



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO.**

**FACULTAD DE MEDICINA.  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO.**

**Influencia de la Calidad Embrionaria  
en los Resultados de Ciclos de Fertilización  
In Vitro (FIV) e Inyección Intracitoplásmica  
de Espermatozoides (ICSI).**

**TESIS DE POSGRADO.  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
E S P E C I A L I S T A E N :  
BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN HUMANA  
P R E S E N T A :  
DR. GUSTAVO ALVAREZ ROCA.**



**Asesor: Dr. Alfonso Gutiérrez Nájar.**

**México, D.F.**

**Marzo 2011.**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**DR. ALFONSO GUTIERREZ NAJAR.**

Profesor Titular del curso de  
Biología de la Reproducción Humana.  
Facultad de Medicina.  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
Sede: Hospital Ángeles del Pedregal.

---

**DRA. MARIA DEL SOCORRO BENAVIDES SALAZAR.**

Profesor Adjunto del curso de  
Biología de la Reproducción Humana.  
Facultad de Medicina.  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
Sede: Hospital Ángeles del Pedregal.

---

## **AGRADECIMIENTOS:**

**A TODOS MIS PROFESORES DEL CURSO DE BIOLOGÍA DE LA  
REPRODUCCIÓN DEL HOSPITAL ÁNGELES DEL PEDREGAL.**

Dr. Alfonso Gutiérrez Nájar.

Dra. Ana María Frusch.

Dr. Héctor Salvador Godoy Morales.

Dra. María Elena González Panzzi.

Dr. Jesús Barrón Vallejo.

**A MIS COMPAÑEROS.**

**A TODAS LAS PACIENTES QUE  
HICIERON POSIBLE ESTE TRABAJO.**

**A TODO EL PERSONAL DEL GRUPO DE REPRODUCCIÓN Y GENÉTICA  
HOSPITAL ÁNGELES DEL PEDREGAL.**

## **DEDICATORIA:**

POR SU ESFUERZO, PACIENCIA Y APOYO INCONDICIONAL EN TODOS LOS  
MOMENTOS MÁS IMPORTANTES DE MI VIDA, ESTE TRABAJO ESTÁ  
DEDICADO:

### **A MIS PADRES.**

Sr. Gerardo Álvarez Rodríguez. †  
Sra. Ysolina Roca Rivas.

### **A MI ESPOSA E HIJOS.**

C.P. Fátima Redondo Justo.  
Gustavo Álvarez Redondo.  
Ma. Fernanda Álvarez Redondo.

### **A MIS SUEGROS.**

Sr. Emilio Redondo Garrido.  
Sra. Solmira Justo Cendón.

### **A MI HERMANO, SU ESPOSA E HIJOS.**

Ing. Carlos A. Álvarez Roca.  
Lic. Angélica Sainz Cabello.  
Carlos, Ma Angélica, Ma Carmen.

# INDICE.

<b>I.</b>	<b>INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO.</b>	<b>6</b>
<b>II.</b>	<b>EL PRE-EMBRIÓN HUMANO EN SEGMENTACIÓN.</b>	
	2.1 ESTADIO DE 2 A 16 CÉLULAS.	8
	2.2 MORULA Y BLASTOCISTO.	11
<b>III.</b>	<b>ESTADIFICACIÓN DEL PRE-EMBRIÓN.</b>	
	3.1 MORFOLOGÍA DEL PRE-EMBRIÓN Y RELACIÓN CON EMBARAZO.	12
	3.2 ESQUEMAS DE CLASIFICACIÓN.	13
	3.3 CLASIFICACIONES PARA CULTIVO DE BLASTOCISTOS.	17
<b>IV.</b>	<b>REGULACIÓN DE LA IMPLANTACIÓN EMBRIONARIA.</b>	<b>20</b>
<b>V.</b>	<b>PRE-EMBRIONES CON HABILIDAD PARA IMPLANTARSE.</b>	
	5.1 PRE-EMBRIONES QUE PUEDEN DESARROLLARSE EN FETOS.	22
<b>VI.</b>	<b>MATERIAL Y MÉTODO.</b>	<b>24</b>
<b>VII.</b>	<b>RESULTADOS.</b>	
	7.1 PROCEDENCIA DE LOS EMBRIONES.	27
	7.2 EDAD DE LAS PACIENTES Y FACTOR DE INFERTILIDAD.	29
	7.3 TASA DE EMBARAZO.	31
	7.4 TASA DE IMPLANTACIÓN.	33
	7.5 TASA DE EMBARAZO ECTÓPICO, BIOQUÍMICO Y ABORTO.	35
	7.6 EMBARAZOS EN EVOLUCIÓN Y NACIMIENTOS.	37
<b>VIII.</b>	<b>CONCLUSIONES.</b>	<b>38</b>
<b>IX.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA.</b>	<b>40</b>

## **I. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO.**

El ser humano es un mal reproductor. Prueba de ello es que son necesarios millones de espermatozoides para poder fecundar a un óvulo que de origen a un embrión con posibilidades de implantación. La tasa de implantación en una pareja fértil durante un ciclo ovulatorio normal en los días fértiles es deficiente y es de aproximadamente el 25%. Si consideramos que el 60% de los ovocitos generados son cromosómicamente anormales o generaran embriones de calidad deficiente, las probabilidades de implantación son pocas, las tasas de aborto altas y las posibilidades de llevar a término productos con alteraciones cromosómicas, genéticas o metabólicas compatibles con la vida son elevadas. Esto nos indica que los embriones deben pasar por un proceso intenso de selección para dar origen a un individuo que permita que la especie humana continúe. Sin embargo, la naturaleza tiene el poder de seleccionar estos embriones por mecanismos propios (infertilidad, alteraciones de la fecundación, abortos, muertes perinatales, etc.) o permitiendo la vida de seres humanos con limitaciones que disminuyen sus posibilidades de desarrollo en nuestra sociedad.

Lo anterior tiene impacto socio-económico y emocional en las parejas que afrontan problemas de infertilidad o que engendran descendencia con alteraciones.

En la actualidad, las técnicas de reproducción asistida han permitido mimetizar lo que ocurre en la naturaleza y en algunas ocasiones mejorar la eficacia de los procesos reproductivos. Por ejemplo, en la naturaleza el 60% de los embriones que no se implantan o se abortan tienen anomalías cromosómicas. Esta misma proporción de embriones es la que detiene su crecimiento en los cultivos dentro de los incubadores y que se desecha. En este caso el fenómeno es igual, uno ocurre en el útero de manera natural y el otro en el incubador. Sin embargo el segundo procedimiento provoca menos daño emocional y da más información de las posibilidades de gestación o no de una pareja.

El éxito de los procedimientos de reproducción asistida depende de varios factores, entre los que destaca la calidad de los embriones que son transferidos. Es bien conocido que entre mejor calidad tengan los embriones, mayores son las posibilidades de obtener embarazo y que por el contrario, la mala calidad embrionaria disminuye las posibilidades de éxito en los ciclos de fertilización in vitro (FIV) y/o inyección

intracitoplásmica de espermatozoides (ICSI). A pesar de lo anterior, si bien, la calidad embrionaria es muy importante, el otro lado de la moneda es la receptividad embrionaria.

Sin embargo, en muchas ocasiones nos vemos obligados a transferir embriones de buena calidad junto con embriones de mala calidad debido a que existe un mal desarrollo embrionario y solo están disponibles pocos embriones para transferir.

Lo anterior parte de la teoría de que los embriones de mala calidad podrían tener un efecto deletéreo sobre los embriones de buena calidad, probablemente por que los primeros pueden estar destinados a la apoptosis y esto supone liberación de sustancias que pueden afectar la implantación y el desarrollo de los embriones destinados a implantarse y desarrollarse.

El propósito de este estudio es evaluar la eficacia reproductiva (tasas de embarazo, implantación, embarazo bioquímico, embarazo ectópico y aborto) de acuerdo a la buena o mala calidad de los embriones transferidos.



## **II. EL PRE-EMBRIÓN HUMANO EN SEGMENTACIÓN.**

### **2.1 ESTADIO DE 2 A 16 CÉLULAS.**

#### **2.1.1 CITOCINESIS.**

La división del citoplasma que sigue a la replicación y segregación nuclear, es una característica universal de todas las células. La segmentación del pre-embrión humano involucra una serie de divisiones mitóticas del citoplasma que ocurren cada 12 a 18 horas, con un aumento no discernible en el tamaño de sus células. La falla en el progreso de la primera segmentación, después de la formación de los dos pro-núcleos es relativamente poco común y ocurre en  $\leq 5\%$  de los ovocitos que se fertilizaron normalmente. Tal como en la mayoría de los mamíferos, exceptuando algunos roedores, en el centrosoma de los controles de esperma humano, las primeras divisiones mitóticas tienen lugar después de la fertilización.

En la primera mitosis de segmentación conocida como telofase, el citoplasma del cigoto se elonga y su superficie se contrae alrededor de su circunferencia menor. Esta constricción continúa hasta que el cigoto se divide en dos blastómeras. El mismo proceso ocurre en todas las divisiones celulares mitóticas subsecuentes. Se ha estimado que el volumen medio de la blastómera se reduce aproximadamente 28.5 % con cada división, durante las primeras tres segmentaciones y que alguna diferencia entre el volumen de las blastómeras hermanas es normal. El desarrollo del pre-embrión de 2 a 8 células depende en forma muy importante de la traslación de RNA materno almacenado para que se lleve a cabo su segmentación.

#### **2.1.2 MORFOLOGÍA.**

Algunos pre-embiones en división tienen pequeños fragmentos citoplasmáticos anucleados dentro del espacio perivitelino o adheridos a las blastómeras. Estos aparecen porque las blastómeras constantemente cambian, produciendo y rompiendo contactos celulares durante su segmentación. Este movimiento constantemente activo, es particularmente aparente cuando los especímenes son observados bajo cinematografía, la cual revela la característica formación continua de fragmentos y la reorganización del citoplasma. Los pre-embiones de primates y humanos pueden estar más expuestos a tal actividad, pues la fragmentación se observa raramente en los pre-embiones de otros

mamíferos. Debido a que los pre-embriones lavados de la cavidad uterina después de la fertilización in vivo también muestran fragmentos, se puede deducir que los métodos de cultivo in vitro no son los únicos responsables de esta alteración.

Los pre-embriones que muestran un gran número de fragmentos anucleados tienden a implantarse con menor frecuencia. Esto puede ser resultado de la reducción en el citoplasma disponible para la división celular normal, lo cual reduce el número de células en el blastocisto. Alternativamente, un gran número de fragmentos puede interferir con el proceso de compactación, al ocasionar dificultades en el contacto íntimo célula a célula.

Los fragmentos citoplasmáticos aparecen durante la primera segmentación. Al estudiar la frecuencia de la fragmentación 24 horas después de la fertilización se revela que, cuando se forman tempranamente un número excesivo de fragmentos, el desarrollo subsecuente del pre-embrión es generalmente impar. Por otra parte, el desarrollo de pequeños fragmentos después de la primera división usualmente no tiene efectos en detrimento del pre-embrión en división.

Las blastómeras resultantes, son diferentes y totipotenciales (capaces de desarrollarse en forma independiente para crear un nuevo organismo) hasta aproximadamente el estadio de 8 células, momento en el cual ocurren cambios tanto en la estructura como en las propiedades de su citoplasma y membranas plasmáticas. En este punto, las células son menos diferentes y su adherencia entre sí es más estrecha durante el proceso de compactación. Después de la compactación, su desarrollo es influenciado según formen parte de la masa celular interna o del trofoectodermo, con la consiguiente pérdida de su totipotencialidad.

### **2.1.3 VELOCIDAD DE SEGMENTACIÓN.**

Pueden observarse pre-embriones de dos células en cualquier momento desde las 20 horas post-fertilización (usualmente después de 24 horas) y pueden persistir hasta 42 horas post-fertilización. Los pre-embriones viables de 4 células se observan entre las 39 a 60 horas post-fertilización, y el estadio de 8 células no se observa hasta después de las 54 horas, pero usualmente después de las 72 horas. En los humanos, los pre-embriones de 3, 5 y 7 células no son un hallazgo poco frecuente, particularmente cuando se examinan durante la división mitótica y en ocasiones esta división asincrónica persiste durante la segmentación. Es interesante señalar que en pre-embriones de ratones y

vacas se ha observado que la segmentación es más rápida en el pre-embrión masculino que en el femenino<sup>(1)</sup> y hay reportes que sugieren que esto puede ser observado en pre-embriones humanos<sup>(2)</sup>, sin embargo no todos los investigadores han confirmado este suceso<sup>(3)</sup>.

En especímenes con fertilización normal, el crecimiento retardado (sin duplicación celular en 24 horas) por lo regular indica una viabilidad reducida, pero la segmentación acelerada (duplicación en 12 horas) puede no necesariamente reflejar un pre-embrión saludable. Ocasionalmente, puede haber embarazo con un pre-embrión con crecimiento retardado como el que tiene seis a ocho blastómeras a las 96 horas. Finalmente termina siendo más importante la calidad morfológica que la velocidad del crecimiento.

Los pre-embriones que muestran tres pro-núcleos pueden tener una segmentación rápida hacia el estadio de mórula, pero usualmente este desarrollo se arresta debido a que muchos cigotos triploides “saltan” directamente al estadio de tres células en su primera división de segmentación como resultado de poseer un huso tripolar; las divisiones subsecuentes reflejan el gran número de células presentes en el pre-embrión, pero no un crecimiento rápido. Se ha reportado que el tiempo de duplicación celular en los pre-embriones humanos es de 31 horas en los días dos a seis, observándose una duplicación acelerada después de las primeras dos divisiones<sup>(4)</sup>. A primera vista, ese tiempo parece ser menor. Durante los ciclos de F.I.V la duplicación usualmente toma un tiempo menor a 24 horas (dos células a las 24 horas, cuatro células en menos de 48 horas y ocho o más células dentro de 72 horas) y siendo probablemente en un promedio de 18 horas en pre-embriones saludables.

#### **2.1.4 COMPACTACIÓN.**

La compactación es un proceso por el cual un pre-embrión en segmentación cambia de una colección de células individuales a una masa sólida donde las membranas celulares son imposibles de distinguir y es resultado de la formación de uniones intercelulares estrechas que causan que las blastómeras estén estrechamente superpuestas. Este posicionamiento incrementa la extensión de los contactos entre las blastómeras, lo cual es esencial para el desarrollo subsecuente. En humanos, esto ocurre por lo general alrededor de los estadios de 8 o 16 células, sin embargo, se ha observado en estadios más tempranos pero no se sabe si esto representa un hallazgo anormal. Cuando la compactación toma lugar, las células pierden su totipotencialidad como

resultado de las interacciones entre ellas. Se cree que el inicio de la compactación marca el comienzo de la transcripción de ADN embrionario. Posterior a este proceso, inmediatamente se forma la mórula y el blastocisto.

## **2.2 MÓRULA Y BLASTOCISTO.**

### **2.2.1 MÓRULA.**

Mórula significa literalmente “mora”. El pre-embrión se denomina mórula cuando llega al estadio de 16 células, porque en ese momento tiene una apariencia muy similar a una mora. La compactación normal resulta en la formación de una capa exterior de células envueltas dentro del trofoectodermo y una capa interna de células que serán la llamada masa celular interna. La mórula humana puede observarse tempranamente a las 72 hrs, pero usualmente se observa entre el 3° y 4° días.

### **2.2.2 BLASTOCISTO.**

Aproximadamente 24 horas después de que se ha formado la mórula y la compactación ha tomado lugar, los espacios intercelulares comienzan a aumentar, para formar una cavidad central llena de líquido llamada blastocele. Las células del blastocisto forman una vaina esférica que encierra al blastocele y en un polo se distingue un delgado cúmulo de células que será la masa celular interna que originará al embrión. El anillo de células alrededor del blastocele formara el trofoblasto y este a su vez la placenta.

### **III. ESTADIFICACIÓN DEL PRE-EMBRIÓN Y GRADO DE FRAGMENTACIÓN DEL CITOPLASMA.**

#### **3.1 MORFOLOGÍA DEL PRE-EMBRIÓN Y SU RELACIÓN CON EMBARAZO.**

La calidad de los pre-embriones obtenidos mediante fertilización in vitro es variable. Algunos contienen múltiples fragmentos celulares o blastómeras de tamaño desigual, o muestran tiempos lentos de duplicación celular. La selección de pre-embriones viables para su transferencia intrauterina es considerada como un factor importante para el establecimiento de un embarazo. Esto asume que la morfología y la capacidad de segmentación reflejan el potencial del pre-embrión para continuar creciendo e implantarse.

La fragmentación citoplasmática extensa se ha asociado con muerte inminente del pre-embrión. Después de estudiar pre-embriones fragmentados y compararlos con controles sin fragmentación, Jurisicova y colaboradores en 1996 <sup>(5)</sup> concluyeron que la alta incidencia de cromatina condensada, ADN degradado, células muertas y cuerpos apoptóticos comúnmente encontrados en pre-embriones fragmentados, indican un potencial reducido para la continuación de su crecimiento. Esta observación es apoyada por la experiencia de muchos embriólogos y médicos que trabajan en programas de reproducción asistida y que han observado que algunos casos con baja tasa de implantación se asocian con la presencia de blastómeras irregulares y fragmentación excesiva, sin embargo, algunos pre-embriones con esas cualidades mantienen la capacidad para una implantación normal.

Shulman y colaboradores <sup>(6)</sup> reportaron en 1993 que el potencial de implantación de los pre-embriones transferidos puede correlacionarse directamente con parámetros morfológicos y sugirieron que el número de pre-embriones que se transfieren debe ser balanceado con la calidad de los mismos para reducir el número de embarazos múltiples.

Otros reportes han relacionado los tiempos de duplicación celular normal con la viabilidad del pre-embrión. El crecimiento lento del pre-embrión ha demostrado una capacidad marcadamente deteriorada para la implantación. En 1987, Claman y colaboradores <sup>(7)</sup> reportaron que 21 de 23 embarazos en curso de FIV, fueron el resultado de transferencias en las cuales al menos un pre-embrión había alcanzado el estadio de 4 células con 40 horas post inseminación. Reportes posteriores concluyeron que los pre-

embriones con tasas bajas de segmentación (menos de 4 células a las 42 – 44 horas post inseminación) tuvieron menos probabilidades de resultar en un embarazo <sup>(8)(9)</sup>.

Además, lo anterior ha sido demostrado en el hámster, en el cual los pre-embryones con una segmentación más rápida, permiten no solo obtener más mórulas y blastocistos en cultivo sino que su desarrollo subsecuente *in vivo* se asocia con una alta proporción de fetos viables <sup>(10)</sup>. Estos autores sugieren que la terminación oportuna del tercer ciclo celular (estadio de 8 células) es un factor crítico y favorable para la predicción de una embriogénesis exitosa en el hámster.

Se ha observado que la segmentación regular hasta el estadio de 8 células también es favorable en el humano, pero a menudo ha probado tener un significado inexacto para predecir el éxito de la implantación cuando es usado como un parámetro analítico en si mismo. A pesar de esto, se ha propuesto que el rango de desarrollo puede ser más importante que la morfología cuando pesan factores individuales en la transferencia intrauterina de pre-embryones en el humano.

Algunos investigadores han reportado que un crecimiento pre-embryonario acelerado combinado con una fragmentación mínima, incrementa las tasas de embarazo. Otros estudios <sup>(11)</sup> han asociado el aumento de embarazos con la presencia oportuna de la primera segmentación (dentro de las 25 horas post inseminación).

Aparte de los grados de segmentación y crecimiento, se han asociado otros factores con el potencial de implantación de los pre-embryones humanos, entre los que se incluyen el grosor de la zona pelúcida, expansión adecuada de las blastómeras y la ausencia de multinucleación. Adicionalmente, estudios del flujo sanguíneo folicular <sup>(12)</sup> han demostrado una alta correlación entre el contenido folicular de oxígeno disuelto (> 3%) y el desarrollo subsecuente normal del ovocito y el pre-embrión.

### **3.2 ESQUEMAS DE CLASIFICACIÓN.**

Como resultado de las correlaciones reportadas entre morfología y embarazo, los embriólogos usan generalmente un esquema de estadificación en grados para documentar la calidad presuntiva de los pre-embryones transferidos. Muchos de estos esquemas se relacionan con la extensión de la fragmentación citoplasmática y el rango de crecimiento, pero algunas incluyen otros factores como el grosor de la zona pelúcida y el tamaño y regularidad de las blastómeras.

Algunos grupos procuran calcular una escala promedio para la cohorte de los pre-embriones transferidos basados en la asignación de grados para cada pre-embrión de forma individual, pero esos sistemas tienden a ser menos informativos cuando hay una amplia disparidad entre los pre-embriones, lo que puede distorsionar el valor del promedio final.

En un sistema de escala temprana, se asigna a cada pre-embrión un grado morfológico que va de 1 a 4 y entonces se combina con un grado de desarrollo obtenido por comparación directa con un rango de crecimiento ideal. Usando este sistema de doble grado, las escalas prometen ser de valor en la predicción del éxito clínico. Similarmente, en 1987, Puissan y colaboradores<sup>(13)</sup> publicaron los resultados de una estadificación de pre-embriones basada en el número de fragmentos enucleados y el rango de división. Encontraron que los pre-embriones con los mayores grados contribuían más a menudo al incremento de los embarazos únicos y múltiples. Estos autores sugirieron que, si la escala de graduación era alta en conjunción con parámetros clínicos óptimos, podrían transferirse menos pre-embriones para obtener mayores tasas de embarazo.

Un sistema de escala de grado triple fue evaluado por Erenus y colaboradores en 1991<sup>(14)</sup>. Los pre-embriones grado 1 representan aquellos con blastómeras de igual tamaño y sin fragmentación, el grado 2 incluyó pre-embriones con blastómeras de tamaño desigual y el grado 3 incluyó pre-embriones con fragmentación del citoplasma. En los ciclos donde los mejores embriones transferidos fueron grado 1, el 22% presentaron embarazos clínicos comparados con los pre-embriones de grado 2 y 3 los cuales mostraron tasas de embarazo de 13% y 0% respectivamente. Adicionalmente, las tasas de embarazo se incrementaron con la transferencia de múltiples pre-embriones grado 1 (40 % con 3 pre-embriones grado 1).

En 1992, Steer y colaboradores<sup>(15)</sup> desarrollaron un sistema acumulativo de clasificación encaminado no solo a predecir embarazo, sino también a reducir los embarazos múltiples de alto orden fetal potenciales en los programas del Bourne Hall. En este sistema, el grado morfológico de cada pre-embrión (1-4, donde el número mayor corresponde a la mejor calidad) era multiplicado por el número de blastómeras en el preembrión. La suma de los grados de todos los embriones transferidos en el día 2 post-fertilización, representaba el grado final. Los análisis retrospectivos mostraron que las tasas de embarazos entre las mujeres menores de 36 años aumentaban cuando el grado acumulativo se incrementaba a un máximo de 42. Los incrementos superiores a éste

número no contribuían en mayor medida al establecimiento del embarazo, pero tenían impacto en la tasa de embarazo múltiple. Ellos estimaron que, usando prospectivamente este sistema, 78% de los embarazos triples y el 100% de los cuádruples podían ser predichos y evitados.

Usando el mismo sistema acumulativo de clasificación, Visser y Fourie en 1993<sup>(16)</sup>, reportaron tasas de embarazo de solo el 4% con puntuaciones de 1 a 10, pero mayores del 35% con puntuaciones de 41 a 50. Ellos también encontraron más embarazos bioquímicos con puntuaciones bajas, pero no pérdidas clínicas de embarazos. Todos los embarazos triples o cuádruples se asociaron con puntuaciones mayores de 40.

Giorgetti y colaboradores<sup>(17)</sup>, describieron un sistema en donde a los pre-embryones se les asignaba un punto por cada uno de los siguientes parámetros: segmentación, ausencia de fragmentación, ausencia de células irregulares y cuatro blastómeras en el día 2. La idea para este sistema surgió de la evaluación previa de 957 transferencias de pre-embrión único en las cuales no se estableció ningún embarazo cuando se transfirieron pre-embryones sin segmentación o con fertilización retrazada (99 transferencias), y con una alta tasa de embarazo cuando se transfirieron pre-embryones con blastómeras regulares y ausencia de fragmentación (858 transferencias). Aplicando retrospectivamente esta clasificación de cuatro puntos, ellos descubrieron que tanto los embarazos clínicos como las tasas de nacimientos correlacionaban significativamente con puntuaciones altas después de la transferencia de un solo pre-embrión y que cada punto correspondía a un incremento del 4% de embarazos. Únicamente la edad materna (>38 años) tenía un gran impacto en esta clasificación morfológica simplificada.

En 1995, Tasdemir y colaboradores<sup>(18)</sup>, desarrollaron un sistema en el cual el grado de fragmentación y la morfología general eran asignadas como buena (A) o pobre (B) y examinaron los resultados de las transferencias dobles AA, BB y AB y las triples AAA, BBB, AAB y ABB. Cuando solo se transfirieron pre-embryones de buena calidad, las tasas de embarazo en AA y AAA fueron del 41% y 43% respectivamente. Cuando solo se transfirieron pre-embryones de mala calidad (BB y BBB) las tasas fueron de 11% y 23% respectivamente. Las transferencias de pre-embryones AB tuvieron una tasa de embarazo del 37% y las AAB y ABB del 40%.



## SISTEMAS DE CLASIFICACIÓN

### Erenus y Cols. (1991)

Basada en el tamaño de las blastómeras y la fragmentación		
Clasificación.		Tasa de embarazo.
Grado 1.	Blastómeras de igual tamaño y sin fragmentación	22%
Grado 2.	Blastómeras de tamaño desigual.	13%
Grado 3.	Fragmentación del citoplasma	0%

### Steer y Cols. (1992)

Asigna al pre-embrión en el 2° día un grado de menor calidad (grado 1) a mayor calidad (grado 4), el cual se multiplica por el número de blastómeras. El grado final es la suma de los grados de todos los embriones.		
Puntuación.		Tasa de embarazo.
	1 a 10	4%
	41 a 50	> 35%
	> 40	Aumenta embarazos múltiples

### Giorgetti y Cols. (1995)

Asigna un punto por cada uno de los parámetros		
	Segmentación adecuada	Cada punto positivo incrementa un 4% la tasa de embarazo.
	Ausencia de fragmentación	
	Ausencia de células irregulares	
	Presencia de 4 blastómeras en el 2° día.	

### Tasdemir y Cols. (1995)

El grado de fragmentación y la morfología general eran asignadas como buena (A) o pobre (B). Examinaron las transferencias dobles y triples.		
		Tasa de embarazo.
Transferencias dobles o triples.	AA	41%
	AAA	43%
	BB	11%
	BBB	23%
	AB	37%
	AAB y ABB	40%

### 3.3 CLASIFICACIONES PARA CULTIVO DE BLASTOCISTOS.

En la actualidad se busca llegar al desarrollo del blastocisto con el objetivo de transferir el menor número posible de embriones, por lo que Gardner y colaboradores<sup>(19-21)</sup> desarrollaron en 1998 un sistema de clasificación para seleccionar aquellos blastocistos potencialmente viables. En este sistema de clasificación se evaluaron tres características morfológicas:

Estado de expansión y de eclosión (“hatching”) en 6 grados:

1. Blastocelo ocupando menos de la mitad del volumen del embrión.
2. Blastocelo ocupando más de la mitad del volumen del embrión (cavitando).
3. Blastocelo ocupando la totalidad del volumen del embrión (expandido),
4. Blastocelo ocupando la totalidad del embrión con zona pelúcida adelgazada.
5. Blastocisto eclosionando (“hatching”).
6. Blastocisto eclosionado.

Morfología de la masa celular interna en 3 grados:

- A. Abundantes células altamente empaquetadas.
- B. Moderadas células ligeramente dispersas.
- C. Escasas células.

Morfología de las células del trofoblasto en 3 grados:

- A. Abundantes células formando una capa cohesiva.
- B. Escasas células ligeramente dispersas.
- C. Pocas células pero de gran tamaño.

Después de haber colocado a estos embriones en el medio de crecimiento secuencial (G1/G2) patentado por estos autores, se observó que la tasa de implantación fue del 70% en los blastocistos que obtuvieron la calificación 3AA.

En un estudio semejante al anterior realizado por estos mismos autores<sup>(22)</sup>, se analizó la relación entre el sistema de clasificación morfológica del blastocisto con la tasa de embarazo y de implantación. Este trabajo incluyó los resultados obtenidos de 107 ciclos de fertilización in vitro y se observó que cuando son transferidos 2 blastocistos con la mejor calificación (“Top-Scoring Blastocyst”) la tasa de embarazo y de implantación es la más alta comparada con las transferencias que incluyeron sólo un blastocisto “top-scoring” (87 y 70% v.s. 70 y 50% respectivamente).

En el estudio realizado por Rijnders y colaboradores <sup>(23)</sup> se analizó el valor predictivo de la morfología de los embriones en tercer día sobre la subsecuente formación de blastocistos en día 5. Estos autores reportan los resultados obtenidos de 48 ciclos con 2.9% de intentos fallidos previos, por lo que, en este nuevo ciclo realizaron una preselección de los embriones que podrían haber sido transferidos con base en la morfología del embrión en tercer día y los cultivaron individualmente hasta el día 5. La tasa de embarazo por transferencia fue del 46% mientras que la tasa de implantación fue del 24%. En cambio, al analizar la tasa de embarazo y de implantación cuando son transferidos únicamente blastocistos, observaron que estas se incrementan (53 y 30% respectivamente). Estos resultados permitieron concluir a los autores que el valor predictivo de la morfología del embrión en día 3 para el desarrollo de un blastocisto es limitado.

En el estudio de Racowsky y colaboradores <sup>(24)</sup>, se analizó la relación entre el número de embriones con 8 células en el tercer día del desarrollo con la tasa de embarazo y de implantación en transferencias realizadas en día 3 y en día 5. En los grupos de pacientes que no tenían un sólo embrión con 8 blastómeros en día 3 y que fueron transferidos en día 3 o en día 5, la tasa de embarazo fue de 33 y 0% respectivamente. En los ciclos que incluían 1-2 embriones, la tasa de embarazo y de implantación fue similar en ambos días de transferencias, mientras que en los ciclos que incluyeron 3 o más embriones la tasas de embarazo no fueron diferentes en día 3 y en día 5, pero la frecuencia de embarazos múltiples disminuyó en el grupo de pacientes que fueron transferidos en día 5 con respecto a la transferencia en día 3.

Fisch y colaboradores <sup>(25)</sup> elaboraron un sistema de calificación gradual del embrión (Graduated Embryo Score – GES) con el objetivo de seleccionar para su transferencia los embriones con un alto potencial de desarrollo. Este sistema se basó en la acumulación gradual de puntos (100 puntos máximo), distribuidos en determinadas características morfológicas observadas a diferentes horas del desarrollo y que por si solas, según otros estudios, estaban presentes en los embriones que produjeron las mejores tasas de embarazo e implantación. Las características que ellos evaluaron en cada una de las cuatro intervenciones realizadas al embrión en las diferentes horas post-inseminación fueron las siguientes: Alineación de los nucléolos (16-18 horas), división temprana (25-27 horas), número y simetría de los blastómeros ( $\geq 8$  blastómeros ) y porcentaje de fragmentación (64-67 horas) y formación de un blastocisto expandido

(después de 120 horas). Cuando analizaron la formación de blastocistos de acuerdo a la cantidad de puntos acumulados, observaron que aquellos embriones con 90-100 puntos obtuvieron la mayor tasa de embarazo, comparados con los grupos de 70-85 puntos y 0-65 puntos (64%, 31% y 11% respectivamente).

## **IV. REGULACIÓN DE LA IMPLANTACIÓN EMBRIONARIA.**

El inicio exitoso del embarazo depende de la interacción del embrión de buena calidad y el endometrio con capacidad receptiva. En condiciones normales, la implantación se inicia 5-6 días después de la fertilización con la aposición, adhesión y ulterior penetración del embrión hacia el endometrio.

En ciclos naturales y de preparación endometrial para donación de óvulos, la máxima receptividad del endometrio (“ventana de implantación”) se observa entre los días 20-25 del ciclo. La aparición de pinópodos en la superficie del endometrio parece ser el marcador histológico de la ventana de implantación.

Los embriones por si mismos pueden producir citoquinas y factores de crecimiento que controlan el proceso de segmentación y parcialmente la fisiología del endometrio. El óxido nítrico es una de las sustancias generadas durante el metabolismo normal del organismo. Este elemento se ha relacionado con el proceso de preparación del embrión antes de la implantación. El óxido nítrico también regula la función del estradiol, progesterona y factores de crecimiento. Está también relacionado con la instauración de la irrigación del endometrio.

Es bien sabido que la maduración del endometrio depende principalmente de la acción coordinada y complementaria del estradiol y la progesterona. Las dos hormonas controlan casi en su totalidad la fisiología endometrial, no obstante, su acción es modificada sutilmente por el resto de las sustancias implicadas en la preparación del endometrio para la implantación. En particular la progesterona está muy relacionada con la aparición de pinópodos endometriales.

Las integrinas y otras moléculas fijan a las células a la matriz extracelular y a otras células adyacentes, están fuertemente relacionadas con el proceso de la implantación. Ambos, embrión y endometrio expresan moléculas de adhesión celular que se reconocen para que se lleve al cabo la implantación embrionaria.

Las células del estroma tienen la capacidad de secretar varios factores de crecimiento (VEGF, factores de crecimiento epidérmico y fibroblástico) que modulan la fisiología del endometrio. Algunos de estos factores de crecimiento regulan de manera sutil el efecto mitogénico de las hormonas esteroideas. Otra función importante de los

factores de crecimiento es el desarrollo de la angiogénesis e irrigación endometrial, necesarios para la nutrición embrionaria.

Desde el punto de vista genético, los genes HOX pueden estar relacionados con el proceso de implantación. La función normal de los genes HOX es la activación o represión de otros genes. Las variedades 10 y 11 de los genes HOX se expresan notoriamente durante la fase lútea, este fenómeno persiste en caso de lograrse el embarazo. Es probable que la acción de estos genes produzca proteínas intracelulares y provoque modificaciones necesarias para la implantación normal del embrión.

Existe una relación entre el sistema inmune y la función reproductiva. En condiciones normales, el embarazo funciona como un injerto semi-alogénico. Empero, en ocasiones las características genéticas del embrión son totalmente distintas a la de la gestante (DNA materno, paterno y mitocondrial). Aun en estas condiciones, no hay rechazo del embrión por parte de los mecanismos inmunológicos. La progesterona modula la producción específica de citoquinas que favorecen la receptividad endometrial, este fenómeno se produce en forma preliminar a la implantación embrionaria.

Los mecanismos de tolerancia inmune hacia el embrión incluyen la resistencia natural del trofoblasto a la acción de los mecanismos de rechazo, la rápida eliminación de antígenos trofoblásticos, activación de células T supresoras y eliminación de células inmunes capaces de afectar al producto.

Finalmente, la implantación requiere de una secuencia muy ordenada que incluye modificaciones embrionarias y de la preparación endometrial mediada principalmente por estrógenos y progesterona. La contribución sutil de otros múltiples factores le proporciona la modulación fina a este proceso fisiológico.

## **V. PRE-EMBRIONES CON HABILIDAD PARA IMPLANTARSE.**

### **5.1 PRE-EMBRIONES QUE PUEDEN DESARROLLARSE EN FETOS.**

La pérdida temprana del embrión humano es un evento común. Aproximadamente el 73 % de todas las concepciones naturales de embriones únicos, se pierden antes de alcanzar la sexta semana de gestación y, aproximadamente solo el 90 % de los embriones restantes sobrevive hasta el término<sup>(26)</sup>.

Las concepciones obtenidas por medio de FIV son prácticamente tan buenas como las que se logran de manera natural después de su reconocimiento clínico. Pero la comparación es pobre cuando se realiza entre el inicio de la fertilización y la implantación completa, lo cual presumiblemente es debido a un arresto pre-clínico de su desarrollo.

Dentro de los factores que contribuyen a la viabilidad del pre-embrión, ciertamente la normalidad genética es el mayor pre-requisito para su implantación y el posterior desarrollo de un niño sano. Desafortunadamente, se conoce poco acerca de la constitución genética de los pre-embryones que se mantienen en incubación, a menos que se les realice biopsia y sean examinados. Hay evidencia que sugiere que las anomalías cromosómicas, tanto numéricas como estructurales, se asocian en su mayoría con pre-embryones fragmentados y arrestados. Sin embargo, muchos pre-embryones de mala calidad mantienen la capacidad de desarrollarse normalmente como fetos saludables.

Por el contrario, muchos pre-embryones de mujeres de edad avanzada que muestran una morfología adecuada, poseen aberraciones genéticas letales<sup>(27)</sup>. Lo anterior implica que, aunque los sistemas de clasificación, pueden darnos pistas que incrementen nuestra habilidad para escoger los mejores pre-embryones para transferir, estos sistemas están severamente limitados para dar una evidencia indiscutible del desarrollo normal subsecuente de dichos embryones.

Sin embargo, la selección durante el desarrollo pre-embryonario muy temprano constituye, al menos hasta hoy, un adecuado ejercicio de aleatorización.

Es tranquilizante el hecho de que muchos pre-embryones genéticamente alterados pueden dejar de desarrollarse en estadios tempranos de su segmentación. Se ha sugerido que existe una pérdida progresiva de los pre-embryones cromosómicamente anormales en su desarrollo desde el estadio pro-nuclear hasta por lo menos el de 8

células<sup>(28)</sup>. Cuando se estudiaron citogenéticamente los pre-embriones de varios grados morfológicos, los investigadores encontraron un 65% de incidencia de anormalidades en el estadio pro nuclear, 55 % en estadios de 2 a 4 células y del 27 % en los de 5 a 8 células. Por lo anterior, no es sorprendente que los pre-embriones segmentados con mala morfología (blastómeras de forma irregular y fragmentación extracelular severa) demuestren un aumento de por lo menos 3 veces la incidencia de anomalías cromosómicas al compararlos con los pre-embriones de morfología adecuada.

A partir de estos datos es lógico deducir que una forma de selección natural continúa ejerciendo su influencia sobre el pre-embrión de 8 células e incluso sobre el desarrollo fetal temprano.



## VI. MATERIAL Y MÉTODO.

Se realizó un estudio de cohortes, comparativo, retrospectivo y prolectivo de los registros de las transferencias embrionarias realizadas en la Clínica de Reproducción y Genética del Hospital Ángeles del Pedregal, México, D.F., en el periodo comprendido entre el 1° de enero del 2002 al 30 de junio del 2003 y que provenían de ciclos frescos y de transferencia de embriones descongelados. Se excluyeron los ciclos en los que se realizó donación de óvulos o de embriones.

Las transferencias embrionarias fueron realizadas a las 48 o 72 horas posteriores a la FIV y/o ICSI, con técnica aséptica, limpieza de moco cervical y bajo guía ultrasonográfica por vía abdominal. Las cánulas de transferencia utilizadas fueron Frydman, Wallace y Asch dependiendo de las características cervicales y uterinas. En todos los casos se introdujo la cánula hasta menos de 1 cm del fondo uterino y se esperó 1 minuto con la cánula inmóvil dentro del útero antes de depositar los embriones y otro minuto posterior al depósito de los mismos para retirar la cánula. Finalmente se revisó la cánula para comprobar la correcta transferencia de todos los embriones.

Las pacientes se mantuvieron en reposo en la clínica por un lapso de 4 horas y se les administró soporte de fase lútea con progesterona vaginal (400 mg/día) e intramuscular (100 mg/día). A las pacientes que se les transfirieron embriones descongelados también se les administró estradiol vía oral (6 mg/día).

Se realizó medición de  $\beta$ hCG a los 12 días postransferencia y posteriormente cada 4 días. Se realizó ultrasonido transvaginal a los 24 días postransferencia para localizar saco gestacional.

Las transferencias fueron analizadas de acuerdo a la calidad de los embriones transferidos, para lo cual se dividieron en 3 grupos:

- A. Transferencia de embriones de calidad 1+ y/o 2+.
- B. Transferencia de embriones de calidad 1+ y/o 2+ junto con embriones 3+, 4+ y/o 5+.
- C. Transferencia de embriones de calidad 3+, 4+ y/o 5+.

Se analizaron para cada grupo las tasas de embarazo, implantación, embarazo bioquímico, ectópico y aborto.

También se compararon las tasas de embarazo, implantación, embarazo bioquímico, ectópico y aborto para cada uno de los grupos descritos pero tomando en cuenta:

- Procedencia de los embriones de ciclos frescos.
- Procedencia de los embriones de ciclos de descongelación.

Se definió embarazo bioquímico como una  $\beta$ hCG positiva en suero en el día 12 postransferencia pero con declinación progresiva de los valores de gonadotropina y sin observación posterior de saco gestacional intra o extrauterino. Por lo tanto, no se incluyó a los embarazos bioquímicos en la tasa de embarazo y la tasa de embarazo bioquímico se calculó dividiendo el número de embarazos bioquímicos entre la suma de estos y todos los embarazos.

Se definió embarazo como una  $\beta$ hCG positiva en suero en el día 12 postransferencia y con presencia de saco gestacional intra o extrauterino observado por ultrasonido transvaginal. La tasa de implantación se definió como el número de sacos gestacionales observados por ultrasonido transvaginal entre el número de embriones transferidos.

El embarazo ectópico se definió como una  $\beta$ hCG positiva a los 12 días postransferencia y sin observación de saco gestacional intrauterino por ultrasonido transvaginal a los 24 días postransferencia o con valores de  $\beta$ hCG superiores a 1000 UI/ml en suero materno. Aborto se definió como la ausencia de latido cardiaco fetal por valoración ultrasonográfica transvaginal a las 6 semanas de amenorrea o la pérdida del embarazo en el cual ya se había confirmado la presencia de latido cardiaco fetal.

Para el análisis, se calcularon las tasas de implantación, embarazo clínico, bioquímico, ectópico y aborto para cada uno de los grupos.

En la presente tesis se utiliza un sistema donde se asigna un grado a la morfología del pre-embrión en segmentación y las transferencias son clasificadas de acuerdo a la puntuación más alta de cada cohorte de pre-embriones. El sistema de clasificación se muestra en la tabla I.

<b>Tabla I. Sistema de clasificación.</b>	
Grado	Características.
1+	Pre-embrión con blastómeras de igual tamaño. Sin fragmentación del citoplasma.
2+	Pre-embrión con blastómeras de igual tamaño. Fragmentación menor del citoplasma que cubre $\leq 10\%$ de la superficie del pre-embrión.
3+	Pre-embrión con blastómeras de tamaño desigual. Fragmentación variable.
4+	Pre-embrión con blastómeras de tamaño igual o desigual. Fragmentación moderada a significativa que cubre $> 10\%$ de la superficie del pre-embrión.
5+	Pre-embrión con pocas blastómeras de cualquier tamaño. Fragmentación severa que cubre $\geq 50\%$ de la superficie del pre-embrión.

## VII. RESULTADOS.

### 7.1 PROCEDENCIA DE LOS EMBRIONES.

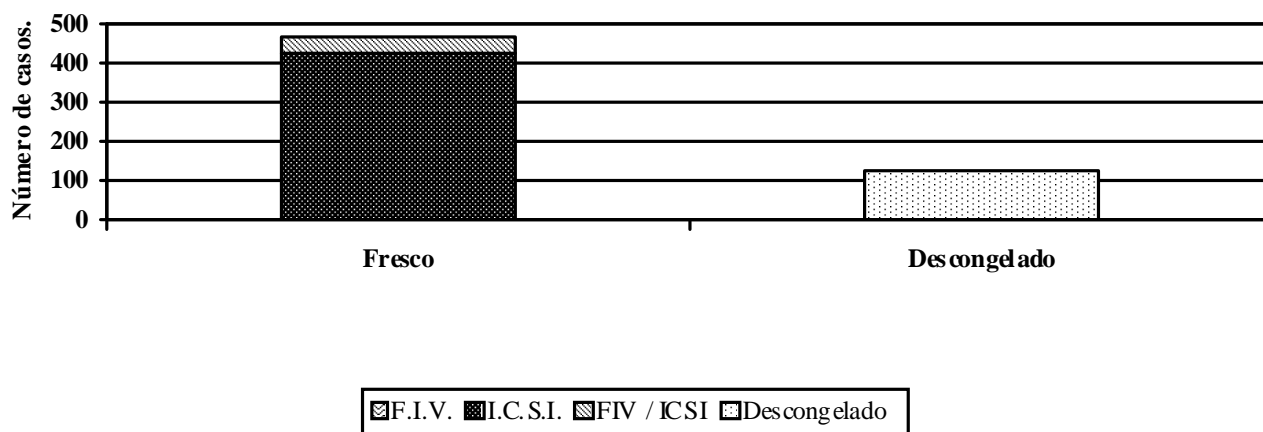
En el periodo estudiado se realizaron 597 transferencias de embriones (2088 embriones), de las cuales 470 transferencias (1674 embriones) fueron de embriones procedentes de ciclos frescos y 127 transferencias (414 embriones) de embriones procedentes de ciclos de descongelación.

Se excluyeron del estudio 104 transferencias de embriones procedentes de ciclos de ovodonación y 6 transferencias de embriones donados.

De los embriones procedentes de ciclos frescos, 6 embriones fueron obtenidos de ciclos de FIV (2 transferencias), 1497 embriones (425 transferencias) de ICSI y 171 embriones (43 transferencias) de ciclos en los que se combinaron FIV e ICSI, tal como se muestra en la tabla II y en la gráfica 1.

<b>Tabla II. Procedencia de los embriones (frescos y descongelados) según procedimiento.</b>			
<b>Tipo de ciclo.</b>		<b>N° transferencias.</b>	<b>N° embriones.</b>
Fresco.	F.I.V	2	6
	I.C.S.I	425	1497
	F.I.V / I.C.S.I.	43	171
	Subtotal.	470	1674
Descongelado.		127	414
<b>Total:</b>		597	2088

**GRÁFICA 1. Procedencia de embriones y procedimiento de reproducción asistida.**

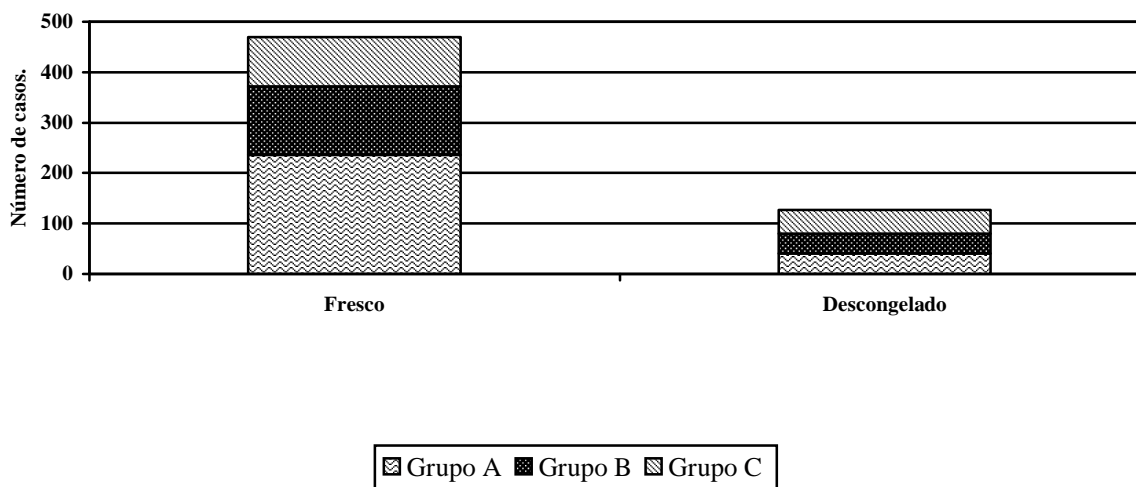


El total de transferencias por grupos fue: A. 276 transferencias (915 embriones), B. 176 transferencias (679 embriones) y C. 145 transferencias (494 embriones).

El total de transferencias según la procedencia y la calidad de los embriones se observa en la tabla III y en la gráfica II.

<b>Tabla III. Procedencia de los embriones (frescos y descongelados) según la calidad embrionaria.</b>			
<b>Tipo de ciclo.</b>		<b>N° transferencias.</b>	<b>N° embriones.</b>
Fresco.	Grupo A.	236	808
	Grupo B.	136	540
	Grupo C.	98	326
Descongelado	Grupo A.	40	107
	Grupo B.	40	139
	Grupo C.	47	168

**GRÁFICA 2. Procedencia de embriones y calidad embrionaria.**



## 7.2 EDAD DE LAS PACIENTES Y FACTOR DE INFERTILIDAD.

La edad promedio de las pacientes incluidas en el estudio fue de 34.4 años ( $\pm$  4.6 años, rango 19 a 49 años, moda 34 años, mediana 34 años).

No hubo diferencias significativas en cuanto a la edad promedio de las pacientes de los 3 grupos: (A) 34.2, (B) 35.0 y (C) 34.3 años.

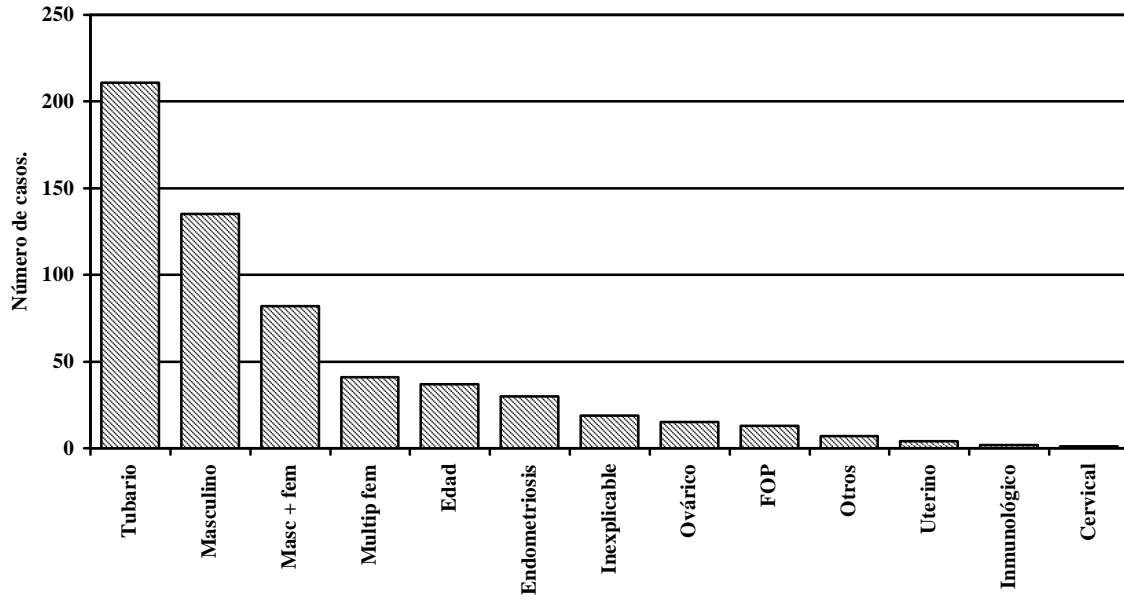
El promedio de edad de las pacientes cuando se separaron según la procedencia y la calidad de los embriones que les fueron transferidos el promedio de edad en el siguiente:

- Embriones de ciclos frescos: A 34.3 años, B 34.8 años y C 34.8 años
- Embriones de ciclos descongelados: A 34.7 años, B 34 años y C 33.7 años.

En la tabla IV y en la gráfica 3 se pueden observar los factores de infertilidad de las pacientes incluidas en el estudio.

<b>Tabla IV. Número de casos según los factores de infertilidad.</b>		
<b>Factor de infertilidad.</b>	<b>N° de casos.</b>	<b>Porcentaje.</b>
Tubarío <sup>(1)</sup> .	211	35.3 %
Masculino <sup>(2)</sup> .	135	22.6 %
Masculino y femenino concurrentes.	82	13.7 %
Múltiples femeninos <sup>(3)</sup> .	41	6.9 %
Edad y/o menopausia.	37	6.2 %
Endometriosis.	30	5.0 %
Inexplicable.	19	3.2 %
Factor ovárico <sup>(4)</sup> .	15	2.5 %
Falla ovárica prematura.	13	2.2 %
Otros <sup>(5)</sup> .	7	1.2 %
Uterino <sup>(6)</sup> .	4	0.7 %
Inmunológico.	2	0.3 %
Cervical <sup>(7)</sup> .	1	0.2 %
<b>Total.</b>	<b>597</b>	<b>100 %</b>
(1). Incluye oclusión tubaria quirúrgica o de cualquier etiología, excepto endometriosis. (2). Incluye alteraciones espermáticas y coitales (impotencia, eyaculación retrograda, etc). (3). Incluye todos los casos con más de un factor femenino alterado. (4). Incluye anovulación, ovarios poliquísticos y ooforectomía. Excepto falla ovárica prematura. (5). Incluye pacientes sin alteración en fertilidad (Selección de sexo o solteras). (6). Incluye malformaciones de los conductos de Müller, tabiques uterinos, adenomiosis, miomatosis. (7). Incluye alteraciones anatómicas y/o infecciosas.		

**GRÁFICA 3. Factores de infertilidad.**

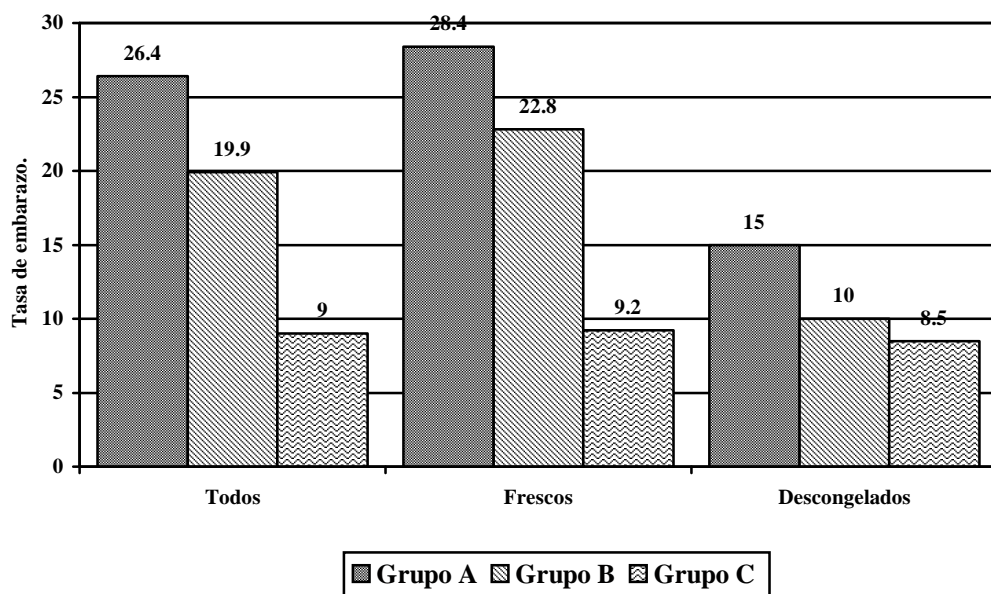


### 7.3 TASA DE EMBARAZO.

Se observaron las siguientes tasas de embarazo de todos los ciclos para los tres grupos (Tabla V y gráfica 4): (A) 26.4%, (B) 19.9% y (C) 9.0%.

	Grupo A.			Grupo B.			Grupo C.		
	Nº Emb	Nº ciclos	Tasa.	Nº Emb	Nº Ciclos	Tasa.	Nº Emb	Nº Ciclos	Tasa.
<b>Todos los ciclos.</b>	73	276	26.4 %	35	176	19.9 %	13	145	9.0 %
<b>Ciclos frescos.</b>	67	236	28.4 %	31	136	22.8 %	9	98	9.2 %
<b>Descongelación</b>	6	40	15.0 %	4	40	10.0 %	4	47	8.5 %

**GRÁFICA 4. Tasa de embarazo.**



Con el fin de valorar si existían diferencias significativas entre los ciclos frescos y descongelados, se calcularon los valores de chi cuadrada ( $\chi^2$ ) para los grupos, siendo de:

Grupo A: 3.15

Grupo B: 3.17

Grupo C: 0.01



También se calcularon los valores de chi cuadrada para las tasas de embarazo con el fin de comparar si existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos estudiados, las cuales se observan en la tabla VI.

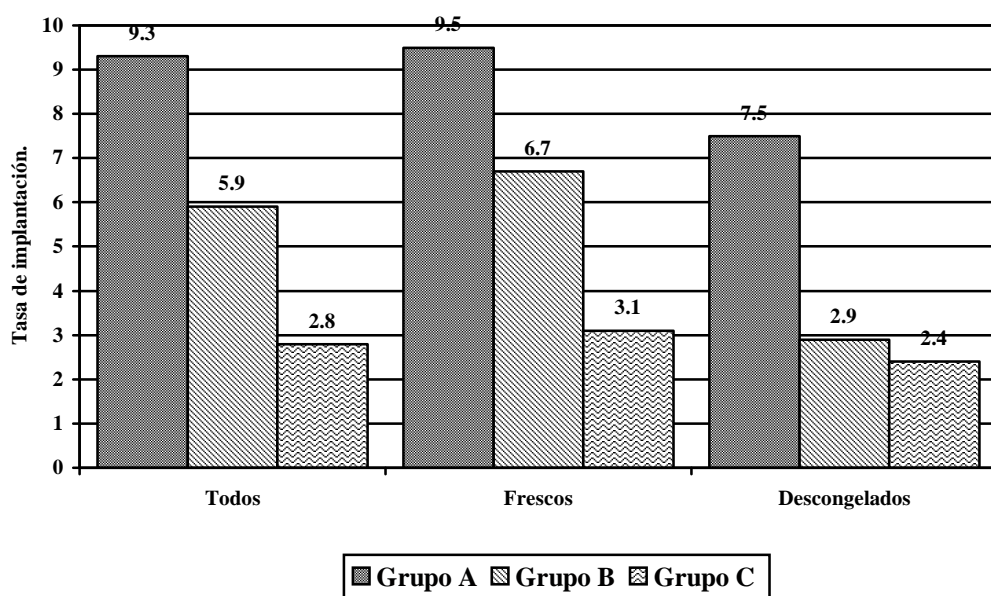
<b>Tabla VI. Valores de chi cuadrada para tasas de embarazo entre grupos de calidad embrionaria y procedencia de embriones.</b>			
	Grupo A vs B.	Grupo B vs C.	Grupo A vs C.
<b>Todos.</b>	2.54	7.45	17.87
<b>Ciclos frescos.</b>	1.39	7.44	14.53
<b>Descongelación</b>	0.45	0.05	0.89

## 7.4 TASA DE IMPLANTACIÓN.

Las tasas de implantación de todos los ciclos fueron: (A) 9.3%, (B) 5.9% y (C) 2.8%. En la tabla VII y la gráfica 5 se observan las tasas de implantación y las diferencias entre todos los ciclos con respecto de si se utilizaron embriones frescos o descongelados.

	Grupo A.			Grupo B.			Grupo C.		
	N° Sacos	N° Embrio	Tasa.	N° Sacos	N° Embrio	Tasa.	N° Sacos	N° Embrio	Tasa.
<b>Todos los ciclos.</b>	85	915	9.3 %	40	679	5.9 %	14	494	2.8 %
<b>Ciclos frescos.</b>	77	808	9.5 %	36	540	6.7 %	10	326	3.1 %
<b>Descongelación.</b>	8	107	7.5 %	4	139	2.9 %	4	168	2.4 %

**GRÁFICA 5. Tasa de implantación.**



Para las tasas de implantación también se calcularon los valores de chi cuadrada las cuales se observan en la tabla VIII.

<b>Tabla VIII. Valores de chi cuadrada para tasas de implantación entre grupos de calidad embrionaria y procedencia de embriones.</b>			
	Grupo A vs B.	Grupo B vs C.	Grupo A vs C.
<b>Todos.</b>	6.22	6.08	20.46
<b>Ciclos frescos.</b>	3.45	5.23	13.69
<b>Descongelación</b>	2.75	0.07	4.06

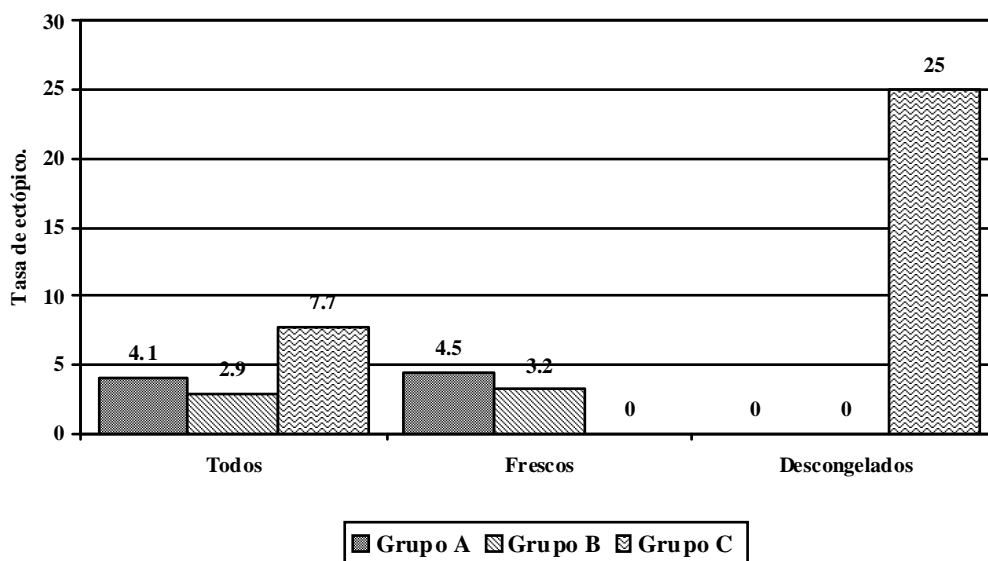
## 7.5 TASA DE EMBARAZO ECTÓPICO, BIOQUÍMICO Y ABORTO.

Estas tasas se muestran en la tabla IX y las figuras 6, 7 y 8. Los valores de chi cuadrada para los grupos pueden observarse en la tabla X.

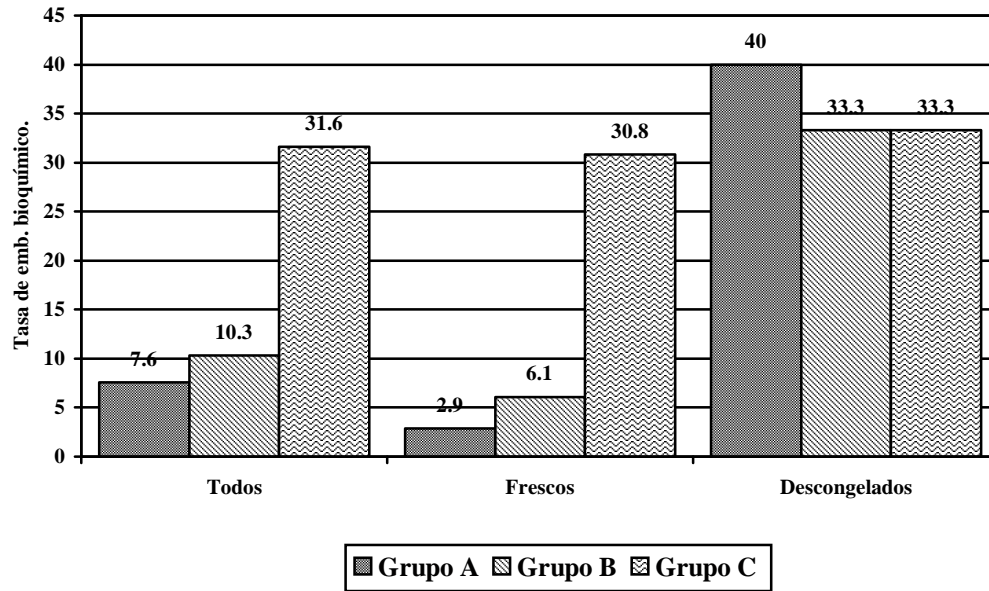
	Grupo A (n°).			Grupo B (n°).			Grupo C (n°).		
	Ectóp.	Bioq.	Aborto	Ectóp.	Bioq.	Aborto	Ectóp.	Bioq.	Aborto
<b>Todos los ciclos.</b>	4.1 % (3)	7.6 % (6)	2.7 % (2)	2.9 % (1)	10.3% (4)	28.6% (10)	7.7 % (1)	31.6% (6)	23.1% (3)
<b>Ciclos frescos.</b>	4.5 % (3)	2.9 % (2)	3.0 % (2)	3.2 % (1)	6.1 % (2)	25.8% (8)	0 % (0)	30.8% (4)	22.2% (2)
<b>Descong.</b>	0 % (0)	40.0% (4)	0 % (0)	0 % (0)	33.3% (2)	50.0% (2)	25.0% (1)	33.3% (2)	25.0% (1)

	Ectópico.			Bioquímico.			Aborto.		
	A vs B	B vs C	C vs A	A vs B	B vs C	C vs A	A vs B	B vs C	C vs A
<b>Todos los ciclos.</b>	0.10	0.55	0.32	0.29	6.93	17.76	15.98	0.14	8.32
<b>Ciclos frescos.</b>	0.08	0.29	0.41	0.65	7.89	18.75	12.04	0.04	5.88
<b>Descong.</b>	N/A	1.14	1.66	0.27	0.0	0.27	3.75	0.53	1.66

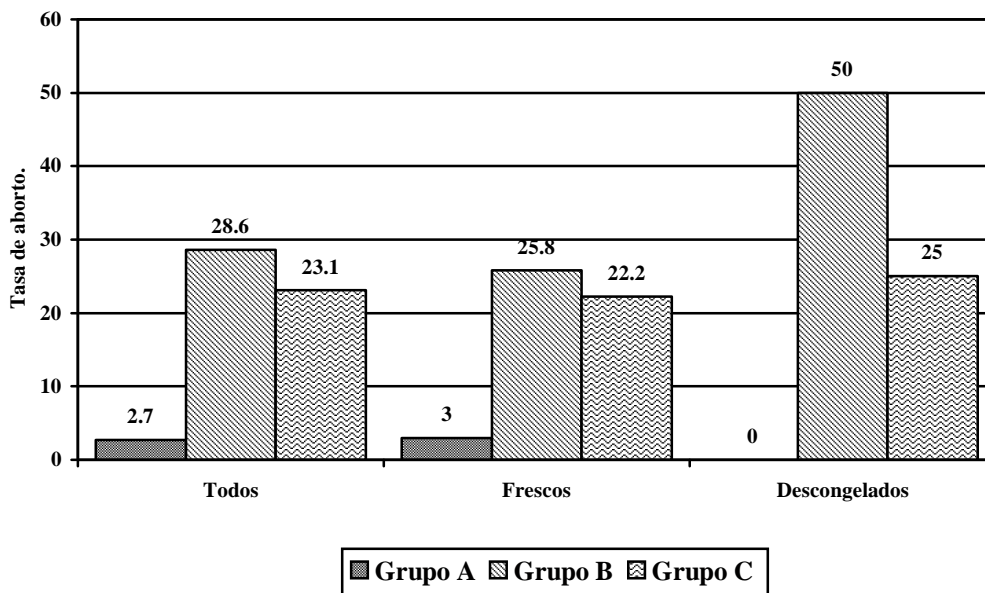
**GRÁFICA 6. Tasa de embarazo ectópico.**



**GRÁFICA 7. Tasa de embarazo bioquímico.**



**GRÁFICA 8. Tasa de aborto.**



## 7.6 EMBARAZOS EN EVOLUCIÓN Y NACIMIENTOS.

Tabla XI. Número de embarazos en evolución, nacimientos y recién nacidos.									
	Grupo A.			Grupo B.			Grupo C.		
	Evoluc.	Nacim.	RN.	Evoluc.	Nacim.	RN.	Evoluc.	Nacim.	RN.
<b>Todos los ciclos.</b>	59	9	12	21	3	5	9	0	0

**GRUPO A:** Se tienen 59 embarazos en evolución, se han registrado 9 nacimientos (7 cesáreas y 2 partos) con un total de 12 nacidos vivos (3 embarazos gemelares). La edad gestacional promedio al término fue de 37 semanas (34 – 39 semanas) y el peso promedio de 2360 g (1400 – 3450 g). No se presentaron muertes neonatales.

**GRUPO B:** Se tienen 21 embarazos en evolución, se han registrado 3 nacimientos (1 cesárea y 2 partos) con un total de 5 nacidos vivos (1 embarazo con tres productos). La edad gestacional promedio al término fue de 34.7 semanas (27 – 40 semanas). El embarazo múltiple fue atendido en otro hospital a las 27 semanas de gestación con muerte neonatal de los 3 productos y se desconoce su peso. El peso de los productos vivos fue de 2570 y 4295 g.

**GRUPO C:** Se tienen 9 embarazos en evolución, y no se han registrado nacimientos hasta el momento.

## VIII. CONCLUSIONES.

1. Los resultados muestran que existe una menor tasa de embarazo cuando se transfieren embriones de mala calidad que cuando se transfieren embriones de buena calidad, además se encontró que la transferencia conjunta de embriones de buena y mala calidad disminuye las tasas de embarazo y, aunque estas son mayores comparándolas con la transferencia de embriones de mala calidad, nos indica que lo más conveniente es evitar mezclar los embriones y solo transferir los más adecuados.
2. En cuanto a las tasas de implantación, estas se comportan de igual manera entre los 3 grupos. Existen diferencias estadísticamente significativas sobretodo cuando se comparan los grupos A y C. Dichas diferencias son menores entre los grupos B y C. En contraste, cuando se consideran los embriones procedentes de ciclos de descongelación, las diferencias entre los grupos no fueron significativas, lo que implica de alguna forma un probable daño en el embrión descongelado.
3. No hay diferencia significativa en las tasas de embarazo ectópico en cuanto se comparan entre sí la calidad de los embriones y tampoco padece haber diferencia entre los grupos al considerar por separado a aquellos embriones procedentes de ciclos frescos o descongelados.
4. En cuanto a embarazos denominados bioquímicos estos se presentaron con mayor frecuencia en las pacientes del grupo C (Embriones de peor calidad) y la diferencia es estadísticamente significativa entre los grupos. Lo que sugiere que la mala calidad embrionaria podría permitir la implantación del embrión, pero a la vez la pérdida del mismo sería temprana.
5. Paradójicamente, las tasas de aborto son mayores entre pacientes a las que se les transfirieron embriones de “buena y mala calidad” conjuntamente (Grupo B) e incluso con diferencias significativas respecto de los otros grupos. Esto podría sugerir una afectación tardía del embrión ya implantado (probablemente el de buena calidad) por alteraciones surgidas por influencia de alguna degeneración de los otros embriones.
6. No puede concluirse nada con respecto al número de embarazos o recién nacidos, pues aunque hubo una mayor probabilidad de prematuridad y de muerte neonatal en las pacientes del grupo B, esto se debió mayormente a que dicho embarazo fue de alto orden fetal con tres productos que nacieron prematuros. El peso de los otros

productos no es valorable puesto que uno fue de bajo peso pero el otro fue macrosómico.

7. Finalmente, como conclusión general es lógico pensar que es preferible transferir embriones de calidad 1+ y 2+, solo sería tolerable la transferencia de embriones 4+ o 5+ en los casos en que la paciente lo acepte, conozca ampliamente las probabilidades de éxito o fracaso y no existan otros embriones para transferir.

En el caso de la transferencia conjunta de embriones de buena y mala calidad, se recomendaría evitar “la mezcla” de los mismos y tener preferencia solo por la transferencia de embriones 1+ y 2+, pues si existe riesgo de afectar adversamente nuestras tasas de implantación y en consecuencia de embarazo cuando llevamos a cabo esta práctica.



## IX. BIBLIOGRAFÍA.

1. Leese H, Edwards R. The potential for preimplantation diagnosis by non-invasive methods. *Preconception and Preimplantation Diagnosis* 1993; 1: 299 -310.
2. Ray P, Conaghan J, Winston R, Handyside A. Increased number of cells and metabolic activity in male human preimplantation embryos following in vitro fertilization. *J Reprod Fertil* 1995; 104: 165-169.
3. Claman P, Leveille M. Sex ratio of babies is unchanged after transfer of fast versus slow cleaving embryos. *J Assist Reprod Genet* 1995; 12: 566 -569.
4. Herbert M, Wolstenholme J, Merdoch A, Butler T. Mitotic activity during preimplantation development of human embryos. *J Reprod Fertil* 1995; 103: 209 -213.
5. Juricosova A, Varmuza S, Casper RF. Programmed cell death and human embryo fragmentation. *Mol Human Reprod* 1996; 2: 93 -97.
6. Shulman A, Ben-Nun I, Ghetler Y. Relationship between embryo morphology and implantation rate after in vitro fertilization treatment in conception cycles. *Fertil Steril* 1993; 60: 123 -129.
7. Claman P, Armant DR, Seibel MM. The impact of embryo quality and quantity on implantation and the establishment of viable pregnancies. *J In Vitro Fert Embryo Transf* 1987; 4: 218 -226.
8. Lewin A, Schenker JG, Safran A. Embryo growth rate in vitro as an indicator of embryo quality in IVF cycles. *J Assist Reprod Genet* 1994; 11: 500 -504.
9. Zhu J, Meniru GI, Craft II. Embryo developmental stage at transfer influences outcome of treatment with intracytoplasmic sperm injection. *J Assist Reprod Genet* 1997; 14: 245 -249.
10. McKiernan SH, Bavister BD. Timing of development is a critical parameter for predicting successful embryogenesis. *Hum Reprod* 1994; 9: 2123 -2129.
11. Shoukir Y, Campana A, Farley T Sakkas D. Early cleavage of in vitro fertilized human embryos to the 2-cell stage: A novel indicator of embryo quality and viability. *Human Reprod* 1997; 12: 1531 -1535.
12. Chui D, Pugh N, Walker S, Shaw R. Follicular vascularity – the predictive value of transvaginal Doppler ultrasonography in an in vitro fertilization programme. *Hum Reprod* 1997; 12: 1610 -1616.

13. Puissant F, Van Rysselberge M, Barlow P. Embryo scoring as a prognostic tool in IVF treatment. *Human Reprod* 1987; 2: 705 -711.
14. Erenus M, Zouves C, Rajamahendran P. The effect of embryo quality on subsequent pregnancy rates after in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1991; 56: 707 -710.
15. Steer C, Mills C, Tan S. The cumulative embryo score: A predictive embryo scoring technique to select the optimal number of embryos to transfer in an in vitro fertilization and embryo transfer programme. *Human Reprod* 1992; 7: 117 -123.
16. Visser D, Fourie F. The applicability of the cumulative embryo score system for embryo selection and quality control in an in vitro fertilization/ embryo transfer programme. *Human Reprod* 1993; 8: 1719.
17. Giorgetti C, Terriou P, Auquier P. Embryo score to predict implantation after in vitro fertilization: Based on 957 single embryo transfers. *Human Reprod* 1995; 10: 2427 - 2431.
18. Tasdermi M, Tasdermi I, Kodama H. Two instead of three embryo transfer in vitro fertilization. *Human Reprod* 1995; 10: 2155 -2160.
19. Gardner DK, Lane M. Culture and selection of viable blastocysts: A feasible proposition for human IVF?. *Hum Reprod Update* 1997; 3(4): 367- 382.
20. Gardner DK, Lane M. Culture of viable human blastocysts in defined sequential serum-free media. *Hum Reprod* 1998a; 13 Suppl 3: 148- 159.
21. Gardner DK, Schoolcraft WB, Wagley L. A prospective randomized trial of blastocyst culture and transfer in in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1998b; 13(12): 3434- 3440.
22. Gardner DK, Lane M, Stevens J. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer. *Fertil Steril* 2000; 73: 1155-1158
23. Rijnders PM, Jansen CA. The predictive value of day 3 embryo morphology regarding blastocyst formation, pregnancy and implantation rate after day 5 transfer following in-vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1998; 13(10): 2869- 2873.
24. Racowsky C, Jackson KV, Cekleniak NA. The number of eight-cell embryos is a key determinant for selecting day 3 or day 5 transfer. *Fertil Steril* 2000; 73(3): 558- 564
25. Fisch JD, Rodriguez H, Ross R. The Graduated Embryo Score (GES) predicts blastocyst formation and pregnancy rate from cleavage-stage embryos. *Hum Reprod* 2001; 16(9): 1970- 1975 .

26. Boklage C. Survival probability of human conceptions from fertilization to term. *Int J Fertil* 1990; 35: 75-78.
27. Munne S, Alikani M, Tomkin G. Embryo morphology, developmental rates and maternal age are correlated with chromosome abnormalities. *Fertil Steril* 1995; 64: 382-393.
28. Almeida P, Bolton V. The relationship between chromosomal abnormality in the human preimplantation embryo and development in vitro. *Reprod Fertil Dev* 1996; 8: 235.
29. Ziebe S, Petersen K, Linderberg S, Andersen AG, Gabrielsen A, Andersen AN. Embryo morphology or cleavage stage: how to select the best embryos for transfer after in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 2000; 12: 1545 -1549.
30. Devreker F, Pogocini E, De Maertelaer V, Revelard P, Van der Nergh M, Englert Y. Selection of good embryos for transfer depends on embryo cohort size: implications for the "mild ovarian stimulation" debate. *Hum Reprod* 1999; 14: 3002 -3008.
31. Desai N, Goldstein J, Rowland D, Goldfarb J. Morphological evaluation of human embryos and derivation of an embryo quality scoring system specific for day 3 embryos: a preliminary study. *Hum Reprod* 2000; 15: 2190 -2196.
32. Alikani M, Calderon G, Tomkin G, Garrisi J, Kokot M, Cohen J. Cleavage anomalies in early human embryos and survival after prolonged culture in-vitro. *Hum Reprod* 2000; 15: 2634 -2643.
33. Selick CE, Hofmann GE, Albano C, Horowitz GM, Copperman AB, Garrisi GJ, Navot D. Embryo quality and pregnancy potential of fresh compared with frozen embryos – is freezing detrimental to high quality embryos?. *Hum Reprod* 1995; 10: 392 -395.
34. Lundin K, Bergh C, Hardarson T. Early embryo cleavage is a strong indicator of embryo quality in human IVF. *Hum Reprod* 2000; 16: 2652 -2657.
35. Menezo Y, Guerin J, Czyba J. Improvement of human early embryo development in vitro by coculture on monolayers of Vero cells. *Biol Reprod* 1990; 42(2): 301- 306.