad de las Personas con independencia de quién haya aportado los gametos. Este consentimiento debe renovarse cada vez que se procede a la utilización de gametos o embriones y es libremente revocable mientras no se haya producido la concepción en la persona o la implantación del embrión.

Sin embargo, es valioso señalar que el derecho ha incluido en su definición de madre una segunda modalidad de serlo ya que si bien, en el Código Civil y Comercial Argentino, es madre quien da a luz en el caso de las TRHA, la madre se constituye en tal antes del parto, ya que ella tuvo que haber aceptado por el consentimiento voluntario, libre e informado que el embrión fuera implantado (en su vientre o en el vientre de una gestante) para ser su hijo (5).

En el campo de la subjetividad, entonces, la filiación se constituye en un entramado discursivo que anuda la voluntad procreacional al deseo, un deseo no anónimo y singular (6, 7) que alberga de antemano al hijo por nacer.

Finalmente, el avance producido en el campo de la medicina reproductiva quiebra el horizonte de las representaciones sociales que vinculan a la familia con el modelo heteronormativo asociando la maternidad con la gestación y a los roles de cada miembro de la pareja con el género respectivo; sistema cognitivo de creencias compartidos que tienen una lógica y un lenguaje propio y que producen los significados que la gente necesita para comprender, actuar y orientarse en su medio social legitimando las normas, los valores y los códigos compartidos, dando significado y sentido a las prácticas sociales, a la organización de la cultura y a la producción del conocimiento (8). Esta nueva realidad hecha luz en los prejuicios sociales ya que “la filiación en TRHA constituye un cambio de paradigma en el modo de constitución de las familias y presentan un contexto epocal específico” (9)

La presente investigación, llevada adelante por el equipo de psicología y musicoterapia de CONCEBIR Asociación Civil, tiene como objetivo indagar acerca del conocimiento existente sobre la gestación por sustitución y la filiación que de ella se desprende con la finalidad de orientar la práctica institucional hacia la realización de procesos psicoeducativos.

MATERIALES Y MÉTODO

Estudio descriptivo transversal. Para esta investigación se utilizó como instrumento una encuesta estructurada y autoadministra-

ble para indagar acerca del lugar de la mujer gestante en la trama familiar para la muestra encuestada.

En la primera parte de la encuesta se recabaron los datos descriptivos de la muestra (edad, sexo, estado civil, hijos y si recurrió a las TRHA); en la segunda parte se indagó en qué casos se aprueba la Gestación por Sustitución y quién es considerada la madre en cada modelo familiar.

La encuesta fue confeccionada por los miembros del equipo de psicología y musicoterapia de CONCEBIR y estuvo en una red social (Facebook) disponible desde mayo a noviembre del año 2017. Se seleccionaron grupos de Facebook cerrados y abiertos en los que los integrantes del equipo de investigación son parte. Se excluyeron intencionalmente los grupos relacionados con la Gestación por Sustitución porque en ellos predominan los usuarios interesados.

RESULTADOS

Se encuestó a 870 participantes voluntarios. El (77%) tiene entre 30 y 49 años (Figura 1) y casi la totalidad de los encuestados (93%) pertenece al sexo femenino (Figura 2)

Figura 1. Edad

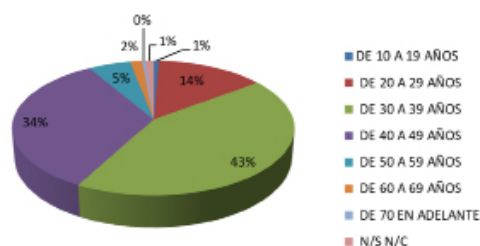
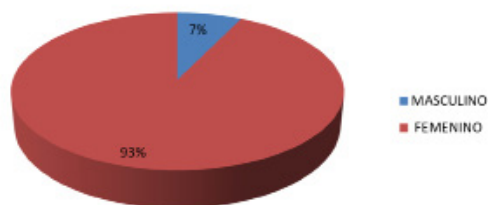
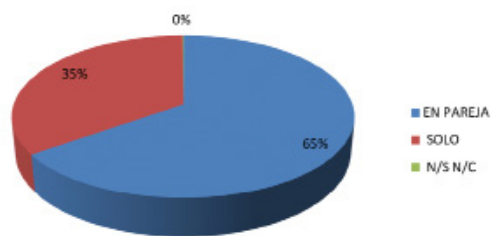


Figura 2. Género



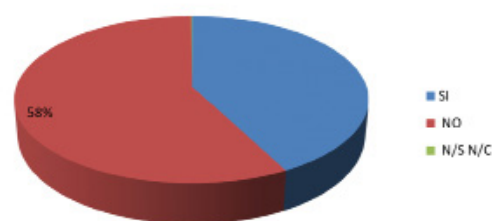
La mayor parte de la muestra (65%) está en pareja (Figura 3)

Figura 3



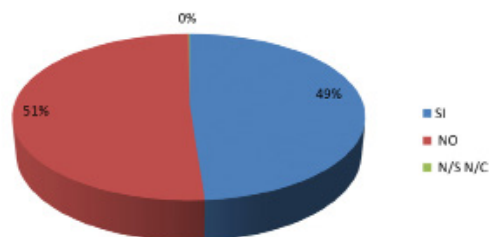
Sólo el 42% de los encuestados tiene hijos (Figura 4).

Figura 4



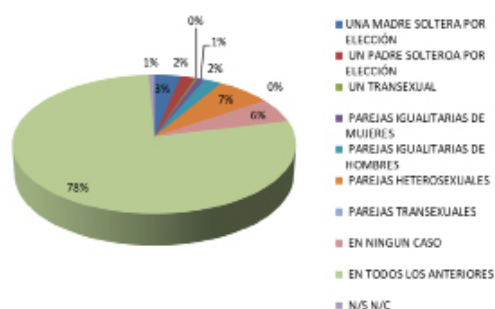
El 49% recurrió a las TRHA (Figura 5); de este porcentaje el 20% logró al menos un hijo vivo y el 29% no lo logró.

Figura 5



La aceptación de la gestación por sustitución (Figura 6), en cualquier modelo familiar, fue muy alta (78%) y la mayor parte de los encuestados no ubicó a la gestante en el rol de madre.

Figura 6



Cuando se trató de parejas heterosexuales el 52% respondió que la madre es la comitente. En cuanto a la relación entre la donante de óvulos y el rol materno el 30% de los encuestados asoció a la donante de óvulos con la maternidad.

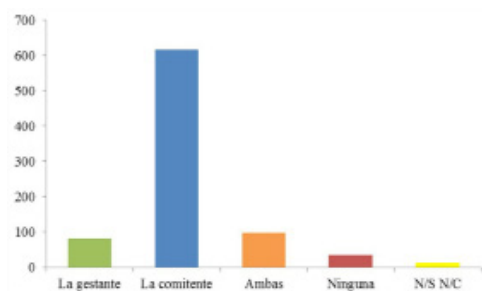
En las familias monoparentales los resultados varían (Tabla 1)

Si la mujer que accede a la gestación por sustitución en soledad no recurrió a la donación de óvulos el 73% respondió que la madre es la comitente (Figura 7).

Tabla 1

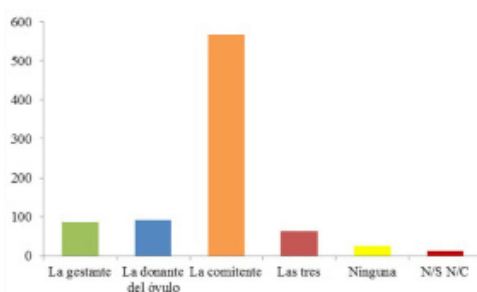
Posibles respuestas	%
La gestante	7
La donante de óvulo	16
la comitente	52
Ninguna	6
Otro familiar cumple ese rol	1
La gestante y la comitente	3
La donante de óvulo y la gestante	5
La donante de óvulo y la comitente	9
N/S N/C	1

Figura 7



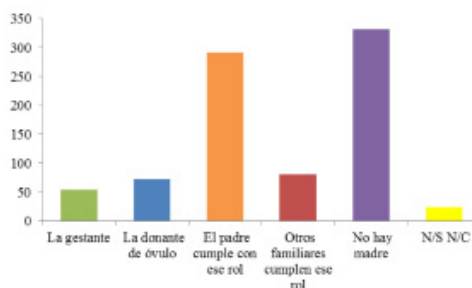
En el caso de las mujeres que, además de la gestación por sustitución, recurren a la donación de óvulos el 67% afirmó que la madre es la comitente. En cuanto a la relación entre la donante de óvulos y el rol materno en el caso de las MSPE que recurrieron a la donación de óvulos y a la gestación por sustitución el 33% asoció a la donante de óvulos con el rol materno; en cambio en el caso de que la mujer haya utilizado sus propios gametos este porcentaje es menor (27%) (Figura 8)

Figura 8



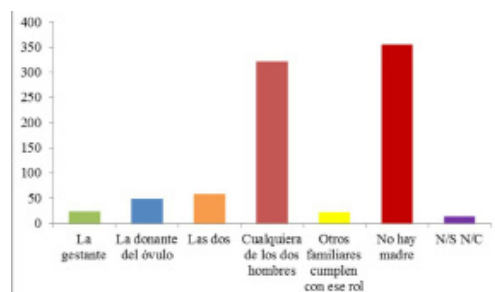
Si se trata de un padre soltero el 39% contestó que no hay madre y el 34% que el padre cumple ese rol. En cuanto a la relación entre la donante de óvulos y el rol materno si no hay una mujer incluida en el proyecto parental como en el caso de los padres solteros el 9% respondió que la madre es la donante de óvulos y el 6% que la madre es la gestante (Figura 9).

Figura 9



En el caso de las parejas igualitarias masculinas el 42% respondió que no hay madre y el 38% que cualquier miembro de la pareja cumple ese rol. En cuanto a la relación entre la donante de óvulos y el rol materno si se trata de parejas igualitarias de hombres el 6% consideró que la madre es la donante y el 3% la gestante. (Figura 10)

Figura 10



En el caso de las parejas lesbianas el 67% de los encuestados considera que cualquier miembro de la pareja cumple el rol de madre. En cuanto a la relación entre la donante de óvulos y el rol materno en parejas lesbianas el 24% asoció a la donante de óvulos con el rol materno (Figura 11).

Figura 11



No hay diferencias significativas en las respuestas entre quienes tienen problemas reproductivos y quienes no.

DISCUSIÓN

Si tenemos en cuenta que, aun existiendo una mujer en el proyecto parental, hay tendencia a asociar a la donante de óvulos con la maternidad, podríamos afirmar que las TRHA nos interpelan, por un lado, sobre la persistencia del mandato social de ser madre y, por el otro, por lo fuerte que sigue siendo lo genético como vínculo de parentesco,

redefiniendo viejas discusiones y planteando nuevas (10). Mandatos sociales que se refuerzan en el Artículo 562 del Código Civil y Comercial de la Nación al conservar la representación de madre asociada con el acto de dar a luz, perdiendo de vista la voluntad de la mujer gestante involucrada en el proceso de la gestación por sustitución. Representación que responde a los sistemas de creencias compartidos sobre las estructuras familiares y los vínculos de parentesco que asocian a la mujer con la maternidad y al alumbramiento con el deseo de maternar.

Asimismo, como contra partida, el mismo Código Civil y Comercial de la Nación disocia los elementos volitivos, genéticos y biológicos para pensar la filiación en TRHA abriendo nuevos caminos para la representación social de la constitución familiar dando lugar a la filiación de un hijo con una identidad biológica (genética) que, según sea el caso, no se corresponde con la de uno o ninguno de quienes tendrán el rol de padres (11).

En cuanto a los modelos familiares si bien los resultados nos permiten inferir la aceptación de configuraciones familiares que no se dejan agrupar en las viejas nominaciones de familia es dable observar que aún persiste la tendencia de considerar al elemento genético (aportación de gametos) como determinante de la filiación aún por sobre el elemento biológico (gestación).

Asimismo, las respuestas evidencian falta de información en materia de filiación en gestación por sustitución ya que el 7% de los encuestados respondió que no hay madre en las parejas heterosexuales que recurren a gestación por sustitución (6% ninguna es la madre y 1% otro familiar cumple su rol) y el 17% eligió respuestas múltiples para indicar quién es la madre (9% donante de óvulos y comitente; 5% donante de óvu-

los y gestante y el 3% gestante y comitente). Estos resultados resultan casi inesperados ya que el modelo de pareja heterosexual responde fielmente al modelo heteronormativo de familia. Pero, resulta menos sorprendente si tenemos en cuenta que aún hoy la genética suele ser la brújula preferida para determinar la filiación.

Finalmente, será el dominio social el que decida qué vínculos biológicos reconocemos y llamamos parentales y cuáles dejaremos por fuera de esta nominación (12).

CONCLUSIÓN

El análisis de los resultados deja entrever que conviven estereotipos y creencias arraigadas en el imaginario social que responden a los modelos familiares emergentes y al modelo heteronormativo de familia.

En el caso de la filiación de los niños nacidos por TRHA, aún hoy, existen puntos controvertidos; controversias que se reflejan en las respuestas obtenidas y que nos convocan, como profesionales de salud mental, a orientar la práctica institucional que realizamos hacia la organización de procesos psicoeducativos que permitan colaborar con el abordaje de la problemática vinculada a las representaciones sociales sobre paternidad, maternidad y familia acompañando a los pacientes y al público en general en el reconocimiento de los nuevos escenarios filiatorios.

Finalmente, cabe destacar, que es necesaria una legalidad que organice estos vínculos filiales. Así, el padecimiento subjetivo de quienes saben que la única forma de acceder a la maternidad/paternidad es mediante esta técnica podrá encontrar un alivio en el arduo camino que les toca recorrer.

REFERENCIAS

1. Campero, M. A., Ferraris L. Inmanencia. En Revista del Hospital Interzonal de Agudos HIGA Eva Perón. Provincia de Buenos Aires. 2004; 4 (2).
2. ASRM. Consideration of the gestational carrier: a committee opinion. *Fertility and Sterility*. 2013; 99 (7): 1838-41.
3. Ruiz-Robledillo, N y Moya-Albiol, L. Gestational surrogacy: Psychosocial aspects. Department of Psychobiology, Faculty of Psychology, University of Valencia, 2016
4. Ruiz-Robledillo, N y Moya-Albiol, L. Gestational surrogacy: Psychosocial aspects. Department of Psychobiology, Faculty of Psychology, University of Valencia, 2016
5. Ormart, E; Lima, N. y Navés, F. Filiación en técnicas de reproducción humana asistida (TRHA): desafíos actuales del desempeño profesional del psicólogo/a. XXIII Jornadas Nacionales sobre el ejercicio profesional. La realidad de la práctica: tendencias y desafíos en los distintos campos de trabajo del psicólogo". Neuquén, Argentina. Noviembre de 2017.
6. Lacan J. Dos notas sobre el niño. En: *Intervenciones y textos 2 (56-57)*. Manantial, (1993).
7. Kletcniki, A. Un deseo que no sea anónimo. *Tecnologías Reproductivas: transformación de lo simbólico y afectación del núcleo real*. En Michel Fariña y Gutierrez (Comps.) *La encrucijada de la filiación. Tecnologías reproductivas y restitución de niños*. Lumen, (2001).
8. Moscovici, S. *El psicoanálisis, su imagen y su público*. Huemul, 1979.
9. Alkolombre, P. Ser padres de otra manera: tener hijos de distintos orígenes. En Alkolombre, P & Sé Holovko, C. compiladoras. *Parentalidad y género. Su incidencia en la subjetividad*. Letra viva, Buenos Aires (2016)
10. Tarducci, M. Las políticas de la reproducción asistida. *Filo debate*. Facultad de Filosofía. UBA, 2016.
11. Bernath, V. *Gente nueva. Historias de vida marcadas por la genética y la revolución social del ADN*. Ed. Sudamericana, 2015
12. Campagno, M. *De los jefes-parientes a los reyes-dioses. Surgimiento y consolidación del estado en el antiguo Egipto*. Aula Aegyptiaca-Studia 3. Barcelona, 2002.

Hormona antimülleriana, conteo de folículos antrales y FSH como predictores del número de ovocitos totales, mil recuperados, y tasa de cancelación en tratamientos de fertilidad.

Anti-müllerian hormone, antral follicle count and fsh as predictor of the number of total oocytes, mii retrieved, and cancellation rate in fertility treatments.

María Valeria Cerisola¹; María Laura Assenza²; María Natalia Jacod³; Romina Pesce⁴.

Institución: Hospital Italiano de Buenos Aires y Hospital Italiano Centro Agustín Rocca, Buenos Aires, Argentina.

RESUMEN

PREGUNTA DE ESTUDIO: Es posible predecir cantidad de ovocitos totales, ovocitos en meiosis II (MII) y tasa de cancelación de tratamiento de fertilidad a partir de los valores de hormona antimülleriana (HAM), el conteo ecográfico de folículos antrales (CFA) y los niveles séricos de hormona foliculoestimulante (FSH)?

RESPUESTA: El número de ovocitos totales recuperados y MII se asocian directamente con la HAM y CFA e inversamente con la FSH. La única variable con asociación significativa a tasa de cancelación fue el CFA y la edad no mostró asociación.

LO QUE SE SABE: Los marcadores de reserva ovárica permiten identificar el potencial reproductivo de cada paciente siendo

ABSTRACT

STUDY QUESTION: Is it possible to predict the amount of total oocytes, oocytes in meiosis II (MII) and cancellation rate of fertility treatment with the anti-Müllerian hormone (AMH), antral follicle count (AFC) and follicle-stimulating hormone (FSH)?

ANSWER: The number of total oocytes retrieved and MII are directly associated with the AMH and AFC and inversely to the FSH. The only variable with a significant association with the cancellation rate was the AFC and the age did not show any association.

WHAT IS KNOWN: The ovarian reserve markers enable us to identify the reproductive potential of each patient being

1- Hospital Italiano Centro Agustín Rocca, Buenos Aires, Argentina

2- Hospital Italiano Centro Agustín Rocca, Buenos Aires, Argentina

3- Hospital Italiano Centro Agustín Rocca, Buenos Aires, Argentina

4- Hospital Italiano de Buenos Aires y Hospital Italiano Centro Agustín Rocca, Buenos Aires, Argentina

una herramienta indispensable para ofrecer tratamientos individualizados y expectativas acordes con el pronóstico reproductivo.

DISEÑO: Cohorte retrospectiva de 888 pacientes entre el 1/1/2014 al 31/12/2018

MATERIALES Y METODOS: Pacientes que realizaron alta complejidad (FIV, ICSI y criopreservación de ovocitos) en el Hospital Italiano y tuvieron dosaje de HAM, FSH y CFA.

RESULTADOS: Evaluando cantidad de ovocitos aspirados, el OR ajustado para HAM fue 0.16 (IC 0.14-0.18 $p<0.01$), para CFA 0.37 (IC 0.31-0.42 $p<0.01$) y para FSH -0.13 (IC -0,21-(-0.05) $p<0.01$). Respecto a cantidad de ovocitos MII, el OR ajustado para HAM fue 0.09 (IC 0.07-0.11 $p<0.01$), para CFA 0.34 (IC 0.29-0.40 $p<0.01$) y para FSH -0.02 (IC -0,01- (-0.03) $p<0.01$). Para la tasa de cancelación, el OR ajustado para HAM fue 0.94 (IC 0.89-1 $p0.09$), para CFA 0.80 (IC 0.72-0.9 $p<0.01$) y para FSH fue de 1.05 (IC -0,99-1.11 $p0.09$). No se observó asociación entre la edad y ovocitos aspirados, MII y cancelación, al ajustar por marcadores de reserva ovárica (HAM, CFA, FSH).

LIMITACIONES: Diseño retrospectivo. Rango etario heterogéneo.

IMPLICANCIAS: Personalizar los tratamientos de reproducción asistida acorde a las características individuales de cada paciente, realizando un asesoramiento pronóstico preciso.

PALABRAS CLAVE: FSH- conteo folículos antrales – Ovocitos aspirados- Hormona Antimulleriana – tasa de cancelación

this an essential tool to offer individualized treatments and expectations according to the reproductive prognosis.

DESIGN: Retrospective cohort in 888 patients between 1/1/2014 and 31/12/2018.

MATERIALS AND METHODS: Patients who received Assisted Reproductive Treatments (IVF, ICSI, and oocytes cryopreservation) at the Hospital Italiano and had a dosage of AMH, FSH, and AFC.

RESULT: Analyzing the amount of retrieved oocytes, the adjusted OR for AMH was 0.16 (IC 0.14-0.18 $p<0.01$), for AFC 0.37 (IC 0.31-0.42 $p<0.01$) and for FSH -0.13 (IC - 0,21-(-0.05) $p<0.01$). According to the amount of oocytes MII, the adjusted OR for AMH was 0.09 (IC 0.07-0.11 $p<0.01$), for AFC 0.34 (IC 0.29-0.40 $p<0.01$) and for FSH -0.02 (IC - 0,01- (-0.03) $p<0.01$). According to the cancellation rate, the adjusted OR for AMH was 0.94 (IC 0.89-1 $p0.09$), for AFC 0.80 (IC 0.72-0.9 $p<0.01$) and for FSH was 1.05 (IC -0,99- 1.11 $p0.09$). When adjusting by the ovarian reserve markers (AMH, AFC, FSH), no association between age and the oocytes retrieved, MII, and the cancellation, was observed.

LIMITATIONS: Retrospective design. Heterogeneous age range.

IMPLICATIONS: Personalize the assisted reproductive treatments according to the individual characteristics of each patient, giving accurate prognostic awareness.

KEYWORDS: Fertility – Forecasting – Oocytes – Anti- Mullerian Hormone

INTRODUCCIÓN

Se estima que la infertilidad afecta a 50-80 millones de personas a nivel mundial, siendo causa de estrés considerable, que puede afectar en distintas esferas a ambos miembros de la pareja (1).

En la actualidad por situaciones tanto sociales como culturales, se ha postergado la edad de búsqueda del primer embarazo (2). Este nuevo escenario genera un impacto directo en la potencial fertilidad, reduciendo la cantidad y la calidad ovocitaria de este grupo de mujeres (3,4).

La evaluación de la reserva ovárica permite identificar el potencial reproductivo de cada paciente siendo una herramienta indispensable para ofrecer tratamientos individualizados y expectativas coherentes con el pronóstico reproductivo (5).

Acorde a la bibliografía disponible, en la actualidad las dos pruebas de mayor utilidad en la evaluación de la reserva ovárica son el conteo ecográfico de folículos antrales (CFA) y el dosaje de la hormona antimülleriana (HAM). Estos dos parámetros permiten categorizar la respuesta al tratamiento y según los resultados clasificar a los pacientes como normorespondedoras, hiperrespondedoras e hiporespondedoras (6,7).

Sin embargo, el conteo folicular, al igual que cualquier examen ecográfico, es operador dependiente, por lo que resulta necesario disponer de un método objetivo para predecir la respuesta del tratamiento, basado en el número de ovocitos aspirados, para optimizar el asesoramiento y brindar tratamientos personalizados para cada paciente (7).

La HAM es producida por folículos pre-antrales y antrales pequeños, correlacionándose directamente con la reserva ovárica. Sus niveles son indetectables en mujeres menopáusicas o

con antecedentes de ooforectomía bilateral. El dosaje de HAM posee dos ventajas específicas, inherentes a sus características. Por un lado no posee variaciones inter e intraobservador, como sucede con la ecografía, y no depende de la etapa del ciclo menstrual de la paciente, como sí lo requiere la evaluación de la hormona foliculoestimulante (FSH) o estradiol (8-12).

Nuestro objetivo es estimar la capacidad de la hormona antimülleriana (HAM), del conteo ecográfico de folículos antrales (CFA) y de la hormona foliculoestimulante (FSH), para predecir cantidad de ovocitos totales aspirados; recuperación de ovocitos en fase de meiosis II (MII) totales; y tasa de cancelación de tratamiento luego de una estimulación ovárica en mujeres que realizaron tratamientos de fertilidad de alta complejidad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio de cohorte retrospectivo, en el cual se incluyeron pacientes que realizaron tratamiento de alta complejidad en un hospital universitario de tercer nivel de Buenos Aires, en el período comprendido entre el 01 de enero de 2014 al 31 de diciembre de 2018, las cuales tuvieron dosaje de HAM y FSH y CFA registrado en la historia clínica electrónica, dentro del año de planificación de su estimulación ovárica.

Criterios de Inclusión: Tratamientos de alta complejidad: fertilización in vitro (FIV), inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) y criopreservación de ovocitos realizados en el Hospital Italiano. Se consideró como caso individual a cada ciclo realizado, en el lapso de tiempo comprendido, por una misma paciente con dosaje de HAM, FSH y CFA dentro del año del tratamiento: 888 pacientes cumplieron los criterios de inclusión.

Criterios de exclusión: Tratamientos de ovodonación. Baja complejidad.

Variables analizadas:

1. Variables de resultado:

- Cantidad de ovocitos totales aspirados: Constituye una variable numérica discreta. Es el número de ovocitos obtenidos por punción aspiración bajo guía ecográfica luego de un tratamiento de estimulación hormonal.
- Cantidad de ovocitos en fase de meiosis II (MII) totales: Constituye una variable numérica discreta. Los M2 son los ovocitos considerados maduros, aptos para llevar a cabo el tratamiento de fertilización asistida.
- Tasa de cancelación: Definida como ausencia de ovocitos MII aspirados en la punción o ausencia de fertilización luego de FIV o ICSI a cargo del biólogo. Constituye una variable dicotómica: (SI-No).

2. Variables potencialmente predictoras:

- Dosaje de HAM: Variable categórica ordinal: HAM 1 (Baja reserva ovárica <0.5-1 ng/ml o <3.57-7.14 picomol/l), HAM 2 (Reserva ovárica adecuada > 1-2 ng/ml o 7.14-14.28 picomol/l), HAM 3 (Alta reserva ovárica > 2 ngs/ml-14.28 picomol/dl).
- Conteo ecográfico de folículos antrales de ambos ovarios: Un folículo antral es aquel que tiene un tamaño de entre 2-10mm. Variable categórica ordinal: CFA 0 (Baja reserva ovárica <5 folículos antrales en ambos ovarios), CFA 1 Reserva ovárica adecuada (5-10 folículos antrales en ambos

ovarios), CFA 2 (Alta reserva ovárica >10 folículos antrales en ambos ovarios).

- -Dosaje de FSH: Hormona hipofisaria evaluada en sangre periférica en fase folicular temprana, entre día 2-4 del ciclo menstrual. Variable continua en mUI/mL.

3. Otras variables:

- Edad al momento de la punción ovárica: Variable categórica en años: <30 años, 30-34 años, 35-39 años, >=40 años. Los OR ajustados fueron analizados con la mediana de la edad.

Se confeccionó una curva ROC para evaluar la capacidad discriminadora de la HAM para tasa de cancelación de tratamiento.

Se realizó la revisión de la historia clínica electrónica de las pacientes que realizaron tratamiento de alta complejidad en la sección de medicina reproductiva de un hospital universitario de tercer nivel de Buenos Aires, en el período estudiado. Los investigadores firmaron un acuerdo de confidencialidad de los datos para garantizar el uso adecuado de la información obtenida a partir de las historias clínicas de las pacientes.

Para el desarrollo del modelo predictivo se realizó regresión logística. El paquete estadístico usado fue STATA versión 13.

El estudio fue evaluado y aprobado por el Comité de Ética de Protocolos de Investigación (CEPI) del Hospital Italiano de Buenos Aires. Número de resolución: 3248. Por su diseño retrospectivo, no se obtuvo consentimiento informado escrito de los pacientes. El estudio se realizó respetando las consideraciones relativas al cuidado de los participantes en investigación clínica incluidas en

la Declaración de Helsinki y con acuerdo a la Guía para Investigaciones en Salud Humana (Resolución 1480/11) del Ministerio de Salud de la Nación. Este estudio no fue financiado por ninguna entidad del Hospital o extrahospitalaria, fue confeccionado por médicos del servicio interviniente, sin ningún tipo de resarcimiento económico.

RESULTADOS

Se incluyeron 888 pacientes. La mediana de edad fue de 38 años (RIC₂₅₋₇₅ 36-41). El grupo en estudio comprendió entre 21 y 46 años. En el subanálisis por edad, 3.4% de las pacientes fueron <30 años; 14.5% entre 30-34 años, 43% entre 35-39 años y 39% fueron mayores a 40 años al realizar el tratamiento. La mediana de los marcadores

de reserva ovárica fue de 9.25 pmol/l para HAM (RIC₂₅₋₇₅ 4-18); de 8 para CFA (RIC₂₅₋₇₅ 5-12) y de 6.7 UI/L para FSH (RIC₂₅₋₇₅ 5.4-9). La mediana de ovocitos recuperados fue de 6 (RIC₂₅₋₇₅ 3-10). La mediana de ovocitos MII totales fue de 5 (RIC₂₅₋₇₅ 2-8) (Tabla 1). La tasa de cancelación fue del 5% (IC 95% 3,6-6,4) lo que correspondió a 43 pacientes sobre 845 pacientes no canceladas. En la evaluación de la Curva ROC el área bajo la curva de HAM para cancelación fue de 0,77 (IC 95% 0,74-0,80 p0.03) (Figura 1).

Teniendo en cuenta la cantidad de ovocitos totales aspirados, el OR ajustado para HAM fue de 0.16 (IC 0.14 a 0.18 p<0.01), para CFA fue de 0.37 (IC 0.31 a 0.42 p<0.01) y para FSH fue de -0.13 (IC -0,21 a -0.05 p<0.01) (Tabla 2).

Tabla 1. Características basales (n=888), variables potencialmente predictoras y variables de resultado

Variable	Global	Cancelación (n=43)	NO Cancelación (n=845)
Categorías de edad			
<30 años	3.4% (30)	2.3%(1)	3.4%(29)
30-34 años	14.5% (129)	9.3%(4)	14.8%(128)
35-39 años	43%(382)	41.9%(18)	43.1%(364)
>=40 años	39%(347)	46.5%(20)	38.7%(327)
Mediana de Edad (RIC 25-75)	38 (36-41)	39 (36-43)	38 (36-41)
Mediana HAM (RIC 25-75)	9.25 (4-18)	2.6 (2.1-5.3)	9.9 (4.3-19)
Mediana CFA (RIC 25-75)	8 (5-12)	4 (2-6)	8 (5-12)
Mediana de FSH (RIC 25-75)	6.7 (5.4-9)	9.2 (6.7-12.2)	6.5 (5.4-8.8)
Mediana ovocitos aspirados (RIC 25-75)	6 (3-10)		
Mediana ovocitos M2, (RIC 25-75)	5 (2-8)		

Figura 1. Curva ROC: Área bajo la curva de HAM para cancelación

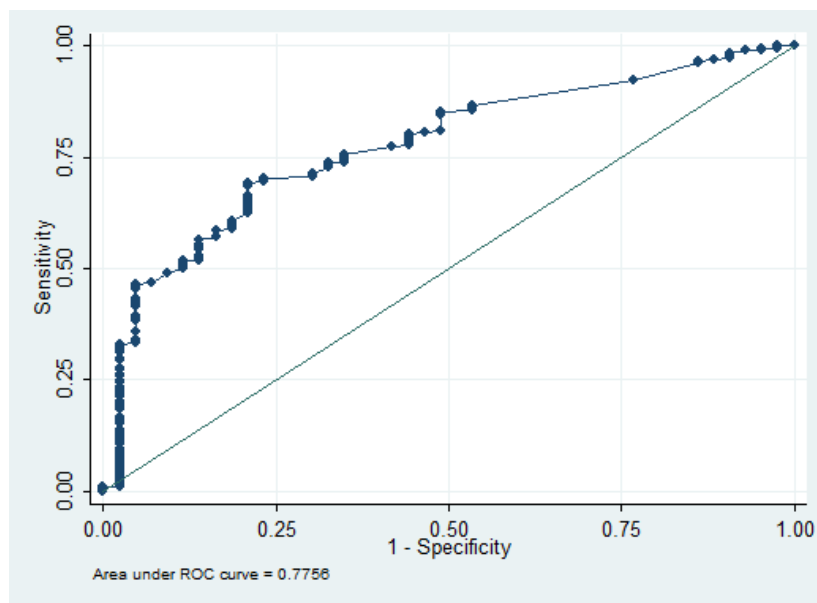


Tabla 2. Factores asociados a ovocitos totales aspirados

Variable	OR no ajustado	IC (95%)	P	OR ajustado *	IC	p
HAM	0.25	0.23-0.27	<0.01	0.16	0.14-0.18	<0.01
FSH	-0.49	-0.59 -0.40	<0.01	-0.13	-0.21 -0.05	<0.01
CFA	0.62	0.57- 0.67	<0.01	0.37	0.31- 0.42	<0.01
EDAD	-0.13	-0.19 - 0.07	<0.01	-0.01	-0.05 0.03	0.61 (NS)**

*OR Ajustado a HAM, FSH, CFA, Edad ** NS No significativo

Respecto a la cantidad de ovocitos MII totales, el OR ajustado para HAM fue de 0.09 (IC 0.07 a 0.11 $p<0.01$), para CFA fue de 0.34 (IC 0.29 a 0.40 $p<0.01$) y para FSH fue de -0.02 (IC -0,01 a -0.03 $p<0.01$) (Tabla 3).

Por último analizando tasa de cancelación, el OR ajustado para HAM fue de 0.94 (IC 0.89 a 1 $p0.09$), para CFA fue de 0.80 (IC 0.72 a 0.9 $p<0.01$) y para FSH fue de 1.05 (IC -0,99 a 1.11 $p0.09$) (Tabla 4).

Para dos de las tres variables de resultados, ovocitos totales aspirados y ovocitos MII

totales, tanto la HAM como el CFA se asociaron en forma directa e independiente.

Por el contrario la FSH tuvo una asociación inversa e independiente con estos resultados. Respecto al análisis de tasa de cancelación, la única variable que mostró asociación significativa fue el CFA.

No se observó asociación entre la edad y cantidad de ovocitos totales aspirados, cantidad de ovocitos MII totales y tasa de cancelación, al ajustar por los marcadores de reserva ovárica (HAM, CFA, FSH).

Tabla 3. Factores asociados a ovocitos MII

Variable	OR no ajustado	IC (95%)	P	OR ajustado *	IC	P
HAM	0.17	0.15-0.19	<0.01	0.09	0.07-0.11	<0.01
FSH	-0.37	-0.46- -0.28	<0.01	-0.02	-0.01 -0.03	<0.01
CFA	0.49	0.45-0.54	<0.01	0.34	0.29 0.40	<0.01
EDAD	-0.09	-0.14 -0.04	<0.01	-0.01	-0.04 0.03	0.72 (NS) **

*OR Ajustado a HAM, FSH, CFA, Edad ** NS No significativo

Tabla 4. Factores asociados a cancelación

Variable	OR no ajustado	IC (95%)	P	OR ajustado *	IC	P
HAM	0.88	0.83-0.94	<0.01	0.94	0.89-1	0.09(NS) **
FSH	1.11	1.06-1.18	<0.01	1.05	0.99-1.11	0.09 (NS)
CFA	0.77	0.69-0.85	<0.01	0.80	0.72-0.9	<0.01
Edad vs categoría <30						
30-34 años	0.92	0.09-8.01	0.94(NS)			
35-39 años	1.43	0.18-11.12	0.73(NS)			
>=40 años	1.77	0.23-13.69	0.58(NS)			
EDAD	1.04	0.97-1.1	0.24(NS)	0.99	0.94-1.05	0.84 (NS)

*OR Ajustado a HAM, FSH, CFA, Edad, ** NS No significativo

DISCUSIÓN

El número de ovocitos recuperados en pacientes que se someten a un ciclo de alta complejidad se ve influenciado por marcadores de reserva ovárica, registrados al inicio de la evaluación médica. Estos, permiten identificar el potencial reproductivo de cada paciente siendo una herramienta indispensable para ofrecer tratamientos individualizados y expectativas acordes con el pronóstico reproductivo (5,7).

Con el advenimiento del dosaje de HAM se produjo un uso indiscriminado del mismo para brindar asesoramiento a la población potencial-

mente fértil, lo que generó en muchos casos, errores en la interpretación de los resultados y un asesoramiento inadecuado (8). Nuestra población de estudio es un grupo de pacientes en plan de realizar tratamiento de alta complejidad, donde el dosaje de HAM fue solicitado como un parámetro más dentro del estudio de reserva ovárica. Resulta necesario contar con herramientas para predecir una probable cancelación de tratamiento y su consecuente asesoramiento sobre alternativas terapéuticas.

Consideramos que nuestra población es heterogénea respecto a la edad, ya que evaluamos los subgrupos etarios, incluyendo pacientes entre 21 a 46 años.

Por otro lado, no se analizaron las comorbilidades médicas que condicionan la reserva ovárica de nuestras pacientes. Sin embargo, el dosaje de HAM representa una variable objetiva y reproducible para predecir los resultados evaluados.

En el presente estudio se demuestra el peso de los marcadores de reserva ovárica como predictores de la respuesta a una estimulación en un tratamiento de alta complejidad.

La fuerza de la HAM incluye la independencia y estabilidad en el ciclo, mientras que las limitaciones incluyen la presencia de diferentes ensayos y la falta de estándares internacionales sobre los niveles de corte.

La fortaleza del CFA incluye la evaluación ginecológica previa a realizar el tratamiento, a bajo costo. Su principal debilidad es la subjetividad entre distintos observadores (12,13,14). Sin embargo constituye un método accesible, fidedigno, rápido y de bajo costo, y fundamentalmente con una asociación significativa tanto a la recuperación ovocitaria como a la posibilidad de cancelación.

El presente trabajo, se realizó como un proyecto secundario de un trabajo realizado entre los años 2014 y 2016, donde se evaluó el rol de los marcadores de reserva ovárica para cantidad de ovocitos totales aspirados y ovocitos MII. En este primer estudio realizamos un análisis secundario respecto a tasa de cancelación y los hallazgos parecían prometedores, motivo por el cual decidimos extender nuestro protocolo hasta diciembre del año 2018, y valorarlo como un tercer resultado.

El OR ajustado de tasa de cancelación para el valor de HAM no mostró asociación significativa, pero lejos de desestimar el rol de la misma, la consideramos como una herramienta que orienta, para asesorar a mujeres

que realizarán estimulación por tratamientos de alta complejidad. Estos resultados pueden ser inesperados en vista del fuerte apoyo que ha tenido la HAM durante la última década para predecir respuesta ovárica(15,16,17). Contamos con el CFA como único predictor de tasa de cancelación, con asociación significativa.

Si bien no realizamos un análisis de costo efectividad, en vista de nuestros hallazgos, parece razonable pensar que adicionar de forma rutinaria el dosaje de HAM podría tener algún beneficio.

La falta de asociación de la edad con las variables de interés, puede haber ocurrido por realizar un análisis global de la mediana de edad, sugiriendo la necesidad de estudiar grupos etarios seleccionados.

CONCLUSION

El dosaje de hormona antimülleriana, el conteo ecográfico de folículos antrales y la hormona foliculoestimulante nos permiten predecir la respuesta a una estimulación ovárica respecto a la cantidad de ovocitos totales y ovocitos en meiosis II que obtendremos en un tratamiento de alta complejidad. Además el conteo ecográfico de folículos antrales complementa el asesoramiento para predecir tasa de cancelación de tratamiento y permite asesorar sobre alternativas terapéuticas.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Dra María Lourdes Posadas Martínez y a la Dra Lucía Gabriela Perez pertenecientes al Área de Investigación en Medicina Interna, del Departamento de Investigación del Hospital Italiano de Buenos Aires, por su colaboración en el análisis estadístico del trabajo.

REFERENCIAS

1. WHO. Gender and genetics: assisted reproductive technologies (ARTs). 2015. html. Accessed 6 July 2015.
2. Alamillos Guardiola MC. Late maternity: Contemporary Expression of Western Patriarchy. *Revista de Antropología Experimental*. 2016; 16 (15).
3. Sara D, Terrie V, Alice R. Age and Fertility: A Study on Patient Awareness. *JBRA Assisted Reproduction* 2016; 20(3):99-106.
4. ACOG Committee Opinion No. 589. Female age-related fertility decline. *ACOG*. 2014; 101(3):633-4.
5. ACOG Committee Opinion No. 618: Ovarian reserve testing. 2015 Jan;125(1):268-73.
6. Steiner AZ, Pritchard D, Stanczyk FZ, Kesner JS, Meadows JW, Herring AH, Baird DD. Association Between Biomarkers of Ovarian Reserve and Infertility Among Older Women of Reproductive Age. *JAMA*. 2017;318(14):1367.
7. Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, Mol BW, Lambalk CB. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Hum Reprod Update* 2006;12(6):685.
8. ACOG Committee Opinion. The Use of Antimüllerian Hormone in Women Not Seeking Fertility Care. *April 2019*; 133 (4):274.
9. Toner JP, Seifer DB. Why we may abandon basal follicle-stimulating hormone testing: a sea change in determining ovarian reserve using antimüllerian hormone. *Fertil Steril*. 2013;99(7):1825-30.
10. Seang Lin Tan, MD, Timothy J. Child, MD, and Bulent Gulekli, MD In vitro maturation and fertilization of oocytes from unstimulated ovaries: Predicting the number of immature oocytes retrieved by early follicular phase ultrasonography. *Am J Obstet Gynecol* 2002, 186 (4), 684-689.
11. La' szló F. J. M. M. Bancsi, et al. Predictors of poor ovarian response in in vitro fertilization: a prospective study comparing basal markers of ovarian reserve. *Fertil Steril* 2002; 77(2).
12. Rubens F, Ruggero C, Mignini R& , Coticchio G, Crippa M. Anti-mullerian hormone as a predictive marker for the selection of women for oocyte in vitro maturation treatment. *J Assist Reprod Genet* 2011;28:501–508.
13. Luciano G. Nardo, M.D.,^a Tarek A. Gelbaya, M.D.,^a Hannah Wilkinson, MB.ChB.,^a Sepsen A. Roberts, Ph.D.,^b Allen Yates, Ph.D.,^c Phil Pemberton, B.A.,^c and Ian Laing, Ph.D.^c Circulating basal anti-Müllerian hormone levels as predictor of ovarian response in women undergoing ovarian stimulation for in vitro fertilization. *Fertility and Sterility* 2009;92 (5)
14. Merhi, Z, Zapantis A, Berger DS, Jindal SK. Determining an anti-mullerian hormone cutoff level to predict clinical pregnancy following in vitro fertilization in women with severely diminished ovarian reserve. *Assist Reprod Genet* 2013; 30:1361–1365
15. Revelli A, Biasoni V, Gennarelli G, Canosa S, Dalmaso P, Benedetto C. IVF results in patients with very low serum AMH are significantly affected by chronological age. *J Assist Reprod Genet* 2016; 33:603–609
16. Å. Magnusson, L. Nilsson. The addition of anti-Müllerian hormone in an algorithm for individualized hormone dosage did not improve the prediction of ovarian response, a randomized, controlled trial. *Human Reproduction*. 2017; .32(4): 811–819.
17. Rosen MP, Zamah AM. The effect of follicular fluid hormones on oocyte recovery after ovarian stimulation: FSH level predicts oocyte recovery. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2009; 7:35.

Síndrome antifosfolípido obstétrico: más allá de los criterios de Sidney.

Obstetric antiphospholipid syndrome: beyond the Sidney criteria.

Ordoñez, José; Georgiëtt, Teresita; Molina, Maria Angélica; Ghione, Silvia; Del Val, Ariel; Gonzalez Achaval, Gabriela.

Filiación institucional de los autores: Origen Salud Reproductiva. Córdoba.
Institución donde se realizó el trabajo: Origen Salud Reproductiva. Córdoba.

RESUMEN

Pregunta de estudio: cuál es la prevalencia de anticuerpos antifosfolípidos (AFL) en pacientes que presentan complicaciones obstétricas (CO) incluidas o no en los criterios de Sidney (CS)?

Respuesta resumida: encontramos alta prevalencia de AFL+ en pacientes con manifestaciones clínicas.

Lo que ya se sabe: existen evidencias de pacientes que no reúnen los CS, pero presentan anticuerpos positivos y se asocian a CO y/o disfunción placentaria. En base a esto, recientemente se propuso el concepto de Síndrome Antifosfolípido Obstétrico (SAF-O) como una entidad diferente.

Diseño del estudio: estudio de corte transversal evaluando 284 pacientes con/sin CO.

Materiales y métodos: Se determinó anti-coagulante Lúpico (AL), anticuerpos anti-cardiolipinas (aCL) y anti β 2glicoproteína1 (a β 2GP1). Clínicamente fueron divididas en: pacientes sin complicaciones, con CO no incluidas en los CS, y con manifestacio-

ABSTRACT

Study question: which is the prevalence of antiphospholipid antibodies (APL) in patients with obstetrical complications (OC) included or not on Sydney Criteria (SC)?

Summary response: high prevalence of APL+ was found on patients with OC.

The already known: there are evidence that p

atients who do not meet Sydney Criteria (SC), but with positive antibodies, are associated with OC and/or placental dysfunction. Based on this, it has been proposed the concept of Obstetrical Antiphospholip Syndrome (O-APS) as a different entity.

Study design: cross-sectional study. 284 patients with/without OC were evaluated.

Materials and Methods: We determined Lupus Anticoagulant (LA), anti-cardiolipins antibodies (aCL) and anti β 2glic-

nes incluidas en los CS. Los resultados se expresan como porcentajes. Análisis estadístico mediante Chi-cuadrado.

Resultados: de 284 pacientes, 135 tuvieron AFL+ (48%), 4% en el grupo sin CO y 56% y 58% en los grupos de las que presentaban CO ($p < 0.05$).

Limitaciones del estudio: N bajo.

Implicancias de los hallazgos: refuerzan el concepto de “criterios diagnósticos” considerados en el SAF-O.

Palabras claves: antifosfolípidos - complicaciones obstétricas – aborto - falla implantación.

oprotein1 ($\alpha\beta 2\text{GP1}$). Clinically patients were divided in: patients without OC, OC not included in SC and with manifestations included in SC. Results were expressed as a percentage. Statistical analysis was done with chi-squared.

Results: 135 out of 284 patients had APL + (48%), 4% in the no OC group and 56% and 58% in both groups with OC ($p < 0.05$).

Study limitations: low n.

Findings implications: these results support the concept of “diagnostic criteria” considered on O-APS.

Keywords: antiphospholipids - obstetrical complications - miscarriage - implantation failure.

INTRODUCCIÓN

El SAF es una entidad clínica caracterizada por trombosis y/o complicaciones obstétricas, asociados a AFL, que comprometen el bienestar de la madre y al feto. Los criterios clínicos para el diagnóstico de SAF obstétrico han sido revisados en la reunión de Sídney en 2006 e incluyen la historia de 3 o más abortos tempranos (< 10 semanas de gestación), y/o un feto muerto in útero (> 10 semanas), un feto con restricción del crecimiento intrauterino o prematurez (antes de las 34 semanas) debido a preeclampsia o eclampsia, o insuficiencia placentaria. (1) Las mujeres son más comúnmente afectadas que los hombres. La prevalencia de anticuerpos antifosfolípidos (AFL) se esti-

ma en un 5% de la población general, sin embargo se los encuentra en un 15% de las mujeres con aborto recurrente (AbR), sugiriendo que es una de las etiologías adquiridas más frecuentes en mujeres con abortos a repetición. (2) Los AFL son una familia heterogénea de anticuerpos que incluyen: el Anticoagulante Lúpico (AL), anticuerpos anticardiolipinas (aCL) y anticuerpos Anti $\beta 2$ glicoproteína1 ($\alpha\beta 2\text{GP1}$). (3) Los AFL han sido implicados en alteraciones de las células trofoblásticas a través de diferentes mecanismos, que incluyen trombosis, inflamación y apoptosis. (4) El mecanismo patogénico aún permanece poco claro y hace falta una mejor comprensión de las interacciones celulares de los AFL.

Existe un grupo de pacientes con AFL+ que no están incluidas en los criterios de Sidney y que también presentan eventos obstétricos adversos, como es el caso de las pacientes con menos de dos abortos o fallas repetidas en tratamientos de reproducción asistida.

Nuestro objetivo fue estudiar la prevalencia de AFL en una población de mujeres con antecedentes de CO, incluidas o no en los criterios de Sidney y analizar el perfil de AFL en relación a la manifestación clínica que presentan.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio de corte transversal donde incluimos 284 pacientes con y sin complicaciones obstétricas. Fueron excluidas pacientes con alteraciones de la hemostasia, tratamiento anticoagulante y/o embarazadas, y pacientes con abortos debidos a otras causas. Se determinó Anticoagulante Lúpico de acuerdo a los criterios de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia (ISTH), Anticuerpos Anticardiolipinas IgG e IgM y Antiβ2glicoproteína I, ambos por ELISA.

Desde el punto de vista clínico las pacientes fueron divididas en tres grupos: Grupo 0 (G0) (n=50): sin complicaciones obstétricas; Grupo1 (G1) (n=118): fallas en tratamientos de reproducción asistida de alta complejidad (2 o más transferencias de embriones de buena calidad, sin resultados positivos), un aborto espontáneo y dos abortos espontáneos; Grupo 2 (G2) (n=116): manifestaciones clínicas incluidas en los criterios de Sidney como tres o más abortos, muerte fetal intrauterina, restricción del crecimiento intrauterino, pre-eclampsia o eclampsia y parto prematuro. (Tabla 1).

Tabla 1: Características Clínicas de los Grupos I y II.

GI	GII
1 ABORTO	3 O MAS ABORTOS
2 ABORTOS	MFIU
INFERTILIDAD	PP
	PREECLAMPSIA

Los resultados se expresan como porcentajes; para la comparación de grupos se utilizó el test de Chi-cuadrado. El análisis estadístico se llevó a cabo con InfoStat 2011 Universidad Nacional de Córdoba (UNC).

RESULTADOS

Del total de pacientes incluidas, 135 pacientes presentaron AFL+ (48%).

La prevalencia de AFL según los grupos fue:

- GO (n: 50): AFL+ 2 (4%).
- GI (n: 118): AFL+: 66 (56%); AL: 20 (17%); ACL IgG: 23 (19%); ACL IgM: 37 (31%); aB2GPI: 18 (16%).
- GII (n: 116) AFL+: 67 (58%); AL: 20 (18%); ACL IgG: 31 (27%); ACL IgM: 40 (35%); aB2GPI: 31 (27%).

La prevalencia de AFL+ en los GI y GII fue mayor que en el grupo 0 ($p < 0.05$) (Tabla 2)

No observamos diferencia estadísticamente significativa en la prevalencia de AFL+ entre los grupos I y II (Figura 1).

DISCUSIÓN

De acuerdo a los criterios para el diagnóstico de SAF, se requieren de tres o más abortos para su diagnóstico. (5) Sin embar-

Tabla 2: Prevalencia de AFL+ en cada grupo.

	GRUPO 0	GRUPO I	GRUPO II
n	50	118	116
AFL+	4%	56%	58%
P < 0,05			

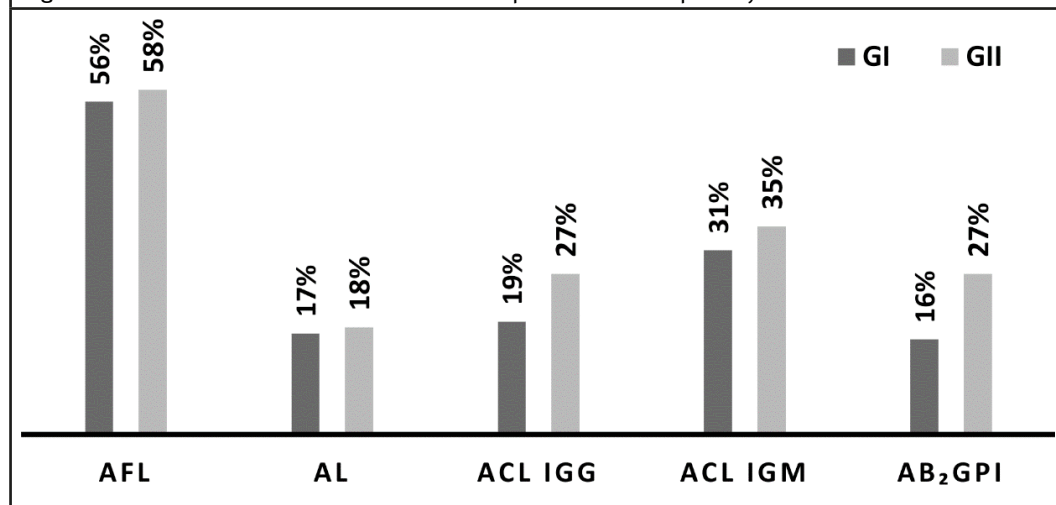
go, en la práctica, se acepta investigar AFL en mujeres con dos pérdidas tempranas, o incluso una, dependiendo de los antecedentes personales y familiares de la paciente. En este sentido, debemos tener en cuenta que trabajamos con una población especial de pacientes, que tienen el sesgo de la infertilidad, con mayor riesgo de aborto, por lo que debemos aprovechar la oportunidad de la prevención para lograr un embarazo que llegue a término con los mejores resultados y las menores complicaciones para la madre y el feto. Claramente deben descartarse otras causas de pérdidas tempranas de embarazo como las causas genéticas, hormonales, infecciosas, anatómicas u otras causas autoinmunes (tiroiditis, enfermedad celíaca), o la asociación de estas. SAF o AFL+ se pueden asociar hasta en un 15% de las pérdidas tempranas de embarazo, no encontrando otras causas que lo expliquen. Muchos estudios en las últimas décadas han reportado una alta prevalencia de AFL en pacientes con abortos tempranos, comparado con pacientes sanas, (6,7) aunque podemos observar importantes limitaciones metodológicas en estos trabajos. Por ejemplo la diferencia de criterio para considerar positivos los AFL, la edad gestacional al momento de las pérdidas, el tipo de test realizado o más aún, no está claro si se descartaron otras causas de

abortos tempranos. En general, muchos de los trabajos encuentran una asociación positiva entre AFL y pérdidas tempranas, aunque la heterogeneidad obstaculiza las comparaciones. (9) Estos resultados coinciden con lo que encontramos en nuestra población, una alta prevalencia de AFL+ en pacientes con complicaciones obstétricas incluidas o no en los criterios de Sídney. Debemos enfatizar en la importancia de utilizar test estandarizados y determinar el real valor de corte y rangos de las muestras (8). Creemos importante tener nuestro propio registro de prevalencia y cuáles serían esos valores de corte para poder entender y establecer una relación clara entre AFL+ y la asociación con malos resultados obstétricos.

CONCLUSIÓN

Debido a la alta prevalencia de AFL+ en pacientes con complicaciones obstétricas, podría ser de gran ayuda estudiar estas pacientes con antecedentes clínicos aunque no cumplan estrictamente con los criterios de CS. Harían falta más estudios protocolizados a los fines de poder sugerir ampliar los criterios clínicos o de laboratorio ya existentes que puedan justificar el diagnóstico correcto y la necesidad de tratamiento de estas pacientes.-

Fig. 1: Prevalencia de los distintos anticuerpos en los Grupos I y II.



BIBLIOGRAFÍA

1. T. Marchetti, M. Cohen, and P. de Moerloose, "Obstetrical Antiphospholipid Syndrome: From the Pathogenesis to the Clinical and Therapeutic Implications". *Clinical and Developmental Immunology*, vol. 2013, Article ID 159124, 9 pages, 2013.
2. Rai RS, Regan L, Clifford K, et al. Antiphospholipid antibodies and beta 2-glycoprotein-I in 500 women with recurrent miscarriage: results of a comprehensive screening approach. *Hum Reprod*. 1995 Aug;10(8):2001-5
3. De Groot PG1, Meijers JC, Urbanus RT. Recent developments in our understanding of the antiphospholipid syndrome. *Int J Lab Hematol*. 2012 Jun;34(3):223-31.
4. Harper BE, Wills R, Pierangeli SS. Pathophysiological mechanisms in antiphospholipid syndrome. *Int J Clin Rheumatol*. 2011 Apr 1;6(2):157-171.
5. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006; 4(2):295–306.
6. Abou-Nassar K, Carrier M, Ramsay T, Rodger MA. The association between antiphospholipid antibodies and placenta mediated complications: a systematic review and meta-analysis. *Thromb Res* 2011; 128(1):77–85.
7. de Jesus GR, Agmon-Levin N, Andrade CA, Andreoli L, Chighizola CB, Porter TF, et al. 14th international congress on antiphospholipid antibodies task force report on obstetric antiphospholipid syndrome. *Autoimmun Rev* 2014; 13(8):795–813.
8. Opatrny L, David M, Kahn SR, Shrier I, Rey E. Association between antiphospholipid antibodies and recurrent fetal loss in women without autoimmune disease: a metaanalysis. *J Rheumatol* 2006; 33(11):2214–21.
9. May Backos, Raj Rai & Lesley Regan Antiphospholipid antibodies and infertility,

Human Fertility 2002: 5(1):30-34.

10. Brenner B, Bar J, Ellis M y cols. Effects of enoxaparin on late pregnancy complications and neonatal outcome in women with recurrent pregnancy loss and thrombophilia: results from the Live-Enox study. *Fertil Steril.* 2005 Sep; 84(3):770-3.

Impacto de la obesidad y el sobrepeso sobre los parámetros espermáticos en una población de hombres infértiles

Impact of obesity and overweight on spermatic parameters in a population of infertile men

Cecilia Vicenta Paparella¹; Ivanna Marisa Garnero²; Perfumo Roxana Patricia³

INSTITUCIÓN DONDE SE REALIZÓ EL TRABAJO: Unidad de Reproducción Humana Médicamente Asistida (URHMA)-Hospital Provincial del Centenario de Rosario, Argentina

RESUMEN

Pregunta de estudio: ¿Impacta el índice de masa corporal elevado sobre los parámetros seminales de hombres infértiles? **Respuesta resumida:** El aumento del índice de masa corporal en varones en edad reproductiva ejerce un efecto adverso sobre la movilidad y la morfología espermáticas. **Conocimientos previos:** La obesidad y el sobrepeso resultan de un desequilibrio entre la ingesta calórica y el gasto energético, y representan un problema perjudicial para la salud. Este exceso de peso se relaciona con una alteración hormonal que afecta los procesos reproductivos de mujeres y hombres. **Diseño del estudio:** Se realizó un estudio retrospectivo observacional de 275 varones con edades entre 24 y 48 años que asistieron con su pareja a la Unidad de Reproducción Humana

ABSTRACT

Study question: Does the high body mass index impact the seminal parameters of infertile men? **Summary answer:** The increase in body mass index in men of reproductive age has an adverse effect on sperm motility and morphology. **Previous knowledge:** Obesity and overweight result from an imbalance between the caloric intake and the energy expenditure and represent a problem harmful to health. This excess weight is related to a hormonal alteration that affects the reproductive processes of women and men. **Study design:** A retrospective observational study was carried out on 275 men between 24 and 48 years old who attended the Medically Assisted Human Reproduction Unit with their partner be-

1:Unidad de Reproducción Humana Médicamente Asistida (URHMA)-Hospital Provincial del Centenario de Rosario. Facultad de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario - ceciliapaparella@yahoo.com.ar

2:Unidad de Reproducción Humana Médicamente Asistida (URHMA)-Hospital Provincial del Centenario de Rosario. Facultad de Cs. Médicas. Universidad Nacional de Rosario. ivamalu@hotmail.com

3:Unidad de Reproducción Humana Médicamente Asistida (URHMA)-Hospital Provincial Centenario de Rosario. Facultad de Cs. Médicas. Universidad Nacional de Rosario. ato_perfu@hotmail.com

ENVÍO CORRESPONDENCIA: pato_perfu@hotmail.com

na Médicamente Asistida entre los meses de marzo 2016 y abril 2019. Se excluyeron pacientes con diabetes, hipertensión arterial, enfermedades metabólicas y consumo de medicamentos esteroides y hormonales. Materiales y métodos: Se formaron 3 grupos según el índice de masa corporal: G1 normal, G2 sobrepeso y G3 obesidad. En las muestras seminales se analizaron movilidad progresiva, concentración y morfología espermáticas. Resultados: Se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en el grupo con obesidad respecto al grupo normal en las variables movilidad progresiva y morfología. Implicancias de los hallazgos: La obesidad y el sobrepeso representan un factor de riesgo para las disfunciones sexuales y reproductivas del hombre ya que afectan negativamente la función espermática.

PALABRAS CLAVES: obesidad - sobrepeso - índice de masa corporal - parámetros seminales - infertilidad masculina

INTRODUCCIÓN

La obesidad y el sobrepeso, definidos como una acumulación anormal o excesiva de grasa, han sufrido un aumento de prevalencia a nivel mundial durante la última década y representan un problema perjudicial para la salud (1). La obesidad es el resultado de un desequilibrio entre la ingesta calórica y el gasto energético que se puede atribuir a un mayor consumo de alimentos ricos en calorías y grasas, disminución de la actividad física y estilo de vida (sedentarismo, consumo de tabaco, alcohol, drogas de abuso) (2). El índice de masa corporal (IMC) es un indicador simple de la relación entre el peso y la talla al cuadrado (kg/m^2), que se utiliza frecuentemente para identificar y clasificar el exceso de peso en los indi-

viduos. Esta medida es la misma para adultos de ambos sexos y de todas las edades. En el caso de los niños, es necesario tener en cuenta la edad al definir el sobrepeso y la obesidad (3). La Organización Mundial de la Salud (OMS) define el sobrepeso como un IMC mayor o superior a $25 \text{ kg}/\text{m}^2$, y la obesidad como un IMC igual o mayor a $30 \text{ kg}/\text{m}^2$ (4). El aumento del IMC es un importante factor de riesgo de enfermedades crónicas no transmisibles y ciertas patologías endocrino-metabólicas (5, 6, 7).

Estudios realizados en varones adultos reportan una asociación entre obesidad y deficiencia de las hormonas reproductivas o alteraciones de los parámetros del espermograma (8). El hombre con obesidad y/o sobrepeso presenta una reducción de la ca-

KEY WORDS: obesity - overweight - body mass index - seminal parameters - male infertility

lidad seminal alterando la estructura física y molecular de las células germinales en el testículo y en el espermatozoide maduro. El eje hipotálamo-hipófiso-gonadal (H-H-G) está desregulado por la obesidad, afectando el desarrollo normal de la espermatogénesis debido a la disminución de los niveles plasmáticos de testosterona (To) y de la globulina transportadora de hormonas sexuales (SHBG), y al aumento concomitante de los estrógenos (7, 9, 10, 11). La disminución de To total y el menor número de pulsos de la hormona luteinizante producidos por la retroalimentación negativa del eje H-H-G, son el resultado de la falta de estímulo a las células intersticiales de Leydig, disminuyendo la secreción de To y alterando de esta manera los parámetros seminales (9, 12). En individuos con obesidad también puede presentarse un gran almacenamiento de grasa a nivel del escroto elevando el calor gonadal. El aumento de la temperatura testicular produce alteraciones en la espermatogénesis, detiene el desarrollo y la proliferación de las células germinales, dando como resultado eyaculados con menor concentración espermática (oligozoospermia), disminución de la movilidad (astenozoospermia) y del porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales (teratozoospermia); aumento del estrés oxidativo (EO) y daño al ADN espermático debido a la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) (10, 13, 14).

La dieta, el ejercicio físico y los estados emocionales son parámetros importantes en el individuo, que afectan directamente a la fisiología del testículo y producen alteraciones hormonales que inciden negativamente en la calidad seminal y sobre la fertilidad masculina (15, 16). También los individuos obesos suelen tener dietas pobres en elementos esenciales como el zinc y un bajo

consumo de ácido fólico, que está relacionado con defectos en el proceso espermato-génico, aumento del EO y apoptosis de las células espermáticas (17).

Existen ciertas discrepancias en la literatura debido a que, mientras que algunos estudios han demostrado un efecto negativo de la obesidad en la concepción espontánea y en técnicas de reproducción asistida, otros reportan resultados reproductivos similares a los obtenidos en la población con peso normal (18, 19). De la misma manera, algunos autores no han encontrado asociación entre IMC y parámetros seminales (20).

OBJETIVO

Evaluar el impacto del IMC sobre los parámetros seminales en una población seleccionada de hombres que consultaron por infertilidad en la Unidad de Reproducción Humana Médicamente Asistida (URHMA) del Hospital Provincial del Centenario de Rosario, Argentina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio retrospectivo observacional de 275 varones con edades entre 24 y 48 años que asistieron con su pareja a la URHMA entre los meses de marzo 2016 y abril 2019 para consultar por problemas reproductivos. Se excluyeron los pacientes con diabetes, hipertensión arterial, enfermedades metabólicas y consumo de medicamentos esteroides y hormonales. Las muestras de semen se obtuvieron por masturbación luego de 3 a 5 días de abstinencia sexual. Posterior a la licuefacción en todas las muestras se realizó el espermograma según normas OMS 2010 (21). La evaluación de la movilidad espermática se realizó con microscopía de contraste de fases y platina termostatazada a 37°C. Se determinó el porcentaje

de espermatozoides móviles progresivos (MP), móviles no progresivos (MNP) e inmóviles (I). La concentración espermática (C) (espermatozoides / ml semen) se determinó por duplicado con cámara de Neubauer diluyendo previamente el semen entero con Mac Comber y Saunders (21). Los extendidos para el análisis morfológico de los espermatozoides (M) se realizaron por duplicado, se fijaron con etanol 96° como mínimo 20 minutos y se aplicó la tinción Hematoxilina. Se evaluaron unos 200 espermatozoides en cada extendido, clasificándolos según sus características morfológicas utilizando criterio estricto (21, 22, 23). El IMC de los pacientes se obtuvo a partir de los datos de peso (kg) y altura (m) (3). Las muestras se clasificaron en 3 grupos según el IMC de la población analizada: G1 (n=90) normopeso: muestras de hombres con IMC mayor o igual a 18 y menor a 25; G2 (n=101) sobrepeso: muestras provenientes de varones con IMC mayor o igual a 25 y menor a 30, y G3 (n=84) obesidad: muestras de hombres cuyo IMC obtenido resultó mayor o igual a 30.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó mediante el programa Excel de Microsoft Office. Para las distintas variables se calculó el promedio y las desviaciones estándar. Se aplicó la prueba *t* Student para comparar los promedios de las variables analizadas entre los grupos. Se consideró diferencia estadísticamente significativa cuando el valor de *p* fue menor o igual a 0.05.

RESULTADOS

En el grupo de hombres con obesidad se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo con IMC normal en los promedios de las variables MP y M. Al comparar entre sí ambos grupos con IMC alterado (sobrepeso y obesidad) también se encontró diferencia significativa en el porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales (Tabla 1).

DISCUSIÓN

La obesidad masculina reduce la movilidad y la concentración de espermatozoides eyaculados, aumenta el tiempo de tránsito de las gametas en el epidídimo y produce

Tabla 1. Comparación de promedios de las variables seminales analizadas entre los grupos de acuerdo al IMC del varón

VARIABLES	G1 vs G2	G1 vs G3	G2 vs G3
% espermatozoides móviles progresivos	60.58 ± 25.98 vs 57.66 ± 26.10 (p=0.210)	60.58 ± 25.98 vs 52.67 ± 26.14 (p=0.022)	57.66 ± 26.10 vs 52.67 ± 26.14 (p=0.102)
millones espermatozoides/ml semen	51.31 ± 48.26 vs 57.87 ± 48.47 (p=0.186)	51.31 ± 48.26 vs 46.98 ± 40.42 (p=0.257)	57.87 ± 48.47 vs 46.98 ± 40.42 (p=0.063)
% espermatozoides con morfología normal	4.67 ± 2.10 vs 4.72 ± 2.11 (p=0.427)	4.67 ± 2.10 vs 3.89 ± 2.11 (p=0.006)	4.72 ± 2.11 vs 3.89 ± 2.11 (p=0.004)

G1 (n=90): 18 ≤ IMC < 25; G2 (n=101): 25 ≤ IMC < 30; y G3 (n=84): IMC ≥ 30

mayores alteraciones morfológicas espermáticas (9). El almacenamiento prolongado de los espermatozoides en el epidídimo altera la estructura del ADN y el estado de condensación de la cromatina nuclear espermática debido a la generación aumentada de ROS provocando estrés oxidativo en las células espermáticas (13, 24). De acuerdo a los resultados obtenidos en la revisión de Guerrero-Vargas y col., el IMC no tuvo repercusión en la calidad seminal (20). Por el contrario, en un estudio retrospectivo realizado por Cancino-Villarreal P y col. encontraron mayor porcentaje de pacientes con parámetros seminales dentro del rango de referencia en el grupo con IMC normal comparado con los grupos de sobrepeso y obesidad (21, 25). La obesidad en pacientes con infertilidad se asocia con disminución de las concentraciones de To libre y total, elevación de los niveles de estradiol y reducción de los parámetros seminales como el porcentaje de espermatozoides con morfología normal, la concentración y movilidad espermáticas (11, 26, 27). Los resultados del análisis de nuestro trabajo coinciden con lo publicado por Campos Guarnizo M y col. quienes observaron un descenso del porcentaje de espermatozoides móviles progresivos y un incremento de anomalías morfológicas espermáticas en los varones con alto IMC (16).

La obesidad de los varones en edad reproductiva se ha triplicado en las últimas décadas (28). En la población en estudio, el sobrepeso y la obesidad se presentaron en el 67% de los varones de parejas que consultaron por trastornos de la fertilidad. Sólo un 32% tenían normopeso. En nuestro servicio, la evaluación del IMC se incorpora como práctica de estudio de primer nivel junto con el pedido del espermograma.

El impacto del sobrepeso y la obesidad

femenina en la fertilidad se han estudiado ampliamente (29). Las publicaciones confirman que la obesidad en la mujer se relaciona con cambios en el ovocito que inciden negativamente en el desarrollo embrionario y reducen las tasas de embarazos en las técnicas de reproducción asistida (30, 31, 25).

En cambio, la incidencia del factor masculino en la calidad y desarrollo embrionario ha sido poco estudiada. Colaci y col. no encontraron diferencias significativas en el desarrollo embrionario temprano entre hombres con sobrepeso y obesidad comparados con individuos de peso normal, aunque sí vieron diferencias en la posibilidad de lograr un nacido vivo (32). Bakos y col. reportaron una reducción lineal en las tasas de embarazos y nacidos vivos y un aumento del porcentaje de abortos con el incremento de IMC del varón (19). El IMC, independiente de los parámetros seminales, tiene un impacto directo en la calidad embrionaria, tasa de embarazo, embarazo evolutivo de las parejas que realizan tratamiento de fertilización asistida (28).

En relación a los resultados de nuestro trabajo, consideramos fundamental corregir el sobrepeso y la obesidad de los varones antes de iniciar el tratamiento de fertilidad. Esta acción mejoraría la posibilidad de lograr un embarazo y es el objetivo de una próxima investigación.

CONCLUSIÓN

En la población estudiada encontramos una asociación entre obesidad y sobrepeso con el deterioro de los parámetros seminales de movilidad progresiva y morfología. La obesidad y el sobrepeso en el hombre, representan un factor de riesgo para las disfunciones sexuales y reproductivas ya que afectan negativamente la función es-

permática. Dada la elevada proporción de hombres con sobrepeso y obesidad en edad reproductiva, consideramos que debería in-

cluirse en el estudio de rutina, la evaluación del IMC en los varones de parejas que consultan por problemas de fertilidad.

BIBLIOGRAFÍA

- 1- Mihalca R, Fica S. The impact of obesity on the male reproductive axis. *Med Life* 2014; 15;7(2):296-300
- 2- Barrera A, Rodríguez A, Molina MA. Escenario actual de la obesidad en México. *Rev Med Inst Mex. Seguro Soc.* 2013; 51: 292-299
- 3- World Health Organization. Obesidad y sobrepeso. Febrero 2018. Disponible en <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- 4- World Health Organization. The international classification of adult underweight, overweight and obesity according to BMI. Geneva: World Health Organization, 2004
- 5- World Health Organization. Diet, nutrition and prevention of chronic diseases. Report of the joint WHO/FAO expert consultation. WHO Technical Report Series 916, Geneva 2003
- 6- Dixon KB. The effect of obesity on health outcomes. *Mol Cell Endocrinol* 2010; 316: 104-108
- 7- Aguilar-Roa P, Echavarría-Sánchez M. Relationship between waist circumference and insulin resistance and its impact on sperm parameters. *Perinatol Reprod Hum* 2016; 30 (2): 75-81
- 8- Teerds KJ, de Rooij DG, Keijzer J. Functional relationship between obesity and male reproduction: from humans to animal models. *Human Reprod Update.* 2011; 17(5): 667-683
- 9- Mc Person NO, Lane M. Male obesity and subfertility, is it really about increased adiposity? *Asian J Androl.* 2015; 17 (3): 450-458
- 10- Palmer NO, Bakos HW, Fullston T et al. Impact of obesity on male fertility, sperm function and molecular composition. *Spermatogenesis* 2012; 2 (4): 253-263
- 11- Hammoud AO, Gilson M, Peterson CM et al. Impact of male obesity on infertility: a critical review of the current literature. *Fertil Steril* 2008; 90(4):897-904
- 12- Saad F, Aversa A, Isidori AM et al. Testosterone as potential effective therapy in treatment of obesity in men with testosterone deficiency: a review. *Curr Diabetes Rev.* 2012; 8 (2): 131-143
- 13- Ruiz Valderrama L, Espinosa Cervantes R, Frago I et al. Efecto de la obesidad en la fertilidad masculina (estudios en modelos animales). *Rev Iberoam Ciencias* 2016; 3: 44-51
- 14- Meigs JB, Wilson PW, Fox CS et al. Body mass index, metabolic syndrome and risk of type 2 diabetes or cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(8): 2906-2912
- 15- Delbes G, Hales BF and Robaire B. Toxicants and human sperm chromatin integrity. *Mol Human Reprod* 2010; 16(1): 14-22
- 16- Campos Guarnizo M, Delgado Niebla E, Morgado García S et al. Influencia del ejercicio físico y el índice de masa corporal sobre la calidad espermática: análisis en pacientes de reproducción asistida. *Rev Asoc Est Biol Rep* 2011; 16 (1): 25-32
- 17- Vujkovic M, de Vries JH, Dohle GR et al. Associations between dietary patterns and semen quality in men undergoing IVF/ICSI treatment. *Hum Reprod.* 2009; 24: 1304-1312

- 18-Bellver J. Obesity and poor reproductive outcome: female and male body weight matter. *Fertil Steril* 2013; 99(6): 1558-1559
- 19-Bakos HW, Henshaw RC, Mitchel M et al. Paternal body mass index is associated with decreased blastocyst development and reduced live birth rates following assisted reproductive technology. *Fertil Steril* 2011; 95(5): 1700-1704
- 20-Guerrero-Vargas L, Cortés-Gonzalez J, Rosales de León JC et al. Efecto del índice de masa corporal en la calidad espermática de pacientes subfértiles. *Reproducción* 2014; 6: 137-144
- 21-WHO 2010: Laboratory Manual for the examination and processing of human semen 5th edición. World Health Organization 2010.
- 22-Kruger TF, Ackerman SB, Simmons KF et al. A quick reliable staining technique for sperm morphology. *Arch Androl* 1987; 18: 275-7
- 23-Calamera JC. Morfología espermática para todos. Ed Científicas Dr. J Montes (ed). Montevideo Uruguay 1999; 1
- 24-Paparella C, Pavesi A, Feldman R et al. Importancia de la evaluación del estrés oxidativo en el semen humano. *Arch Med Int*. 2015; 37 (1): 7-14
- 25-Cancino-Villarreal P, Gonzalez-Ortega C, Calull-Bagó A et al. Repercusiones del índice de masa corporal masculina en los resultados de ICSI. *Ginecol Obstet Mex* 2017; 85 (8): 531-540
- 26-Hedley AA, Ogden CL, Johnson CL et al. Prevalence of overweight and obesity among US children, adolescents and adults, 1999-2002. *JAMA* 2004; 291 (23): 2847-2850
- 27-Sallmén M, Sandler DP, Hoppin JA et al. Reduced fertility among overweight and obese men. *Epidemiology* 2006; 17 (5): 520-523
- 28-Anifandis G, Dafopoulos K, Messini CI et al. The BMI of men and not sperm parameters impact on embryo quality and the IVF outcome. *Andrology* 2013; 1: 85-89
- 29-Paquali R, Pelusi C, Genghini S et al. Obesity and reproductive disorders in women. *Hum Reprod Update* 2003; 9: 359-372
- 30-Hammoud AO, Wilde N, Gibson M et al. Male obesity and alteration in sperm parameters. *Fertil Steril* 2008; 90: 2222-2225
- 31-Håkonsen LB, Thulstrup AM, Aggerholm AS et al. Does weight loss improve semen quality and reproductive hormones? Results from a cohort of severely obese men. *Reprod Health* 2011; 8: 24-31
- 32-Colaci DS, Afeiche M, Gaskins AJ et al. Men's body mass index in relation to embryo quality and clinical outcomes in couples undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2012; 98: 1193-1199

Morfología embrionaria en estadios de clivaje: su valor predictivo en día 5

Embryonic morphology in stages of cleavage: its predictive value on day 5

Mariana Hernández; Andrea Dematteis; Anahí D'Agostino; Camila Frautschi; Gustavo Estofan

Filiación institucional de todos los autores: CIGOR. Centro Integral de Ginecología, Obstetricia y Reproducción. Córdoba

Institución donde se realizó el trabajo: CIGOR. Centro Integral de Ginecología, Obstetricia y Reproducción. Córdoba

RESUMEN

Pregunta de estudio. La evaluación de morfología embrionaria en días 2 y 3 ¿puede mejorar la predicción de implantación de los blastocistos?

Respuesta resumida. La consideración de parámetros morfológicos de día 2 y 3 no mejora la predicción de implantación de la morfología de blastocistos.

Lo que ya se sabe. Al agrupar la morfología de diferentes estadios embrionarios tempranos, se puede predecir la implantación. La combinación de morfología temprana y de blastocistos ha tenido resultados contradictorios: no predijo calidad de blastocistos y no mejoró la predicción de implantación.

Diseño del estudio. Prospectivo. Se incluyeron 598 ciclos realizados entre noviembre 2016 y diciembre 2018, de pacientes ≤ 38 años y receptoras de ovocitos. Se analizaron 1944 embriones y 277 transferencias de blastocisto único.

Materiales y métodos. Los embriones se cultivaron individualmente y se evaluaron en días 2, 3, 5-6. Se analizó la relación entre nucleación en día 2 y número de células y morfología en día 3, con desarrollo y

ABSTRACT

Study question. Can embryonic morphology evaluation on day 2 and 3 improve the prediction of blastocyst implantation?

Summary response. Day 2 and 3 morphological parameters consideration does not improve the prediction of blastocyst morphology implantation.

What is already known. The combination of different embryonic stages morphology predicts implantation. The combination of day 2 and 3 and blastocyst morphology has shown contradictory results: it did not predict blastocyst quality and did not improve the prediction of implantation.

Study design. Prospective; 598 cycles performed between November 2016 and December 2018; patients ≤ 38 years and oocyte recipients were included; 1944 embryos and 277 single blastocyst transfers were analyzed.

Materials and methods. Embryos were individually cultured; morphology evaluation was performed on days 2, 3, 5-6. We analyzed the relationship between

calidad de blastocistos en día 5-6. Se comparó la tasa de implantación de acuerdo con la calidad en días 2-3 y 5-6. Análisis estadístico mediante Chi-cuadrado.

Resultados. La morfología embrionaria en días 2 y 3 predijo significativamente detención del desarrollo, expansión y calidad de los blastocistos. La implantación de los blastocistos fue significativamente diferente según su calidad: $\geq 4BB$ o $< 4BB$ (63%, 32%; $p < 0.0001$). La calidad embrionaria buena, regular o mala en días 2-3 no permitió distinguir una mejor o peor implantación en los grupos $\geq 4BB$ (63%, 63%, 63%, NS) y $< 4BB$ (34%, 37%, 28%, NS).

Limitaciones del estudio: N bajo. Condiciones de laboratorio variadas.

Implicancias de los hallazgos: Los resultados sugieren que no es necesario realizar evaluación temprana al seleccionar blastocistos.

PALABRAS CLAVE: morfología embrionaria, blastocisto, implantación

nucleation on day 2 and number of cells and morphology on day 3 with blastocyst development and quality on day 5-6. The implantation rate was analyzed according to embryo quality on days 2-3 and 5. Statistical analysis was performed using Chi-square test.

Main Results. Embryo morphology on days 2 and 3 predicted development arrest, expansion and quality of blastocysts. Blastocyst implantation was significantly different according to morphological quality $\geq 4BB$ or $< 4BB$ (63%, 32%; $p < 0.0001$). A good, regular or bad embryonic quality on days 2-3 did not allow distinguishing a better or worse implantation in the groups $\geq 4BB$ (63%, 63%, 63%, NS) and $< 4BB$ (34%, 37%, 28%, NS).

Limitations: Low number of cases. Varied laboratory conditions.

Wider Implications of the findings: Results suggest that it is not necessary to perform early embryonic evaluation when selecting blastocysts.

KEY WORDS: embryo morphology, blastocyst, implantation

INTRODUCCIÓN

Se han propuesto muchas estrategias para la selección de embriones viables en reproducción humana asistida a lo largo del tiempo.

Durante décadas, la técnica más empleada por los embriólogos fue la evaluación de la morfología embrionaria desde el día 1 de cultivo hasta el día 3, momento en el que los embriones se transferían o congelaban.

Determinados parámetros morfológicos se emplearon para predecir implantación y embarazo. Entre estos parámetros están la morfología de pronúcleos en día 1, propuesta inicialmente por Tesarik y Greco,¹ el tiempo

en el que ocurre el primer clivaje,^{2,3} la simetría y el número de blastómeras en días 2 y 3,⁴ la fragmentación⁵ y la multinucleación.⁶

Con la intención de realizar transferencias de un único embrión para disminuir la tasa de embarazos múltiples, se intentó identificar entre los embriones de la cohorte cuál era un embrión de alta calidad (*top embryo*). Para ello, se agruparon características embrionarias de diferentes estadios, que individualmente demostraron valor para predecir la implantación. Existen numerosos trabajos realizados en este sentido, que relacionan morfología de pronúcleos y clivaje temprano,¹ pronúcleos y morfología en día 3,^{7,8} o morfología en día 2 y día 3.^{9,10}

Para Van Royen et al., un embrión de alta calidad se caracterizó por la presencia de 4 o 5 blastómeros en el día 2 y al menos 7 blastómeros en el día 3, y la ausencia de blastómeros multinucleados en día 2 y menos de 20% de fragmentos extracelulares en el día 2 y día 3.^{9,10} Esta metodología de evaluación requiere que los embriones sean observados más de una vez y que se los cultive de manera individual.

Sin embargo, el éxito de la evaluación morfológica temprana ha sido limitado, ya que embriones de alta calidad a menudo no logran la implantación o no producen un nacimiento vivo, y aquellos con mala calidad a veces tienen éxito.

Con la introducción de medios secuenciales y la posibilidad de cultivar los embriones hasta el día 5 y 6, quedaron en evidencia aquellos embriones cuyo desarrollo se detiene antes de ser transferidos o congelados.¹¹ Además, la mayor sincronía entre el endometrio y este estadio embrionario aumenta las tasas de embarazo e implantación.^{12,13,14,15} Esta mejora en la selección e implantación dio lugar a la tendencia creciente de transferir un único blastocisto de buena calidad, lo que disminuye el riesgo de embarazo múltiple.^{15,16,17}

Para este estadio surgieron nuevos criterios de selección con base en la morfología del blastocisto, que tuvieron en cuenta el grado de expansión del blastocele y el desarrollo del trofoectodermo y de la masa celular interna.

Una escala de clasificación ampliamente difundida es la propuesta por Gardner et al. en 2000.¹⁵ A medida que se fue extendiendo el uso del cultivo a blastocito, se fue ampliando y/o modificando el criterio de Gardner, en variaciones tales como la "puntuación de calidad de blastocisto" (*blastocyst quality score*, BQS),¹⁸ el criterio de ASEBIR (Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción)¹⁹ y el propuesto por el Consenso de Estambul en 2011, entre otros.²⁰

Numerosas investigaciones han mostrado una fuerte correlación entre los resultados clínicos (tasa de embarazo e implantación) y la clasificación morfológica del blastocisto.^{15,21,22,23} Incluso algunos autores lograron relacionar la calidad del trofoectodermo con la tasa de implantación.^{22,23,24}

Dos grupos de investigación han intentado incorporar la morfología de blastocisto a una propuesta de *top embryo*, agrupando la evaluación de características de estadios tempranos a la evaluación de día 5. Guerif F et al. utilizaron morfología de pronúcleos, clivaje temprano y morfología de día 2 de desarrollo,^{27,28} mientras que Herbemont et al. utilizaron morfología de día 2 y 3, aunque no combinadas.²⁹ Ambos grupos encontraron que, en transferencias de blastocistos, la morfología temprana no pudo predecir la implantación y, al considerarla junto con la morfología en día 5, no aumentó el valor de predicción de la selección de blastocistos.

El objetivo de este trabajo es analizar si la evaluación morfológica de embriones tempranos en día 2 y 3 puede predecir el desarrollo y la calidad de los blastocistos, y mejorar la predicción de su implantación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño. Análisis prospectivo.

Población. Se incluyeron 598 ciclos de ICSI con ovocitos frescos, realizados por pacientes de hasta 38 años o receptoras de ovocitos, entre noviembre de 2016 y diciembre de 2018, en los que se realizó cultivo hasta día 5-6 de todos o de algunos de los embriones.

Se evaluó el desarrollo y la calidad hasta día 6 de 1944 embriones que, en día 2 de desarrollo, presentaron 2 a 6 células y hasta 20% de fragmentos, y se analizó la tasa de implantación en 277 transferencias en fresco de un único blastocisto.

Cultivo embrionario. Los embriones se cultivaron de manera individual en mi-

crogotas de medios secuenciales bajo aceite (Vitrolife, Sage). Durante el cambio de medio en día 3, se respetó el orden de los embriones en las gotas de cultivo. Se usaron dos tipos de incubadoras: convencional y trigas (Thermo Scientific y K-system), ajustando el CO² para cada medio de cultivo, para lograr un pH de entre 7,2 y 7,3. El ICSI se realizó a las 5 horas postaspiración. Luego de 17 horas, se evaluó la sobrevida y fertilización de los ovocitos.

Evaluación embrionaria

Día 2, evaluación de núcleos visibles. Realizada entre 41 y 43 horas de desarrollo. De acuerdo con los núcleos observados en las blastómeras, los embriones se clasificaron como:

- *Mononucleados (1N)*: todas las blastómeras mostraron un solo núcleo;
- *Multinucleados (#N)*: al menos una blastómera tuvo dos o más núcleos;
- *Sin núcleos visibles (0N)*: ninguna blastómera fue multinucleada, y al menos una blastómera no mostró núcleos visibles.

Día 3, evaluación de desarrollo y calidad embrionaria. Realizada entre 65 y 67 horas de cultivo post ICSI. De acuerdo con el desarrollo, los embriones se agruparon en: menos de 6 células, 6-7 células y 8 o más células. De acuerdo con la morfología, los embriones se agruparon como:

- *Buena calidad*: células simétricas, menos de 10% de fragmentos extracitoplásmicos, no multinucleados en día 2;
- *Calidad regular*: células asimétricas, 10% a 25% de fragmentos extracitoplásmicos;
- *Mala calidad*: células asimétricas, más de 25% de fragmentos extracitoplásmicos.

Día 5-6, evaluación de calidad y desarrollo de blastocisto. Realizada entre 117 y 144 horas de cultivo post ICSI, evaluada de acuerdo con el criterio de Gardner¹³ con base en la expansión y eclosión del blastocisto, grados 1 a 6, la morfología de la Masa Celular Interna (MCI) y el Trofoectodermo (TE), en grados A, B y C.

Los blastocistos viables se transfirieron o fueron vitrificados.

ANÁLISIS DE DATOS Y ESTADÍSTICA

Relación entre parámetros morfológicos individuales de días 2 y 3 y de blastocistos. Los blastocistos se agruparon de acuerdo con los siguientes:

1. El desarrollo hasta día 5-6, en 4 categorías: detenidos (en día 5 o 6), o expandidos en día 5 hasta grados 1-2, grado 3 y grados 4-5-6 (n=1944 embriones).
2. La morfología de MCI-TE en día 5-6, en 4 categorías: AA; AB o BA; BB; y Cx/xC (CA, CB, CC, BC, AC) (n=1111 blastocistos).

Se comparó la distribución de estas categorías de acuerdo con los siguientes: (A) los núcleos visibles de las blastómeras en día 2, (B) el número de blastómeras en día 3, y (C) la calidad embrionaria en día 3.

Relación entre parámetros morfológicos agrupados de días 2 y 3 y de blastocistos. En 1565 embriones, se comparó el desarrollo y la calidad observados en día 5-6, de acuerdo con la calidad y el desarrollo en día 2 y 3. Para este análisis, se consideraron las siguientes categorías de cada estadio:

- Blastocistos en día 5-6: 4BB o mejor en día 5; 3BB o mejor en día 5; 3BB o mejor en día 6; otros blastocistos en día 5-6; embriones detenidos.
- Embriones en día 3: 8 o más células y

buena calidad, mononucleados en día 2; 8 o más células y buena calidad, sin núcleos visibles en día 2; 6 y 7 células y buena calidad; 6 o más células y calidad regular; 6 o más células y mala calidad; menos de 6 células y mala calidad.

Relación entre morfología en días 2 y 3 e implantación de blastocistos. Se analizaron las tasas de implantación de acuerdo con los siguientes:

- Desarrollo y calidad de blastocistos: 4BB o mejor vs. calidad menor que 4BB.
- Calidad embrionaria en día 2-3: buenos embriones (8 o más células, buena calidad en día 3 y mononucleados en día 2), vs. embriones regulares (6 o más células, buena calidad en día 3 y no multinucleados en día 2), vs. embriones de mala calidad.

Los embarazos gemelares se computaron como un blastocisto implantado.

Análisis estadístico. El análisis estadístico se realizó mediante Chi-cuadrado y Chi-cuadrado para tendencias. Un $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo.

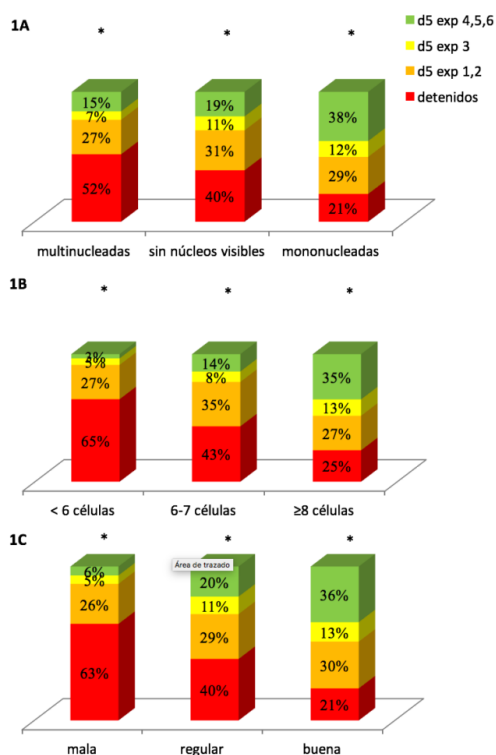
RESULTADOS

Relación entre parámetros morfológicos individuales de días 2 y 3 y de blastocistos

La figura 1 muestra la relación entre el desarrollo alcanzado en día 5 por 1944 embriones y parámetros embrionarios tempranos individuales. La proporción de embriones detenidos fue significativamente mayor en embriones de mal pronóstico: multinucleados en día 2 (1A), de menos de 6 células en día 3, 2B; o de mala morfología en día 3 (1C). De manera opuesta, el desarrollo hasta blastocisto expandido en día 5 fue significativamente mayor en embriones de buen

pronóstico: mononucleados en día 2 (1A), de 8 o más células en día 3 (1B) y de buena calidad en día 3 (1C).

Figura 1. Desarrollo hasta día 5 de 1944 embriones. Distribución de acuerdo a: (1A) núcleos visibles en las blastómeras en día 2, (1B) número de blastómeras en día 3, y (1C) calidad embrionaria en día 3. (* $p < 0,0001$ entre los grupos).

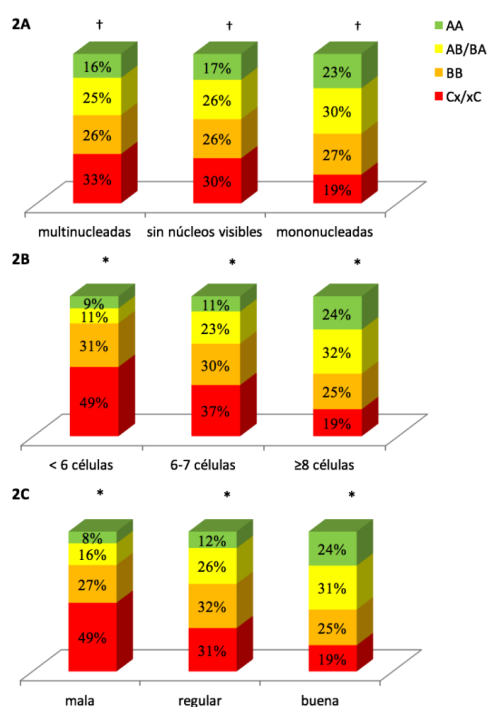


La figura 2 muestra la relación entre la morfología de MCI-TE de 1111 blastocistos de día 5 y 6 y parámetros embrionarios tempranos individuales. Los embriones con parámetros de mal pronóstico (multinucleados en día 2, 2A; de menos de 6 células en día 3, 2B; o de mala morfología en día 3, 2C) obtuvieron una mayor proporción de blastocistos de mala morfología. De manera opuesta, los embriones con parámetros de buen pronóstico (mononucleados en día 2,

2A; de 8 o más células en día 3, 2B; y de buena calidad en día 3, 2C) lograron mayor proporción de blastocistos de buena morfología.

Figura 2. Morfología de MCI-TE de 1111 blastocistos en día 5-6.

Distribución de acuerdo a: (1A) núcleos visibles en las blastómeras en día 2, (1B) número de blastómeras en día 3, y (1C) calidad embrionaria en día 3. (†) $p=0.0009$ entre los grupos (*) $p<0.0001$ entre los grupos



Relación entre parámetros morfológicos agrupados de días 2 y 3 y de blastocistos

Al analizar la información combinada de nucleación en día 2 y morfología y desarrollo en día 3, versus desarrollo y morfología combinados en día 5-6, encontramos una relación significativa entre lo observado en estadios de clivaje y los blastocistos obtenidos. La mejor morfología de días 2-3 logró 68% de blastocistos de buena calidad, mientras que la peor morfología de días 2-3

tuvo una tasa de embriones detenidos de 62% (Figura 3).

Relación entre morfología en días 2 y 3 e implantación de blastocistos

La tabla 1 muestra los resultados de implantación de acuerdo con la calidad de los blastocistos en día 5 y lo observado previamente en días 2 y 3.

La calidad embrionaria temprana mostró correlación con la calidad de blastocistos: de los 123 embriones de buena calidad, 91 (74%) fueron blastocistos de buena calidad; de los 73 embriones regulares, 38 (55%), y de los 81 embriones de mala calidad, solo 27 (33%). ($p<0,0001$)

La tasa de implantación fue significativamente diferente de acuerdo con la calidad embrionaria en días 2 y 3: 55%, 51% y 40% para embriones de calidad buena, regular y mala ($p=0,0303$, Chi-cuadrado para tendencias).

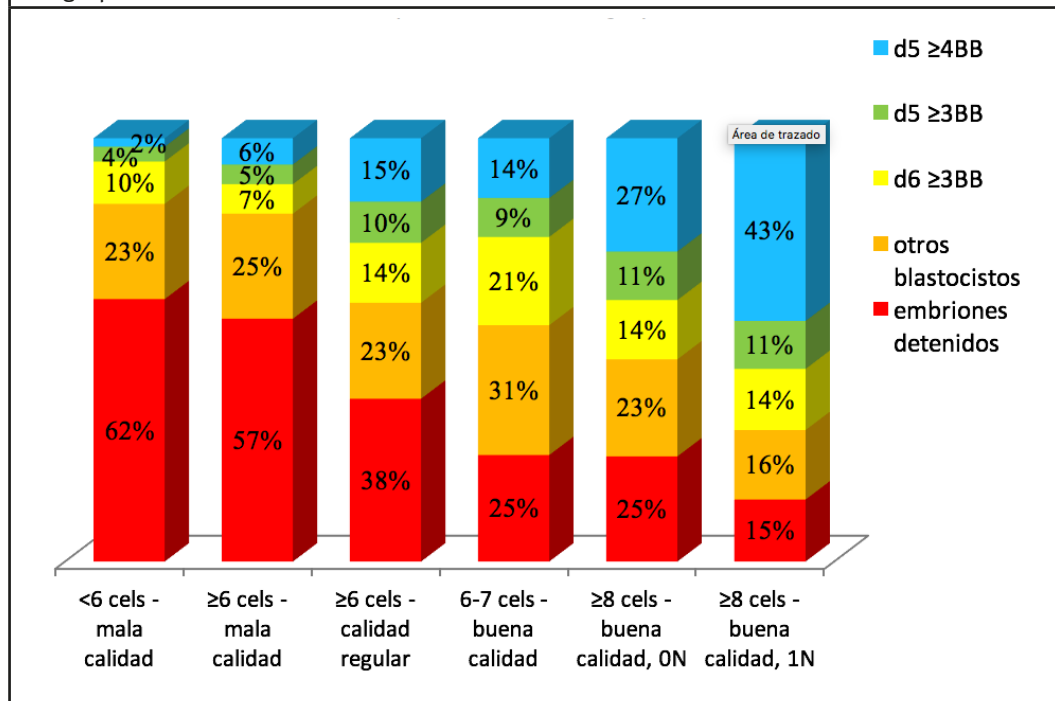
Del mismo modo, los blastocistos de mejor calidad tuvieron una implantación significativamente mayor que los de menor calidad (63% vs 32%; $p<0,0001$).

La calidad embrionaria en días 2-3, al evaluarse en cada grupo de calidad de blastocistos, no permitió distinguir una mejor o peor implantación. La implantación de acuerdo con calidad embrionaria buena, regular o mala fue: en $\geq 4BB$: 63%, 63%, 63% (no significativo); y en $< 4BB$: 34%, 37%, 28% (no significativo).

DISCUSIÓN

La introducción de cultivo a blastocisto planteó nuevos interrogantes a la evaluación embrionaria temprana: los criterios de evaluación temprana predicen la formación de blastocistos,^{8,30,31} pero no superan las decisiones de selección que pueden tomarse en día 5. Graham et al. concluyeron que solo la mitad de los embriones seleccionados en día 3 para transferir o criopreservar

Figura 3. Desarrollo y calidad de blastocistos en día 5-6 de 1565 embriones no multinucleados en día 2. Distribución de acuerdo calidad y desarrollo en día 3. $p > 0.0001$ entre los grupos.



hubieran sido seleccionados en estado de blastocisto.³²

En los trabajos publicados, la consideración conjunta de parámetros tempranos y de día 5 no ha dado el resultado esperado. Para Guerif et al., si bien la morfología de día 1 y 2 permitió predecir el desarrollo a blastocisto, luego de la transferencia de estos no encontraron relación entre morfología temprana e implantación.^{27,28} Herbemont et al. no encontraron relación entre la morfología de día 2 o de día 3 y el desarrollo de los blastocistos transferidos o su implantación.²⁹

En nuestro trabajo, el análisis de la relación entre morfología temprana y blastocistos se realizó sobre el total de embriones disponibles en día 2, y no sobre el total de blastocistos transferidos. Los resultados sugieren que la mayor contribución de la morfología temprana radica en distinguir

aquellos embriones con alta probabilidad de detención de su desarrollo.

Los parámetros morfológicos de día 2 y 3 que seleccionamos (nucleación en día 2 y número de células y morfología en día 3) tuvieron individualmente la capacidad de predecir significativamente el desarrollo hasta blastocisto y su calidad morfológica. A mejor morfología en día 2 y 3, menos detención en cultivo, mayor expansión y mejor calidad de blastocistos.

La consideración de estos parámetros de día 2 y 3 agrupados también pudo predecir significativamente el desarrollo y la calidad en día 5-6.

Sin embargo, se debe reconocer que esta capacidad de predicción fue limitada: de los embriones juzgados como mejores en día 2 y 3, el 15% se detuvo en día 5 y solo un 50% fue considerado el mejor blastocisto disponible.

Esto mismo se evidencia en los resultados de parámetros individuales: la mayoría de los embriones con parámetros de mal pronóstico se detuvieron en cultivo. Pero en cada uno de estos grupos hubo embriones capaces de superar con éxito la activación del genoma embrionario para “corregir” sus errores metabólicos y desarrollarse hasta blastocisto.

Al analizar la implantación de los blastocistos transferidos, la calidad de día 5 utilizada para seleccionarlos al momento de la transferencia fue capaz de predecir la implantación, y los mejores blastocistos tuvieron el doble de implantación respecto al grupo de menor calidad. La calidad embrionaria temprana de los blastocistos transferidos, analizada retrospectivamente, correlacionó con la proporción de blastocistos de buena calidad obtenidos y con la tasa de implantación.

La pregunta que subyace al diseño de este trabajo, y a los de Guerif y Herbermont,^{27,28,29} es evidente: ¿es comparable la viabilidad de blastocistos de calidad semejante si provienen de embriones de diferente morfología temprana?

Nuestros resultados muestran que el valor de la morfología de blastocistos para predecir implantación no mejoró al considerar la calidad embrionaria en días 2 y 3.

La calidad embrionaria temprana, entonces, permite distinguir qué proporción de embriones va a desarrollar un blastocisto de buen pronóstico pero, una vez logrado este, no agrega información sobre su implantación.

Esta conclusión permite replantear la selección embrionaria con base en la morfología cuando se cultiva hasta blastocisto: evaluar en días 2 y 3 no es necesario. Teniendo en cuenta que la evaluación del embrión se realiza retirándolo diariamente de la incubadora, y que esto afecta la estabilidad de la condición de cultivo, estaríamos provocando un estrés innecesario a los embriones. El cultivo individual carece también de sentido, ya que no se requiere seleccionar el *top embryo* acumulando criterios de viabilidad de diferentes estadios.⁹⁻¹⁰ Si esta ventaja del cultivo individual ya no es necesaria, es preferible optar por un cultivo grupal, con las ventajas de interacción que se han demostrado cuando se cultiva hasta día 5.^{31,32}

El cultivo y la selección embrionaria hasta día 5 debería basarse, entonces, sin riesgo a perder información, en cultivo grupal de ovocitos fertilizados desde el día 1, con la menor cantidad de interrupciones hasta su evaluación el día de la transferencia o criopreservación.

Tabla 1. Tasa de implantación de acuerdo a la calidad del blastocisto transferido en día 5 y a la calidad embrionaria en días 2 y 3. (*) y (†) NS entre los grupos, (‡) $p=0.0303$ entre los grupos, (¶) $p<0.0001$ entre los grupos.

	blastocisto 4BB o mejor			blastocisto peor que 4BB			Total		
	EC	TR	IR	EC	TR	IR	EC	TR	IR
Calidad embrionaria d2-3									
Buena calidad	57	91	63%*	11	32	34%†	68	123	55%‡
Calidad regular	24	38	63%*	13	35	37%†	37	73	51%‡
Mala calidad	17	27	63%*	15	54	28%†	32	81	40%‡
Total	98	156	63%¶	39	121	32%¶	137	277	49%

BIBLIOGRAFÍA

1. Tesarik J, Greco E. The probability of abnormal preimplantation development can be predicted by a single static observation on pronuclear stage morphology. *Hum Reprod.* 1999;14(5):1318-1323.
2. Lundin K, Bergh C, Hardarson T. Early embryo cleavage is a strong indicator of embryo quality in human IVF. *Hum Reprod.* 2001;16(12):2652-2657.
3. Ciray HN, Karagenç L, Ulug U, Bener F, Bahçeci M. Early cleavage morphology affects the quality and implantation potential of day 3 embryos. *Fertil Steril.* 2006;85(2):358-365.
4. Pelinck MJ, Hoek A, Simons AH, Heine-man MJ, van Echten-Arends J, Arts EG. Embryo quality and impact of specific embryo characteristics on ongoing implantation in unselected embryos derived from modified natural cycle in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 2010;94(2):527-534.
5. Alikani M, Cohen J, Tomkin G, Garrisi GJ, Mack C, Scott RT. Human embryo fragmentation in vitro and its implications for pregnancy and implantation. *Fertil Steril* 1999;71:836-842.
6. Desch L, Bruno C, Luu M, Barberet J, Choux C, Lamotte M, et al. Embryo multinucleation at the two-cell stage is an independent predictor of intracytoplasmic sperm injection outcomes. *Fertil Steril.* 2017;107(1):97-103.
7. Lan KC, Huang FJ, Lin YC, Kung FT, Hsieh CH, Huang HW, Tan PH, Chang SY. The predictive value of using a combined Z-score and day 3 embryo morphology score in the assessment of embryo survival on day 5. *Hum Reprod.* 2003;18(6):1299-1306.
8. Rienzi L, Ubaldi F, Iacobelli M, Ferrero S, Minasi MG, Martinez F, Tesarik J, Greco E. Day-3 embryo transfer with combined evaluation at the pronuclear and cleavage stages compares favourably with day-5 blastocyst transfer. *Hum Reprod.* 2002 Jul; 17(7):1852-1855.
9. Gerris J, De Neubourg D, Mangelschots K, Van Royen E, Van de Meerssche M, Valkenburg M. Prevention of twin pregnancy after in-vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection based on strict embryo criteria: a prospective randomized clinical trial. *Hum Reprod.* 1999 Oct;14:2581-2587.
10. Van Royen E, Mangelschots K, De Neubourg D, Valkenburg M, Van de Meerssche M, Ryckaert G, et al. Characterization of a top quality embryo, a step towards single-embryo transfer. *Hum Reprod.* 1999 Sep;14(9):2345-2349.
11. Braude P, Bolton V, Moore S. Human gene expression first occurs between the four- and eight-cell stages of preimplantation development. *Nature.* 1988;332(6163):459.
12. Gardner DK, Lane M. Culture and selection of viable blastocysts: a feasible proposition for human IVF? *Hum Reprod Update.* 1997; 3:367-382.
13. Quinn P. The development and impact of culture media for assisted reproductive technologies. *Fertil Steril.* 2004; 81:27-29.
14. Swain JE. Optimal human embryo culture. *Semin Reprod Med.* 2015; 33:103-117.
15. Gardner DK, Lane M, Stevens J, Schlenker T, Schoolcraft WB. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer. *Fertil Steril.* 2000 Jun; 73(6):1155-1158.
16. Gardner DK, Schoolcraft WB. Elimination of high order multiple gestations by blastocyst culture and transfer. In: Shoham Z, Howles C, Jacobs H, eds. *Female infertility therapy: current practice.* London: Martin Dunitz, 267-274. 1998.
17. Milki AA, Fisch JD, Behr B. Two-blasto-

- cyst transfer has similar pregnancy rates and a decreased multiple gestation rate compared with three-blastocyst transfer. *Fertil Steril*. 1999;72:225–228.
18. Rehman KS, Bukulmez O, Langley M, Carr BR, Nackley AC, Doody KM, Doody KJ. Late stages of embryo progression are a much better predictor of clinical pregnancy than early cleavage in intracytoplasmic sperm injection and in vitro fertilization cycles with blastocyst-stage transfer. *Fertil Steril*. 2007 May; 87(5):1041–1052.
 19. Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción (ASEBIR). Criterios ASEBIR de Valoración Morfológica de Ovocitos, Embriones Tempranos y Blastocistos Humanos. 3.ª edición. 2015.
 20. Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Hum Reprod*. 2011; 26:1270–1283.
 21. Shapiro BS, Harris DC, Richter KS. Predictive value of 72-hour blastomere cell number on blastocyst development and success of subsequent transfer based on the degree of blastocyst development. *Fertil Steril*. 2000; 73:582–586.
 22. Gardner DK, Stevens J, Sheehan CB, Schoolcraft WB. Analysis of blastocyst morphology. In: Elder KC, J. (ed). *Human Preimplantation Embryo Selection*. London: Informa Healthcare. 2007:79–87.
 23. Gardner DK, Balaban B. Assessment of human embryo development using morphological criteria in an era of time-lapse, algorithms and “OMICS”: is looking good still important? *Mol Hum Reprod*. 2016; 22(10):704–718.
 24. Zaninovic N, Berrios R, Clarke RN, Bodine R, Ye Z, Veeck LL. Blastocyst expansion, inner cell mass (ICM) formation, and trophectoderm (TM) quality: is one more important for implantation? *Fertil Steril*. 2001; 76:S8.
 25. Ahlström A, Westin C, Reismer E, Wikland M, Hardarson T. Trophectoderm morphology: an important parameter for predicting pregnancy and birth after single blastocyst transfer. *Hum Reprod*. 2011 Dec; 26(12):3289–3296.
 26. Hill MJ, Richter KS, Heitmann RJ, Graham JR, Tucker MJ, DeCherney AH, Browne PE, Levens ED. Trophectoderm grade predicts outcomes of single-blastocyst transfers. *Fertil Steril*. 2013 Apr. 99(5):1283–1289.
 27. Guerif F, Le Gouge A, Giraudeau B, Pointron J, Bidault R, Gasnier O, Royere D. Limited value of morphological assessment at days 1 and 2 to predict blastocyst development potential: a prospective study based on 4042 embryos. *Hum Reprod*. 2007;22(7):1973–1981.
 28. Guerif F, Lemseffer M, Leger J, Bidault R, Cadoret V, Chavez C, Gasnier O, Sausseureau MH, Royere D. Does early morphology provide additional selection power to blastocyst selection for transfer? *Reprod Biomed Online*. 2010;21(4):510–519.
 29. Herbemont C, Sarandi S, Boujenah J, Cedrin-Durnerin I, Sermondade N, Vivot A, Poncelet C, Grynberg M, Sifer C. Should we consider day-2 and day-3 embryo morphology before day-5 transfer when blastocysts reach a similar good quality? *Reprod Biomed Online*. 2017;35(5):521–528.
 30. Scott L, Alvero R, Leondires M, Miller B. The morphology of human pronuclear embryos is positively related to blastocyst development and implantation. *Hum Reprod*. 2000; 15:2394–2403.
 31. Fisch JD, Rodriguez H, Ross R, Overby G, Sher G. The Graduated Embryo Score (GES) predicts blastocyst formation and pregnancy rate from cleavage-stage embryos. *Hum Reprod*. 2001; 16:1970–1975.

32. Graham J, Han T, Porter R, Levy M, Stillman R, Tucker MJ. Day 3 morphology is a poor predictor of blastocyst quality in extended culture. *Fertil Steril*. 2000; 74:495-497.
33. Ebner T, Shebl O, Moser M, Mayer RB, Arzt W, Tews G. Group culture of human zygotes is superior to individual culture in terms of blastulation, implantation and life birth. *Reprod Biomed Online*. 2010 Dec;21(6):762-768.
34. Rebollar-Lazaro I, Matson P. The culture of human cleavage stage embryos alone or in groups: effect upon blastocyst utilization rates and implantation. *Reprod Biol*. 2010;10(3):227-234.