

Reproducción

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

Volumen: 39 / Año 2025 / N°1



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

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

LIMA, NATACHA SALOMÉ - Lima, Natacha Salomé - Psci. - Mg. - PhD – Psicóloga orientada en Reproducción Humana y Fertilización Asistida SAMeR; Investigadora del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET); Docente de la Facultad de Psicología, Universidad de Buenos Aires.

BELTRAMONE, FERNANDO – MD - Médico Tocoginecólogo, especialista en Medicina Reproductiva y Cirugía videoasistida; Director Médico Centro Ovum, Córdoba.

BOTTI, GUSTAVO - MD – Médico Ginecólogo, especialista en Medicina Reproductiva, Ex Presidente de la Asociación de Obstetricia y Ginecología de Rosario (ASOGIR), Ex Presidente de la Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva (SAMeR), Integrante del Programa de Asistencia Reproductiva de Rosario (PROAR).

GELLER, MARISA – MD – Médica Ginecóloga y Obstetra, especialista en Medicina Reproductiva y Endocrinología Ginecológica, Docente Facultad de Medicina, Universidad Favaloro, Directora Médica In Vitro Buenos Aires.

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

MACHADO, CARMEN - MD - Médica Ginecóloga y Obstetra, especialista en Medicina Reproductiva, Centro CRECER Mar del Plata, Docente Salud Integral de la mujer, Universidad Nacional de Mar del Plata.

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

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

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

MOLINA, SONIA - MD - Médica especialista en Tocoginecología y Medicina Reproductiva, Jefe de Sección Medicina Reproductiva Hospital Rawson San Juan. Presidente de la Regional Cuyo SAMeR.

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

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

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

PESCE, ROMINA - MD - MSc - Médica Ginecóloga especialista en Medicina Reproductiva, Servicio de Ginecología Hospital Italiano de Buenos Aires (HIBA); Jefa de Sección Reproducción y Responsable Unidad Preservación de Fertilidad, HIBA; Docente Autorizada Obst/Ginecología, Universidad de Buenos Aires; Prof. Adjunta Ginecología, Instituto Universitario del Hospital Italiano de Buenos Aires;

Directora Fellowship en Medicina Reproductiva, (SAMeR sede HIBA); Miembro Comisión Directiva SAMeR.

SÍCARO, LAURA - MD - Médica especialista en Tocoginecología, Medicina Reproductiva, Endocrinología y Genética de la Reproducción, IFER; Coordinadora Departamento de Genética de la Reproducción, IFER; Docente adscrita de la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires.

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

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

Revisores

ÁLVAREZ SEDO, CRISTIAN - Lic. – PhD – Director Laboratorio de Embriología FERTILIA y Director Científico FERTILIA, Tucumán, Miembro Comisión Directiva SAMeR.

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

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

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

CERISOLA, VALERIA - MD – Médica especialista en Medicina Reproductiva. Asociada al Servicio de Ginecología del Hospital Italiano de Buenos Aires, Sección Reproducción-Patología Benigna-Cirugía Miniinvasiva; Docente del Curso Superior BIANUAL de Medicina Reproductiva, SAMeR.

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

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

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

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

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

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

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

MARTÍNEZ, GUSTAVO – Phd - Doctor En Ciencia Biológicas – UBA, especialista en Embriología Clínica – SAMeR – RedLaRA, Director del Laboratorio de Biología de la Reproducción de Fertilis, San Isidro, Profesor de la Universidad de Belgrano, Expresidente de SAMeR, Director del Comité de Acreditaciones SAMeR, Vicepresidente de la Red Latinoamericana de Reproducción Asistida.

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

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

PAZ, VALERIA – Lic – Bioquímica, Especialista en Embriología Clínica, SAMeR y RedLaRA. Technical supervisor in Embryology,

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

PABLETICH, FLORENCIA – MD - Médica Pediatra, especialista en Genética Médica, Miembro del equipo médico de CIGOR, Médica Staff del Servicio de Genética Médica del Hospital Privado Universitario de Córdoba.

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

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

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

ZEITLER, ELENA – MD - Médica de planta Hospital de Clínicas José de San Martín- Sección Fertilidad, Jefa de Trabajos Prácticos de Ginecología. Unidad Académica Clínicas, Universidad de Buenos Aires.

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

REVISTA ARGENTINA DE REPRODUCCIÓN

Instrumento de la comunicación científica

La Revista Argentina de Reproducción Humana tiene su debut en el año 1992, de la mano del Dr. Roberto Tozzini como presidente de la Sociedad Argentina de Medicina reproductiva. Su tiraje fue bianual en sus inicios, alcanzando desde el 2008, 4 números anuales. La última gestión editorial estuvo a cargo de la Dra. Silvia Ciarmatori y la Licenciada Alicia Pené, quienes fueron responsables de la revista hasta el primer número del corriente año.

A partir del 2020 nace la necesidad de reestructurar el perfil de la revista, renovando su contenido y aumentando los estándares de calidad con el propósito de su indexación. El objetivo será adaptarla a un formato más económico, sustentable y moderno, que estimule y promueva un nuevo vínculo con el lector. Se dejará atrás el formato papel para pasar a uno completamente digital y de libre acceso.

La revista contará con un 80% de artículos originales de alta calidad científica, disponibles en idioma español e inglés, con una periodicidad semestral. Su contenido estará dirigido al profesional de la salud relacionado a la Reproducción Humana, como así también a la comunidad científica en general.

El objetivo primordial de la Revista será difundir el conocimiento científico, a través de trabajos originales producto de investigación básica, investigación clínica, y revisiones bibliográficas que impacten en el área médica, biológica, psicológica y otras áreas afines a la fertilidad. La meta será posicionar a la Revista Argentina de Reproducción como un espacio de producción nacional e internacional, que promueva la convocatoria y participación de investigadores, como así también la cooperación científica interdisciplinaria, manteniendo siempre los estándares que reflejen la esencia de la Sociedad.

Índice

EDITORIAL	Del Destello Mental a la Realidad Científica: Neurociencia de la Creatividad en la Investigación <i>Sícaro L.</i>	8
INMUNOLOGÍA REPRODUCTIVA	Microambiente inmunológico asociado al ovario y su modulación durante el envejecimiento <i>Cattaneo A., Gallino L., Castagnola L., Schafir A., Materazzi L., Irigoyen M., Martínez G., Gnocchi D., Tessari L., Rodríguez Y., Grasso E., Gori MS., Ramhorst R.</i>	10
EMBRIOLOGÍA	Diferencia de embarazo entre embriones Euploides biopsiados en día 5 vs biopsiados en día 6 <i>Carbonaro M., Filocco L., Perez M., Calvo K., Brignardello C., Percivalle G., Mackey ME., Miechi H., Tozzini R., Morente C.</i>	24
EMBRIOLOGÍA	PGT-A de embriones criopreservados: ¿Compromete los resultados clínicos? <i>Scampoli N., Galindez N., Hovanyecz., Perfumo., Parolin., Ventura., Paz MV.</i>	31
EMBRIOLOGÍA	Primera experiencia argentina para validar el protocolo de vitrificación ultra-rápida en ovocitos humanos. <i>Meneghini MA., Marconetto A., Arenas G., Leocata F., Ahumada A.</i>	38
INFERTILIDAD	Comparación entre el uso de hCG vs hCG + acetato de triptorelina (DUAL TRIGGER) en pacientes normorrespondedoras <i>Miranda Maurín MC., Kunz MJ., Ganzer L., Fraustschi C., Lofredo M., García C., EstofánL.</i>	45
CIENCIAS SOCIALES Y HUMANAS EN REPRODUCCIÓN	Evaluación de la calidad de vida y satisfacción del tratamiento en pacientes con infertilidad <i>Schabelman G., Molina SV., Manini MF., Jaspe ME, MA Buteler.</i>	54

Del Destello Mental a la Realidad Científica: Neurociencia de la Creatividad en la Investigación

En el corazón de cada avance científico, antes de la técnica, el experimento o la publicación, hay algo intangible: una idea. Ese momento casi fugaz en que la mente, estimulada por una observación, una duda o una intuición, enciende una chispa que puede cambiar paradigmas. En esta edición de nuestra revista, queremos explorar no solo los resultados de este grupo de trabajos, sino el origen de la investigación: el proceso que convierte la curiosidad en conocimiento.

Desde la neurociencia sabemos que la generación de ideas involucra un complejo entramado de redes neuronales. La **red por defecto** activa durante la introspección, imaginación y divagación, juega un papel clave en la gestación creativa. Allí, el cerebro ensambla recuerdos, experiencias pasadas y conocimientos previos para generar nuevas conexiones. Este “caos ordenado” da paso a una idea incipiente. Es decir que “lo nuevo”, no es más que una asociación de “cosas viejas”, ya conocidas y que mutan gracias a una chispa creadora dándole un nuevo significado. A este nivel, el más básico del pensamiento creativo, se somete la vivencia y lo que tomamos del medio como materia prima para un nuevo modelo. Como la exposición al veneno de una araña para Spiderman, o una

tormenta de radiación cósmica para los 4 Fantásticos, las inquietudes de los que autores de estos trabajos, fueron el gatillo para generar ese superpoder, la creatividad. Y donde interviene, por ejemplo, la dopamina, como el martillo Mjolnir de Thor, la fuente de poder para la plasticidad neuronal, y la flexibilidad sináptica.

Pero la creatividad por sí sola no basta. Para que una idea se transforme en proyecto, entra en juego la **red ejecutiva central**, asociada con la planificación, toma de decisiones y regulación cognitiva. Es aquí donde la idea se somete a un proceso de validación interna: ¿es viable?, ¿es relevante?, ¿cómo se puede probar? En esta etapa, la emoción se alía con la lógica; el sistema límbico y la corteza prefrontal trabajan en conjunto para impulsar la motivación y sostener el esfuerzo. Como el lazo de la verdad de la Mujer Maravilla, necesitamos un sistema autenticador que nos ayude a concretar el proceso.

La ciencia, después de todo, no es sólo racionalidad. Es también perseverancia, intuición y pasión. El paso de una idea creativa a un protocolo experimental exige estructura, pero también valentía para explorar lo incierto, como nuestros superhéroes. En

el campo de la reproducción humana, donde la ética, la tecnología y la biología convergen, este proceso es especialmente exigente y revelador.

Hoy celebramos no solo los resultados, sino los procesos mentales que los hacen posibles. Cada artículo que

presentamos en esta edición comenzó como una chispa, una sinapsis, un valiente y desafiante “¿y si...?”. Quizás esta presentación mueva a nuestros lectores a desarrollar también, sus superpoderes de autor.

Md. Laura Sícaro
Editora asociada

Microambiente inmunológico asociado al ovario y su modulación durante el envejecimiento

Ovarian associated immune microenvironment and Its Modulation During Aging

Cattaneo A¹, Gallino L², Castagnola L², Schafir A², Materazzi L², Irigoyen M¹, Martínez G¹, Gnocchi D¹, Tessari L¹, Rodríguez Y¹, Grasso E², Gori MS² y Ramhorst R².

¹ FERTILIS Medicina Reproductiva, Buenos Aires, Argentina.

² Laboratorio de Inmunofarmacología, Instituto de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (IQUIBICEN) CONICET e Universidad de Buenos Aires, Argentina

RESUMEN

Durante mucho tiempo, la investigación en la biología ovárica se centró en el folículo, la unidad funcional del ovario. Sin embargo, evidencias científicas recientes indican la relevancia de la respuesta inmunológica en la modulación de la función ovárica. En este sentido, se ha propuesto el concepto de “Microambiente Inmunológico Reproductivo” que estudia el microambiente en tejidos asociados a la reproducción, tales como el espacio intersticial de los testículos, el estroma ovárico y el endometrio, y su relación con las células inmunes residentes en los mismos.

Particularmente, en el ovario, múltiples evidencias demuestran el rol clave de las células inmunes en la fisiología ovárica. Entre las células presentes, se encuentran los macrófagos, linfocitos T, células dendríticas, células NK y mastocitos, quienes aportan a la regulación inmune, la síntesis de estrógenos y la ovogénesis entre otros procesos. De estas poblaciones inmunes, los macrófagos son de especial interés ya que, por su capacidad de integrar

ABSTRACT

For a long time, ovarian research has been focused on the follicle, the functional unit of the ovary. However, recent scientific evidence remarks the relevance of the immune response in ovarian function. In this sense, it has been proposed the concept of “Reproductive Immune Microenvironment” that studies the microenvironment associated with reproductive tissues, such as testicular interstitial spaces, ovarian stroma and the endometrium, and its relationship with the resident immune cells.

Particularly in the ovary, multiple evidences prove the key role of the immune cells in the ovarian physiology. Among the present cells we can find macrophages, T cells, dendritic cells, NK cells and mastocytes, that contribute to the regulation of the immune response, estrogen synthesis and oogenesis among other processes. Of these populations, macrophages are of special interest since, due to their ability to integrate information from the nervous, immune and endocrine systems together with their functional

información de los sistemas nervioso, inmune y endocrino junto a su plasticidad funcional y capacidad de secreción de múltiples factores, están involucrados en prácticamente toda la fisiología del ovario. Otro concepto recientemente propuesto es el “inflammaging” que hace referencia a la inflamación asociada a la edad. Esta inflamación es sistémica, crónica y de bajo grado, asociada a un aumento de mediadores proinflamatorios, diferenciándose de la inflamación local aguda que caracteriza a las lesiones o infecciones por patógenos. Además de forma parte del proceso de envejecimiento normal, el inflammaging se lo ha asociado con diversas patologías. En el ovario, distintos reportes relacionan la respuesta inmune inflamatoria y la fibrosis características del envejecimiento ovárico al proceso de inflammaging. En esta actualización discutiremos estos nuevos conceptos del microambiente inmunológico reproductivo y el inflammaging y cómo repercuten en el envejecimiento ovárico afectando la calidad ovocitaria.

Palabras clave: Inmunomodulación, Microambiente inmune reproductivo, Inflammaging, Envejecimiento ovárico, Calidad ovocitaria.

plasticity and ability to secrete multiple factors, results in them being involved in practically all ovarian physiology.

Another concept that has recently been proposed is the Inflammaging, which refers to the inflammation associated to aging. This inflammation is systemic, chronic and low-grade associated with an increase in proinflammatory mediators, different from the local acute inflammation due to lesions and infections. Besides being part of the normal aging process, the inflammaging has been associated with different pathologies. In the ovaries, several reports relate the inflammatory response and fibrosis characteristic of ovarian aging with inflammaging.

In this work, we discuss these new concepts of reproductive immune microenvironment and inflammaging, and how they impact on ovarian aging as well as in oocyte quality.

Key words: Immunomodulation, Reproductive immune microenvironment, Inflammaging, Ovarian aging, Oocyte quality.

Una nueva mirada integrada del Microambiente Inmunológico Reproductivo

El abordaje del estudio compartimentalizado del útero y ovario ha permitido comprender la salud reproductiva, pero carece de una visión holística de la respuesta inmune en los órganos y tejidos reproductivos. Recientemente, se ha propuesto el concepto de “*Microambiente Inmunológico Reproductivo*” (RIM, por sus siglas en inglés), el cual resume características comunes y las funciones básicas del microambiente tisular en el que residen las células inmunes, incluido el espacio intersticial de los testículos, el estroma ovárico y el endometrio⁽¹⁾.

El establecimiento del concepto de RIM no solo se centra en la descripción completa de la respuesta inmune en los tejidos reproductivos, sino también proporciona una perspectiva macroscópica que permite una comprensión más profunda de su impacto en el sistema reproductivo.

En este artículo, realizaremos una actualización de la información asociada al microambiente inmunológico ovárico y cómo cambia durante el envejecimiento afectando la calidad ovocitaria.

Microambiente inmunológico asociado al ovario

El ovario es un órgano que tiene como principal función la de generar, almacenar, desarrollar y liberar los oocitos, formados durante la vida fetal, como gametas competentes para ser fecundadas y permitir el desarrollo embrionario (función gametogénica). Es, además, el principal portador de las células secretoras de hormonas femeninas generando un ambiente propicio para la implantación y desarrollo del cigoto (función endócrina)⁽²⁾.

Durante mucho tiempo, la investigación

en la biología ovárica se ha centrado en cómo se forma el folículo, la unidad funcional del ovario; pero recientemente evidencias científicas indican la relevancia de la respuesta inmunológica en la modulación de la función ovárica abriendo una nueva frontera en investigación⁽²⁾. Comprender cómo operan estos mecanismos complejos en el ovario, permitirá entender procesos fisiológicos asociados a la disminución de la calidad ovocitaria y al envejecimiento ovárico.

En ese sentido, resulta clave estudiar la interacción entre las distintas poblaciones celulares y las células inmunes de origen hematopoyético. El ovario se divide en una zona cortical que comprende al estroma ovárico (formado por tejido conectivo laxo, fibroblastos y precursores de células tecaes, folículos en distintos estadios de maduración, atrésicos y cuerpos lúteos) y la zona medular que se encuentra muy vascularizada e inervada y contiene células de tipo muscular y tejido conectivo laxo⁽²⁾. En este contexto, pueden encontrarse células del sistema inmune residentes y aquellas que serán reclutadas desde los vasos hacia los folículos.

Las células inmunes juegan un papel clave en la fisiología ovárica contribuyendo a través de múltiples funciones, aportando a la ovogénesis, la síntesis de estrógenos y la presentación de antígenos^(2,3).

Ya hace casi 3 décadas que se propuso que el proceso de ovulación se asocia a una respuesta inflamatoria, dado que los folículos ovulatorios tienen muchas características similares a las del tejido inflamado⁽⁴⁾. A lo largo de estos años, fue creciendo el número de evidencias sobre el rol central que cumplen las células inmunes no solo en la generación de esta respuesta fisiológica inflamatoria asociada a la ovulación, sino también en la regulación de la misma⁽⁵⁾.

A su vez, el fluido folicular no solo representa el microambiente del ovocito, sino que se asocia a la calidad del mismo⁽⁶⁾. Por lo tanto, la caracterización de células inmunes recuperadas de los fluidos foliculares de pacientes que responden a la estimulación ovárica constituye un abordaje muy representativo de los cambios del microambiente ovárico asociados a distintas patologías y al envejecimiento.

Al respecto, las células inmunes presentes en el ovario son mayoritariamente macrófagos, neutrófilos y linfocitos T dispersos por el estroma ovárico quiescente. En menor frecuencia, se encuentran células *natural killer* (NK) y mastocitos^(2,7).

En este contexto, los macrófagos, en su papel de “centinelas” residentes, integran información proveniente de los sistemas nervioso, inmune y endócrino, respondiendo rápidamente a dichos estímulos, modificando sus funciones y secreción de citoquinas^(8,9). Dada la relevancia de los mismos, describiremos su contribución a la función ovárica a lo largo del trabajo.

A esta población de células inmunes se suman los mastocitos, localizados en el hilio del ovario y representando la principal fuente de histamina ovárica, un mediador importante en el proceso de desarrollo del folículo y en la ovulación⁽⁷⁾.

Con respecto a las células NK, la subpoblación descrita es la caracterizada por la expresión del marcador CD56 y la falta de expresión CD16 (CD56+CD16-) la cual presenta funciones pro angiogénicas, principalmente a través de la producción del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF)⁽¹⁰⁾.

En cuanto a las células dendríticas (CD), algunos trabajos reportan su presencia en los fluidos foliculares⁽¹¹⁻¹³⁾. Aunque se necesitan más evidencias y estudios funcionales para conocer el rol que cumplen allí, su

maduración se correlaciona positivamente con la respuesta ovárica a gonadotropinas, lo que sugiere que están relacionadas con la ovulación⁽¹¹⁾.

Por otra parte, los linfocitos T corresponden a otra población inmune relevante en el ovario. Particularmente los linfocitos T regulatorios (Tregs) CD4+Foxp3+ controlan la actividad de los linfocitos T activados para prevenir la regresión lútea prematura⁽²⁾. Asimismo, se ha demostrado en casos de insuficiencia ovárica prematura la importancia de este grupo celular para mejorar la secreción de hormonas ováricas y también contribuir al desarrollo normal de los folículos^(14,15).

Relevancia de los macrófagos en el microambiente ovárico

Los macrófagos (MA) son las células inmunes mayoritarias en el ovario y desempeñan múltiples funciones asociadas al crecimiento del folículo, ovulación, atresia, formación y regresión del cuerpo lúteo^(16,17).

En otras palabras, la función ovárica depende de las diversas actividades de los MA, incluida la fagocitosis durante la atresia y la luteólisis, la disolución de la matriz y la remodelación del tejido durante la ovulación y en la formación del cuerpo lúteo^(18,19). Un punto clave se centra en la capacidad de los MA de secretar factores de crecimiento y citoquinas durante el crecimiento folicular. En ese sentido, la función paracrina a través de la producción de citoquinas y factores de crecimiento, como el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF), VEGF y el factor de crecimiento transformante (TGF) α y β participan en la regulación de los folículos primordiales⁽²⁰⁾. Estos factores de crecimiento también son producidos por

otras células del ovario, como las células de la granulosa y las células de la teca, justamente, es por ello que la relevancia de los MA ha sido relegada durante mucho tiempo⁽²⁰⁾.

Sin embargo, los MA son células de linaje hematopoyético especializados en producir un abanico de mediadores en altas concentraciones, a diferencia del resto de las subpoblaciones celulares presentes en el ovario.

Sumado a su capacidad de producir diversos mediadores, los MA también presentan la capacidad de producir y secretar vesículas extracelulares (VEs)⁽²¹⁾. Las VEs son vesículas de tamaño nanométrico con una bicapa lipídica y representan un medio de comunicación intercelular ya que transportan proteínas, lípidos o ARN específicos. Dado que el contenido depende de cada célula y a su vez cambia según el contexto fisiológico o patológico, presentan diferente bioinformación y ejercen diversas funciones en la homeostasis del tejido⁽²²⁾.

Dada la gran capacidad de producir distintos mediadores según el contexto, los MA presentan una gran plasticidad dando origen a subpoblaciones con funciones características como aquellos que participan en las respuestas inmunes de defensa, los reparadores tisulares asociados a los procesos de cicatrización y los que regulan la respuesta inmune⁽⁹⁾. Más aún, estos perfiles se funden entre sí para dar origen a poblaciones con características intermedias⁽⁹⁾. Los más estudiados en el contexto ovárico refiere a los denominados M1 como activados en perfil inflamatorio y los M2 como activados en perfil anti inflamatorio o regulador^(23,6).

Resultados obtenidos en modelos murinos revelaron que los MA ováricos tienen un perfil similar a los MA inflamatorios

(denominados M1, caracterizados por la expresión de CD11c+), mientras que los MA anti inflamatorios (denominados M2, caracterizados por la expresión de CD206+) están involucrados en la foliculogénesis^(24,25).

Relevancia de los macrófagos en la foliculogénesis

Las mujeres nacen con un número finito de folículos primordiales. Estos folículos se conservan en estado latente y se consumen progresivamente con el avance de la edad⁽²⁶⁾. Aunque la fecundidad femenina alcanza su punto máximo aproximadamente a los 25 años, sorprendentemente, la disminución de la misma comienza a los 30 años. Durante este período, el número de folículos cae desde 130.000 a los 25 años a sólo 30.000 a la edad de 35 años y el agotamiento de los folículos ocurre en la menopausia (~51 años de edad) cuando quedan menos de 1000 folículos⁽²⁷⁾. (*Ver detalle de la foliculogénesis en el recuadro 1*)

Durante mucho tiempo, se ha aceptado que la activación de los folículos primordiales es independiente de las gonadotropinas y que la transición de primordial a primario está regulada principalmente por factores regulatorios presentes en el entorno circundante⁽²⁸⁾. Hasta ahora, no está claro por qué sólo una pequeña cantidad de folículos primordiales son reclutados en el folículo en crecimiento mientras que la mayoría de los folículos permanecen inactivos durante décadas.

La activación de los folículos primordiales no es aleatoria; más bien, requiere los esfuerzos coordinados de factores de crecimiento y citoquinas que actúan de manera autocrina o paracrina. En ese sentido, recientemente, el grupo de Xiao et al. demostró un aumento gradual en el

reclutamiento selectivo de MA en cada folículo en cada ciclo menstrual⁽²⁹⁾.

En el modelo murino, determinaron que la infiltración local de MA inflamatorios media la activación del folículo primordial circundante. Básicamente, los MA activados en un perfil M1 activan los folículos, mientras que los diferenciados a un perfil anti-inflamatorio o M2 mantienen a los folículos primordiales en un estado latente. Además, al explorar la regulación diferencial de la activación del folículo primordial, evidenciaron que los MA producen distintas VEs, de acuerdo a su perfil de diferenciación, que modulan el microambiente ovárico⁽²⁹⁾.

La respuesta inflamatoria fisiológica asociada a la ovulación

Durante la ovulación, el aumento de la hormona luteinizante (LH) viene acompañado de una afluencia de leucocitos en el ovario preovulatorio promoviendo la llegada de MA y la respuesta inflamatoria. Los eventos secuenciales durante la ovulación están restringidos espacialmente al microambiente inflamatorio específico dentro del folículo o compartimentos intersticiales circundantes, lo que permite la expulsión exitosa del complejo cúmulo-ovocito del folículo roto⁽³⁰⁾.

En ese sentido, los MA de tipo M1 contribuyen con la producción de citoquinas inflamatorias, como la IL-1 β y el TNF α , permitiendo la ruptura del folículo y la liberación del ovocito maduro⁽³¹⁾. Es interesante destacar que esta respuesta inflamatoria asociada a la ovulación es estéril, ósea que no depende de la presencia de microorganismos.

Más aún, el TNF- α secretado por MA ováricos y por las células de la granulosa-lútea también contribuye con la síntesis de progesterona⁽³²⁾. Sin embargo, los

experimentos realizados en el modelo animal murino han demostrado que un alto nivel de TNF- α puede reducir el número de folículos primarios u ovocitos al inducir apoptosis celular⁽³³⁾.

De lo expuesto, se desprende que la desregulación de la respuesta inmune en el ovario afecta negativamente la ovulación, lo que conduce a una disfunción ovárica e infertilidad⁽³⁴⁾. En ese sentido, patologías ováricas, incluido el síndrome de ovario poliquístico y la endometriosis, a menudo se asocian con niveles más altos de citoquinas inflamatorias foliculares y séricas, lo que sugiere la presencia de inflamación de bajo grado⁽³⁵⁾.

Estudios realizados en ratones transgénicos, que permiten selectivamente depletar in vivo a los MA activados en un perfil inflamatorio, resultaron en el aumento de atresia, indicando la relevancia de los mismos al momento de la ovulación⁽³⁶⁾.

De este modo, el proceso ovulatorio, que ocurre en los folículos maduros, sería similar a una herida y asociado con una respuesta inflamatoria que termina con la ruptura de la pared folicular y expulsión del ovocito.

Microambiente inmunológico en ovarios envejecidos: “inflammaging”

Recientemente ha comenzado a estudiarse cómo se modula la respuesta inflamatoria durante el envejecimiento y cómo varían las poblaciones de células inmunes y sus perfiles inmunológicos, impactando en el microambiente ovárico. En los últimos años se ha propuesto el concepto de “*inflammaging*” para representar la inflamación asociada a la edad, la cual es sistémica, crónica y de bajo grado asociada con un aumento de mediadores proinflamatorios, distinta a la inflamación aguda que caracteriza a las lesiones o patógenos⁽³⁷⁻³⁹⁾.

Durante este proceso de envejecimiento, las células presentan un metabolismo activo pero alterado, asociado a cambios en la expresión de mediadores. De este modo, secretan una gran variedad de citoquinas proinflamatorias, quimioquinas y metaloproteasas de matriz extracelular. Estos mediadores median la comunicación de células con el microambiente circundante y facilitan el acceso de las células inmunes⁽⁴⁰⁾.

El “*inflammaging*” o envejecimiento inflamatorio, no es sólo un sello distintivo del proceso de envejecimiento normal, sino también se lo ha asociado con diversas patologías relacionadas con la edad donde, de acuerdo con estudios previos, se demostró el aumento de factores proinflamatorios⁽⁴¹⁾. En ese sentido, el grupo de la Dra. Duncan estudió mujeres entre 27,7-44,8 años de edad e identificó un perfil de citoquinas particular en el fluido folicular asociado al envejecimiento. La producción de este perfil característico (IL-3, IL-7, IL-15, TGFβ1, TGFβ3 y MIP-1) aumentó con la edad cronológica y a su vez se correlacionó inversamente con los niveles de hormona antimülleriana⁽⁶⁾.

A su vez, la inflamación también juega un papel fundamental en la fibrosis. Por ejemplo, las principales citoquinas proinflamatorias como la IL-1β, IL-6 y TNF-α tienen funciones profibróticas y esto lleva a la remodelación tisular y vascular que caracteriza al ovario envejecido⁽⁴²⁾. Cabe aclarar que la “fibroinflamación” debida al aumento de citoquinas inflamatorias no solo se asocia al envejecimiento ovárico, sino que es una característica del envejecimiento de los tejidos en general. Asimismo, se ha propuesto que el perfil de citoquinas fibroinflamatorias detectadas en el fluido folicular puede tener valor predictivo para los tratamientos de repro-

ducción asistida⁽⁶⁾. En conjunto, el ovario envejecido representa un cambio drástico del entorno tisular junto con niveles significativamente bajos de estrógeno y un número muy reducido de folículos.

Especialmente en el ovario no solo se ha reportado un aumento de fibroinflamación, sino también la presencia de células gigantes llamadas macrófagos espumosos (ME) o “*foamy*” debido a su apariencia, ya que poseen el citoplasma colmado de gotas lipídicas^(20,43). Durante la fase lútea, los fagocitos profesionales se encargan de sacar de circulación las células lúteas dañadas y células foliculares apoptóticas. Este proceso es fundamental para la homeostasis tisular, pero cuando estos mecanismos fallan, por ejemplo en ovarios envejecidos, se asocia al aumento de la frecuencia de ME que acompañan a la fibrosis ovárica⁽⁴³⁾.

Profundizando en cómo los MA se diferencian a ME, se evidencia una desregulación en el equilibrio entre la afluencia y la salida de partículas de lipoproteínas de baja densidad (LDL) del suero⁽⁴⁴⁾. A su vez, el factor de transcripción PPARγ (del inglés *Peroxisome Proliferator Activated Receptor γ*) interviene en el control del metabolismo, en procesos inflamatorios y en la función endotelial. Así, PPARγ regula la expresión del receptor eliminador de LDL y del transportador de membrana ABCA1 que lleva al flujo de colesterol del interior celular⁽⁴⁴⁾.

Uno de los posibles mecanismos de formación de los ME es la fagocitosis crónica de cuerpos apoptóticos. Recientemente se ha demostrado, en un modelo murino, que la fagocitosis de perlas de látex (simulando cuerpos apoptóticos) y de lípidos endógenos (derivados de las membranas de las células muertas) durante tiempos prolongados y en contexto inflamatorio,

permanecen intracelularmente como sustancias no digeribles, generando ME⁽⁴⁵⁾. Es por ello que la acumulación de lípidos en los MA en un perfil inflamatorio se asocia a procesos crónicos. Más aún, los ME secretan citoquinas proinflamatorias (IL-1 α , IL-6 y TNF- α), generando un circuito de retroalimentación positiva de la respuesta inflamatoria y su cronicidad. Por lo tanto, la esferocitosis se presentaría como un arma de doble filo ya que, si bien es crucial para la homeostasis del tejido y la resolución de la inflamación, cuando se encuentra exacerbada perpetúa la acumulación de sustancias que pueden contribuir a una condición patológica. (Ver Figura 1)

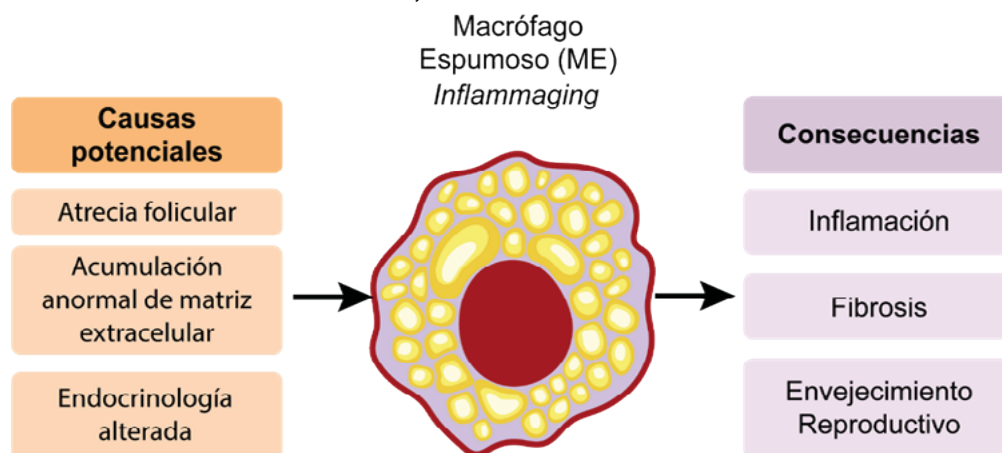
Potencial relevancia de los macrófagos espumosos en el envejecimiento ovárico.

De lo expuesto se desprende que la terapia antiinflamatoria puede ser una opción para revertir los efectos secundarios de la enfermedad crónica. En ese sentido, recientemente se ha reportado que la inyección de VEs derivadas de macrófagos antiinflamatorios por vía intravenosa en ratones de edad avanzada genera una

recuperación de las funciones ováricas con aumento de la fertilidad y mejora la calidad de los ovocitos⁽²⁹⁾. Además, se observó una transición de la función ovárica acompañada de disminución de la inflamación asociada a una menor expresión de citoquinas proinflamatorias⁽²⁹⁾.

Finalmente, evidencias recientes indican en el modelo murino que los MA residentes ováricos son distintos a aquellos que derivan de monocitos reclutados desde la sangre. En términos generales, los MA residentes en los tejidos pueden proliferar localmente perpetuándose a lo largo del tiempo⁽⁴⁶⁾. Se propone un agotamiento de los MA locales residentes ováricos con la edad reproductiva avanzada, que serían reemplazados por MA derivados de monocitos que se reclutan desde la sangre⁽⁴⁷⁾. Sin embargo, cuando los monocitos llegan al ovario y se encuentran con un microambiente inflamatorio, repueblan el ovario diferenciándose en un perfil M1 y, así, favoreciendo aún más la respuesta inflamatoria⁽³¹⁾. Se necesitarán estudios futuros que examinen el impacto del cambio de la población de MA teniendo en cuenta diferentes aspectos de sus funciones y

Figura 1. Potencial relevancia de los macrófagos espumosos en el envejecimiento ovárico y sus consecuencias.



metabolismo a fin de esclarecer la relevancia de este cambio en el envejecimiento ovárico.

Maternidad diferida y envejecimiento ovárico: situación actual en Argentina

El ovario sufre importantes cambios a medida que avanza la edad de la mujer, que especialmente afectan a la foliculogénesis. Luego de repetidos ciclos de reclutamiento folicular, atresia u ovulación, la tasa de atresia folicular aumenta y la de crecimiento disminuye, lo que caracteriza a un ovario envejecido, hasta que se agota la reserva folicular, señalando el inicio de la senescencia reproductiva. Por lo tanto, a medida que avanza la edad de la mujer, la cantidad y calidad de sus ovocitos disminuye, contribuyendo de esta manera a una mayor incidencia de la infertilidad.

Según las proyecciones mundiales de las Naciones Unidas (2019) el nivel de fecundidad en Argentina se encuentra por debajo del promedio mundial, pero por encima del promedio regional. Particularmente en el quinquenio 2015-2020, la Tasa Global de Fecundidad fue de 2,5 hijos por mujer a nivel mundial; de 2,0 para Latinoamérica y el Caribe y de 1,9 para América del Sur^(48,49). En el 2020 y, de acuerdo a los pronósticos, la tasa global de fecundidad se ubicó en 2,18 en el país y en 1,2 en CABA⁽⁴⁸⁾.

El fenómeno de postergación de la maternidad en nuestro país viene ocurriendo hace varios años: mientras en 2001 el 32% de los nacimientos eran de mujeres de 30 años o más; en 2015, casi la mitad de las mujeres residentes de la CABA tuvo hijos entre los 30 y los 39 años⁽⁵⁰⁾. Además, en 2015 ya se observaba una duplicación en la cantidad de mujeres que tuvieron hijos entre los 40 y 44 años⁽⁵⁰⁾.

Otro punto relevante es la edad en que

la mujer consulta por la preservación de la fertilidad. Según distintos informes, la edad promedio de criopreservación de ovocitos se presenta entre los 36 y los 38 años, es decir, que, cuando se informa del procedimiento, la mujer ya presenta un deterioro en la calidad ovárica disminuyendo las chances de lograr un embarazo a término^(51,52).

Con la sanción de la ley 26.862 se garantizó el acceso integral a los procedimientos y técnicas médico-asistenciales de reproducción médicamente asistida para toda persona mayor de edad, lo cual devino en un incremento significativo de la cantidad de ciclos de fertilización llevados a cabo en el país. Según datos de la Red LARA, mientras que hace 20 años la mitad de las mujeres que accedía a estas técnicas era menor de 34 años, en 2018 casi un 75% de las mujeres tenía más de 35, con una considerable proporción de mayores de 40 años⁽⁵²⁾.

En ese sentido, la disminución en el número y calidad de los ovocitos que presenta la mujer al momento de ser evaluada es determinante para lograr un embarazo a término. La tasa de recién nacidos vivos con óvulos propios ronda el 40% en mujeres de 30 años, a partir de los 35 años disminuye llegando al 17,6% de éxito a los 40 años y solo un 7% después de los 43 años⁽⁵²⁾. Esta disminución no se observa al utilizar ovocitos donados procedentes de mujeres jóvenes. Al respecto, la probabilidad de obtener embriones euploides disminuye con la edad⁽⁵³⁾. Así es como el envejecimiento ovárico se traduce en una menor tasa de éxito en cada ciclo de fertilización y en una mayor probabilidad de embriones con anomalías cromosómicas que aumentan las tasas de abortos espontáneos o fallas en implantación, por lo que el embarazo nunca ocurre o no llega a término.

Por otra parte, los estudios que evalúan modelos de costo-efectividad sobre este procedimiento establecen que la edad ideal para criopreservar ovocitos con buenas chances de fertilidad futura es hasta los 35 años. Por encima de ese límite, las posibilidades de éxito se vuelven progresivamente menores y, por lo tanto, se cuestiona la real validez de su indicación. En un estudio⁽⁵⁴⁾, buscaron determinar qué estrategia era superior en cuanto a costo-efectividad: que una mujer criopreserve sus ovocitos a los 35 años y los utilice luego para hacer una fertilización in vitro (FIV, técnica de alta complejidad) a los 40 años; que una mujer se realice una FIV con ovocitos propios a los 40 años (no criopreservados); que espere un embarazo espontáneo sin ningún tratamiento a esa edad. El estudio concluyó que la primera estrategia sería costo-efectiva comparada con la realización de una FIV con ovocitos propios a los 40 años.

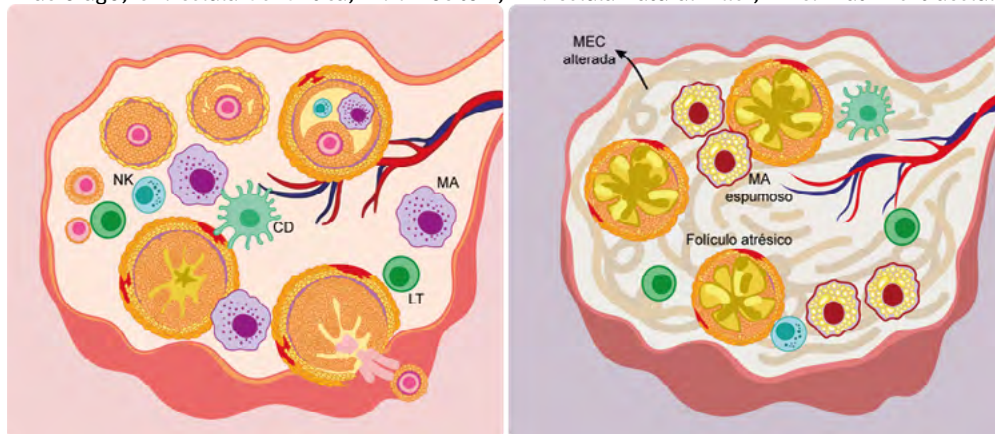
La utilización de ovocitos propios criopreservados antes de los 35 años por tener mayores tasas de éxito, disminuiría la cantidad de ciclos de estimulación y transferencia de embriones que se realizan

en una mujer de edad materna avanzada, lo cual implica un costo en la salud pública por el incremento de la tasa de aneuploidías resultante en una mayor falla de la implantación y/o abortos espontáneos^(52,53). Además, la tasa de embarazo múltiple asociada a la transferencia de más de un embrión, estrategia utilizada en el 56,1% de los ciclos registrados por la Red LARA en 2018⁽⁵²⁾, aumenta aún más el riesgo de complicaciones en el embarazo y presenta un impacto económico tanto en la salud pública como en la privada.

Conclusiones y perspectivas futuras

El ovario no solo es un órgano heterogéneo en cuanto a las poblaciones celulares que presenta, sino también lo es en el tiempo, a lo largo de la vida de la mujer. Hasta ahora, el mecanismo de disminución de la reserva ovárica no se ha comprendido con exactitud. Sin embargo, las evidencias experimentales hasta el momento indican que el envejecimiento ovárico se acompaña de un aumento en la respuesta fibroinflamatoria sostenida en el tiempo y a la disminución de la calidad de ovocitos (ver esquema de conclusiones gráficas en la Figura 2).

Figura 2. Modelo propuesto. Comparación ovario joven (izquierda) y envejecido (derecha). MA: macrófago; CD: célula dendrítica; LT: linfocito T; NK: célula natural killer; MEC: matriz extracelular.



Algunas de las evidencias son: (1) los análisis transcriptómicos muestran un aumento en la expresión de genes asociados con la respuesta inflamatoria en los ovarios y en los folículos recuperados de mujeres con edad reproductiva avanzada en comparación con mujeres jóvenes^(47,55); (2) los ovarios de la edad reproductiva avanzada exhiben depósitos excesivos de colágeno en el estroma ovárico que son consistentes con fibrosis tisular⁽⁴³⁾; (3) cortes histológicos de ovarios de ratonas envejecidas reveló la presencia de macrófagos “foamy”

o espumosos, que se pueden asociar a procesos inflamatorios crónicos^(43,56).

Aún se requieren futuros estudios para profundizar en el impacto de la respuesta inmune en la función de las células del estroma ovárico y el desarrollo folicular en ovarios envejecidos. El conocimiento de la generación de la inflamación crónica asociada al envejecimiento, así como en otras patologías ováricas, como el síndrome de ovario poliquístico y fallas ováricas prematuras, avanza en un nuevo enfoque terapéutico inmunomodulador.

REFERENCIAS

1. Lv H, Zhao G, Jiang P, Wang H, Wang Z, Yao S, et al. Deciphering the endometrial niche of human thin endometrium at single-cell resolution. *Proc Natl Acad Sci*. 2022 Feb 22;119(8):e2115912119.
2. Yang X, Gilman-Sachs A, Kwak-Kim J. Ovarian and endometrial immunity during the ovarian cycle. *J Reprod Immunol*. 2019 Jun;133:7–14.
3. Kinnear HM, Tomaszewski CE, Chang FL, Moravek MB, Xu M, Padmanabhan V, et al. The ovarian stroma as a new frontier. *Reproduction*. 2020 Sep;160(3):R25–39.
4. Finn CA. IMPLANTATION, MENSTRUATION AND INFLAMMATION. *Biol Rev*. 1986 Nov;61(4):313–28.
5. Yang F, Zheng Q, Jin L. Dynamic Function and Composition Changes of Immune Cells During Normal and Pathological Pregnancy at the Maternal-Fetal Interface. Vol. 10, *Frontiers in Immunology*. 2019. p. 1–15.
6. Machlin JH, Barishansky SJ, Kelsh J, Larmore MJ, Johnson BW, Pritchard MT, et al. Fibroinflammatory Signatures Increase with Age in the Human Ovary and Follicular Fluid. *Int J Mol Sci*. 2021 May 5;22(9):4902.
7. Morikawa H, Okamura H, Takenaka A, Morimoto K, Nishimura T. Histamine concentration and its effect on ovarian contractility in humans. *Int J Fertil*. 1981;26(4):283–6.
8. Nagamatsu T, Schust DJ. The immunomodulatory roles of macrophages at the maternal-fetal interface. *Reprod Sci Thousand Oaks Calif*. 2010 Mar;17(3):209–18.
9. Mosser DM, Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nat Rev Immunol*. 2008 Dec;8(12):958–69.
10. Fainaru O, Amsalem H, Bentov Y, Esfandiari N, Casper RF. CD56brightCD16– natural killer cells accumulate in the ovarian follicular fluid of patients undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2010 Oct;94(5):1918–21.
11. Fainaru O, Hantisteanu S, Rotfarb N, Michaeli M, Hallak M, Ellenbogen A. CD11c+HLADR+ dendritic cells are present in human ovarian follicular fluid, and their maturity correlates with serum estradiol levels in response to gonadotropins. *Fertil Steril*. 2012 Mar;97(3):702–6.
12. Shi SL, Peng ZF, Yao GD, Jin HX, Song WY, Yang HY, et al. Expression of CD11c+HLA-DR+dendritic cells and related cytokines in the follicular fluid might be re-

- lated to pathogenesis of ovarian hyperstimulation syndrome. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015;8(11):15133–7.
13. Zhang T, Tian F, Huo R, Tang A, Zeng Y, Duan Y. Detection of dendritic cells and related cytokines in follicular fluid of patients with polycystic ovary syndrome. *Am J Reprod Immunol.* 2017 Sep;78(3):e12717.
 14. Liu D, Tu X, Huang C, Yuan Y, Wang Y, Liu X, et al. Adoptive transfers of CD4 + CD25 + Tregs partially alleviate mouse premature ovarian insufficiency. *Mol Reprod Dev.* 2020 Aug;87(8):887–98.
 15. Gao H, Gao L, Wang W. Advances in the cellular immunological pathogenesis and related treatment of primary ovarian insufficiency. *Am J Reprod Immunol.* 2022 Nov;88(5):e13622.
 16. Tingen CM, Kiesewetter SE, Jozefik J, Thomas C, Tagler D, Shea L, et al. A macrophage and theca cell-enriched stromal cell population influences growth and survival of immature murine follicles in vitro. *REPRODUCTION.* 2011 Jun;141(6):809–20.
 17. Turner EC, Hughes J, Wilson H, Clay M, Mylonas KJ, Kipari T, et al. Conditional ablation of macrophages disrupts ovarian vasculature. *REPRODUCTION.* 2011 Jun;141(6):821–31.
 18. Rodgers RJ, Lavranos TC, Van Wezel IL, Irving-Rodgers HF. Development of the ovarian follicular epithelium. *Mol Cell Endocrinol.* 1999 May;151(1–2):171–9.
 19. Rodgers RJ, Irving-Rodgers HF. Formation of the Ovarian Follicular Antrum and Follicular Fluid1. *Biol Reprod.* 2010 Jun 1;82(6):1021–9.
 20. Foley KG, Pritchard MT, Duncan FE. Macrophage-derived multinucleated giant cells: hallmarks of the aging ovary. *Reproduction.* 2021 Feb;161(2):V5–9.
 21. Machtinger R, Laurent LC, Baccarelli AA. Extracellular vesicles: roles in gamete maturation, fertilization and embryo implantation. *Hum Reprod Update.* 2015 Dec 9;dmv055.
 22. Paul N, Sultana Z, Fisher JJ, Maiti K, Smith R. Extracellular vesicles- crucial players in human pregnancy. *Placenta.* 2023 Sep;140:30–8.
 23. Erlebacher A. Immunology of the maternal-fetal interface. *Annu Rev Immunol.* 2013 Jan;31:387–411.
 24. Hesketh M, Sahin KB, West ZE, Murray RZ. Macrophage Phenotypes Regulate Scar Formation and Chronic Wound Healing. *Int J Mol Sci.* 2017 Jul 17;18(7):1545.
 25. Pepe G, Locati M, Della Torre S, Mornata F, Cignarella A, Maggi A, et al. The estrogen-macrophage interplay in the homeostasis of the female reproductive tract. *Hum Reprod Update.* 2018 Nov 1;24(6):652–72.
 26. McGee EA, Hsueh AJW. Initial and Cyclic Recruitment of Ovarian Follicles*. *Endocr Rev.* 2000 Apr 1;21(2):200–14.
 27. Broekmans FJ, Soules MR, Fauser BC. Ovarian Aging: Mechanisms and Clinical Consequences. *Endocr Rev.* 2009 Aug 1;30(5):465–93.
 28. Ebrahimi M, Akbari Asbagh F. The role of autoimmunity in premature ovarian failure. *Iran J Reprod Med.* 2015 Aug;13(8):461–72.
 29. Xiao Y, Peng X, Peng Y, Zhang C, Liu W, Yang W, et al. Macrophage-derived extracellular vesicles regulate follicular activation and improve ovarian function in old mice by modulating local environment. *Clin Transl Med.* 2022 Oct;12(10):e1071.
 30. Rehman A, Pacher P, Haskó G. Role of Macrophages in the Endocrine System. *Trends Endocrinol Metab.* 2021 Apr;32(4):238–56.
 31. Zhang Z, Huang L, Brayboy L. Macrophages: an indispensable piece of ovarian health. *Biol Reprod.* 2021 Mar 11;104(3):527–38.
 32. Selvaraj SK, Giri RK, Perelman N, Johnson C, Malik P, Kalra VK. Mechanism of monocyte activation and expression

- of proinflammatory cytochemokines by placenta growth factor. *Blood*. 2003 Aug 15;102(4):1515–24.
33. Marcinkiewicz JL. The involvement of tumor necrosis factor- alpha TNF as an intraovarian regulator of oocyte apoptosis in the neonatal rat. *Front Biosci*. 2002;7(4):d1997-2005.
 34. Wang J, Yin T, Liu S. Dysregulation of immune response in PCOS organ system. *Front Immunol*. 2023 May 5;14:1169232.
 35. Wu R, Fujii S, Ryan NK, Van Der Hoek KH, Jasper MJ, Sini I, et al. Ovarian leukocyte distribution and cytokine/chemokine mRNA expression in follicular fluid cells in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*. 2007 Feb;22(2):527–35.
 36. Ono Y, Nagai M, Yoshino O, Koga K, Nawaz A, Hatta H, et al. CD11c+ M1-like macrophages (MΦs) but not CD206+ M2-like MΦ are involved in folliculogenesis in mice ovary. *Sci Rep*. 2018 May 25;8(1):8171.
 37. Lim MA, Lee J, Park JS, Jhun JY, Moon YM, Cho ML, et al. Increased Th17 differentiation in aged mice is significantly associated with high IL-1β level and low IL-2 expression. *Exp Gerontol*. 2014 Jan;49:55–62.
 38. Schmitt V, Rink L, Uciechowski P. The Th17/Treg balance is disturbed during aging. *Exp Gerontol*. 2013 Dec;48(12):1379–86.
 39. Jagger A, Shimojima Y, Goronzy JJ, Weyand CM. Regulatory T Cells and the Immune Aging Process: A Mini-Review. *Gerontology*. 2014;60(2):130–7.
 40. Huang Y, Hu C, Ye H, Luo R, Fu X, Li X, et al. Inflamm-Aging: A New Mechanism Affecting Premature Ovarian Insufficiency. *J Immunol Res*. 2019 Jan 2;2019:1–7.
 41. Chung HY, Kim DH, Lee EK, Chung KW, Chung S, Lee B, et al. Redefining Chronic Inflammation in Aging and Age-Related Diseases: Proposal of the Senoinflammation Concept. *Aging Dis*. 2019;10(2):367.
 42. Zhou Y, Ding X, Wei H. Reproductive immune microenvironment. *J Reprod Immunol*. 2022 Aug;152:103654.
 43. Briley SM, Jasti S, McCracken JM, Hornick JE, Fegley B, Pritchard MT, et al. Reproductive age-associated fibrosis in the stroma of the mammalian ovary. *Reproduction*. 2016 Sep;245–60.
 44. Ford HZ, Byrne HM, Myerscough MR. A lipid-structured model for macrophage populations in atherosclerotic plaques. *J Theor Biol*. 2019 Oct;479:48–63.
 45. Ford HZ, Zeboudj L, Purvis GSD, Ten Bokum A, Zarebski AE, Bull JA, et al. Efferycytosis perpetuates substance accumulation inside macrophage populations. *Proc R Soc B Biol Sci*. 2019 Jun 12;286(1904):20190730.
 46. Ginhoux F, Guillemins M. Tissue-Resident Macrophage Ontogeny and Homeostasis. *Immunity*. 2016 Mar;44(3):439–49.
 47. Zhang Z, Schlamp F, Huang L, Clark H, Brayboy L. Inflammaging is associated with shifted macrophage ontogeny and polarization in the aging mouse ovary. *Reproduction*. 2020 Mar;159(3):325–37.
 48. Indicadores Básicos Argentina 2022 [Internet]. Ministerio de Salud, Organización Panamericana de la Salud; Available from: https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/indicadores_basicos_2022_final.pdf
 49. Organización Panamericana de la Salud. Core-Indicators Portal, Region of the Americas [Internet]. Available from: <https://opendata.paho.org/en/core-indicators>
 50. Tasa de fecundidad según grupo de edad (por mil mujeres), tasa global de fecundidad, tasa bruta de reproducción y edad promedio de las madres según año de inscripción. Ciudad de Buenos Aires. Años 1990/2022 [Internet]. Dirección general de estadísticas y censos GCBA; Available from: https://www.estadisticaciudad.gob.ar/eyc/wp-content/uploads/2021/05/PB3_14.xlsx

51. Glujovsky D, Pesce R, Miguens M, Sueldo CE, Lattes K, Ciapponi A. How effective are the non-conventional ovarian stimulation protocols in ART? A systematic review and meta-analysis. *J Assist Reprod Genet.* 2020 Dec;37(12):2913–28.
52. Zegers-Hochschild F, Crosby JA, Musri C, Souza MDCBD, Martínez AG, Silva AA, et al. Celebrating 30 years of ART in Latin America; and the 2018 report. *JBRA Assist Reprod* [Internet]. 2021 [cited 2023 Nov 30]; Available from: https://www.jbra.com.br/trab/pub/download_trabalho.php?file-Source=/var/www/vhosts/jbra.com.br/media/trab/arg_2997&fileName=16%20-%201856%20-%20Celebrating.pdf&id_trabalho=1228
53. Franasiak JM, Forman EJ, Hong KH, Werner MD, Upham KM, Treff NR, et al. The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: a review of 15,169 consecutive trophoctoderm biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening. *Fertil Steril.* 2014 Mar;101(3):656-663. e1.
54. Van Loendersloot LL, Moolenaar LM, Mol BWJ, Repping S, Van Der Veen F, Goddijn M. Expanding reproductive lifespan: a cost-effectiveness study on oocyte freezing. *Hum Reprod.* 2011 Nov 1;26(11):3054–60.
55. Duncan FE, Jasti S, Paulson A, Kelsh JM, Fegley B, Gerton JL. Age-associated dysregulation of protein metabolism in the mammalian oocyte. *Aging Cell.* 2017 Dec;16(6):1381–93.
56. Hernandez-Pando R, Bornstein QL, Aguilar Leon D, Orozco EH, Madrigal VK, Martinez Cordero E. Inflammatory cytokine production by immunological and foreign body multinucleated giant cells. *Immunology.* 2000 Jul;100(3):352–8.

Diferencia de embarazo entre embriones Euploides biopsiados en día 5 vs biopsiados en día 6

Differences in Pregnancy Outcomes Between Euploid Embryos Biopsied on Day 5 Versus Day 6

Carbonaro M¹, Filocco L¹, Perez M¹, Calvo K¹, Brignardello C¹, Percivalle G¹, Mackey ME¹, Miechi H¹, Tozzini R¹, Morente C¹.

¹ Centro Médico PROAR- Rosario. Santa Fé - Argentina.

RESUMEN

Pregunta de estudio: ¿Influye el día de la biopsia embrionaria en los resultados reproductivos, independientemente de la euploidía?

Respuesta resumida: Los pacientes que transfirieron blastocistos euploides biopsiados en día 5 presentaron un 80 % más de embarazo clínico que aquellos con blastocistos euploides biopsiados en día 6.

Lo que ya se sabe: Las tasas de embarazo en transferencias de ciclos en fresco son significativamente más altas cuando se transfirieron blastocistos expandidos de día 5 comparados con los de desarrollo más lento de día 6.

En transferencias de embriones descongelados, algunos autores reportaron mayores tasas de embarazo con blastocistos Día 5 comparados con Día 6, mientras que otros autores no encontraron diferencias. No todos los embriones euploides implantarían de igual manera con la misma evolución.

Diseño del estudio: estudio analítico de cohorte retrospectivo.

Materiales y Métodos: se analizaron 125 ciclos de transferencias de embriones

ABSTRACT

Study question: Does embryo expansion time influence reproductive outcomes of euploid embryos?

Summary answer: Patients who transferred euploid blastocysts biopsied on day 5 had an 80% higher clinical pregnancy rate than those with euploid blastocysts biopsied on day 6.

What is already known: Pregnancy rates in fresh cycle transfers were significantly higher when day 5 expanded blastocysts were transferred compared to slower developing day 6 blastocysts. In thawed embryo transfers, some authors reported higher pregnancy rates with Day 5 blastocysts compared to Day 6, while other authors found no difference. Not all euploid embryos would implant equally with the same development.

Study design: Retrospective analytical cohort study.

Materials and Methods: We analyzed 125 cycles of euploid embryo transfers performed between May 2018 and April 2023, ordering them according to the day of biopsy. The biopsy day was selected based

euploides realizados entre mayo de 2018 y abril de 2023, y fueron divididos según el día en que se realizó la biopsia. La elección del día de la biopsia fue condicionada por el grado de expansión embrionaria. Los embriones expandidos fueron biopsiados en día 5, mientras que en los que tenían un grado de expansión menor se esperó hasta día 6 para realizar la biopsia. Todos los endometrios fueron preparados de la misma forma para la transferencia, independientemente del día de la biopsia. Se realizaron 84 transferencias de embriones biopsiados en día 5 (TEB5) y 41 transferencias de embriones biopsiados en día 6 (TEB6).

Resultados: Los pacientes que transfirieron blastocistos euploides biopsiados en día 5 presentaron una tasa de embarazo clínico mayor que aquellos con blastocistos euploides biopsiados en día 6 (47.6% vs. 26.8%), resultando esta diferencia estadísticamente significativa RR 1,78 (1,02-3,08). La tasa de aborto no mostró diferencias significativas.

Limitaciones del estudio: para hacer más robusto nuestro estudio, sería relevante incrementar la cantidad de casos y – además de la velocidad de desarrollo embrionario– evaluar otros parámetros embrionarios.

Implicancias de los hallazgos: nuestro trabajo coincide con la literatura e incentiva la toma de decisiones al elegir entre dos o más embriones euploides.

Palabras clave: Embriología, Blastocisto, Euploide, Grado de expansión, Velocidad de desarrollo, Reproducción.

on the degree of embryonic expansion. The expanded embryos were biopsied on day 5, while those with a lower expansion degree were expected until day 6 to perform the biopsy. Regardless of the biopsy day, all endometrial preparation was performed in the same way for embryos trans-fer. Embryo biopsy transfers (EBT) were divided into two groups according to the day of biopsy: day 5 (EBT5) (n=84) and day 6 (EBT6) (n=41).

Main results: *Patients who transferred euploid day 5 blastocysts showed a higher clinical pregnancy rate compared with euploid day 6 blastocysts (47.6% vs. 26.8%), this difference was statistically significant with an RR of 1.78 (1.02-3.08). The miscarriage rate did not show significant differences.*

Limitations: *In order to make our study more robust, it would be relevant to increase the number of cases and, in addition to embryonic development stages, evaluate other embryonic parameters.*

Wider implications of the findings: *Our work is consistent with literature and encourages informed decision when choosing between two or more euploid embryos.*

Key words: *Embryology, Blastocyst, Euploid, Expansion grade, Development rate, Reproduction.*

INTRODUCCIÓN

Las transferencias de embriones euploides aceleran los tiempos en lograr el embarazo debido a la disminución de transferencias innecesarias con embriones aneuploides. Sin embargo, no todas las transferencias de embriones euploides resultan en embarazos, es de notar que el 30-40 % de los embriones euploides no llegan a nacidos vivos. Causas de estas fallas incluyen patologías de la cavidad endometrial, hidrosalpinx, desincronización embrión-endometrio, trombofilia o posibles factores inmunológicos⁽¹⁾.

La velocidad del desarrollo embrionario del blastocisto también influiría en los resultados reproductivos. Shapiroy coll⁽²⁾ encontraron mayores tasas de embarazo clínico e implantación con embriones transferidos en fresco de día 5 que los de día 6, y Barrenetea y col⁽³⁾ informaron resultados similares. Estos hallazgos reflejan la mayor viabilidad de los embriones de desarrollo rápido, quizá porque la ventana de implantación es más temprana, sobre todo en ciclos estimulados respecto al ciclo natural^(4,5,6). Shapiro y col también consideran la posibilidad que los embriones de día 5 y 6 tengan similar capacidad de implantación pero que la sincronía del endometrio sea subóptima en el día 6. Sin embargo, distintos trabajos^(7,8,9,10,11) mostraron la superioridad en la implantación de los embriones en día 5 con ciclos de transferencias de embriones descongelados. También se menciona que los embriones de día 6 tienen una tasa de aneuploidía más alta⁽¹²⁻¹³⁾. En otros trabajos se sugiere que acciones metabólicas y epigenéticas del embrión interfieren en la velocidad de desarrollo del mismo. Factores relacionados directamente con la competencia embrionaria, además del status de ploidía, pueden jugar un rol crítico de

implantación. El grado morfológico y la velocidad en el desarrollo del blastocisto pueden reflejar la salud metabólica del embrión influyendo en su potencial de implantación⁽¹⁴⁾.

Debido a que no todos los embriones euploides implantan de igual manera, además del PGT-A debería considerarse la velocidad de evolución para mejorar la capacidad de selección embrionaria, con el objetivo primordial de lograr un nacido vivo luego de la primer transferencia electiva de un blastocisto.

Se planteó en nuestro laboratorio evaluar si las transferencias de embriones descongelados euploides tenían los mismos resultados reproductivos según el día en que se realizara la biopsia embrionaria.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio analítico de cohorte retrospectivo. Se analizaron 125 ciclos de transferencias de embriones euploides realizados desde mayo de 2018 a abril de 2023, y se dividieron según el día de la biopsia embrionaria. Se excluyeron los embriones traídos de otro centro de reproducción. El día de la biopsia fue condicionado por el grado de expansión embrionaria. Los embriones expandidos y eclosionados fueron biopsiados en día 5, mientras que los que tenían un grado de expansión menor o no estaban eclosionados fueron esperados hasta día 6 para ser biopsiados. Los embriones fueron incubados en gotas de 30ul de medio de cultivo continuo (CSC Irvine) de a 1 o 2 embriones por gota. Se utilizaron incubadoras tri gas K-systems (G185 y G210), a 37 °C, con 5% O₂ y 6% CO₂. Todos los endometrios fueron preparados para la transferencia de la misma forma independientemente del día de la biopsia, se utilizó ciclo de preparación endometrial artificial con valerato de estradiol hasta

lograr desarrollo endometrial => a 7 mm, y se comenzó con progesterona micronizada 800 mg/ día durante 5 días previos a la transferencia. Se realizaron 84 transferencias de embriones biopsiados en día 5 y 41 transferencias de embriones biopsiados en día 6. Se utilizó el Test de Fisher para la comparación de la tasa de embarazo, considerando significativo $p < 0.05$, y se calculó el Riesgo Relativo y su intervalo de confianza (IC 95%).

RESULTADOS

Los pacientes que transfirieron blastocistos euploides biopsiados en día 5 presentaron una tasa de embarazo clínico mayor que aquellos con blastocistos euploides biopsiados en día 6 (47.6% vs 26.8%). Esta diferencia fue

estadísticamente significativamente, en el grupo de TBED5 versus TBED6 $RR=1,78$ IC 95% (1,02-3,08), $p=0,03$. La tasa de aborto no mostró diferencias significativas. (Tabla 1, Figura 1)

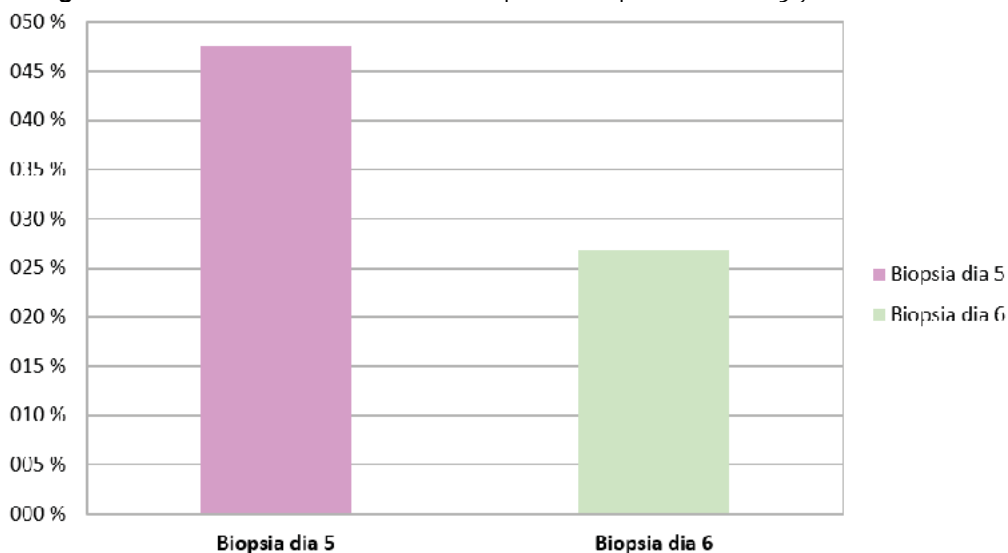
DISCUSIÓN

Este estudio evalúa el rol que cumple el día de desarrollo en embriones euploides en la tasa de embarazo. Nuestros hallazgos establecen que lo embriones euploides que tienen un grado de expansión satisfactorio al 5to día de desarrollo presentan mejores tasas de embarazo que aquellos que logran expansión al 6to día. Al ser todos embriones euploides en ambos grupos se podría afirmar que la condición de euploidía no sería el único factor importante para determinar la implantación de un embrión.

Tabla 1. Tabla de resultados. Porcentaje de embarazo y aborto con transferencias de Embriones.

	Emb. / transf.	% Embarazo	RR (IC 95%) p	Abortos n	Abortos % (IC)	RR (IC 95%) p
Biopsia día 5	40 / 84	47,6 % (36,9-58,3)	1,78 (1,02-,08) p 0,03	4	10% (0,7-19,3)	0,65 (0,14-3,07) p 0,60
Biopsia día 6	11 / 41	26,8 % (13,3-40,4)		2	18,2% (0 - 40,9)	

Figura 1. Tasa de embarazo de embriones euploides biopsiados en día 5 y 6 de evolución.



Por lo tanto nuestro trabajo, al igual que otros en la literatura⁽¹⁴⁻¹⁵⁾, evidencia el efecto negativo del retraso del desarrollo embrionario en los resultados de las transferencias de embriones descongelados euploides. Mohamed Irani y col⁽¹⁴⁾ sostienen que los blastosistos euploides en día 5 tienen tasas de implantación y nacido vivo más alta que los blastocitos del día 6. Gordon y col⁽¹⁵⁾, también observaron que la tasa de nacidos vivos es mayor en embriones euploides biopsiados en día 5 versus día 6, lo interesante es que cuando se estratificó por calidad embrionaria y el día de biopsia la tasa fue más alta en los embriones de buena calidad de día 5 vs día 6. Estos trabajos avalarían la teoría que además de la euploidía existen otros factores inherentes al embrión que determinan su implantación.

Abdala y col⁽¹⁶⁾, evaluaron la transferencia de blastocito euploide único y si bien observaron que los resultados fueron significativamente mejores en D5 la tasa de embarazo difiere al evaluar según grosor endometrial, edad de la paciente, índice de masa corporal o grado del macizo celular interno. Nuevamente podemos ver cómo, en congruencia con nuestros resultados, la euploidia es un dato más a tener en cuenta al momento de la elección del embrión pero no el único para asegurar el embarazo.

Sardana y col⁽¹⁷⁾ evaluaron la tasa de nacido vivo luego de transferencia de embriones euploides descongelados de día 5 vs día 6 y hallaron resultados comparables en ambos días de desarrollo; en cambio al evaluar la tasa de embarazo clínico esta fue mayor en el grupo de embriones euploides de día 5, similar a nuestra experiencia.

Sin embargo otros autores no encontraron diferencias. Wu y col⁽¹⁸⁾, evaluaron transferencias de descongelados de

embriones euploides o mosaicos de buena calidad, y no presentaron diferencias significativas ni en tasas de embarazos ni en nacido vivos. Tong y col⁽¹⁹⁾, observaron que en las transferencias de embrión único euploide los resultados clínicos entre día 5 o 6 fueron similares. No obstante pudo observar que en su población los blastocitos de día 6 eran en general de mujeres de mayor edad, con reserva ovárica medida por antimulleriana más baja y edad paterna más alta. Nuevamente estos datos podrían acompañar la teoría que hay factores que ayudan a determinar la capacidad de implantación de esos embriones y no sólo su euploidia.

Si bien el análisis genético preimplantacional es una herramienta útil para conocer la viabilidad de los embriones y evitar transferencias innecesarias, creemos que no es el único parámetro a tener en cuenta al momento de seleccionar el embrión ideal para transferir. Consideramos que pueden existir otros parámetros que no se evalúan en este estudio, representando esto una limitación del mismo. Creemos que los resultados obtenidos son importantes para la toma de decisiones al momento de elegir el embrión a transferir en caso de contar con embriones euploides en ambos días de desarrollo, pero sería interesante contar con más datos en un futuro estudio que abarque otras variables a tener en cuenta.

CONCLUSIÓN

Los pacientes que transfirieron embriones euploides biopsiados en día 5 presentaron un 80% más de embarazo clínico que aquellos con embriones euploides biopsiados en día 6. Cabe destacar que los embriones biopsiados en día 6 son embriones con crecimiento más lento que aquellos biopsiados en día 5 y esto podría señalar otras diferencias intrínsecas. Para

responder este interrogante se necesitarían más estudios fuera del alcance de este trabajo. El grado de desarrollo tendría influencia en los resultados independientemente de la euploidia.

Agradecimientos

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

REFERENCIAS

1. Valdes CT, Schutt A, Simon C. Implantation failure of endometrial origin: it is not pathology, but our failure to synchronize the developing embryo with a receptive endometrium. *Fertil Steril* 2017;108:15-8.
2. Shapiro B, Daneshmand S, Garner F, Aguirre M, Ross R, Contrasting patterns in in vitro fertilization pregnancy rates among fresh autologous, fresh oocyte donor, and cryopreserved cycles with the use of day 5 or day 6 blastocysts may reflect differences in embryo-endometrium synchrony, *Fertil Steril* 2008; 89:20-26. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2006.08.092>.
3. Barrenetxea G., López de Larruzea A., Ganzabal T., Jiménez R., Carbonero K., Mandiola M., Blastocyst culture after repeated failure of cleavage-stage embryo transfers: A comparison of day 5 and day 6 transfers, *Fertil Steril* 2005;83:49-53. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2004.06.049>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0015028204026020>)
4. Khorram O., Shapiro S., Jones J, Transfer of nonassisted hatched and hatching human blastocysts after in vitro fertilization, *Fertil Steril*, 2000;74:163-165. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(00\)00567-7](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(00)00567-7).
5. Kolb BA, Paulson RJ. The luteal phase of cycles utilizing controlled ovarian hyperstimulation and the possible impact of this hyperstimulation on embryo implantation. *Am J Obstet Gynecol* 1997;176:1262-7.
6. Kolibianakis E, Bourgain C, Albano C, Osmanagaoglu K, Smitz J, van Steirteghem A. Effect of ovarian stimulation with recombinant follicle-stimulating hormone, gonadotropin releasing hormone antagonists, and human chorionic gonadotropin on endometrial maturation on the day of oocyte pick-up. *Fertil Steril* 2002;78:1025-9.
7. Desai N, Ploskonka S, Goodman L., Attaran M, Delayed blastulation, multinucleation, and expansion grade are independently associated with live-birth rates in frozen blastocyst transfer cycles, *Fertil Steril*.2016; 106: 1370-1378. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.07.1095>.
8. Haas, J., Meriano, J., Laskin, C. et al. Clinical pregnancy rate following frozen embryo transfer is higher with blastocysts vitrified on day 5 than on day 6. *J Assist Reprod Genet* 2016;33:1553-1557. <https://doi.org/10.1007/s10815-016-0818-x>
9. Levens E, Whitcomb B, Hennessy S, James A, Yauger B, Larsen F, Blastocyst development rate impacts outcome in cryopreserved blastocyst transfer cycles, *Fertil Steril*.2007; 90:2138-2143 <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.10.029>.
10. Ferreux L, Bourdon M, Sallem A, Santulli P, Barraud-Lange V, le Foll N, et al. Live birth rate following frozen-thawed blastocyst transfer is higher with blastocysts expanded on day 5 than on day 6. *Hum Reprod* 2018; <https://doi.org/10.1093/humrep/dey004>
11. Wang X, Zhen J, Sun Z, Yu Q, Deng C, Zhou Y, et al. Effects of fifth day (D5) or sixth day (D6) frozen-thawed blastocysts on neonatal outcomes. *Zygote* 2016;24:684-91
12. Taylor TH, Patrick JL, Gitlin SA, Wilson JM, Crain JL, Griffin DK. Comparison of aneuploidy, pregnancy and live birth rates

- between day 5 and day 6 blastocysts. *Reprod Biomed Online* 2014;29:305–10.
13. Kaing A, Kroener LL, Tassin R, Li M, Liu L, Buyalos R, et al. Earlier day of blastocyst development is predictive of embryonic euploidy across all ages: essential data for physician decision-making and counseling patients. *J Assist Reprod Genet* 2018;35:119–25.
 14. Irani M, O'Neill C, Palermo G, et al. Blastocyst development rate influences implantation and live birth rates of similarly graded euploid blastocysts. *Fertil Steril*.2018; 100:95-102. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.03.032>
 15. Gordon C, Lanes A, Thomas A, Racowsky C. Day of trophectoderm biopsy and embryo quality are associated with outcomes following euploid embryo transfer. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2022;39:2539-2546. <https://doi.org/10.1007/s10815-022-02613-x>
 16. Abdala A, Elkhatib I, Bayram A, Arnanz A, et al. Day 5 vs day 6 single euploid blastocyst frozen embryo transfers: which variables do have an impact on the clinical pregnancy rates? *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2022;39:379-388. <https://doi.org/10.1007/s10815-021-02380-1>
 17. Sardana P, Banker J, Gupta R, Kotdawala A, Lalitkumar PG, Banker Introduction M. The influence of delayed blastocyst development on the outcome of frozen-thawed transfer of euploid and untested embryos. *J Hum Reprod Sci* 2020;13:155-61. https://doi.org/10.4103/jhrs.JHRS_115_19
 18. Wu TF, Chen M, Lee M, et al. Comparison of clinical outcome between day 5 and day 6 single blastocyst transfers in cycles undergoing preimplantation genetic testing for aneuploidy. *Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology*. 2023; 62:429-433. <https://doi.org/10.1016/j.tjog.2023.03.005>
 19. Tong J, Niu Y, Wan A, Zhang T. Comparison of day 5 blastocyst with day 6 blastocyst: Evidence from NGS-based PGT-A results. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* (2022) 39:369–377. <https://doi.org/10.1007/s10815-022-02397-0>

PGT-A de embriones criopreservados: ¿Compromete los resultados clínicos?

PGT-A of cryopreserved embryos: Affects the clinical outcomes?

Scampoli N¹, Galindez N¹, Hovanyecz¹, Perfumo¹, Parolin¹, Ventura¹, Paz MV¹.

¹ Servicio de Medicina Reproductiva del Instituto Gamma, Rosario, Santa Fe.

RESUMEN

Pregunta de estudio: ¿Se ven comprometidos los resultados clínicos al realizar testeo genético pre-implantacional para aneuploidías (PGT-A) a embriones previamente criopreservados en comparación con los biopsiados en fresco?

Respuesta resumida: La descongelación de embriones para su posterior biopsia y re-criopreservación sería una técnica segura, que podría ser utilizada en pacientes que reciban indicación de PGT-A a embriones de procedimientos previos.

Lo que ya se sabe: El PGT-A está siendo cada vez más utilizado con el objetivo de aumentar las probabilidades de lograr un embarazo evolutivo ante la primer transferencia de un blastocisto. La biopsia embrionaria se realiza de rutina en el procedimiento en fresco, luego el embrión se criopreserva y, aquel que sea apto, se transfiere en un ciclo posterior. Sin embargo, existen pacientes a los cuales se les indica realizar PGT-A en embriones congelados, los cuales serían criopreservados dos veces. El impacto de estas sucesivas criopreservaciones, descongelaciones y

ABSTRACT

Study question: *Are clinical outcomes compromised when performing pre-implantation genetic testing for aneuploidies (PGT-A) on previously cryopreserved embryos compared to fresh biopsied ones?*

Summary answer: *Embryo thawing for subsequent biopsy and re-cryopreservation would be a safe technique that can be used in patients who require PGT-A on embryos from previous procedures.*

What is already known: *The use of PGT-A is becoming increasingly common with the aim of improving the chances of achieving a successful pregnancy after the first blastocyst transfer. Embryo biopsy is routinely performed in fresh cycle procedure; then the embryo is cryopreserved and, if it is an acceptable embryo, will be transferred in a subsequent cycle. However, there are patients for whom PGT-A is recommended on already frozen embryos. Therefore, these embryos would be cryopreserved twice. The impact of this successive cryopreservations, thawings, and biopsy is controversial.*

biopsia es controvertido.

Diseño del estudio: Transversal analítico.

Materiales y Métodos: Se analizaron los resultados de 1174 embriones biopsiados entre enero de 2016 y julio de 2024. Las biopsias se ejecutaron en estadio de blastocisto, realizando eclosión asistida en día 3 o previo a la biopsia. El análisis genético fue analizado por NGS utilizando la plataforma Illumina. Se comparó entre ambos grupos la tasa de supervivencia embrionaria, resultados genéticos y resultados clínicos (tasa de embarazo clínico, tasa de embarazo evolutivo y tasa de implantación) utilizando el test Chi-cuadrado con un nivel de significancia del 5%.

Resultados: No se encontraron diferencias significativas al comparar supervivencia embrionaria, ni resultados clínicos, pero sí al comparar el porcentaje de aneuploidía entre los dos grupos.

Limitaciones del estudio: Tamaño poblacional pequeño.

Implicancias de los hallazgos: Realizar dos ciclos de vitrificación-descongelación a los embriones no afectaría su supervivencia ni los resultados clínicos.

Palabras clave: PGT-A, descongelación embrionaria, tasa de embarazo.

Study design: cross-sectional, analytical.

Materials and Methods: 283 fresh embryos biopsied and 31 post-thaw embryos biopsied, between January 2016 and July 2024, were analysed. The biopsies were performed at the blastocyst stage, with assisted hatching done on day 3 or prior to biopsy. The genetic analysis was conducted by NGS using the Illumina platform. Embryo survival rate, genetic and clinical results (clinical pregnancy rate, ongoing pregnancy rate and implantation rate) were compared between both groups using the Chi-square test with a significance level of 5%.

Main results: No significant differences were found in embryo survival rate neither clinical results when comparing the two groups, but there are differences in the aneuploidy percentage.

Limitations: Small sample size.

Wider implications of the findings: Performing two vitrification-thawing cycles on embryos would not affect their survival or clinical outcomes.

Key words: PGT-A, embryo thawing, pregnancy rate.

INTRODUCCIÓN

El Testeo Genético Preimplantacional para Aneuploidías (PGT-A) es una herramienta que permite la selección de embriones cromosómicamente normales para ser transferidos acortando el tiempo para lograr un recién nacido vivo¹. Las biopsias embrionarias se realizan en general en estadio de blastocisto, los embriones se criopreservan a la espera del resultado genético y se transfieren en un ciclo posterior, involucrando así, un solo ciclo de vitrificación-descongelación.

Sin embargo, no todos los pacientes realizan el PGT-A en sus embriones y deben enfrentarse a sucesivas transferencias embrionarias sin lograr un embarazo evolutivo. Es en estos casos donde surge la posibilidad de realizar el testeo genético de los embriones restantes criopreservados.

Si bien las técnicas de criopreservación han avanzado significativamente en los últimos años debido a la vitrificación¹, los reportes de re-vitrificación son escasos y suele ser considerada una técnica a usar en situaciones de emergencia, como por ejemplo la imposibilidad de realizar la transferencia o la inesperada inasistencia de la paciente. A pesar de esto, se han transferido embriones re-criopreservados con resultados positivos⁽¹⁻³⁾.

Es lógico pensar que esta manipulación adicional pueda influir no solo en la sobrevivencia del embrión a la descongelación, sino también en el potencial de implantación y desarrollo del embarazo. No obstante, la literatura es contradictoria en cuanto a esta temática. En los trabajos de Cimadomo y Zhou, los embriones re-biosados y que, por lo tanto, experimentan una segunda ronda de vitrificación-descongelación, tienen buena tasa de sobrevivencia, embarazo clínico y nacido vivo^(2,3). Por otro lado, Li encuentra que la tasa de nacidos vivos

de embriones que sufrieron una segunda re-vitrificación es menor en comparación a embriones vitrificados una sola vez⁽⁴⁾; y Zheng concluye en su trabajo que, si bien la tasa de embarazo clínico es comparable con embriones criopreservados una sola vez, en los embriones que sufren una segunda ronda de vitrificación hay una tasa de aborto mayor que en el grupo control⁽⁵⁾.

Por lo expuesto anteriormente, nos propusimos realizar este trabajo retrospectivo, donde comparamos los resultados clínicos de pacientes que realizaron PGT-A en fresco con aquellos que biopsiaron blastocistos previamente criopreservados en un ciclo anterior, con el objetivo de analizar si existe una diferencia estadísticamente significativa en la tasa de embarazo clínico, tasa de embarazo evolutivo y de implantación entre ambos grupos y verificar si ésta es una opción segura para indicar a las pacientes de nuestro centro.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño: estudio transversal analítico.

Pacientes y procedimientos: El estudio analizó 1174 embriones biopsiados de 614 ciclos de PGT-A realizados en el Servicio de Medicina Reproductiva del Grupo Gamma, durante enero de 2016 y julio de 2024. Se transfirieron en total 314 embriones euploides, los cuales se clasificaron en dos grupos según si la biopsia embrionaria fue realizada en fresco (Grupo FRESCO) o post-descongelación embrionaria (Grupo DESCRIO). En el grupo FRESCO, se incluyeron 283 embriones, mientras que en el grupo DESCRIO, 31 embriones. Los procedimientos de laboratorio, cultivo y clasificación embrionaria se realizaron siguiendo los protocolos ya publicados⁽⁶⁻⁸⁾. Para las vitrificaciones y descongelaciones embrionarias se utilizaron medios KITA-ZATO. Las biopsias embrionarias fueron

llevadas a cabo en estadio de blastocisto, efectuando la eclosión asistida en día 3 o previo a la biopsia, utilizando el láser Lykos (Hamilton Thorne Inc., USA)⁽⁹⁾. El análisis genético se realizó por NGS empleando la plataforma Illumina. Las transferencias embrionarias fueron realizadas con preparación endometrial sincrónica artificial, utilizando estrógenos y progesterona. Se compararon resultados clínicos (tasa de embarazo clínico, tasa de embarazo evolutivo y tasa de implantación), resultados genéticos, sobrevida de los embriones descongelados para transferir, y los distintos motivos de indicación de PGT-A entre ambos grupos, utilizando como análisis estadístico el test Chi-cuadrado con un nivel de significancia del 5%.

RESULTADOS

En el período en estudio, se biopsiaron 1174 embriones , de los cuales 1067 fueron biopsiados en fresco, y 107 luego de descongelarlos. Este último grupo inicialmente contaba con 136 embriones, de los cuales 29 no fueron de calidad apta para biopsiar o se degeneraron en el proceso de descongelación (21%).

En la TABLA 1 se muestran los resultados obtenidos en el grupo FRESCO y

DESCRIO. Se puede observar que existe una diferencia estadísticamente significativa en el porcentaje de embriones aneuploides (P=0,018). Por otro lado, existe una tendencia a un mayor número de embriones euploides en el grupo DESCRIO, aunque esta diferencia no fue significativa (P=0,051). En cuanto a los embriones mosaico, no hay diferencias entre los dos grupos.

Las indicaciones médicas por las cuales los pacientes decidieron realizar PGT-A en cada grupo se muestran en la TABLA 2. Se puede observar que tanto la indicación de Screening (que incluye pacientes que no tienen una indicación médica para PGT-A y, además, los procedimientos con ovodonación) como RIF (falla de implantación), se encuentran en mayor porcentaje en el grupo DESCRIO con respecto al grupo FRESCO (P=0,019 y P=0,014 respectivamente).

Se transfirieron en total 314 embriones vitrificados, 283 pertenecientes al grupo FRESCO y 31 al grupo DESCRIO. Al analizar la sobrevida de los 314 embriones euploides luego de la descongelación, se encontró que el grupo FRESCO tuvo una tasa del 98,26%, mientras que para el grupo DESCRIO fue del 100%. Como se

Tabla 1. Descripción de los ciclos de PGT-A con sus resultados genéticos

	TOTAL	FRESCO	DESCRIO	P
Ciclos de descongelacion	-	-	71	-
Ciclos de biopsia	614	550	64	-
Nº embriones descongelados	-	-	136	-
Nº embriones biopsiados	1174	1067	107	-
Nº embriones euploides	473	39,55% (422/1067)	47,66% (51/107)	0,05
Nº embriones anormales	519	45,17% (482/1067)	34,58% (37/107)	0,018*
Nº embriones mosaico	165	13,78% (147/1067)	16,82% (18/107)	0,19

*estadísticamente significativo

refleja en la TABLA 3, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas cuando se compararon los dos grupos en cuanto a los resultados clínicos, como son la tasa de embarazo clínico, tasa de embarazo evolutivo y tasa de implantación.

DISCUSIÓN

Aunque la literatura sugiere que la re-vitrificación de embriones es una herramienta promisoriosa en el campo de la reproducción asistida, el uso práctico de esta técnica no ha sido todavía desarrollado¹. En el presente trabajo nos cuestionamos sobre la factibilidad de descongelar embriones para realizar el PGT-A.

Los datos analizados demuestran que no existiría daño alguno al realizar dicho procedimiento debido a que no encontramos diferencias en la tasa de embarazo clínico,

la tasa de embarazo evolutivo o en la tasa de implantación al transferir embriones biopsiados con uno o dos procesos previos de vitrificación (TABLA 3). Sin embargo, de los 71 ciclos de descongelación realizados para PGT-A, 7 no contaron con embriones sobrevivientes o de buena calidad para biopsiar (TABLA 1), lo que representó un 10,77% del total de los ciclos del grupo DESCRIO. Esto podría deberse a que la mayoría de estos embriones se decidieron biopsiar después de varios ciclos de transferencias fallidas, es decir que no eran embriones de primera elección respecto a su morfología. Esto hace cuestionarnos si el asesoramiento al paciente sobre realizar el PGT-A en embriones criopreservados, sería una opción segura para todos o sólo para aquellos pacientes cuyos embriones sean de cierta calidad, robusta y suficiente como

TABLA 2. Distribución poblacional y de las indicaciones médicas para realizar PGT-A.

	FRESCO	DESCRIO	P
Edad media pacientes con ovos propios	38,93	38,02	0,04*
% Mujeres ≤35 años con ovos propios	15,27% (71/465)	25,49% (13/51)	0,03*
Abortos	14,91% (82/550)	9,37% (6/64)	0,11
Screening (sin indicación de PGT)	23,64% (130/550)	35,94% (23/64)	0,019*
Era (≥40 años)	46,55% (256/550)	37,50% (24/64)	0,07
Factor masculino	4,55 % (25/550)	3,12% (2/64)	0,29
Falla de implantación recurrente (RIF)	7,45% (41/550)	15,62% (10/64)	0,014*
Otros	2,91 % (16/550)	0 % (0/64)	-

*estadísticamente significativo

TABLA 3. Resultados de tasa de embarazo clínico, embarazo evolutivo e implantación para el grupo FRESCO y el grupo DESCRIO.

	FRESCO	DESCRIO	P
Ciclos et	277	30	-
Embriones descongelados para et	288	31	-
Embriones transferidos	283	31	-
Tasa de sobrevida	98,26 %	100,00 %	-
Tasa embarazo clínico	54,15% (150/277)	53,33% (16/30)	0,47
Tasa embarazo evolutivo	46,2 % (128/277)	46,67% (14/30)	0,48
Tasa de implantación	53,00% (150/283)	51,61% (16/31)	0,44

para sobrellevar el proceso de biopsia.

Por otro lado, encontramos una mayor tendencia de embriones euploides en el grupo DESCRIO (TABLA 1), aunque la misma no llega a ser estadísticamente significativa ($P=0,051$). Se observa en este grupo, además, que el porcentaje de mujeres menores a 36 años que realizaron PGT-A con ovocitos propios fue significativamente mayor ($P=0,03$) que en el grupo FRESCO (TABLA 2). Esto, junto con que, en este mismo grupo, una de las causas predominantes por las cuales los pacientes realizaron el PGT-A fue Screening ($P=0,019$), podrían explicar la tendencia de la euploidia encontrada.

Uno de los puntos fuertes de este trabajo es la ínfima variabilidad de la metodología utilizada, ya que el mismo se llevó a cabo en un único centro de fertilidad, con protocolos unificados no solo en las condiciones de cultivo, técnicas de criopreservación, descongelación y transferencia,

sino también en el abordaje clínico de los casos. En contraposición, dada la naturaleza retrospectiva del mismo y el pequeño tamaño de la muestra de embriones que fueron descongelados para biopsiar, nos deriva a la necesidad de realizar nuevos estudios prospectivos y con un mayor tamaño muestral para sacar conclusiones más robustas.

CONCLUSIÓN

En este trabajo no evidenciamos una diferencia estadísticamente significativa en los resultados clínicos que represente un detrimento para el embrión al comparar embriones biopsiados en fresco con embriones descongelados para biopsiar. Esto sugiere que la descongelación de embriones para su posterior biopsia y re-vitrificación sería una técnica segura, que podría ser utilizada para pacientes que reciban indicación o deseen realizar el PGT-A a embriones de procedimientos previos.

REFERENCIAS

1. Wilding M.; Terribile M.; Parisi I.; y col. Thaw, biopsy and refreeze strategy for PGT-A on previously cryopreserved embryos. *Facts Views Vis Obgyn*, 11(3):223-227, 2019.
2. Zhou S.; Xie P.; Zhang S.; y col. Complex mosaic blastocysts after preimplantation genetic testing: prevalence and outcomes after re-biopsy and re-vitrification. *RBMO*, Vol. 43, 2021.
3. Cimadomo D.; Rienzi L.; Romanelli V.; y col. Inconclusive chromosomal assessment after blastocyst biopsy: prevalence, causative factors and outcomes after re-biopsy and re-vitrification. A multicenter experience. *Human reproduction*, Vol.33, No. 10pp. 1839-1846, 2018.
4. Li J.; Xiong S.; Zhao Y.; y col. Effect of the re-vitrification of embryos at different stages on embryonic developmental potential. *Frontiers in Endocrinolog*, Vol 12, No. 653310, 2021.
5. Zheng X.; Chen Y.; Yan J.; y col. Effect of repeated cryopreservation on human embryo developmental potential. *Reproductive Biomedicine Online* 35, 627-632, 2017.
6. Sepúlveda, S.; Garcia, J.; Arriaga, E. y col. In vitro development and pregnancy outcomes for human embryos cultured in either a single medium or in a sequential media system. *Fertil Steril* 91: 1765-70, 2009.
7. Ebner, T.; Yaman, C.; Moser, M. y col. A prospective study on oocyte survival rate after ICSI: influence of injection technique and morphological features. *J Assist Reprod Genet* 18: 623-8, 2001.
8. Paz MV, Cicaré J, Lo Menzo F, y col. Culture in single versus sequential medium: effects on clinical outcomes and their relation to the presence of cytoplasmic granulations. *Reproducción*. 2017; 32: 6-16
9. Paz MV, Chiera M, Hovanyecz y col. Blastocysts derived from OPN oocytes: Genetic and clinical results. *JBRA Assisted Reproduction* 2020; 24 (2): 143-146

Primera experiencia argentina para validar el protocolo de vitrificación ultra-rápida en ovocitos humanos.

First Argentinean experience to validate the ultra-rapid vitrification protocol in human oocytes.

Meneghini MA¹; Marconetto A¹; Arenas G¹; Leocata F¹; Ahumada A¹

¹ PROCREARTE, Buenos Aires, Argentina.

RESUMEN

Pregunta de estudio: ¿Qué puede concluirse de una primera experiencia en el uso técnicas de vitrificación ultra-rápidas en ovocitos respecto del método convencional?

Respuesta resumida: Las técnicas de vitrificación ultra-rápidas insumen un menor tiempo con óptimas tasas de supervivencia ovocitaria.

Lo que ya se sabe: La vitrificación de ovocitos representa una estrategia efectiva para casos de preservación de la fertilidad y es uno de los procedimientos que mayor consumo de tiempo representan en la rutina del laboratorio.

Investigaciones recientes han propuesto la posibilidad de realizar una exitosa criopreservación de ovocitos empleando una técnica de vitrificación ultra-rápida.

Diseño del estudio: Prospectivo, transversal, experimental, descriptivo.

Materiales y Métodos: Se utilizaron 96 ovocitos Metafase II provenientes de nuestro programa de ovodonación. Se distribuyeron en 3 grupos de acuerdo con las técnicas de criopreservación a las que fueron sometidos.

ABSTRACT

Study question: *What can be concluded from the first experience of using ultrafast vitrification compared to the conventional method?*

Summary answer: *Ultra-rapid vitrification techniques reduce the procedure time with optimal oocyte survival rates.*

What is already known: *Oocyte vitrification is an effective strategy for fertility preservation; however this is one of the most time-consuming techniques in routine laboratory practice.*

Recent research has suggested the possibility of successful oocyte cryopreservation using an ultra-fast vitrification technique.

Study design: *Cross-sectional, experimental, descriptive.*

Materials and Methods: *96 Metaphase II oocytes from our oocyte donation programme were used. They were divided into 3 groups according to the cryopreservation techniques used. Group I: Conventional vitrification - conventional heating; Group II: Conventional vitrification - ultra-fast heating adapted for*

Grupo I: Vitrificación convencional – calentamiento convencional; *Grupo II:* Vitrificación convencional – calentamiento ultra-rápido adaptado para ovos vitrificados convencionalmente; *Grupo III:* vitrificación ultra-rápida - calentamiento ultra-rápido. Una hora posterior al calentamiento, se evaluó la sobrevida de los ovocitos. Por último, se consignaron los tiempos de ejecución de cada grupo. Los resultados se expresaron en porcentaje por grupo.

Resultados: Se asignaron 32 ovocitos a cada grupo experimental. Se obtuvo una sobrevida del 90,6% (29/32), 100% (32/32) y 100% (32/32) y se registró el tiempo de procesamiento para la congelación/descongelación de 32 ovocitos de 68 min, 54 min y 49 min para los grupos I, II y III, respectivamente.

Limitaciones del estudio: Se requiere aumentar el tamaño muestral y diversificar la población de estudio para generalizar su aplicación.

Implicancias de los hallazgos: Nuestros resultados obtenidos en esta primera experiencia argentina confirman que la vitrificación de ovocitos con técnicas ultra-rápidas (i) son igual o superiores en efectividad (sobrevida) al protocolo convencional, (ii) implican una notable reducción en los tiempos de trabajo (iii) pueden ser incorporadas a la rutina del laboratorio y aplicarse a ovocitos vitrificados convencionalmente.

Palabras clave: Vitrificación, técnicas reproductivas, ovocitos, fertilización in vitro, criobiología.

conventionally vitrified oocytes; Group III: Ultra-fast vitrification - ultra-fast heating. One hour after heating, oocyte survival was assessed, and the run times for each group were recorded. Results were expressed as a percentage per group.

Main results: *Thirty-two oocytes were assigned to each experimental group. Survival was 90.6 % (29/32), 100 % (32/32) and 100 % (32/32) and processing time for cryopreservation of 32 oocytes was 68 min, 54 min and 49 min for groups I, II and III, respectively.*

Limitations: *Increasing the sample size and diversifying the study population is required to generalize its application.*

Wider implications of the findings: *Our results obtained in this first Argentinean experience confirm that vitrification of oocytes with ultra-rapid techniques (i) are equal or superior to the conventional method in terms of survival rate, (ii) imply a notable reduction in working times, (iii) can be incorporated into the laboratory routine as they can be applied to conventionally vitrified oocytes.*

Key words: *Vitrification, reproductive techniques, oocytes, in vitro fertilisation, cryobiology.*

INTRODUCCIÓN

La vitrificación de ovocitos se incorporó a las técnicas de reproducción asistida en humanos a finales de la década de 1980⁽³⁾. Se aplica en casos de preservación de la fertilidad femenina, acopio de ovocitos en pacientes bajas respondedoras, vitrificación de ovocitos de donantes para su asignación diferida, entre otros. Su versatilidad y creciente demanda han vuelto a esta técnica parte de la rutina diaria del laboratorio de reproducción asistida. Así como también, uno de los procedimientos de mayor consumo de tiempo en el flujo de trabajo del laboratorio.

Independientemente de los kits comerciales de vitrificación elegidos, la mayoría de los protocolos de vitrificación para ovocitos son muy similares⁽¹⁾. Suelen incluir dos o más fases de exposición —gradual o directa— a soluciones crecientemente hipertónicas compuestas por crioprotectores (CPAs) permeables y no permeables. La composición de estas soluciones y la duración de la exposición de las células son fundamentales, ya que la toxicidad de los CPAs depende tanto del tiempo como de la concentración⁽²⁾.

Cuando se exponen a soluciones hipertónicas, las células inicialmente pierden agua y se encogen a un volumen mínimo muy rápidamente. Después de ese punto, lentamente vuelven a hincharse hacia su volumen isotónico, ya que las concentraciones de solutos intra y extracelulares tienden al equilibrio osmótico⁽⁶⁾. Esta fase se denomina de equilibrio y entre 8 a 15 minutos. A esto le sigue una exposición corta a una solución más concentrada, la cual se vitrifica al enfriarse a altas velocidades (solución de vitrificación, VS)⁽⁴⁾. La VS constituye el paso final de los protocolos de Vitrificación, allí las células se suspenden, se cargan en el dispositivo soporte

y se enfrían rápidamente. La exposición a VS es corta y no permite que las células se equilibren; se encogen, se deshidratan y se permean con crioprotectores. La duración de la exposición debe controlarse cuidadosamente y limitarse a 60 segundos para evitar el shock osmótico⁽¹⁰⁾.

La etapa de equilibrio es lo que contribuye a la mayor parte de la duración del procedimiento de vitrificación. Sin embargo, en los últimos años, se ha demostrado que son factibles protocolos más cortos para la vitrificación exitosa de ovocitos. Es posible alcanzar el contenido crítico de soluto citosólico necesario para una vitrificación exitosa de forma más rápida (a las velocidades de enfriamiento y calentamiento alcanzables en la práctica del laboratorio de FIV)⁽⁹⁾.

Por lo expuesto, los objetivos del presente estudio fueron (i) comparar la tasa de sobrevivencia ovocitaria utilizando protocolos de vitrificación UR y convencionales y (ii) registrar el consumo de tiempo para llevar a cabo cada técnica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño del estudio

Transversal analítico, randomizado, descriptivo.

Periodo de estudio, tamaño muestral y población

El estudio se llevó a cabo entre el mes de Abril y Junio de 2024 y se utilizaron 96 ovocitos metafase II de donantes. Las donantes fueron evaluadas y seleccionadas en base a los protocolos estándar de la clínica.

Estimulación ovárica

Las donantes fueron sometidas a una estimulación ovárica controlada. Se les indicó la administración de Hormona foliculo estimulante (FSH) recombinante

y Gonadotropina menopáusica humana (HMG) altamente purificada desde el segundo día de su ciclo menstrual y durante 8-12 días hasta obtener folículos ≥ 17 mm. Se utilizó Gonadotropina coriónica humana (hCG) como droga de descarga y antagonistas de Hormona liberadora de gonadotropinas (GnRh) para evitar el pico prematuro de Hormona Leutilizante (LH) durante la estimulación. Se realizaron monitoreos regulares del tamaño de los folículos vía ecografía transvaginal y dosajes de Estradiol. La aspiración folicular fue realizada 36 hs posterior a la descarga.

Búsqueda de ovocitos y desnudación

A medida que los complejos cúmulo-corona-ovocito (COCs) fueron identificados en el líquido folicular, se los transfirió a un medio de cultivo HTF suplementado con 5% de HSA y tamponado con HEPES previamente calentado (Irvine Scientific, Santa Ana, CA). Una vez finalizada la aspiración, se recortaron cuidadosamente los COCs procurando remover principalmente células oscuras y restos sanguíneos. Finalmente, los COCs fueron transferidos a una nueva placa conteniendo medio HTF suplementado con un 5% de HSA y pre equilibrado en una atmósfera de 5%CO₂ y 37°C, logrando un pH entre 7.25 y 7.35.

La remoción de las células del cúmulo y la corona fue realizada entre las 37-37.5 horas post hCG. Se expuso a los COCs a una solución de 4 UI/ml de hialuronidasa (Irvine Scientific, Santa Ana, CA) y se realizó la remoción mecánica de las células utilizando pipetas de vidrio de diferentes calibres en gotas de medio de cultivo HTF suplementado con un 5% de HSA y tamponado con HEPES (Irvine Scientific, Santa Ana, CA).

Aquellos ovocitos con evidente presencia del primer corpúsculo polar (presunta-

mente en estadio de MII de maduración) fueron seleccionados e incubados en medio de cultivo NX Complete con 5%HSA (Irvine Sci., California), a una temperatura de 37°C, en una atmósfera de 6% CO₂, 5% O₂ y un pH entre 7.25-7.35. Finalmente, fueron criopreservados cumplidas las 38 horas post hCG.

Técnicas de criopreservación

Vitrificación convencional (VITCONV): 12-15 min Solución de Equilibrio (ES) a 23-24°C, 1 min Solución de Vitrificación (VS) a 23-24°C.

Calentamiento convencional (CALCONV): 1 min Solución de Calentamiento (TS) a 37°C, 3 min Solución de Dilución (DS) a 23-24°C, 5 + 1 min Solución de Lavado (WS) a 23-24°C.

Vitrificación ultra-rápida (VITUR): 1 min ES a 23-24°C, 1 min VS a 23-24°C.

Calentamiento ultra-rápida (CALUR): 1 min DS a 37°C, 1 min WS a 37°C.

Calentamiento ultra-rápido adaptado a ovocitos vitrificados con métodos convencionales (CALURAD): 1 min TS a 37°C, 1 min DS a 37°C, 1 min WS a 37°C

Los ovocitos se distribuyeron aleatoriamente en 3 grupos de acuerdo a las técnicas de criopreservación y calentamiento a las que fueron sometidos. Grupo I: VITCONV – CALCONV (n=32), Grupo II: VITCONV - CALURAD (n=32), Grupo III: VITUR-CALUR (n=32).

Los medios, soportes y placas utilizados durante los protocolos de vitrificación y calentamiento fueron de la marca Kitazato (Dibimed, Valencia).

Posterior al calentamiento los ovocitos fueron incubados en medio de cultivo NX Complete con 5%HSA (Irvine Sci., California), a una temperatura de 37°C, en una atmósfera de 6% CO₂, 5% O₂ y un pH entre 7.25-7.35.

La sobrevida ovocitaria se evaluó bajo microscopio a un aumento 200x, 1 hora posterior a su calentamiento.

Finalmente, se consignaron los tiempos de ejecución de las técnicas de vitrificación y calentamiento correspondientes a cada grupo experimental. Cabe mencionar que, para la técnica convencional, los protocolos fueron solapados para la optimización de tiempo.

Análisis estadístico

Se realizó una estadística descriptiva a fin de presentar los resultados obtenidos e identificar tendencias dentro de los ensayos realizados. Los resultados se expresan como el total y porcentaje obtenidos de cada variable analizada.

Consideraciones éticas

Las donantes incluidas en el presente estudio realizaron la firma de un consentimiento informado en el que consta su voluntad de ceder el uso de sus ovocitos para el presente protocolo de investigación.

RESULTADOS

La tabla 1 resume los resultados obtenidos para cada grupo experimental.

DISCUSION

Los protocolos para preparar ovocitos para la vitrificación tienen como objetivo

evitar la formación de cristales de hielo intracelular y lograr obtener ovocitos con tasas de fertilización y desarrollo de embriones viables comparables con ovocitos frescos⁽¹⁾.

Nuestros resultados, expuestos en esta primera experiencia del uso de técnicas de criopreservación UR en Argentina, muestran tasas de sobrevida ovocitaria similares e incluso mejores respecto a la técnica convencional (100 % frente a 90 %). Estos resultados son compatibles con la evidencia acumulada por otros grupos de investigadores^(9,5). Además, la tasa de sobrevida ovocitaria del grupo II (VITCONV-CALURAD) demuestra la versatilidad de estas técnicas, ya que pueden aplicarse a ovocitos previamente vitrificados con el protocolo convencional. Este aspecto es importante porque permite: (i) implementarlo en laboratorios donde hasta la fecha se haya aplicado la técnica convencional de vitrificación y (ii) usarlo en ovocitos trasladados desde otra clínica o banco que utilice técnicas convencionales.

Las técnicas de vitrificación/calentamiento son una de las tareas principales en el laboratorio de FIV actual. Con el objetivo de optimizar el consumo de tiempo durante las diferentes rondas de vitrificación, los protocolos convencionales suelen solaparse entre sí. Este solapamiento consiste en utilizar los intervalos entre

Tabla 1. Resultados de sobrevida ovocitaria y tiempo de procesamiento de las técnicas de vitrificación/calentamiento convencional y ultra-rápida. La duración del procedimiento comprende los procesos de vitrificación y calentamiento del total de ovocitos de cada grupo.

Grupos experimentales	N (número de ovocitos)	Ovocitos vitales (%)	Duración del procedimiento(min)
Grupo I (VITCONV-CALCONV)	32	29 (90,6%)	68 min
Grupo II (VITCONV-CALURAD)	32	32 (100%)	54 min
Grupo III (VITUR-CALUR)	32	32 (100%)	40 min

los diferentes pasos de un protocolo para comenzar o continuar con los pasos de un segundo (o incluso un tercer) protocolo en paralelo. Si bien estos solapamientos se llevan a cabo con extremo cuidado, debido a su propia configuración, podrían ser una fuente de error en el laboratorio. En este sentido, las técnicas de vitrificación UR podrían resultar más seguras, ya que las rondas de vitrificación/calentamiento se realizan de una en una.

Debido a la creciente demanda de pacientes que requieren criopreservación de ovocitos en clínicas de FIV de todo el mundo para preservar su fertilidad, uno de los aspectos más atractivos que impulsan a incorporar las técnicas UR en la práctica diaria es que permiten un notable ahorro de tiempo en comparación con las técnicas convencionales. Basándonos en nuestros resultados, para vitrificar la misma cantidad de ovocitos (n=32), la técnica UR toma alrededor de 30 min menos que las técnicas convencionales.

No obstante, el presente trabajo no está exento de limitaciones. La diversificación

de la población de estudio permitiría obtener resultados extrapolables a otros grupos potenciales de pacientes. Del mismo modo, ampliar el tamaño de la muestra permitiría realizar un análisis estadístico.

En líneas generales, la novedosa técnica plantea una reducción del tiempo de cada paso respecto al protocolo convencional y modificaciones en la temperatura a la que se lleva a cabo cada etapa. Sin embargo, lo más interesante es que las modificaciones propuestas respecto al protocolo convencional suponen una revisión total de los fundamentos y criterios básicos considerados esenciales para el éxito de la vitrificación de ovocitos^(7,8).

En conclusión, el uso de técnicas de criopreservación UR en ovocitos arroja resultados muy prometedores, incluso mejores que los de las técnicas convencionales. No obstante, antes de su aplicación clínica, es necesario validar correctamente su uso y llevar a cabo estudios de investigación básica que permitan evaluar la competencia de los ovocitos vitrificados por técnicas ultra-rápidas.

REFERENCIAS

1. Alpha Scientists In Reproductive Medicine (2012). The Alpha consensus meeting on cryopreservation key performance indicators and benchmarks: proceedings of an expert meeting. *Reproductive biomedicine online*, 25(2), 146–167. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2012.05.006>
2. Benson, J. D., Kearsley, A. J., & Higgins, A. Z. (2012). Mathematical optimization of procedures for cryoprotectant equilibration using a toxicity cost function. *Cryobiology*, 64(3), 144–151. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2012.01.001>
3. Casciani, V., Monseur, B., Cimadomo, D., Alvero, R., & Rienzi, L. (2023). Oocyte and embryo cryopreservation in assisted reproductive technology: past achievements and current challenges. *Fertility and sterility*, 120(3 Pt 1), 506–520. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2023.06.005>
4. Fahy, G. M., Levy, D. I., & Ali, S. E. (1987). Some emerging principles underlying the physical properties, biological actions, and utility of vitrification solutions. *Cryobiology*, 24(3), 196–213. [https://doi.org/10.1016/0011-2240\(87\)90023-x](https://doi.org/10.1016/0011-2240(87)90023-x)
5. Gallardo, M., Saenz, J., & Risco, R. (2019).

- Human oocytes and zygotes are ready for ultra-fast vitrification after 2 minutes of exposure to standard CPA solutions. *Scientific reports*, 9(1), 15986. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52014-x>
6. Kleinhans F. W. (1998). Membrane permeability modeling: Kedem-Katchalsky vs a two-parameter formalism. *Cryobiology*, 37(4), 271–289. <https://doi.org/10.1006/cryo.1998.2135>
 7. Kuwayama M. (2007). Highly efficient vitrification for cryopreservation of human oocytes and embryos: the Cryotop method. *Theriogenology*, 67(1), 73–80. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.09.014>
 8. Kuwayama, M., Vajta, G., Kato, O., & Leibo, S. P. (2005). Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. *Reproductive biomedicine online*, 11(3), 300–308. [https://doi.org/10.1016/s1472-6483\(10\)60837-1](https://doi.org/10.1016/s1472-6483(10)60837-1)
 9. Liebermann, J., Brohammer, R., Wagner, Y., Smith, R., Even, K., Hirshfeld-Cytron, J., & Uhler, M. L. (2024). Fast and furious: successful survival and resumption of meiosis in immature human oocytes vitrified and warmed using a short protocol. *Reproductive biomedicine online*, 49(1), 103976. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2024.103976>
 10. Rall W. F. (1987). Factors affecting the survival of mouse embryos cryopreserved by vitrification. *Cryobiology*, 24(5), 387–402. [https://doi.org/10.1016/0011-2240\(87\)90042-3](https://doi.org/10.1016/0011-2240(87)90042-3)

Comparación entre el uso de hCG vs hCG + acetato de triptorelina (DUAL TRIGGER) en pacientes normorrespondedoras

Comparison between the use of hCG vs. hCG + triptorelin acetate (DUAL TRIGGER) in patients normo-responders

Miranda Maurín MC¹, Kunz MJ¹, Ganzer L¹, Fraustschi C¹, Lofredo M¹, García C¹, Estofán L¹.

¹ Centro Integral de Ginecología, Obstetricia y Reproducción (CIGOR), Córdoba, Argentina

RESUMEN

Pregunta de estudio: ¿El uso de dual trigger para maduración final ovocitaria mejora los resultados reproductivos en normorespondedoras?

Respuesta resumida: Con dual trigger se obtuvo mayor proporción de ovocitos recuperados, ovocitos MII por paciente y embriones criopreservados para futuras transferencias.

Lo que ya se sabe: Hay resultados opuestos sobre si la descarga con hCG + análogos GnRH aumenta la cantidad de ovocitos MII y buenos embriones.

Diseño del estudio: Estudio retrospectivo, caso-control. Grupo estudio de 54 pacientes y 108 en grupo control. Periodo de estudio desde Junio del 2021 hasta Abril 2024.

Materiales y Métodos: Se incluyeron pacientes que realizaron ICSI menores a 40 años, con HAM [1,2 – 3,5] ng/ml, y/o FSH <10 UI/ml. El grupo de estudio realizó maduración final ovocitaria con hCG + análogo de GnRH y el grupo control con hCG, en pacientes en proporción 2:1 con el grupo de estudio para coincidir en la edad, folículos antrales, finales y

ABSTRACT

Study question: Does the use of dual triggering for final oocyte maturation improve reproductive outcomes in normal responders?

Summary answer: Dual triggering resulted in a higher proportion of retrieved oocytes, MII oocytes per patient, and cryopreserved embryos for future transfers.

What is already known: There are conflicting results regarding whether hCG + GnRH analogues increase the number MII oocytes and good embryos.

Study design: Retrospective, case-control study. Study group of 54 patients and 108 in the control group. Study period from June 2021 to April 2024.

Materials and Methods: Patients under 40 years of age who underwent ICSI with AMH [1.2–3.5] ng/ml and/or FSH <10 IU/ml were included. The study group underwent final oocyte maturation with hCG + GnRH analogue, and the control group with hCG. Patients were matched 2:1 with the study group to match age, final antral follicles, and gonadotropin doses used. Retrieved

dosis de gonadotrofinas utilizadas. Se analizaron ovocitos recuperados, MII, embriones obtenidos, embriones de buena calidad, embarazo clínico por paciente, tasa de implantación y embriones criopreservados disponibles. Se usaron promedios, test-t, Mann-Whitney, y Chi-cuadrado. Se consideró una $p < 0,05$ como estadísticamente significativa.

Resultados: El grupo de estudio obtuvo un mayor porcentaje de ovocitos recuperados/folículos finales (82% vs 77% - $p = 0,0027$), mayor cantidad de ovocitos MII ($9,4 \pm 4,2$ vs $8,0 \pm 4,2$ - $p = 0,0412$). No hubo diferencias en embriones obtenidos, embriones de buena morfología, y embarazo clínico acumulado por paciente (61% vs 66% - NS). Para lograr resultados acumulados las pacientes de Dual Trigger se transfirieron menos embriones ($1,4 \pm 0,5$ vs $1,7 \pm 0,9$ - NS) totales, quedando disponibles para futuras transferencias 62% vs 42% de los embriones logrados ($p < 0,0001$).

Implicancias de los hallazgos: En concordancia con estudios previos se encontró mayor tasa de ovocitos maduros en dual trigger en pacientes normorrespondedoras. La mayor proporción de embriones criopreservados en el grupo de dual trigger permitiría más oportunidades de transferencias embrionarias sin realizar un nuevo ICSI.

Palabras clave: dual trigger, maduración final ovocitaria, normorrespondedoras.

oocytes, MII, embryos obtained, good-quality embryos, clinical pregnancy per patient, implantation rate, and available cryopreserved embryos were analyzed. Averages, t-tests, Mann-Whitney tests, and chi-square tests were used. A $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Results: *The study group obtained a higher percentage of retrieved oocytes/final follicles (82% vs. 77% - $p = 0.0027$) and a higher number of MII oocytes (9.4 ± 4.2 vs. 8.0 ± 4.2 - $p = 0.0412$). There were no differences in the number of embryos retrieved, embryos with good morphology, and cumulative clinical pregnancy per patient (61% vs. 66% - NS). To achieve cumulative results, the Dual Trigger patients transferred fewer embryos (1.4 ± 0.5 vs. 1.7 ± 0.9 - NS), leaving 62% vs. 42% of the embryos retrieved available for future transfers ($p < 0.0001$).*

Implications of the findings: *In line with previous studies, a higher rate of mature oocytes was found in dual trigger patients who responded normally. The higher proportion of cryopreserved embryos in the dual trigger group would allow for more opportunities for embryo transfers without performing a repeat ICSI.*

Key words: *dual trigger, final oocyte*

INTRODUCCIÓN

En el ciclo natural humano, cuando los niveles de estradiol secretado por los folículos preovulatorios superan los 200 pg/ml se produce la liberación de la GnRH desde la hipófisis, la cual producirá el aumento de la secreción tanto de FSH como de LH⁽¹⁾. El aumento de FSH induce la formación de receptores de LH en las células de la granulosa⁽²⁾ mientras que la elevación de la LH genera cambios intracelulares en los ovocitos que se encuentran arrestados en profase I y en los niveles de cAMP/cGMP de las células de la granulosa. Esto provoca la reanudación de la meiosis hasta metafase II, consiguiendo la maduración del ovocito, estado en el cual adquiere la competencia para poder ser fertilizado por un espermatozoide⁽³⁾ y la luteinización de las células de la granulosa que comienzan a liberar progesterona.

En los ciclos de estimulación ovárica controlada para tratamientos de alta complejidad (ICSI/FIV) se induce el crecimiento sincrónico de la mayor cantidad de folículos que sea posible, con la administración de FSH y/o menotropinas. Para la maduración ovocitaria inicialmente se utilizaba hCG debido a la similitud de la subunidad beta entre la hCG y la LH, lo que permite la estimulación de los receptores de LH en las células de la granulosa⁽⁴⁾. Sin embargo la hCG posee una afinidad mayor por los receptores de LH y es cinco veces más potente que la LH, a la vez que su vida media, y por ende sus efectos, son más prolongados⁽³⁾. Además, la administración de hCG promueve la liberación de factores vasculares como el VEGF, el cual aumenta la permeabilidad vascular y el riesgo de SHEO⁽¹⁾. A raíz de estas complicaciones y con el desarrollo de ciclos de estimulación con esquemas con antagonistas de GnRH

para la inhibición del pico prematuro de LH se comenzaron a utilizar agonistas de GnRH para la maduración ovocitaria⁽⁵⁾, los cuales producen una respuesta más fisiológica con la liberación de FSH y LH endógena de la hipófisis⁽⁶⁾. La corta duración del pico de LH causa una luteólisis temprana con disminución de LH a las 24-36 horas, lo cual explica la disminución del SHEO por disminución de la liberación de péptidos vasoactivos como el VEGF⁽⁷⁾, sin embargo también se asocia con mayores tasas de aborto en transferencias en fresco y baja tasa de embarazo por deficiencia del cuerpo lúteo^(5,8).

La doble descarga, o dual trigger, surge como una estrategia para aprovechar el beneficio de ambos tipos de descarga, tanto la reducción del SHEO de los análogos como el rescate del cuerpo lúteo generado por la administración de hCG⁽⁷⁾. Ambas se prescriben entre 35-37 horas previo a la punción ovocitaria, o 40 y 34 horas previo a la misma (double trigger)⁽⁹⁾. Diversos estudios mostraron la efectividad de esta combinación respecto a mejor tasa de ovocitos maduros recuperados y, embriones de buena calidad⁽¹⁰⁾, mientras que el estudio realizado por Sule demostró que no se vería afectada la euploidia embrionaria⁽¹¹⁾. Sin embargo, el metaanálisis publicado por el grupo de Gonzalez no encontró diferencias respecto a ovocitos maduros obtenidos ni embriones de buena calidad⁽¹⁵⁾.

No está claro si existe beneficio del uso de dual trigger respecto a los resultados en transferencia de embriones en fresco y congelados y tasa de embarazo acumulado.

El objetivo de este estudio es analizar si el uso de dual trigger para maduración final ovocitaria mejora los resultados reproductivos en normorrespondedoras.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio retrospectivo de caso-control en el que se recolectaron datos de pacientes normorrespondedoras que realizaron tratamiento de alta complejidad, ICSI, en el periodo comprendido entre Junio del 2021 hasta Abril del 2024. Los criterios de inclusión fueron: edad menor de 40 años, recuento de folículos antrales mayor a 5, Hormona Antimulleriana entre 1,2 y 3,5 ng/ml y/o FSH menor a 10 UI/ml.

La estimulación folicular inició entre el día 2-3 del ciclo luego de control ecográfico y valoración de estradiol basal, se utilizó esquema con gonadotrofinas con dosis entre 225 a 300 UI/día y antagonistas de GnRH indicados cuando se objetivó un folículo mayor a 14 mm o estradiol mayor o igual a 500 pg/ml. Se conformaron dos grupos según el tipo de descarga de maduración ovocitaria realizada. El grupo de estudio comprendió 54 pacientes que recibieron descarga con 250 ugr de hCGr (Ovidrel Sc) + 0,2 mg de acetato de triptorelina (Gonapeptyl Sc), mientras que el grupo control quedó conformado por 108 pacientes las cuales recibieron 250ugr de hCGr (Ovidrel Sc) o 10000 UI hCGu (Dinaron IM) para la maduración final. Las pacientes incluidas en el grupo control se seleccionaron en proporción 2:1 con el grupo de estudio para coincidir en la edad, folículos finales, folículos antrales y dosis de gonadotrofinas utilizadas.

En ambos, la descarga se realizó luego de obtener 2 o más folículos mayores a 18 mm y la punción para la captación ovocitaria fue realizada a las 36 horas de haber sido administradas.

Se realizó ICSI a las 5-6 horas post aspiración y, se comprobó fertilización a las 17 horas. Se transfirieron aquellos embriones con calidad 1-2 embriones en día 3-4 o un blastocisto en día 5, y se criopreservaron

en día 5-6 los de calidad blastocistos desarrollados no transferidos. Se consideraron de buena calidad embriones de día 3 de 8 o más células y hasta 10% de fragmentos, mórulas de día 4 compactadas, sin fragmentos y sin vacuolas⁽¹²⁾, y blastocistos 3BB o mejores según la clasificación de Gardner⁽¹³⁾.

Análisis de datos estadísticos

Las pacientes de los grupos se compararon en: edad, HAM, FSH basal, recuento de folículos antrales (RFA), dosis de gonadotrofinas, folículos finales.

Se analizaron las siguientes variables: cantidad de ovocitos recuperados, proporción de ovocitos recuperados por folículos totales, proporción de ovocitos MII por ovocitos recuperados, tasa de MII fertilizados normales por MII inyectados, tasa de embriones viables por ovocito fertilizado y tasa de embriones de buena calidad obtenidos por ovocito fertilizado.

Se analizaron los resultados acumulados logrados luego de transferencia en fresco y/o criopreservados: de embarazo clínico acumulado (total de embarazos con visualización ecográfica de embrión con latido cardiaco positivo de 7 o más semanas por paciente), y de implantación acumulada (total de sacos gestacionales por total de embriones transferidos).

El análisis estadístico se realizó con el paquete Med Calc (10.2.0.0). Se compararon promedios mediante test-t o test de Mann-Whitney según fuera normal o no la distribución de cada variable. Se compararon proporciones mediante test de Chi-cuadrado. Un $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativo.

RESULTADOS

El estudio incluyó 162 pacientes: 54 en el grupo que recibió dual trigger y 108 en

el grupo que recibió hCG. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos respecto a la edad, valores de HAM iniciales, RFA, dosis de gonadotrofinas utilizadas en la estimulación, y cantidad de folículos finales previa a la descarga con hCG o con dual trigger.(Tabla 1).

Los resultados de embriología se exponen en la tabla 2. Se encontró mayor proporción de ovocitos recuperados por folículos finales en el grupo de la doble descarga ($p = 0,0027$), con una mayor cantidad de ovocitos MII recuperados ($p = 0,0412$), aunque no mayor de MII.

Luego del ICSI fueron comparables entre los grupos la tasa de fertilización por ovocito inyectado, y las tasa de embriones totales y de buena calidad por ovocito

fertilizado.

Respecto a los resultados reproductivos se analizó el total de transferencias realizadas en ambos grupos incluyendo transferencias de embriones en fresco y criopreservados. Se realizaron 60 transferencias del grupo en estudio y 155 en el grupo control, a 46 y 100 pacientes, lo que resultó en un promedio de transferencias por pacientes de $1,3 \pm 0,5$ y $1,6 \pm 0,9$. Se transfirieron un total de 63 y 170 embriones respectivamente. No se encontraron diferencias significativas en la tasa de embarazo clínico ni en la tasa de implantación acumuladas. Estos resultados comparables se lograron de manera más eficiente en el grupo de dual trigger, con transferencia de un total de 63 embriones (38% de los 166

Tabla 1. Características sociodemográficas y resultados de estimulación ovocitaria

	Dual Trigger	hCG	p
N	54	108	
Edad	$35,2 \pm 2,7$	$34,8 \pm 3,0$	0,3744
HAM	$2,2 \pm 0,8$	$2,0 \pm 0,7$	0,9797
FSH basal	$6,9 \pm 1,9$	$7,0 \pm 2,0$	0,5980
Folículos antrales (RFA)	$11,8 \pm 4,1$	$12,4 \pm 4,2$	0,3247
Dosis gonadotrofinas	2235 ± 403	2169 ± 450	0,3216
Folículos finales	$14,1 \pm 4,5$	$13,3 \pm 4,4$	0,2493

Valores expresados en N y %.

Tabla 2. Resultados de embriología

	Dual Trigger	hCG	p
Folículos finales	764	1435	
Ovocitos recuperados	628 (82%)	1099 (77%)	0,0027
	$11,6 \pm 5,0$	$10,2 \pm 5,1$	0,0871
Ovocitos MII	507 (81%)	869 (79%)	0,4456
	$9,4 \pm 4,2$	$8,0 \pm 4,2$	0,0412
MII inyectados	485	848	
MII fertilizados	343 (71%)	564 (67%)	0,1283
Embriones totales obtenidos	166 (48%)	294 (52%)	0,2745
Embriones de buena calidad	133 (38%)	238 (42%)	0,3581
Embriones totales/paciente	$2,5 \pm 2,0$	$2,4 \pm 1,5$	0,5202

Valores expresados en N y % o promedios \pm sd.

embriones obtenidos) comparado con el grupo de hCG en el que se transfirieron en total 170 embriones (58% de los 294 embriones transferidos). A la fecha queda 103 y 124 embriones sin transferir en cada grupo (62% vs 42% - $p < 0,0001$). (Tabla 3).

DISCUSIÓN

El dual trigger se ha estudiado e implementado en los últimos años como una estrategia para la maduración final ovocitaria en pos de obtener mejores resultados reproductivos. Varios trabajos han sido realizados para establecer si realmente existe un beneficio o no del dual trigger respecto a los resultados reproductivos en pacientes normorrespondedoras.

En nuestro trabajo, hemos encontrado aumento significativo en el porcentaje de ovocitos recuperados por folículo en el grupo de doble descarga al igual que los estudios publicados de Haas et al, Ali et al al, Gonzalez et al y Setti et al ^(9,10,14,15).

La cantidad de ovocitos MII obtenidos fue significativamente mayor en el grupo de doble descarga, tal como lo hicieron los grupos de Haas y Ali ^(9,10) pero con una proporción de MII por ovocitos recuperados comparable, lo que indica que la mayor cantidad de MII se debe a mayor recuperación ovocitaria, no a una maduración

diferente. Un metaanálisis publicado en 2023 por Gonzalez, que incluyó 4 estudios randomizados controlados y 2 estudios de cohorte prospectivos estableció que si bien hay un aumento en la cantidad de ovocitos MII recuperados y mayor cantidad de embriones obtenidos esta diferencia no es significativa ⁽¹⁵⁾. Se sabe que el uso de análogos de GnRH produce una inducción de la ovulación más fisiológica al producir tanto la liberación de FSH como de LH que inicia incluso a las 4 horas de su colocación. Diversos estudios han demostrado que la liberación de FSH en la mitad del ciclo ayuda a la formación de receptores de FSH en las células de la granulosa y además tendría un rol en la activación de la meiosis ovocitaria, promoviendo la expansión de las células de la granulosa y separando al ovocito de las paredes foliculares, facilitando su maduración y ovulación ⁽⁹⁾, mientras que la exposición a LH reanuda la meiosis y maduración ovocitaria desde metafase I hasta la metafase II adquiriendo la competencia para ser fertilizado ⁽³⁾. El dual trigger entonces puede generar una respuesta más temprana y maduración de ovocitos más potente por el efecto de la FSH y LH endógenas mientras que la hCG exógena podría servir como rescate en caso de una respuesta insuficiente a

Tabla 3. Características sociodemográficas y resultados de estimulación ovocitaria

	Dual Trigger	hCG	p
Pacientes transferidas	46	100	
Transferencias	60	155	
Transferencia/paciente	1,3±0,5	1,6±0,9	0,2407
Embarazo clínico/paciente	28 (61%)	66 (66%)	0,6779
Embriones totales obtenidos	166	294	
Embriones transferidos	63	170	
Embriones transferidos por paciente	1,4±0,5	1,7±0,9	0,0845
Sacos gestacionales (tasa de implantación)	29 (46%)	68 (40%)	0,4965
Embriones criopreservados disponibles	103 (62%)	124 (42%)	<0,0001

Valores expresados en N y % o promedios ± sd.

los análogos⁽¹⁶⁾. Esto explicaría la mayor recuperación de ovocitos maduros demostrada por Griffin *et al*⁽¹⁷⁾ en pacientes con historia previa de recuperación de más de un 25% de ovocitos inmaduros.

Respecto a la tasa de fertilización, nuestros resultados concuerdan con la mayoría de las publicaciones que concluyen que la diferencia no es significativa^(2,9,14) por lo que ambas estrategias son comparables y no habría una alteración en la calidad de las gametas.

Sobre la tasa de implantación los resultados son más heterogéneos ya que hay grupos que al igual que nosotros, si bien obtuvieron porcentajes mayores estos no fueron significativos^(2,9,18) mientras que otros, encuentran valores aumentados con significancia estadística^(1,10,14).

Por otro lado, si bien se han logrado tasas de embarazo acumuladas comparables entre los grupos, el grupo de doble descarga lo ha hecho con un número menor de transferencias y de embriones totales transferidos. Y aunque la proporción de pacientes embarazadas no es estadísticamente diferente entre los grupos, el grupo de doble descarga dispone de más embriones criopreservados para futuras transferencias, lo que representaría mayor posibilidad de nuevas transferencias sin necesidad de realizar un nuevo ciclo de estimulación ovárica. Este parámetro de valor en lo que respecta al futuro reproductivo de las pacientes es analizado solo en algunas publicaciones^(9,10,18).

Entre las debilidades de nuestro estudio están el diseño retrospectivo, y el tiempo corto de seguimiento que no permite ver tasas de embarazo acumulado finales, luego de la transferencia de todos los embriones disponibles criopreservados. Dentro de las fortalezas, se destaca la cantidad de

pacientes en comparación a otros estudios publicados, la homogeneidad de pacientes mediante el diseño de caso-control elegido, la estandarización de los protocolos respecto a las dosis y horarios de aplicación tanto de la hCG como del agonista, y la publicación de los resultados aún si estos no están en concordancia con estudios de mayor poder estadístico.

A futuro, creemos que es importante poder continuar con el desarrollo prospectivo de este estudio donde podamos incluir mayor cantidad de pacientes y la aleatorización de las mismas. A su vez, poder realizar un estudio semejante en pacientes baja respondedoras en quienes puede resultar una opción para obtener mejores resultados reproductivos.

CONCLUSIÓN

La doble de descarga es una estrategia válida en pacientes normorespondedoras, ya que permite mayor obtención de ovocitos totales y maduros sin afectar la tasa de fertilización, tasa de embarazo y tasa de implantación, permitiendo disponer mayor cantidad de embriones criopreservados para futuras transferencias.

ABREVIATURAS

hCG: Gonadotropina Coriónica humana

FSH: Hormona Folículo Estimulante

LH: Hormona Luteinizante

ICSI: Inyección Intracitoplasmática de Espermatozoides

GnRH: Hormona Liberadora de Gonadotropinas

VEGF: Factor de Crecimiento Endotelial Vasculares

SHEO: Síndrome de Hiperestimulación Ovárica

HAM: Hormona Anti Mulleriana

RFA: Recuento de Folículos Antrales

REFERENCIAS

1. Zhu, Haiyan *et al.* "Dual Trigger for Final Follicular Maturation Improves Cumulative Live-Birth Rate in Ovarian Stimulation for Freeze-All *In Vitro* Fertilization/Intracytoplasmic Sperm Injection Cycles." *Frontiers in endocrinology* vol. 12 708247. 19 Jul. 2021, doi:10.3389/fendo.2021.708247
2. Albeitawi, Soha *et al.* "Dual trigger with gonadotropin-releasing hormone agonist and human chorionic gonadotropin significantly improves oocyte yield in normal responders on GnRH-antagonist cycles." *JBRA assisted reproduction* vol. 26,1 28-32. 17 Jan. 2022, doi:10.5935/1518-0557.20210039
3. Abbara, A., Clarke, S. A., & Dhillon, W. S. (2018). Novel Concepts for Inducing Final Oocyte Maturation in In Vitro Fertilization Treatment. *Endocrine Reviews*, 39(5), 593–628. doi:10.1210/er.2017-00236
4. Shakerian, Bahar *et al.* "Dual Trigger Compared with Human Chorionic Gonadotropin Alone and Effects on Clinical Outcome of Intracytoplasmic Sperm Injection." *International journal of fertility & sterility* vol. 15,4 (2021): 294-299. doi:10.22074/IJFS.2021.135720.1010
5. Humaidan, P., Kol, S., & Papanikolaou, E. (2011). GnRH agonist for triggering of final oocyte maturation: time for a change of practice? *Human Reproduction Update*, 17(4), 510–524. doi:10.1093/humupd/dmr008
6. Kozlowski, Isadora Ferreira *et al.* "Dual trigger and the impact on oocyte quality and embryo development: a Brazilian cohort." *JBRA assisted reproduction*, vol. 27,4 629–637. 28 Sep. 2023, doi:10.5935/1518-0557.20230048
7. Engmann, L., Benadiva, C., & Humaidan, P. (2016). GnRH agonist trigger for the induction of oocyte maturation in GnRH antagonist IVF cycles: a SWOT analysis. *Reproductive BioMedicine Online*, 32(3), 274–285. doi:10.1016/j.rbmo.2015.12.007
8. Shapiro, B. S., Daneshmand, S. T., Garner, F. C., Aguirre, M., & Hudson, C. (2011). Comparison of "triggers" using leuprolide acetate alone or in combination with low-dose human chorionic gonadotropin. *Fertility and Sterility*, 95(8), 2715–2717. doi:10.1016/j.fertnstert.2011.03
9. Ali, Shymaa S *et al.* "Dual trigger using recombinant HCG and gonadotropin-releasing hormone agonist improve oocyte maturity and embryo grading for normal responders in GnRH antagonist cycles: Randomized controlled trial." *Journal of gynecology obstetrics and human reproduction* vol. 49,5 (2020): 101728. doi:10.1016/j.jogoh.2020.101728
10. Haas, J *et al.* "GnRH agonist and hCG (dual trigger) versus hCG trigger for final follicular maturation: a double-blinded, randomized controlled study." *Human reproduction (Oxford, England)* vol. 35,7 (2020): 1648-1654. doi:10.1093/humrep/deaa107
11. Yildirim Kopuk, Sule *et al.* "Does dual trigger improve euploidy rate in normoresponder? A cross-sectional study." *International journal of reproductive biomedicine* vol. 21,5 395-402. 12 May. 2023, doi:10.18502/ijrm.v21i5.13473
12. Feil D, Henshaw RC, Lane M. Day 4 embryo selection is equal to Day 5 using a new embryo scoring system validated in single embryo transfers. *Hum Reprod* 2008; 23(7): 1505-1510
13. Gardner DK, Lane M, Stevens J, Schlenker T, Schoolcraft WB.. Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer. *Fertil Steril*.2000 Jun; 73(6):1155-1158
14. Setti, Amanda Souza *et al.* "Dual trigger improves response to ovarian stimulation and ICSI outcomes in patients with a previous r-hCG triggered ICSI cycle." *JBRA assisted reproduction* vol. 26,2 255-260. 17 Apr. 2022, doi:10.5935/1518-0557.20210065
15. González, Virginia González *et al.* "Dual

- trigger vs. Conventional trigger outcomes in In Vitro Fertilization. Systematic review and meta-analysis." *JBRA assisted reproduction* vol. 27,1 112-119. 30 Mar. 2023, doi:10.5935/1518-0557.20220035
16. Lin, Ming-Huei *et al.* "Dual trigger with gonadotropin releasing hormone agonist and human chorionic gonadotropin significantly improves live birth rate for women with diminished ovarian reserve." *Reproductive biology and endocrinology : RB&E* vol. 17,1 7. 4 Jan. 2019, doi:10.1186/s12958-018-0451-x
17. Griffin, Daniel *et al.* "Dual trigger with gonadotropin-releasing hormone agonist and standard dose human chorionic gonadotropin to improve oocyte maturity rates." *Fertility and sterility* vol. 102,2 (2014): 405-9. doi:10.1016/j.fertnstert.2014.04.028
18. Yan, Meng-Han *et al.* "Dual trigger for final oocyte maturation in expected normal responders with a high immature oocyte rate: a randomized controlled trial." *Frontiers in medicine* vol. 10 1254982. 5 Oct. 2023, doi:10.3389/fmed.2023.1254982

Evaluación de la calidad de vida y satisfacción del tratamiento en pacientes con infertilidad

Quality of life and treatment satisfaction assesment in patients with infertility

Schabelman G¹, Molina SV¹, Manini MF¹, Jaspe ME¹, Buteler MA¹

¹ Sanatorio Argentino, San Juan, Argentina

RESUMEN

Pregunta de estudio: ¿Las personas que se encuentran en estudio o tratamiento por infertilidad perciben alteraciones en su calidad de vida?

Respuesta resumida: Se encontró una buena percepción de calidad de vida en la población estudiada.

Lo que ya se sabe: la infertilidad y su tratamiento pueden tener efectos negativos en la calidad de vida, afectando el bienestar emocional y social de los pacientes. FertiQuol es un test psicométrico validado internacionalmente para medir la calidad de vida en personas que experimentan infertilidad.

Diseño del estudio: prospectivo, descriptivo y transversal.

Materiales y métodos: A todas las personas que consultaron durante un periodo de 6 meses se les entregó el cuestionario FertiQuol, versión impresa en español. Las respuestas se cargaron en la página <https://www.fertistat.com/fertiqol/> por miembros del equipo, para obtener el puntaje psicométrico correspondiente. Se analizó el puntaje FertiQuol total, subescalas core y tratamiento

ABSTRACT

Study question: Do people undergoing study or treatment for infertility perceive alterations in their quality of life?

Summary response: A good perception of quality of life was found in the studied population.

What is already known: infertility and its treatment can have negative effects on the quality of life, affecting the emotional and social well-being of patients. FertiQuol is an internationally validated psychometric test to measure quality of life in people experiencing infertility.

Study design: prospective, descriptive and cross-sectional.

Materials and methods: All people who consulted during a period of 6 months were given the FertiQuol questionnaire, printed version in Spanish. The responses were uploaded to the page <https://www.fertistat.com/fertiqol/> by team members, to obtain the corresponding psychometric score. The total FertiQuol score, core subscales and treatment were analyzed with their different areas according to gender and in 3 age groups: up to 34 years, 35 to 39 and

con sus distintas áreas según género y en 3 grupos etáreos: hasta 34 años, 35 a 39 y 40 o más. Se analizaron separadamente las respuestas correspondientes a satisfacción con el tratamiento.

Resultados: Se incluyeron 89 personas. Se obtuvo FertiQuol total en mujeres 75 (subescala core 75,4 y tratamiento 74) y en hombres 79 (subescala core 79 y tratamiento 75). Las diferencias no fueron significativas analizadas según género y grupos etáreos, excepto para el grupo de hombres de 40 años o más que fue levemente superior. Predominó la satisfacción respecto a tratamientos, pudiendo mejorar los servicios ofrecidos para atención emocional.

Limitaciones: podrían existir diferencias entre pacientes según diagnóstico, número o tipo de tratamiento; estudio realizado en un solo centro privado.

Implicancias de los hallazgos: conocer la percepción de calidad de vida en pacientes con infertilidad y su satisfacción con la atención permite desarrollar estrategias para mejorar su bienestar.

Palabras clave: Infertilidad, calidad de vida, tratamiento, FertiQoL, bienestar emocional, satisfacción.

40 or more. The responses corresponding to satisfaction with the treatment were analyzed separately.

Results: 89 people were included. Total FertiQuol was 75 in women (core subscale 75.4 and treatment 74) and 79 in men (core subscale 79 and treatment 75). The differences were not significant when analyzed according to gender and age groups, except for the group of men aged 40 years or older, which was slightly higher. Satisfaction with treatments predominated, and the services offered for emotional care could be improved.

Limitations: there could be differences between patients according to diagnosis, number or type of treatment; study carried out in a single private center.

Implications of the findings: knowing the perception of quality of life in patients with infertility and their satisfaction with care allows us to develop strategies to improve their well-being.

Key words: Infertility, quality of life, treatment, FertiQoL, emotional well-being, satisfaction.

INTRODUCCIÓN

La “calidad de vida” fue definida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como las percepciones de los “individuos” sobre su posición en la vida en el contexto de la cultura y los sistemas de valores en los que viven y en relación con sus objetivos, expectativas, estándares e inquietudes. Los estudios psicosociales demuestran una alta incidencia de reacciones negativas a la infertilidad y su tratamiento, que afectan la satisfacción y bienestar general en la vida, el éxito del tratamiento, la voluntad de continuar con el tratamiento, la evaluación del tratamiento, y la satisfacción a largo plazo si el tratamiento no tiene éxito y no tienen hijos⁽¹⁾.

En pacientes con infertilidad se producen desajustes personales, relacionales y sociales. A lo anterior, se suma el desgaste derivado de los tratamientos, que son invasivos de la intimidad y disruptivos del funcionamiento cotidiano, de resultados inciertos requiriendo iteración (ciclos esperanza/fracaso), y progresivos hacia mayor complejidad médica. Como resultado, las parejas exhiben una disminución del bienestar personal global y de la calidad de vida⁽²⁾.

Las experiencias emocionales negativas, como ansiedad, depresión y estrés, son extremadamente comunes entre las personas infértiles. Esto está vinculado a una serie de elementos complejos, incluidas las concepciones sociales tradicionales y el costo económico del tratamiento⁽³⁾.

Cuanto más avanza un paciente en el tratamiento, más a menudo presenta síntomas de depresión y ansiedad. También se ha demostrado que cuanto más deprimida esté una mujer infértil, es menos probable que comience un tratamiento de infertilidad y más probable que lo abandone después de un solo ciclo. Los investigadores

también han demostrado que, a pesar de un buen pronóstico y de tener los fondos disponibles para pagar el tratamiento, la interrupción se debe en la mayoría de los casos a razones psicológicas⁽⁴⁾.

Se han identificado factores psicosociales protectores (que disminuyen el estrés) y otros de riesgo (que aumentan el estrés). Los factores de riesgo identificados en estas pacientes fueron personalidades neuróticas, autocrítica y con vulnerabilidad a la depresión, uso de estrategias de afrontamiento de evitación o escapismo, sentimientos de impotencia e insatisfacción conyugal. Los factores psicosociales protectores identificados fueron: el rasgo de personalidad optimista, afrontamiento centrado en el problema, relación familiar/marital positiva, apoyo social, aceptación de la situación y estilo de relación apego seguro⁽⁵⁾. La resiliencia influye positivamente en la calidad de vida de personas que experimentan infertilidad⁽⁶⁾.

La medición de la calidad de vida es importante para identificar aspectos de los problemas de fertilidad asociados con mala calidad de vida y realizar investigaciones de evaluación en servicios de salud, satisfacción de pacientes y formulación de políticas mediante el uso de una herramienta de medición estándar. La herramienta FertiQoL fue diseñada por ESHRE y ASRM para analizar calidad de vida en poblaciones infértiles. Ha sido validada y traducida a 42 idiomas. Consiste en un test psicométrico que consta de 2 escalas principales: a) Escala FertiQoL- Core que mide nivel de bienestar personal en 4 dimensiones o sub-escalas: Emocional, Mente-Cuerpo, Relacional y Social (total 24 ítems), y b) Escala FertiQoL-Tratamiento compuesta por 2 sub-escalas: Tolerancia (grado de tolerancia a las molestias físicas de los tratamientos, 4 ítems) y Satisfacción (o

Ambiente, que evalúa el grado de satisfacción con los servicios médicos y con la relación médico-paciente, 6 ítems). Se asigna una puntuación numérica entre 0 y 100, en que mayor puntaje corresponde a mejor calidad de vida^(1,2).

Dos estudios en Argentina utilizaron esta herramienta, uno en mujeres bajo tratamiento de ovodonación⁽⁷⁾ y otro que comparó mujeres argentinas y españolas en tratamiento de FIV⁽⁸⁾.

El objetivo general de este trabajo es describir la percepción de calidad de vida de personas en estudio y/o tratamiento por infertilidad en la población atendida en nuestro centro. Los objetivos específicos son (a) comparar subgrupos de género y edad con respecto a la calidad de vida vinculada a la infertilidad y su tratamiento (b) evaluar el grado de satisfacción de pacientes de infertilidad con respecto a la atención recibida.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio prospectivo, descriptivo, transversal en una institución privada: Servicio de Fertilidad de Sanatorio Argentino, San Juan, Argentina.

A todas las personas que consultaron en el servicio de Fertilidad del Sanatorio Argentino en el periodo comprendido entre junio y noviembre de 2023, se les entregó en sala de espera el cuestionario FertiQuol impreso, versión en español, al cual se adjuntó un consentimiento informado incluyendo el objetivo del presente trabajo. Se solicitó responder una única vez si en este período realizaban varias consultas. En el caso de parejas, se les solicitó que cada miembro responda un cuestionario. Las respuestas fueron anónimas requiriendo únicamente los campos obligatorios para procesar (fecha de nacimiento, género, persona en pareja o no, iniciales

de nombre y apellido). Las respuestas fueron completadas en la página <https://www.fertistat.com/fertiqol/> por miembros del equipo, para obtener el puntaje psicométrico correspondiente a cada encuesta. Los resultados se cargaron en el programa GraphPad Prism 5 para realizar el análisis de algunos de los datos y en el Excel los subítems correspondiente a satisfacción con la atención médica.

Criterios de inclusión: Todas las personas que consultaron en el servicio de fertilidad, respondiendo una única vez, solicitando que respondan la primera página si aún no comenzaron tratamientos y las 2 páginas en caso de haber iniciado al menos un tratamiento de baja o alta complejidad.

Criterios de exclusión: más de una respuesta por persona; formularios que no tuvieran completos los puntos obligatorios.

Se evaluó el puntaje psicométrico en cada área: subescala Core: mente/cuerpo, emocional, relacional, social. Subescala tratamiento: ambiente, tolerabilidad.

Se analizaron las respuestas considerando el total y los siguientes subgrupos: género y 3 grupos de edades: menos o hasta 34 años, 35 a 39 años y 40 o más.

Para el análisis de datos se utilizó el programa GraphPad Prism 5. Se calcularon promedios de los resultados de cada área y sub escalas según grupo etáreo y género. Se compararon entre sí utilizando T Student para subgrupo género y ANOVA para los subgrupos de edades.

Para evaluar la satisfacción con la atención recibida se analizó en el programa Excel en forma separada las 6 respuestas de la subescala tratamiento (disponibilidad de servicios médicos, comunicación con personal médico, satisfacción con la cirugía y/o tratamiento médico, satisfacción con servicios para necesidades emocionales, empatía, calidad de información sobre

cirugías y/o tratamientos médicos) obteniendo los porcentajes correspondientes.

El presente trabajo cuenta con la aprobación del Comité de Docencia e Investigación del Sanatorio Argentino.

RESULTADOS

Se entregaron 100 encuestas, cumpliendo los criterios de inclusión 89 que integraron el grupo de estudio. Este grupo estuvo constituido por 63 mujeres y 26 hombres. La distribución de edades fue la siguiente: 25 mujeres menores de 34 años, 20 mujeres de 35 a 39 años y 18 mujeres de 40 a 39 años y 18 mujeres de 40

o más años. En el caso de los varones la distribución fue: 6 hasta 34 años, 11 de 35 a 39 años y 9 de 40 años o más (Gráfico1). En todo el grupo el 93,3% tenía pareja y el 6,7% no tenía pareja.

Obtuvimos los siguientes puntajes de FertiQuol: FertiQuol total 76.1. En el caso de mujeres, subescala core 75.4 y para la subescala tratamiento 74. En el grupo de hombres, subescala core 79 y subescala tratamiento 75.

En el Gráfico 2 se detallan todos los ítems de cada subescala en mujeres y en el Gráfico 3 en hombres.

Gráfico 1. Distribución por edades y género.

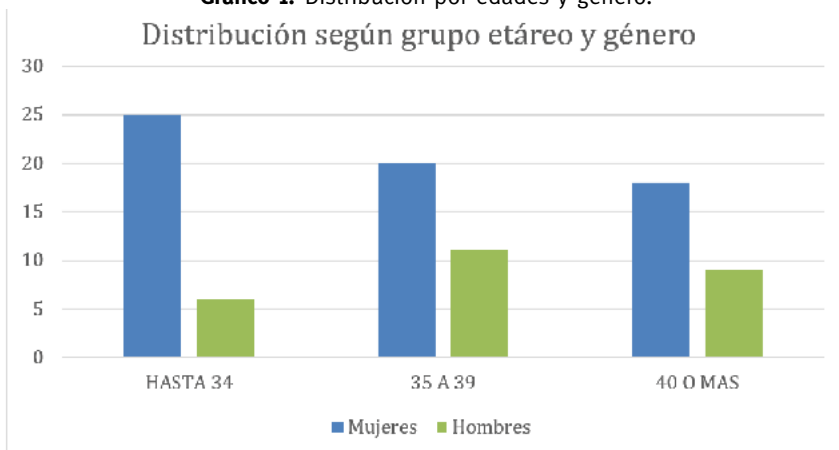


Gráfico 2. FertiQuol en mujeres.



Gráfico 3. FertiQuol en mujeres.



Al realizar el análisis estratificado por edad y género de los distintos ítems del Fertiquol se encontraron los siguientes resultados (Gráficos 4 y 5). En la subescala core el mayor puntaje en mujeres se obtuvo en mujeres de 35 a 39 años, pero en la subescala tratamiento el mayor puntaje fue en las pacientes mujeres de 34 o menos. Las diferencias entre los grupos etáreos no fueron estadísticamente signi-

ficativas($p=0.06$).

Para el caso de los hombres el mayor puntaje en subescala core fue para los de 40 o más años y en el caso de la subescala tratamiento el mayor valor lo obtuvo el grupo de 35 a 39 años. Cuando se analizaron todos los valores encontramos una diferencia estadísticamente significativa a favor del grupo de más edad ($p=0.03$).

Gráfico 4. FertiQuol en mujeres en diferentes grupos etáreos

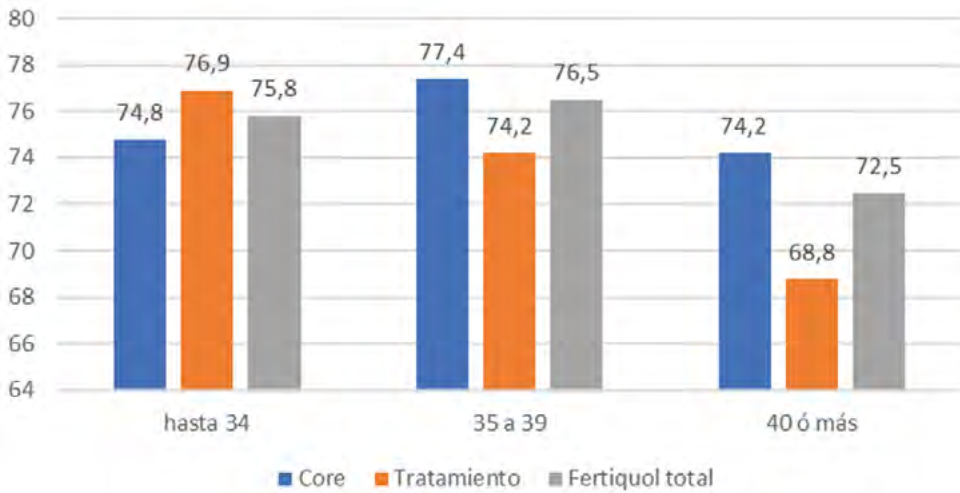
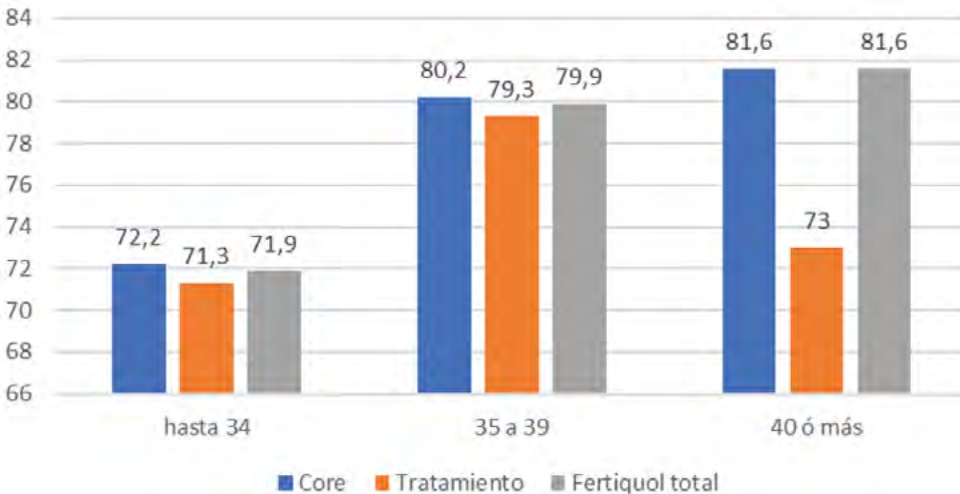
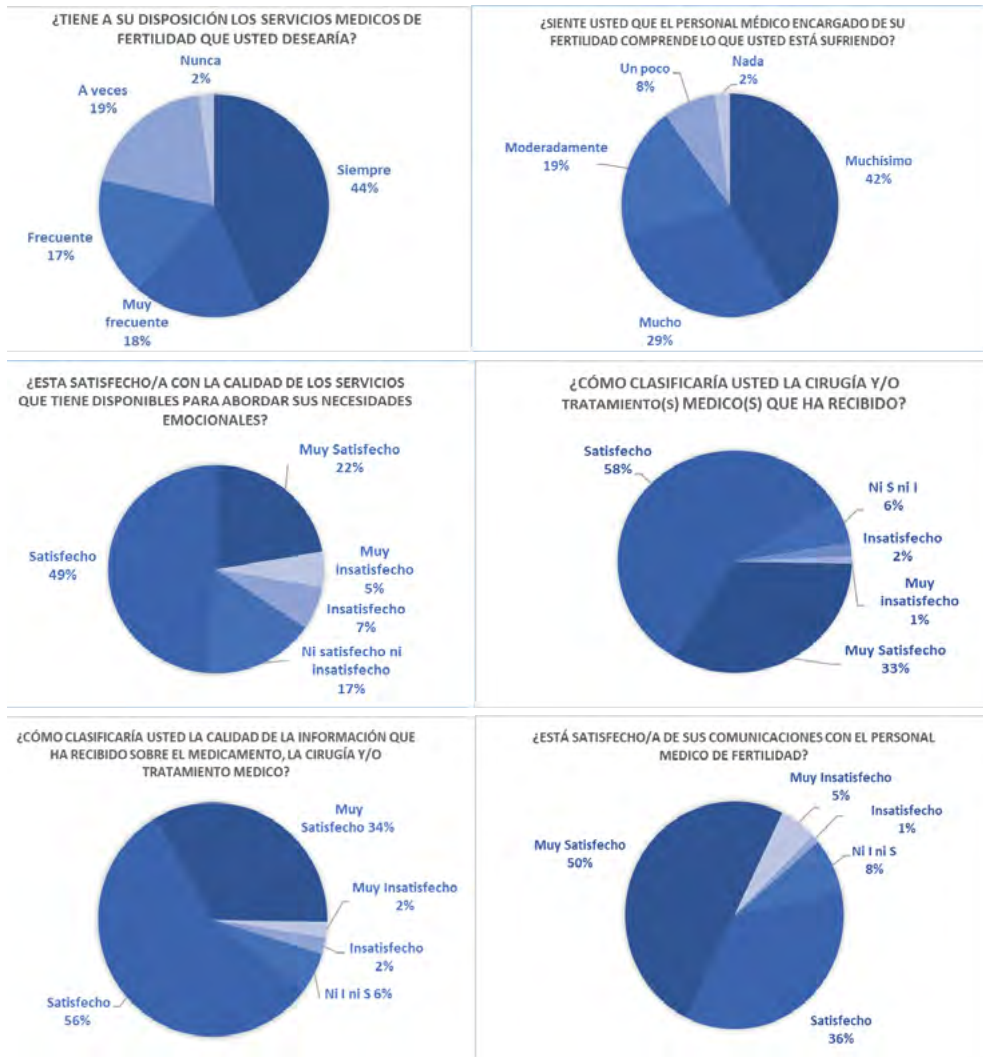


Gráfico 5. FertiQuol en hombres en diferentes grupos etáreos



Las respuestas generales de los ítems correspondientes a la satisfacción que muestra con la atención se presenta en porcentajes en los siguientes gráficos.



En ellos se puede observar que cuando se preguntó sobre la disposición de los servicios médicos de fertilidad que desearía un 79% de la población analizada respondió que frecuentemente, muy frecuentemente o siempre estaban a su disposición estos servicios.

En el caso de la pregunta que indaga sobre si el paciente siente que el personal de salud comprende lo que están sufriendo un 71% respondió que mucho o muchísimo.

En cuanto a satisfacción con los servicios disponibles para abordar necesidades emocionales, un 71 % respondió que se encuentra muy satisfecho o satisfecho.

La satisfacción ante el tratamiento o cirugía fue expresada como satisfactoria o muy satisfactoria por el 91% de las personas.

La calidad de información sobre el tratamiento se expresó como muy satisfactoria o satisfactoria en el 90% de los casos y, finalmente cuando se evaluó la

comunicación con el personal médico, las personas contestaron que se encontraban muy satisfechos o satisfechos en el 86% de la población analizada.

DISCUSIÓN

La herramienta FertiQuol ha sido validada y utilizada en distintos países y aplicada a distintos grupos de pacientes. Se han estudiado pacientes que están por realizar tratamientos de FIV, o en diferentes etapas del tratamiento, o comparaciones entre primer y segundo ciclo; pacientes que tuvieron resultados negativos; subgrupos específicos como hombres que experimentan infertilidad, comparación entre pacientes con diferentes diagnósticos, comparación entre hombres y mujeres o comparación de poblaciones residentes en diferentes lugares de un mismo país^(2,4-14). La mayoría de los estudios son europeos, hallando en la bibliografía 2 estudios en poblaciones argentinas y 1 en población chilena.

Si bien el proyecto FertiQuol no establece un puntaje de referencia a partir del cual se califique buena calidad de vida, mayores puntajes corresponden a mejor calidad de vida, por lo que se puede considerar que el grupo estudiado muestra una buena calidad de vida y satisfacción con la atención. En el presente estudio se observó que no hubo diferencias significativas entre hombres y mujeres, ni entre los distintos grupos etáreos de mujeres. Sólo se encontraron diferencias significativas en el grupo de hombres de mayor edad, mostrando mayor puntaje psicométrico. Este resultado difiere con lo hallado en la bibliografía, donde se reporta menor puntaje de FertiQuol en mujeres que en hombres. Una posible causa podría ser que se trata de diferentes poblaciones.

Con respecto a los ítems referidos a Satisfacción (o Ambiente), considerando en

cada pregunta las 2 mejores opciones, se observó que predominan las respuestas que muestran satisfacción respecto a tratamientos, información brindada sobre los mismos y comunicación con el personal médico. Se observa una oportunidad de mejorar los servicios brindados para atender las necesidades emocionales, pudiendo mejorar también la empatía sentida por pacientes. Respecto a la disponibilidad de servicios médicos deseados, llama la atención que hay un grupo importante de pacientes que muestran insatisfacción. Tratándose de un centro privado de Medicina Reproductiva, este grupo podría corresponder a pacientes sin cobertura de obra social o que encuentran dificultades con las mismas, reflejando una menor accesibilidad. Cabe destacar que en Argentina los estudios y tratamientos de fertilidad tienen cobertura de obras sociales y sistemas de medicina prepaga por ley⁽¹⁵⁾, correspondiendo a este grupo la población mayoritaria atendida en este centro.

Cuando se realizan comparaciones con la bibliografía es muy importante tener en cuenta que en distintos estudios se seleccionaron pacientes en diferentes situaciones clínicas, tal como se mencionó anteriormente.

De la bibliografía analizada es de interés mencionar dos estudios que utilizaron FertiQuol en Argentina, siempre teniendo en cuenta que se trata de distintos tipos de pacientes. Uno de ellos, comparó población argentina y española en mujeres que estaban por realizar su primer tratamiento de fertilización in vitro mediante FertiQuol subescala Core, encontrando que la población argentina tenía una mejor calidad de vida (78,85 vs. 62,68). Esta diferencia fue atribuida en parte a una mejor accesibilidad a tratamientos en Argentina por la ley antes mencionada y en parte a motivos

culturales⁽⁸⁾. El puntaje obtenido en la población española fue similar a otros estudios en población holandesa e inglesa. Los resultados del presente estudio considerando la subescala Core (75,4 en mujeres y 79 en hombres) son comparables a los obtenidos en población argentina en dicho estudio.

En el otro estudio argentino que utilizó FertiQuol sobre mujeres que estaban por realizar tratamientos de FIV con ovodonación⁽⁷⁾ se obtuvieron puntajes superiores al del presente estudio (aproximadamente 81).

Este estudio permite conocer la percepción de calidad de vida de nuestra población siendo el primero que se realiza en nuestra provincia.

Una fortaleza de este estudio es haber incluido a toda la población que consultó, evaluando calidad de vida en hombres y mujeres y en distintos grupos étnicos. Una limitación es que al no diferenciar pacientes en estudio, diagnóstico, número ni tipo de tratamiento, podrían existir diferencias al considerar esos aspectos.

Al evaluar la calidad de vida de pacientes con infertilidad, se pueden elegir estrategias que ayuden a mejorar su bienestar, adherencia al tratamiento y satisfacción con los servicios brindados.

REFERENCIAS

1. Boivin J, Takefman J, Braverman A. The fertility quality of life (FertiQoL) tool: development and general psychometric properties. *Hum Reprod.* 2011 Aug;26(8):2084-91. doi: 10.1093/humrep/der171. Epub 2011 Jun 10. PMID: 21665875; PMCID: PMC3137391
2. Furman, Irene, & Charlin, Ventura. Calidad de vida de parejas infértiles en el sector público de Chile. *Revista médica de Chile.* 2017, 145(11),1378-1386. <https://dx.doi.org/10.4067/s0034-98872017001101378>
3. Liu K, Dou S, Qin W, et al. Association between quality of life and resilience in infertile patients: a systematic review. *Front Public Health.* 2024;12:1345899. Published 2024 Feb 27. doi:10.3389/fpubh.2024.1345899
4. Rooney KL, Domar AD. The relationship between stress and infertility. *Dialogues Clin Neurosci.* 2018;20(1):41-47. doi:10.31887/DCNS.2018.20.1/krooney
5. Rockliff HE, Lightman SL, Rhidian E, Buchanan H, Gordon U, Vedhara K. A systematic review of psychosocial factors

CONCLUSIÓN

La percepción de calidad de vida de los pacientes atendidos en nuestro Servicio mostró una buena calidad de vida en general (FertiQuol 76,8), sin diferencias significativas entre hombres y mujeres, ni entre distintos grupos étnicos (excepto hombres de 40 o más edad). Predomina la satisfacción con respecto a la atención recibida en los tratamientos, observando una oportunidad de mejorar los servicios para atender necesidades emocionales.

La importancia de este estudio consiste en que al conocer cómo perciben su calidad de vida las personas atendidas en el Centro y su satisfacción respecto a la atención, es posible planear estrategias de acción en pos de su bienestar y de facilitar la adherencia a los tratamientos y servicios ofrecidos.

Estos hallazgos pueden servir como punto de partida para futuras investigaciones en nuestra población, tanto en nuestro medio como en otros centros.

Agradecimientos

Agradecemos a Emilce Sánchez, Yasmin Bordón, Carolina Glantz y Federico Glantz por su colaboración en la entrega amable de encuestas y en la carga de encuestas y datos.

- associated with emotional adjustment in in vitro fertilization patients. *Hum Reprod Update*. 2014;20(4):594-613. doi:10.1093/humupd/dmu010
6. Ha JY, Ban SH. Effect of resilience on infertile couples' quality of life: an actor-partner interdependence model approach. *Health Qual Life Outcomes*. 2020;18(1):295. Published 2020 Sep 1. doi:10.1186/s12955-020-01550-6
 7. Navas Jiménez; Violeta A.; Tabullo Ángel J.; Pelletan Leonardo; Martínez Antonio R. Calidad de vida y psicopatología en mujeres en tratamiento de reproducción asistida por ovodonación. Reproducción. Programa final, resúmenes de trabajos, XIX Congreso Argentino de Medicina Reproductiva - SAMeR 2021, 17, 18 y 19 de marzo de 2021
 8. Villamil Quiroga M, Neuspiller F, San Román B, Ballesteros A, Guerra D. Calidad de vida en pacientes en tratamiento de reproducción asistida: población española y argentina. *Cuadernos de Medicina Reproductiva*. 2018;24(2):67-72.
 9. Domar AD, Gross J, Rooney K, Boivin J. Exploratory randomized trial on the effect of a brief psychological intervention on emotions, quality of life, discontinuation, and pregnancy rates in in vitro fertilization patients. *Fertil Steril*. 2015;104(2):440-51. e7. doi:10.1016/j.fertnstert.2015.05.009
 10. Gameiro S, Boivin J, Dancet E, et al. ESHRE guideline: routine psychosocial care in in-fertility and medically assisted reproduction-a guide for fertility staff. *Hum Reprod*. 2015;30(11):2476-2485. doi:10.1093/humrep/dev177
 11. van Dongen AJ, Nelen WL, Int'Hout J, Kremer JA, Verhaak CM. e-Therapy to reduce emotional distress in women undergoing assisted reproductive technology (ART): a feasibility randomized controlled trial. *Hum Reprod*. 2016;31(5):1046-1057. doi:10.1093/humrep/dew040
 12. Martins MV, Basto-Pereira M, Pedro J, et al. Male psychological adaptation to unsuccessful medically assisted reproduction treatments: a systematic review. *Hum Reprod Update*. 2016;22(4):466-478. doi:10.1093/humupd/dmw009
 13. Li Y, Zhang X, Shi M, Guo S, Wang L. Resilience acts as a moderator in the relationship between infertility-related stress and fertility quality of life among women with infertility: a cross-sectional study. *Health Qual Life Outcomes*. 2019 Feb 15;17(1):38. doi: 10.1186/s12955-019-1099-8. PMID: 30770738; PMCID: PMC6377764.
 14. Santoro N, Eisenberg E, Trussell JC, et al. Fertility-related quality of life from two RCT cohorts with infertility: unexplained infertility and polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*. 2016;31(10):2268-2279. doi:10.1093/humrep/dew175
 15. <https://www.argentina.gob.ar/normativa/nacional/ley-26862-216700/texto>

REVISTA REPRODUCCIÓN

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

Entidades editoras

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

Dirección postal

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



Revista

Reproducción

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

