



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIAGACIÓN

**Instituto Nacional de Perinatología
Isidro Espinosa de los Reyes**

**“RESULTADOS DE LOS CICLOS CON
TRANSFERENCIAS DE EMBRIONES Y OVOCITOS
VITRIFICADOS: EXPERIENCIA INSTITUCIONAL DE
6 AÑOS”**

TESIS

**Para obtener el título de:
ESPECIALISTA EN:
BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN HUMANA**

PRESENTA:

DRA. ANA KARELIA CASTILLO RUIZ

DR. JULIO FRANCISCO DE LA JARA DÍAZ
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACION EN BIOLOGIA DE LA
REPRODUCCION HUMANA

DR. JUAN CARLOS BARROS DELGADILLO
DIRECTOR DE TESIS





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

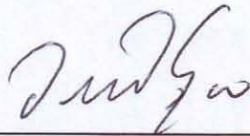
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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.

HOJA DE AUTORIZACION DE TESIS
“RESULTADOS DE LOS CICLOS CON TRANSFERENCIAS DE EMBRIONES Y
OVOCITOS VITRIFICADOS: EXPERIENCIA INSTITUCIONAL DE 6 AÑOS”

PRESENTA:

Dra. Ana Karelia Castillo Ruiz



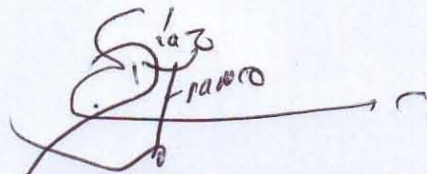
Dra. Viridiana Gorbea Chávez
Director de educación en ciencias de la salud



Dr. Julio Franciseo de la Jara Díaz.
Profesor titular del curso de Biología de la reproducción Humana INPER



Dr. Juan Carlos Barros Delgadillo
Director de Tesis
Profesor Adjunto al Curso de Biología de la Reproducción Humana INPER



Dr. Edgar Cuauhtémoc Díaz Franco
Asesor Metodológico
Coordinador del Programa de Atención Psicológica a la Adolescente Embarazada INPER

DEDICATORIA

Con todo mi amor, dedicada a la mujer que me dio la vida y que sigue luchando por mí..... a mi madre: María Julia

Dedicada a todas aquellas pacientes que se aferran a la esperanza de ser madres, que se somete a las diferentes Técnicas de Reproducción Asistida y que gracias a ellas surge un sin número de estudios y nuevos conocimientos con la finalidad de lograr dicho objetivo.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mi Director de Tesis, Dr. Juan Carlos Barros Delgadillo, por dedicarme su tiempo y experiencia para llevar a cabo este estudio.

Al personal de enfermería y archivo clínico, por facilitarme el acceso a los expedientes y capetas de los ciclos de Fertilización in vitro.

Al Dr. Eduardo Rios Dubois, por su apoyo incondicional en todos mis proyectos.

CONTENIDO

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN.....	3
MATERIAL Y MÉTODOS	9
SEGUIMIENTO.....	11
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	12
RESULTADOS	13
DISCUSIÓN	18
CONCLUSIONES	21
BIBLIOGRAFÍA	22

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: Con el mejoramiento de las Técnicas de Reproducción asistida (TRA) y de la criopreservación en la última década, se han incrementado los ciclos de transferencia de embriones vitrificados/desvitrificados (FTE).

MATERIAL Y METODO: Se trata de un estudio observacional descriptivo, que incluyó 213 pacientes que se sometieron a ciclos de transferencia de embriones y ovocitos vitrificados (TE), en el servicio de Reproducción Asistida del Instituto Nacional de Perinatología "Isidro Espinosa de los Reyes" entre enero 2010 y diciembre de 2015.

SEGUIMIENTO: Se realizó un protocolo de preparación endometrial, se utilizó un agonista de GnRH, valerato de estradiol; el soporte de fase lútea se hizo con Progesterona micronizada, el día de la TE hizo aproximadamente durante el día 16 de preparación endometrial, La fracción β hCG se cuantificó 14 días después de la Transferencia Embrionaria (TE), en caso de resultar la prueba positiva, se continuó con la suplementación de estradiol y progesterona hasta evidenciar la presencia de saco gestacional con embrión y latido cardíaco positivo. Se consideró embarazo viable aquél que superó las 28 semanas de gestación.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La información se recolectó mediante una ficha prediseñada del expediente clínico y se transpoló a una base de datos, fue analizada con el programa estadístico SPSS versión 22, se expresó en media \pm desviación standard, se calculó X^2 con Grado de Libertad (GL) y p .

RESULTADOS: El 46.5% de las pacientes tenía de 30 a 35 años de edad. El 53.3% tuvo IMC 25.4 ± 0.66 Kg/m². El tiempo de infertilidad fue 6.2 ± 3.8 años con 59.2% y el 52.1% de ellas tenía infertilidad secundaria. La principal causa de infertilidad fue el factor tubo peritoneal con 38.5%. El 82.6% recibió más de 12 días de suplementación de 17 β -estradiol previo a la TE, 93.9% lo recibió por vía oral únicamente. La dosis de suplementación de 17 β estradiol fue de 72 mg (4/6/8 mg) con 97.2%. El 98.1% se sometieron a un protocolo largo de agonista de GnRH. La suplementación con Progesterona fue de 600 mg/día en el 96.7% de las pacientes. El 74.6% recibieron más de 4 días de suplementación con Progesterona previo a la TE. El nivel de estradiol durante la fase de suplementación previa a la TE, tuvo una media en el día 12 de 507.23 ± 216.25 pg/dl. El 70.4% de las TE se realizaron entre el día 15 y 16 del ciclo de preparación endometrial, en el 59.6% se transfirieron 2 embriones, el 64.8% fueron de calidad tipo II, el 86.4% estaban en día 3 de desarrollo embrionario. La fracción β hCG fue positiva en el 16% de los ciclos transferidos. La tasa de implantación fue 19.7% y la de embarazo clínico de 12.2%. El embarazo viable se alcanzó en el 10.3% y la tasa de aborto fue 3.4%.

CONCLUSIONES: A medida que exista una mejor sincronía entre el desarrollo endometrial, la calidad embrionaria y el día de desarrollo embrionario, aumenta las posibilidades de transferir el momento óptimo de la ventana de implantación y con ello el aumento de las tasas de nacidos vivos.

ABSTRACT

INTRODUCTION: With the improvement of Assisted Reproduction Techniques (ART) and cryopreservation in the last decade have increased transfer cycles of frozen / thawed embryos (FET).

MATERIALS AND METHODS: This is an observational study, which included 209 patients who underwent transfer cycles of frozen embryos and oocytes (FET) in the service of Assisted Reproduction at the Instituto Nacional de Perinatología "Isidro Espinosa de los Reyes" between January 2010 and December 2015.

FOLLOW-UP: An endometrial preparation protocol was performed, a GnRH agonist, estradiol valerate was used; the luteal phase support was made with micronized progesterone, the day of the ET made about during the day 16 endometrial preparation, the fraction β hCG was quantified 14 days after embryo transfer (ET), should be a positive test, we continued with the supplementation of estradiol and progesterone until evidence the presence of gestational sac with embryo and positive heartbeat. that viable pregnancy that exceeded 28 weeks of gestation was considered.

STATISTIC ANALYSIS: The information was collected through a predesigned tab and extrapolate to a database and was analyzed with SPSS version 22, expressed in average \pm standard deviation was calculated X² with Freedom Degree (FD) and *p*.

RESULTS: 46.5% of patients had 30 to 35 years old. 53.3% had BMI 25.4 ± 0.66 kg / m². The time of infertility was 6.2 ± 3.8 years with 59.2% and 52.1% of them had secondary infertility. The main cause of infertility was the peritoneal tube with 38.5% factor. 82.6% received more than 12 days of supplementation of 17 β -estradiol before to the ET, 93.9% received it orally only. The dose of 17 β estradiol supplementation was 72 mg (4/6/8 mg) with 97.2%. 98.1% underwent a long GnRH agonist protocol. Progesterone supplementation was 600 mg / day in 96.7% of patients. 74.6% received over 4 days of supplementation with Progesterone before to the ET. The level of estradiol during the pre-ET supplementation had an average between on day 12 507.23 ± 216.25 pg/dl. 70.4% of ET were performed between 15th and 16th day cycle endometrial preparation, in 59.6% 2 embryos were transferred, 74.6% were type II quality, 86.4% were on day 3 of embryonic development. The fraction β hCG was positive in 16% of the transferred cycles. The implantation rate was 19.7% and 12.2% clinical pregnancy. The viable pregnancy was achieved in 10.3% and the abortion rate was 3.4%.

CONCLUSIONS: As there is a better synchrony between the endometrial development, embryo quality and the day of embryonic development, it increases the possibilities of transferring the optimal time window implementation and thereby increase live birth rates.

INTRODUCCIÓN

Con el mejoramiento de las Técnicas de Reproducción asistida (TRA) y de la criopreservación en la última década, se han incrementado los ciclos de transferencia de embriones congelados/descongelados (FTE). En el año 1983 Trouson y Mohr en Australia realizaron la primera transferencia de un embrión humano descongelado y el primer nacido vivo por esta técnica se informó en los países bajos en 1984. Esta TRA ha venido aumentando considerablemente y con ello la tasa de nacidos vivos. (1)

La FTE se hizo en un inicio como complemento de las transferencias de embriones en fresco cuando éstas eran canceladas por alguna condición médica como el Síndrome de Hiperestimulación Ovárica (SHO), la elevación prematura de Progesterona (P4), cuando había necesidad de un diagnóstico genético pre implantación o debido a la falta de sincronía entre el desarrollo endometrial y embrionario. (2) El fundamento de esta técnica era lograr una mayor tasa de nacidos vivos y disminuir el SHO. En la actualidad existe la modalidad de tratamiento denominada “Freeze-all policy”, consiste en congelar todos los embriones y seleccionar los de mejor calidad para posteriormente ser transferidos de forma selectiva en un ciclo natural o artificial de preparación endometrial. Ésta modalidad terapéutica ha mejorado los resultados de los ciclos de FIV y entre sus ventajas está: reducir el riesgo de SHO, mejorar los resultados del ciclo en caso de luteinización prematura u otra complicación, criopreservar toda la cohorte de embriones, para posteriormente ser transferidos en ciclos con preparación endometrial para FTE, realizar transferencia selectiva del embrión de mejor calidad; todo lo cual ha favorecido el aumento de las tasas de embarazo y de nacidos vivos (3)(6).

La creciente evidencia en la literatura médica muestra que la estimulación ovárica controlada en los ciclos de transferencia embrionaria en fresco produce niveles supra fisiológicos de hormonas, principalmente estrógenos y progesterona, que disminuyen a su vez los receptores de estrógenos e inducen alteración en los receptores de progesterona, creando una asincronía del endometrio lo cual influye aparentemente de forma negativa en la receptividad e implantación embrionaria.

En los ciclos de FTE, a través de la preparación endometrial y sin los niveles hormonales supra fisiológicos de un tratamiento de hiperestimulación ovárica; el crecimiento endometrial ocurre de manera más fisiológica y el éxito del proceso de implantación, dependerá de factores como la calidad del embrión, la interacción endometrio - embrión y la receptividad endometrial.

El primer embarazo reportado por criopreservación a través de la congelación lenta con el uso de crioprotector ocurrió en 1986, sin embargo, con el tiempo, esta técnica ofreció bajas tasas de supervivencia de los embriones, ovocitos y bajas tasas de embarazo.

La idea de vitrificar se describió inicialmente en el año 1860 y fue retomada por Luyet en 1937; cincuenta años más tarde (1985) Rall y Fahy describen una alternativa potencial a la vitrificación que fue la congelación lenta, que consiste en solidificar una sustancia por enfriamiento rápido hasta formar un estado vídrioso por elevación extrema de su viscosidad.

La técnica actual de vitrificación, implica la exposición de la célula a un volumen reducido de crioprotectores a elevadas concentraciones seguido de congelación rápida en nitrógeno líquido con lo cual se solidifica y el agua intracelular no tiene tiempo para formar cristales; así su principal ventaja es evitar la formación de hielo en la blastómera y con ello la destrucción del embrión. (4)

Otro factor determinante para la supervivencia de los embriones es el medio de soporte, que es diferente al medio de cultivo, donde técnicamente se realiza la vitrificación; en la Unidad de Reproducción Asistida donde se realizó la presente investigación; el que se utilizó fue Cryotop (Criotech ® Lab), que usa como medio de soporte, una lámina fina que contendrá al embrión durante el proceso de congelación y descongelación, protegiendo a las células del daño físico y de la contaminación durante su almacenamiento en nitrógeno líquido. Este método ha demostrado hasta 99% de supervivencia del embrión y ha permitido la vitrificación en diferentes días de desarrollo embrionario (día 3, 4 y 5), seleccionar los embriones de mejor calidad, transferencia selectiva de un solo embrión y criopreservar para futuros ciclos de TE. La vitrificación se ha convertido en una técnica de rutina en los laboratorios de fertilización in vitro (FIV) (5).

Con el mejoramiento de la técnica de criopreservación a través de la vitrificación, se han reportado pocos o ningún defecto en el embrión y ninguna consecuencia a la descendencia (6).

La Transferencia Embrionaria (TE) se puede realizar en un ciclo natural (idealmente en aquellas pacientes con ciclos menstruales regulares de 28 a 32 días) o en un ciclo de preparación endometrial con suplementación farmacológica de estrógenos y progesterona incluyendo el uso de agonistas de GnRH para prevenir el pico prematuro de LH y ayudar a la sincronización del crecimiento endometrial (7).

En un ciclo natural, la preparación endometrial depende de la producción de esteroides sexuales endógenos que produce el folículo en desarrollo, cuyo crecimiento se monitorea por ultrasonido y el pico de LH (Hormona Luteinizante) a través de cintas urinarias reactivas para LH o a través de la determinación sérica. La TE puede ser cancelada si hay un desarrollo ineficiente del folículo que sintetizara los esteroides sexuales endógenos o si el endometrio tiene un desarrollo insuficiente; se estima que un endometrio trilaminar ≥ 7 mm es ideal para la TE. (8)

En los ciclos con preparación endometrial, se puede emplear la suplementación con estrógenos (E2) y progesterona (P4) con o sin agonistas de GnRH. La suplementación con E2 en ciclos con FTE tiene como uno de los principales objetivos, bloquear el eje hipotálamo hipófisis ovario y con ello evita el reclutamiento, el desarrollo folicular y la ovulación; además de ayudar al crecimiento del endometrio. Una dosis inicial de 4 mg/día con el posterior incremento de ésta, es en la mayoría de los casos, suficiente para lograr este efecto. Durante la fase lútea el estradiol no genera mayor incremento del grosor endometrial sin embargo tiene la vital función de inducir la síntesis de receptores de P4. (9)

La suplementación de la fase lútea (SFL) con P4 es esencial para la implantación y como apoyo durante parte del primer trimestre del embarazo.

Con el uso de agonistas de GnRH ocurre supresión hipofisaria la cual se puede extender hasta dos semanas posterior a la última aplicación y esto conlleva a la producción inadecuada de LH y subsecuentemente a una síntesis insuficiente de P4 que se traduce en un endometrio con baja o nula receptividad embrionaria; de ahí la necesidad de suplementar los ciclos de FTE con P4. El efecto fisiológico de la P4 a nivel endometrial es modificar histológica, morfológica y funcionalmente el endometrio de proliferativo a endometrio secretor, con lo cual se crea un ambiente anatómico y bioquímico idóneo para la interacción embrión – endometrio; a este período se le conoce como ventana de implantación la cual ocurre entre el día 22 y 24 de un ciclo ideal de 28 días. (10)

Para la SFL existen preparaciones de P4 por vía oral, parenteral y vaginal, siendo esta última tan eficaz como la vía parenteral, es de rápida absorción y la vía mejor tolerada por la paciente. Se recomienda una dosis promedio de 200 mg cada 8 horas, aunque la dosis ideal aún no está establecida. (11)

Entre los efectos secundarios indeseados se ha reportado cefalea, fatiga, irritación, descarga vaginal y dispareunia.

Aparte del SFL, existen otras variables que influyen en el éxito de FTE como son: la calidad embrionaria, el número de embriones transferidos, el IMC y por supuesto el protocolo de preparación endometrial ya descrito.

En cuanto a la calidad embrionaria, aquéllos embriones con buena calidad antes de la congelación o vitrificación, tienen una mayor sobrevida al ser descongelados y mejores posibilidades de implantación. Existen varias clasificaciones para determinar la calidad embrionaria; una de las más usadas y la que se sigue en el laboratorio de embriología de la unidad de Reproducción Asistida donde se realizó la presente investigación, es la clasificación de Lucinda Veeck que clasifica en cinco grados la calidad embrionaria (12)

En una reciente revisión sistemática donde compararon las tasas de implantación y de embarazos clínicos en ciclos en fresco vs. ciclos con FTE, se encontró una mayor tasa de implantación y de embarazo clínico en éstos últimos y estos resultados se explican por una mayor sincronía entre el desarrollo embrionario y el desarrollo endometrial.(13)

Entre las ventajas de los ciclos de FTE se ha demostrado mejores resultados obstétricos y perinatales, en comparación a la transferencia de embriones en fresco, así como, reducción del SHO, de la tasa de embarazos múltiples, los ingresos a las unidades de terapia intensiva neonatal y reducción de la morbilidad materna y perinatal. Estos resultados se asemejan a los logrados en embarazos concebidos de forma natural.(14)

En este estudio pretendemos realizar una descripción detallada de los últimos seis años de experiencia institucional con los ciclos de transferencia de embriones y ovocitos desvitrificados, haciendo énfasis en el análisis de las tasas de embarazo de acuerdo, entre otras, al tipo de preparación endometrial, el grosor endometrial alcanzado, la dosis de estradiol y días de suplementación y la calidad embrionaria.

MATERIAL Y METODO

Se trata de un estudio observacional descriptivo, que incluyó 213 pacientes que se sometieron a ciclos de transferencia de embriones y ovocitos congelados (FTE), en el servicio de Reproducción Asistida del Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes” entre enero 2010 y diciembre de 2015. Se incluyeron a pacientes que tenían embriones y ovocitos vitrificados en reserva producto de un ciclo previo de estimulación ovárica controlada, pacientes cuya transferencia fue cancelada por riesgo de SHO, con elevación de la progesterona sérica mayor a 2.0 ng/dl el día de la aplicación de la HCG, pacientes con el hallazgo de líquido en la cavidad endometrial al final de la preparación endometrial y con alteraciones en la cavidad endometrial como pólipos o miomas submucosos.

Las pacientes incluidas cumplieron con el siguiente protocolo de estudio: cavidad uterina normal documentada por Histeroscopia o Sonohisterografía dentro de los últimos 12 meses previos a FTE, panel viral que incluía estudios para TORCH, VIH, sífilis, hepatitis B y C y VDRL, exudado cervicovaginal y cultivos especiales para Chlamydia, Mycoplasma y Ureaplasma Urealyticum que se reportasen negativos en los últimos 6 meses.

Se excluyeron del análisis a todas aquellas que no llegaron a la transferencia por desarrollo endometrial inadecuado (<7 mm), a pesar de la preparación endometrial farmacológica.

La criopreservación de embriones y ovocitos se realizó mediante la técnica de vitrificación usando como medio de soporte Cryotop (Criotech ® Lab) como ya se ha descrito previamente en la literatura (); La calidad embrionaria al momento de la transferencia se evaluó usando la escala de Lucinda Veek (12) la cual clasifica al embrión del I al V dependiendo de la estructura y simetría de la blastómera y el grado de fragmentación.

Como adyuvante de la preparación endometrial, la mayoría de las pacientes usaron un análogo de GnRH: Acetato de Leuprolide (Lucrin®kit, Abbott de México) en esquema largo y el resto usó un esquema modificado sin el uso del análogo de GnRH. El agonista de GnRH se administró a partir del día 21 del ciclo menstrual previo a una dosis de 1 mg., subcutánea (SC) cada 24 horas hasta que se comprobó la desensibilización hipofisaria (niveles de FSH y LH menor a 5 UI/ml) cuando se redujo la dosis a 0,5 mg., generalmente a partir del primer día de menstruación y se continuó hasta el inicio de la suplementación con progesterona.

En cuanto al protocolo de preparación endometrial, las pacientes fueron tratadas con 17 β Estradiol vía oral (Primogyn ®, Scherin) en un esquema con aumento progresivo de la dosis a partir del día 1 el ciclo, usando la mayoría de ellas el siguiente esquema: del día 1 al 4 del ciclo, se administró 4mg/día vía oral (VO); del día 5 al 8 del ciclo, tomaron 6 mg., y a partir del día 9, se incrementó la dosis a 8 mg/día hasta aproximadamente el día 12 en que se suspende el agonista de GnRH y se bajó la dosis a 6 mg/día o se continuó con los 8 mg/día hasta que la prueba de embarazo fue realizada.

El resto de las pacientes inició el esquema con 2 mg aumentándose de la misma manera hasta llegar a 6 mg/día.

En el caso de las pacientes que no alcanzaron en el día 10 del ciclo un grosor endometrial mínimo de 7 mm., se indicó agregar Estradiol en parches transdérmicos de 50µg., (EVOREL ®, Janseen Cilag) cada 72 horas hasta la prueba de embarazo en la mayoría de los casos.

El soporte de fase lútea se hizo con progesterona micronizada (Geslutin ®, Asofarma) por vía vaginal a razón de 200 mg., cada 8 horas a partir del día 12 del ciclo en que se suspende el agonista y se continuó junto con la dosis de 17 β estradiol (Primogyn ®) de 6 u 8 mg/día, según el esquema descrito anteriormente.

Los embriones fueron desvitrificados y transferidos de acuerdo a su día de desarrollo; transfiriéndose entre el 4to. y 6to. día de suplementación con progesterona si fueron vitrificados en día 3 de desarrollo embrionario o en etapa de blastocito respectivamente. La transferencia se hizo guiada por ultrasonido endovaginal.

SEGUIMIENTO

La fracción β hCG se cuantificó 14 días después de la TE, en caso de resultar la prueba positiva, se continuó con la suplementación de estradiol y progesterona hasta evidenciar la presencia de saco gestacional con embrión con latido cardíaco en su interior, o sea, un embarazo clínico intrauterino.

Se consideró embarazo viable aquél que superó las 28 semanas de gestación.

La tasa de implantación se calculó con la relación del número de sacos gestacionales observados por ultrasonido entre el número de embriones transferidos.

La tasa de embarazo clínico se definió como el porcentaje de pacientes a quienes se les comprobó saco gestacional intrauterino y embrión con latido cardiaco presente en su interior confirmado por ultrasonido entre el número de pacientes a quienes se les realizó transferencia embrionaria (TE).

La tasa de nacidos vivos se calculó con la relación del número de pacientes que tuvieron un recién nacido vivo viable (28 SDG) entre el número de pacientes a quienes se les realizó TE.

La tasa de aborto espontáneo se obtuvo con la relación del número de embarazos intrauterinos perdidos hasta la semana 20 de gestación entre el número de pacientes a quienes se les realizó TE.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La información se recolectó mediante una ficha prediseñada del expediente clínico y se transpoló a una base de datos y fue analizada con el programa estadístico SPSS versión 22, se expresó en media \pm desviación standard, se calculó X^2 con Grado de Libertad (GL) y p .

RESULTADOS

En el presente estudio se analizan 213 ciclos de Transferencia de embriones desvitrificados realizados en 208 pacientes; de estos ciclos 205 se realizaron con embriones vitrificados y 8 ciclos fueron con ovocitos vitrificados que se fertilizaron para realizar la posterior transferencia.

El promedio de edad de las pacientes fue de 33.4 ± 3.5 años; teniendo el 46.5% de ellas de 30 a 35 años de edad y el 42.5% más de 35 años. La edad de la pareja tuvo una media de 36.3 ± 5.1 años.

El 53.3% de las pacientes tuvo IMC de 25.4 ± 0.66 Kg/m², seguido del 36.6% con sobrepeso. El tiempo de infertilidad fue 6.2 ± 3.8 años en el 59.2% de las pacientes y el 52.1% de ellas tenía infertilidad secundaria. La principal causa de infertilidad fue debido al factor tubo peritoneal en el 38.5% de las pacientes, seguido por las de etiología mixta en un 36.5% de ellas. (Tabla 1)

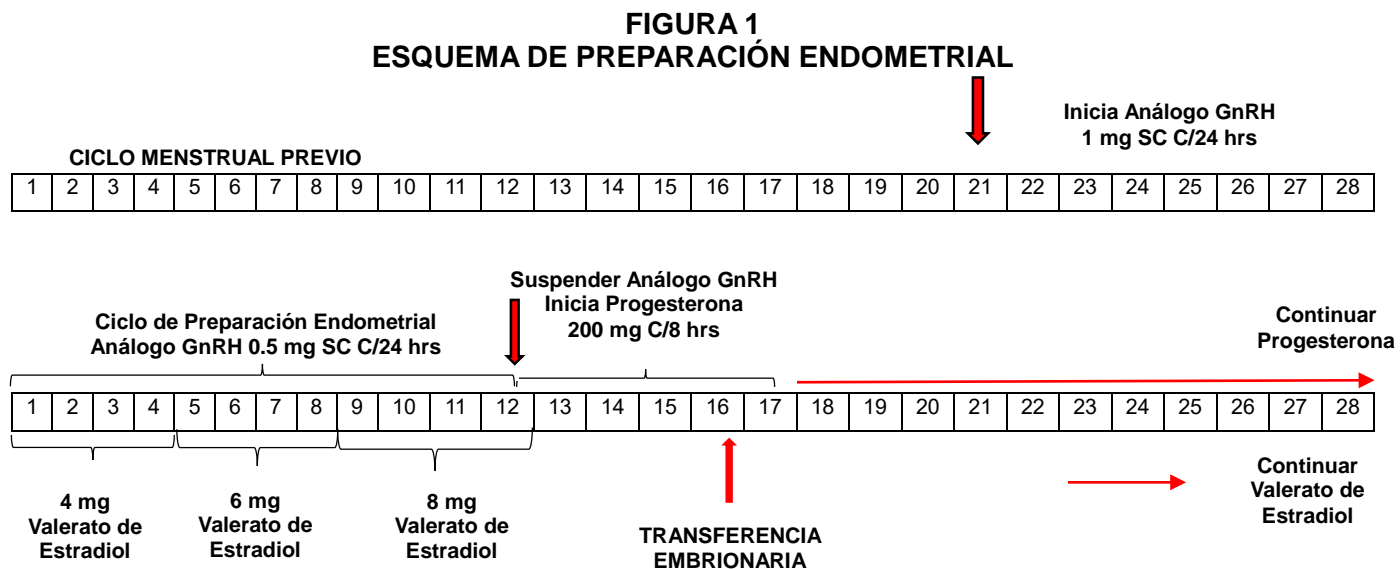
TABLA 1
CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS PREDOMINANTES DE LAS PACIENTES ESTUDIADAS

CARACTERÍSTICA	ESCALA	VALOR %
Edad	<30 años	11
	30 a 35 años	46.5
	≥ 35 años	42.5
IMC	≤25	53.3
	≥ 26	36.6
	≥ 30	10.1
Tiempo de Infertilidad	< 3 años	26.3
	3 a 10 años	59.2
	>10 años	16.6
Tipo de Infertilidad	Primaria	47.9
	Secundaria	52.1
Causa de Infertilidad	Tubo peritoneal	38.5
	Mixta	36.5
	FEO	19.7
	FU	2.8
	FM	2.4

En lo que al esquema de preparación endometrial se refiere, el 82.6% (N= 176) recibió más de 12 días de suplementación de 17 β -estradiol previo a la TE, utilizando el 93.9% (N= 200) de las pacientes la vía oral únicamente y el resto la combinación de vía oral y transdérmica.

En cuanto a la dosis de suplementación de 17 β estradiol, el 97.2% (N=207) ocupó una dosis de 72 mg (en esquema ascendente de 4/6/8 mg) para la preparación endometrial. El 98.1% (209 ciclos) se sometieron a un protocolo largo de agonista de GnRH. Respecto a la suplementación con Progesterona el 96.7% (206 ciclos) usaron una dosis de 600 mg/día.

El 74.6% (159 ciclos) recibieron más de 4 días de suplementación con Progesterona previo a la TE y el 25.4% (54 ciclos) recibió \leq 4 días de suplementación con Progesterona. (Figura 1)



A todas las pacientes se les realizó cuantificación del nivel de estradiol durante la fase de suplementación previa a la TE, siendo la media de éste entre el día 5 a 7 del ciclo de

295.1 ± 141.9 pg/dl, en el día 9 de 383.8 ± 219.6 pg/dl y en el día 12 de 507.3 ± 216.2 pg/dl. (Tabla 2)

TABLA 2
NIVEL DE ESTRADIOL DURANTE LA FASE DE PREPARACIÓN ENDOMETRIAL

DÍA DE CUANTIFICACIÓN	NIVEL DE ESTRADIOL (PG/DL)
Día 5 a 7	295.1 ± 141.9
Día 9	383.8 ± 219.6
Día 12	507.2 ± 216.2

El 70.4% (N=150) de las TE se realizaron entre el día 15 y 16 del ciclo de preparación endometrial y el 29.6% (N=63) se realizó a partir del día 17.

En cuanto al número de embriones transferidos, en 127 ciclos (59.6%) se transfirieron 2 embriones, seguido de 71 ciclos (33.3%) donde se transfirieron 3 embriones. Respecto a la calidad embrionaria, de los embriones transferidos, en el 64.8% de los ciclos (N=138) fueron embriones calidad tipo II y en el 17.4% (N=37) calidad tipo III. Al momento de ser transferidos los embriones, el 86.4% (N=184) de éstos estaban en día 3 de desarrollo embrionario. (Tabla 3)

TABLA 3
CARACTERIZACIÓN DE LAS TRANSFERENCIAS EMBRIONARIAS

CARACTERÍSTICA	ESCALA	VALOR %
Días de suplementación con Progesterona previo a la TE	≤ 4 Días	76.4
	≥ 4 Días	25.6
Número de Embriones Transferidos	1 Embrión	7.1
	2 Embriones	59.6
	3 Embriones	33.3
Calidad Embrionaria	Calidad 1	1.4
	Calidad 2	64.8
	Calidad 3	17.4
	Calidad Mixta 1 y 2	6.6
	Calidad Mixta 2 y 3	9.9
Día de Desarrollo Embrionario	Día 3	86.4
	Día 5	13.6

La fracción β hCG fue positiva en el 16% de los ciclos transferidos. La tasa de implantación fue 19.7% y la de embarazo clínico de 12.2%. El embarazo viable se alcanzó en el 10.3% y la tasa de aborto fue 3.4%.

En cuanto a la tasa de embarazo clínico de acuerdo al esquema de suplementación de 17 β Estradiol, ésta fue de 16.6 y 12.0 % respectivamente en el esquema de 72 mg (en esquema de 4, 6, 8 mg/día) y 48 mg (en esquema de 2, 4, 8 mg/día), $p=0.73$

La tasa de embarazo clínico de acuerdo a la dosis diaria de suplementación con Progesterona fue de 11.6 y 28.5% en las pacientes suplementadas con 600 y 400 mg/día respectivamente, $p=0.17$

En lo que respecta a la vía de administración del 17 β estradiol; la tasa de embarazo clínico en las pacientes que recibieron sólo vía oral y las que recibieron vía oral y transdérmica fueron de 12 y 15.3 % respectivamente, $p=0.71$

Aquellas pacientes que usaron suplementación de progesterona más de 4 días previo a la transferencia embrionaria, alcanzaron una tasa de embarazo clínico de 13.5% mientras que la tasa de embarazo en las pacientes que usaron menos de 4 días de suplementación fue de 7.8, $p=0.27$

Durante el día 12 de preparación endometrial se cuantifico el nivel sérico de estradiol, en aquellas pacientes que alcanzaron un nivel mayor de 400 pg/dl alcanzaron una tasa de embarazo clínico del 13.17%, p=0.73

De acuerdo al grosor endometrial el día de inicio de la suplementación con Progesterona, la tasa de embarazo clínico fue de 12.1 vs. 12.5% en las pacientes con grosor ≥ 8 mm., vs. < 8 mm., p=0.96

En lo que se refiere a la calidad embrionaria, las mejores tasas de embarazo clínico se lograron con la transferencia de embriones calidad II (15.8%) y con la transferencia de embriones mixtos calidad I y II (8.3%) (Tabla 4).

Finalmente, respecto al día de desarrollo embrionario, con la transferencia de embriones en día 5 de desarrollo (blastocisto) se logró una tasa de embarazo clínico de 26.6 vs. 9.8% con la transferencia de embriones en día 3 de desarrollo, logrando significancia estadística, p=0.009

TABLA 4
CARACTERIZACIÓN DEL EMBARAZO CLÍNICO

NIVEL SÉRICO DE ESTRADIOL	TASA DE EMBARAZO CLÍNICO	P
Menor o igual de 400 pg/dl	15.0	0.735
Mayor de 400 pg/dl	13.17	
CALIDAD EMBRIONARIA	TASA DE EMBARAZO CLÍNICO	P
Calidad II	15.8	2.779
Calidad Mixta I - II	8.3	
DÍA DE DESARROLLO EMBRIONARIO	TASA DE EMBARAZO CLÍNICO	P
Día 3	9.8	0.009*
Día 5	26.6	

* VALOR P ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVO: < 0.05

DISCUSIÓN

En el presente estudio se analizó la experiencia institucional en el INPER, con transferencias de embriones desvitrificados. Se incluyeron 213 ciclos, de éstos 208 ciclos fueron con embriones desvitrificados y 8 ciclos fueron con ovocitos desvitrificados, los cuales se descongelaron y se fertilizaron para su posterior transferencia. De éstos ciclos el 96.4% fueron producto de embriones que fueron destinados a vitrificarse ya que quedaron como excedentes de un ciclo de transferencia embrionaria en fresco, donde generalmente se transfieren 2 embriones y si la paciente tuvo un mayor número de embriones que lograron progresar, éstos se vitrificaron y quedaron almacenados en sus respectivos tanques; cabe señalar que el 4.6% de los ciclos correspondió a aquellas pacientes que ingresaron a FIV y los embriones no se pudieron transferir en fresco por diversas condiciones médicas como: SHO, elevación sérica de Progesterona el día del disparo (≥ 2 ng/dl) y/o alteraciones a nivel de la calidad endometrial como líquido en cavidad endometrial o distorsiones de la misma por miomas o pólipos.

Lo antes expuesto se hace con la finalidad de aclarar que esta experiencia institucional dista mucho de lo que se hace en la actualidad en diversos centros de Reproducción asistida conocido como “congelar todo”, esta técnica consiste en realizar una estimulación ovárica controlada, individualizando el protocolo para cada paciente, una vez realizada la captura ovular, se hace la fertilización in vitro y se congelan todos los embriones para ser transferidos en un futuro ciclo de preparación endometrial y de forma selectiva, es decir, se puede transferir un solo embrión siendo éste el que tenga la mejor calidad. Esta técnica tiene como objetivo transferir embriones en un microambiente libre

del efecto nocivo de los altos niveles de estradiol que se producen en los ciclos en fresco y que pueden alterar la ventana de implantación entre otros.

De las técnicas de criopreservación, la vitrificación, ha venido a revolucionar los resultados de los ciclos con transferencia de embriones congelados, consiste en solidificar una sustancia por enfriamiento rápido, eso hace pasar de un estado líquido a un estado vítreo por elevación extrema de su viscosidad (de ahí su nombre de vitrificación); este proceso ocurre de forma rápida, evita la formación de cristales dentro de la blastómera, garantiza un menor daño al embrión y mejora la supervivencia al ser descongelados. Con la transferencia de embriones desvitrificados se obtienen otras ventajas como disminuir el SHO, reducir los embarazos múltiples, permite hacer una transferencia en otro ciclo de preparación endometrial cuando en un ciclo en fresco se obtuvo una mala respuesta endometrial (sangrado, pólipos, miomas), lo anterior hace aumentar las tasas de embarazos y reduce los costos (15)

El uso de análogos de GnRH es uno de los fármacos fundamentales en el protocolo de preparación endometrial para TE, tiene como objetivo producir desensibilización hipofisaria, evitando así la luteinización prematura; ha sido ampliamente utilizado por diversos autores de forma similar como se utilizó en el presente estudio, administrándose desde el día 21 de un ciclo menstrual previo a la preparación endometrial (16)

Para llevar a cabo la TE en los ciclos descritos, en todas las pacientes se realizó un protocolo de preparación endometrial, se utilizó Valerato de Estradiol (Primogyn) y el esquema que predominó la mayoría de los ciclos fue con una dosis de 72 mg (esquema

ascendente de 4/6/8 mg/día), este esquema ha sido ampliamente utilizado por otros autores para la preparación endometrial (15)

La suplementación de fase lútea es un paso fundamental previo a la TE, en el presente estudio se administró más de 4 días de suplementación con Progesterona micronizada previo a la TE, usando una dosis de 600 mg/día de forma similar al ensayo clínico realizado por Ferrer Molina (17)

Así mismo el nivel sérico de Estradiol que se cuantifica durante el protocolo de preparación endometrial juega un papel importante, es uno de los factores determinantes para el desarrollo del grosor endometrial y de la implantación embrionaria, algunos autores consideran que un nivel de estradiol por arriba de 200 pg/ml previo a la TE se asocia a una mayor tasa de embarazo clínico (18).

Se considera el grosor endometrial como uno de los factores determinantes para la implantación, en el presente estudio el grosor endometrial no obtuvo significancia estadística, sin embargo, esta característica ha sido un tema de controversia para muchos autores, en un ensayo clínico aleatorizado utilizaron un grosor endometrial como mínimo de 7 mm para realizar TE (17).

La calidad embrionaria es un factor determinante para el éxito de la Transferencia de embriones desvitrificados, en nuestro estudio predominó la transferencia de embriones calidad II, Gutiérrez Frusch y col. han transferido embriones de buena calidad, obteniendo tasas más elevadas de embarazos clínicos. (19)

Sin duda alguna el día de desarrollo embrionario es otra característica fundamental para aumentar las tasas de embarazos clínicos, en nuestro estudio esta variable fue estadísticamente significativa de igual forma esta característica resultó igual de significativa en el estudio realizado por González y cols. (20)

CONCLUSIONES

En el presente estudio se describió la experiencia de las Transferencias de embriones desvitrificados durante los últimos seis años; al parecer existen al menos 3 factores determinantes para lograr el éxito con dicha técnica de Reproducción Asistida, siendo estos: la calidad embrionaria, el día de desarrollo embrionario y el grosor endometrial, sin embargo se necesita un mayor número de ciclos para poder determinar la significancia estadísticas de los factores predictores para incrementar la tasa de nacidos vivos.

BIBLIOGRAFIA

1. Wong KM, Mastenbroek S, Repping S. Cryopreservation of human embryos and its contribution to in vitro fertilization success rates. *Fertility and sterility*. 2014; 102(1):19-26.
2. Blockeel C, Drakopoulos P, Santos-Ribeiro S, Polyzos NP, Tournaye H. A fresh look at the freeze-all protocol: a SWOT analysis. *Human reproduction*. 2016;31(3):491-7.
3. Roque M, Valle M, Guimaraes F, Sampaio M, Geber S. Freeze-all policy: fresh vs. frozen-thawed embryo transfer. *Fertility and sterility*. 2015; 103(5):1190-3.
4. García-Amador M, Chávez-Badiola A, Medina-Flores J, Montoya-Sarmiento J, Quiroz-Torres E, Martínez-Armas R, et al. Vitrificación en Cryotop: un método altamente eficaz para la criopreservación de ovocitos humanos. *Gaceta Mexicana de Oncología*. 2009;8(5):189-95.
5. Lazcano J, Maldonado I, López P, Dabbah J, Moreno D, Bermúdez A, et al. Estudio clínico comparativo. Resultado de la vitrificación y desvitrificación de embriones humanos con dos tipos de sistemas abiertos: Cryotop vs Cryolock. *Rev Mex Med Reprod*. 2010;2:79-83.
6. Roque M. Freeze-all policy: is it time for that? *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2015;32(2):171-6.

7. Dal Prato L, Borini A, Cattoli M, Bonu MA, Sciajno R, Flamigni C. Endometrial preparation for frozen-thawed embryo transfer with or without pretreatment with gonadotropin-releasing hormone agonist. *Fertility and sterility*. 2002;77(5):956-60.
8. Casper RF, Yanushpolsky EH. Optimal endometrial preparation for frozen embryo transfer cycles: window of implantation and progesterone support. *Fertility and sterility*. 2016;105(4):867-72.
9. Farhi J, Weissman A, Steinfeld Z, Shorer M, Nahum H, Levran D. Estradiol supplementation during the luteal phase may improve the pregnancy rate in patients undergoing in vitro fertilization-embryo transfer cycles. *Fertility and sterility*. 2000;73(4):761-6.
10. Connell MT, Szatkowski JM, Terry N, DeCherney AH, Propst AM, Hill MJ. Timing luteal support in assisted reproductive technology: a systematic review. *Fertility and sterility*. 2015;103(4):939-46 e3.
11. Hubayter ZR, Muasher SJ. Luteal supplementation in in vitro fertilization: more questions than answers. *Fertility and sterility*. 2008;89(4):749-58
12. Veeck LL. An atlas of human gametes and conceptuses: an illustrated reference for assisted reproductive technology: Taylor & Francis; 1999. Pags. 149-153.

13. Maheshwari A, Pandey S, Shetty A, Hamilton M, Bhattacharya S. Obstetric and perinatal outcomes in singleton pregnancies resulting from the transfer of frozen thawed versus fresh embryos generated through in vitro fertilization treatment: a systematic review and meta-analysis. *Fertility and sterility*. 2012;98(2):368-77 e1-9.
14. Veleva Z, Orava M, Nuojua-Huttunen S, Tapanainen JS, Martikainen H. Factors affecting the outcome of frozen-thawed embryo transfer. *Human reproduction*. 2013;28(9):2425-31.
15. Guzmán L, Pella R, Arguello B, Seminario J, Quispe J, Zúñiga C, et al. Criopreservación de embriones al tercer día de desarrollo IN VITRO. *Revista Peruana de Ginecología y Obstetricia*. 2015;54(2):117-20.
16. Remohí J, Bellver J, Domingo J, Bosch E, Pellicer A. Manual práctico de esterilidad y reproducción humana: aspectos prácticos. Capítulo 32; Donación de Ovocitos y Preparación endometrial de la receptora. 4ª. Edición. McGraw-Hill/Interamericana; 2012
17. Ferrer Molina P. Ensayo clínico, prospectivo, aleatorizado, comparativo, para determinar la eficacia y seguridad de dos protocolos para preparación endometrial en mujeres subsidiarias de transferencia de embriones. Universidad Autónoma de Barcelona, 2015, [cited July 20, 2016]; Available from: Networked Digital Library of Theses & Dissertations.

18. Kuwahara A, Fukushima C, Yano Y, Taniguchi Y, Hinokio K, Irahara M. Clinical value of serum estradiol and trans-vaginal ultrasonography for pregnancy outcomes in frozen-thawed embryo transfer in natural cycles. *Fertility and sterility*. 2013;100(3, Supplement):S496.

19. Gutiérrez Frusch J, Kably Ambe A, Roque Sánchez A. Comparación de la tasa de embarazo para embriones desvitrificados transferidos en ciclo natural vs ciclos de transferencia embrionaria con preparación endometrial [monograph on the Internet]. [place unknown]: 2015. [cited July 20, 2016]. Available from: TESIUNAM. Pags. 20-25.

20. González Berchermann L, Rosales de León J. Comparación entre las tasas de embarazo y embarazo clínico con transferencia de embriones vitrificados, según el grado de calidad embrionaria y la dosis de hiperestimulación ovárica controlada utilizada [monograph on the Internet]. [place unknown]: 2015. [cited July 20, 2016]. Available from: TESIUNAM. Pags 34-49.