

Reproducción Asistida

## Influencia de la cohorte ovocitaria y embrionaria en la tasa de gestación en FIV/ICSI

### *Influence of oocyte and embryo cohort in gestational rate in IVF/ICSI*

Blanes R, Vaca R, González J, Alberto JC

Hospital Universitario de Canarias. La Laguna. Santa Cruz de Tenerife.

#### **Resumen**

**Introducción:** *La mejora en los resultados de gestación en los programas de reproducción humana asistida es un objetivo constante. Muchas son las variables presentes en cada ciclo de FIV/ICSI y en este trabajo realizamos un análisis de todos esos parámetros para determinar cuales están relacionados significativamente con la tasa de gestación y cuales no.*

**Diseño:** *Registramos para cada paciente los siguientes datos: edad, causa de infertilidad, número de ovocitos extraídos, número de embriones obtenidos, número de embriones de buena calidad y número de embriones transferidos. Extendemos el estudio a un total de 386 pacientes consecutivas tratadas en nuestra unidad, divididas en dos grupos según si quedaron o no gestantes.*

**Resultados:** *No encontramos diferencia en cuanto a edad entre estos dos grupos, tampoco encontramos diferencias en cuanto a la patología de la infertilidad. Sí obtenemos diferencias favorables para el grupo de gestantes en el número de ovocitos extraídos, el número de embriones total, número de embriones de buena calidad y también en el número de embriones transferidos.*

**Conclusiones:** *Concluimos que para nuestro grupo de estudio es más importante la cohorte de ovocitos y embriones para predecir la probabilidad de gestación que otros factores como la edad o causa de infertilidad.*

**Palabras Clave:** Cohorte de ovocitos. Cohorte de embriones. Edad. Gestación.

---

**Correspondencia:** Dra. Raquel Blanes  
C/Ismael Domínguez 157-D  
38350 Tacoronte  
Tenerife  
rblaneszamora@yahoo.es

## Summary

**Introduction:** *The improvement in gestational results in the reproduction centres is a constant objective. In each IVF/ICSI cycle there are many variable parameters and we are making an analysis of all those factors in the present study to determine the ones that are related with pregnancy.*

**Design:** *We registered for each patient the following parameters: age, infertility cause, oocyte number, embryo number, number of good quality embryos and number of embryos transferred. We extended the study to a total of 386 consecutive patients treated in our unit, and we divided them in two groups, pregnant and non pregnant.*

**Results:** *In this study we find no differences in age or cause of infertility between the two groups. We do find differences in number of oocytes, number of embryos, number of good quality embryos and number of transferred embryos that are higher for the pregnant group.*

**Conclusions:** *We conclude that for our study group the most important factors to determine pregnancy are the oocyte cohort and embryo cohort.*

**Key words:** Oocyte cohort. Embryo cohort. Age. Gestation.

## INTRODUCCIÓN

La finalidad de las técnicas de reproducción asistida (FIV/ICSI), es conseguir una gestación evolutiva, y para ello se han ido introduciendo cambios en los centros de reproducción que han ido dirigidos a mejorar la estimulación de la ovulación, las condiciones ambientales de los laboratorios, una importante mejora en la composición de los medios de cultivo y los cada vez más importantes controles de calidad. El conjunto de todo ello ha hecho posible que en los últimos años las tasas de gestación en reproducción asistida (RA) hayan mejorado muy significativamente.

Para cada ciclo de reproducción se registran una gran cantidad de variables que de una u otra forma van a tener su importancia en los resultados que se obtengan. Un factor que siempre se considera como determinante en la predicción de la tasa de gestación es la edad, considerándose que la tasa de implantación y gestación empiezan a decaer a partir de los 35 años (1), y ya por encima de los 40 la caída es mucho mayor. Este es un dato que se tiene muy en cuenta a la hora de decidir el número de embriones que se transfieren a una paciente. Otros factores que se estudian son la causa de la infertilidad (2), el número de ovocitos extraídos (2, 3), la calidad embrionaria (4), y el número de embriones transferidos (5).

En el presente estudio analizamos para un grupo de 386 pacientes consecutivas de FIV/ICSI una serie de factores: edad, causa de infertilidad, número de ovocitos extraídos, número de embriones obtenidos, número de embriones de buena calidad y número de embriones transferidos. Contrastamos todos estos da-

tos separando a las pacientes en dos grupos, gestantes y no gestantes para determinar si hay diferencias para alguno de los parámetros estudiados.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Para este estudio se toman los datos de un total de 386 pacientes sucesivas del programa de FIV/ICSI de nuestra unidad de reproducción. Tras recoger todos los datos (edad, número de ovocitos, número de embriones total, número de embriones de buena calidad, número de embriones transferidos y gestación), se establecen los dos grupos en función de si quedaron gestantes o no.

**Protocolo FIV:** A las 36 h de la administración de la hCG se realiza la extracción folicular. Los ovocitos se identifican y tras ser lavados se pasan a medio de cultivo IVF y en el incubador a 37°C y 6% CO<sub>2</sub> durante 3h de incubación. Pasado este tiempo se prepara la placa de FIV con macrogotas de 100µl conteniendo el semen a una concentración entre 200.000 y 500.000 espermatozoides/cc y recubiertas de aceite mineral embriotestado. Se inseminan los ovocitos y se deja en el incubador hasta el día siguiente. A las 18-20 h postinseminación se decumulan los ovocitos, se pasan a una placa de cultivo en microgotas de 20µl con medio ISM1® (Medicult) y se valora la fertilización al microscopio. El día +2 se valora la calidad embrionaria y si no se transfieren en este día, se pasan a medio ISM2® (Medicult) y el día +3 se vuelve a valorar la calidad embrionaria.

**Protocolo ICSI:** Se procede igual con la captación folicular y se guardan los ovocitos en el incubador durante 2-3 horas. Tras este período de incuba-

ción se realiza la decumulación con hialuronidasa 80UI/ml previamente calentada y con ayuda de pipetas de decumulación de 33µm de diámetro. Tras la completa eliminación de las células de la granulosa se pasan los ovocitos a medio IVF y quedan en el incubador durante al menos 1 hora antes de ser microinyectados.

Se prepara la placa de ICSI y se microinyecta un máximo de 7 ovocitos por placa. Tras la microinyección se pasan los ovocitos a medio ISM1® (Medicult) en placas de cultivo en microgotas recubiertas de aceite mineral embriotestado y se dejan en el incubador hasta el día siguiente. A las 16-18h postinseminación se hace la valoración de la fertilización y se pasan a medio ISM1® (Medicult) nuevo gaseado desde el día previo. A las 48h se valora la calidad embrionaria en día +2 y si no se transfieren ese mismo día, pasamos los embriones que al menos estén en estadio de cuatro células a medio ISM2® (Medicult) y se valoran en día +3 para seleccionar los embriones a transferir.

**Valoración del score embrionario:** Valoramos la calidad embrionaria en una escala de 0 a 10 en la que consideramos para día +2 y para día +3 el índice de división embrionaria, la igualdad y/o regularidad de las blastómeras, el grado de fragmentación y si hay presencia o no de blastómeras multinucleadas.

Consideramos un embrión como de buena calidad si tiene un score a partir de 7.

## RESULTADOS

Recogemos en la tabla 1 los resultados para los dos grupos estudiados (Ver Tabla 1).

No hay diferencias entre los grupos con respecto a la edad. Sin embargo, podemos observar significación estadística en todos los demás parámetros estudiados: el número de ovocitos es mayor en el grupo de las gestantes (9.19 vs. 8.23 p<0.05), consecuentemente se obtiene un mayor número de embriones (5.64 vs. 4.51 p<0.001), también mejora el número de embriones de buena calidad (3.61 vs. 2.41 p<0.001), y por último se transfiere un número mayor de embriones en el grupo de las gestantes (2.6 vs. 2.25 p<0.001).

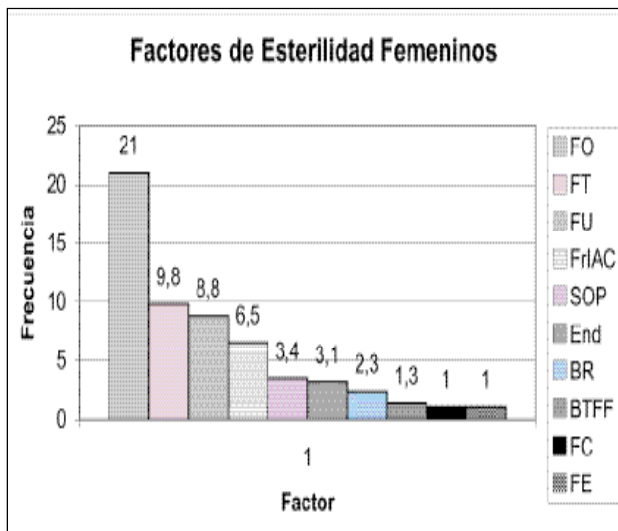
Tras hacer la valoración de las causas de infertilidad no obtuvimos ninguna diferencia significativa entre los dos grupos estudiados.

### -Descripción de las patologías femeninas:

Dentro del factor femenino, las patologías observadas con más frecuencia fueron: el factor ovárico (FO=21.0%), el factor tubárico (FT=9.8%), factor uterino (FU=8.8%), fracaso de IAC (FrIAC=6.5%), SOP (3.4%), endometriosis (End=3.1%), baja respuesta ovárica (BR=2.3%), baja tasa de fertilización en FIV (BTFF=1.3%), factor cervical y endocrino (FC,FE=1%), y el resto de factores se presentaron con frecuencias inferiores al 1%.(Ver Figura 1).

**Tabla 1**  
*Resultados para grupos: no gestante y gestante.*

embarazo	Edad	Nºovocitos	Nºembrio	NºEmb. Score ≥7	NºE.trans.
<b>No</b> Media	33,79	<b>8,23</b>	<b>4,51</b>	<b>2,41</b>	<b>2,25</b>
N	199	199	199	199	199
Desv.tip.	3.591	3.897	2.661	2.116	0,663
<b>Si</b> Media	33,40	<b>9,19</b>	<b>5,64</b>	<b>3,61</b>	<b>2,60</b>
N	186	187	187	187	187
Desv.tip.	3.555	4.271	3.049	2.410	0,600
Total Media	33,60	8,69	5,06	2,99	2,42
N	385	386	386	386	386
Desv. tip.	3.575	4.106	2.908	2.338	0,656
P	0,32	<b>0,028</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>



**Figura 1**

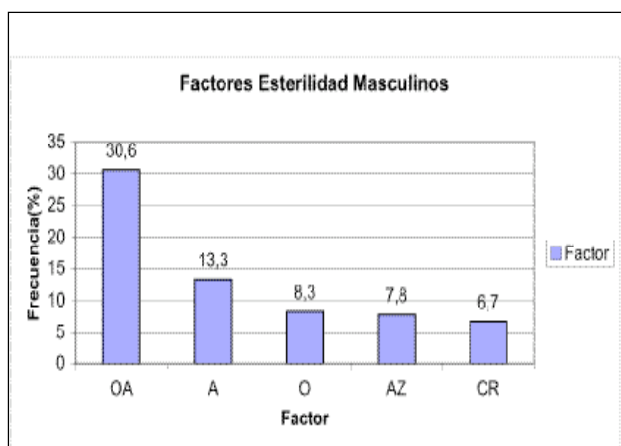
*Frecuencias con que se presentan los factores de esterilidad femenina mas incidentes en este grupo de estudio*

*-Descripción de las patologías masculinas:*

Dentro del estudio de las patologías masculinas, las frecuencias con que se presentaron fueron las siguientes: oligoastenozoospermia (OA=30.6%), astenozoospermia (A=13.3%), oligozoospermia (O=8.3%), azoospermia (AZ=7.8%), y criptoospermia (CR=6.7%).(Ver Figura 2).

No encontramos diferencias significativas entre los dos grupos en cuanto a la causa de infertilidad.

Para el análisis estadístico utilizamos el paquete estadístico SPSS versión 11.1 para Windows, aplican-



**Figura 2**

*Frecuencia con que se presentan los factores de esterilidad masculinos mas incidentes en este grupo de estudio*

do el test de la  $\chi^2$ , y tomando como valor estadísticamente significativo  $P < 0.05$ .

## DISCUSIÓN

En los centros de reproducción asistida se han ido mejorando los resultados de gestación muy sustancialmente en los últimos años como consecuencia de un mayor conocimiento de los factores que afectan a los resultados tanto en el campo de la estimulación de la ovulación como en los progresos dentro del laboratorio de embriología, mejoras en los medios de cultivo, en los controles de calidad, factores físicos y ambientales y un mejor conocimiento de embriología que redundan en una cada vez mejor selección embrionaria.

Es sabido que el score embrionario tiene un peso más determinante en la predicción de la tasa de embarazo que el grosor endometrial (6). Siguiendo esta misma línea, se tiende actualmente a realizar una ajustada selección embrionaria para llegar a la transferencia selectiva de un solo embrión, pauta que se está generalizando en muchos centros para mujeres de menor edad (7, 8), con el fin de reducir al máximo la incidencia de embarazos múltiples pero sin comprometer drásticamente el pronóstico de embarazo. Pero esta idea es aplicable en mujeres jóvenes puesto que a medida que aumenta la edad de la paciente va perdiendo fuerza el valor predictivo del score embrionario y cobrando mayor importancia el factor edad (4). Sin embargo este último aspecto también tiene su matiz dado que con la edad avanzada uno de los efectos más importantes es el descenso en la calidad ovocitaria y un empeoramiento de las tasas de división embrionaria y calidad en general (9), con lo que volvemos de nuevo a incidir en la importancia de la calidad embrionaria.

En nuestro estudio, valoramos la calidad embrionaria de cada embrión considerando varios factores importantes. Uno de ellos es la proporción del tamaño de las blastómeras iguales, semejantes o distintas, pues los embriones con blastómeras desiguales presentan una menor tasa de gestación e implantación que es consecuencia de unas mayores tasas de aneuploidías y multinucleación (10). Hardarson y col. lanzan la hipótesis de que al dividir una célula en dos desiguales una de ellas reciba menor cantidad de proteínas, mRNA, mitocondrias y demás orgánulos y parece plausible que cada blastómera necesite una cierta cantidad de componentes citoplasmáticos para su sustento. Además se añade a esto los estudios desarrollados por Edwards y Beard (11) que sostienen que el ovo-

cito está polarizado de modo que ciertas proteínas y productos génicos no están homogéneamente distribuidos en el óvulo sino que lo están de forma polarizada de modo que una desigual división de las blastómeras amplificaría más este efecto.

Pero como factor de mayor peso en la valoración de la calidad embrionaria se considera la capacidad evolutiva de cada embrión, factor al que se asigna la mayor puntuación en la valoración del score embrionario aplicado en nuestro estudio, de modo que un embrión tendrá la mejor valoración cuando en día +2 tenga al menos cuatro células y en día +3 al menos seis células. Los embriones con una tasa lenta de división está demostrado que tienen una menor tasa de implantación (12), y es cierto que lo verdaderamente importante es que el embrión alcance cada estadio de división en el rango de tiempo adecuado. Si no se ha producido la primera división a las 24-28 horas postinseminación aunque el día del transfer el embrión tenga buena morfología, estará asociado a unas tasas bajas de implantación, puesto que la frecuencia de las divisiones mitóticas está relacionada con el potencial de implantación de un embrión (13).

En cuanto al grado de fragmentación es sabido que el aumento en la tasa de fragmentación de un embrión disminuye su potencial de implantación (14), lo que está de acuerdo con el hecho de que los embriones muy fragmentados tienen menor tasa de desarrollo a blastocisto y los blastocistos a que dan lugar tienen menor número de células (15), de modo que este es un parámetro que se tiene en gran consideración a la hora de calificar la calidad morfológica de un embrión.

Además de lo anteriormente descrito, cuando un embrión tiene blastómeras multinucleadas se relaciona con anomalías cromosómicas en el embrión y con un menor potencial de desarrollo (16), de modo que el criterio que adoptamos en nuestro laboratorio es evitar su transferencia.

La mala morfología embrionaria probablemente refleja ovocitos con un potencial de desarrollo comprometido que pueda ser por sí mismo un factor de infertilidad independiente. No obstante, cuando la cohorte de ovocitos aumenta también aumenta la posibilidad de que algún embrión alcance un mejor score y esto aumenta las tasas de implantación (17).

En conclusión, una cohorte mayor de ovocitos va acompañada de una mayor cohorte de embriones y esto aumenta el número de embriones de buena morfología de entre los que se puede seleccionar para ser transferidos. Esto determina el potencial de implantación y gestación por encima del factor edad o causa

de infertilidad, lo que también nos ayuda a acotar el número de embriones a transferir en cada caso.

## BIBLIOGRAFÍA

1. **Timeva T, Milachich T, Petkova L, Barov D, Shterev A.**: Assesment of the woman's age as a main predictive factor of assisted reproductive technology treatment outcome. *Akush Ginekol (Sofia)*, 2006; 45 (5): 22-27.
2. **Qublan HS, Malkawi HY, Tahat YA, Areidah S, Nusair B, Khreisat BM, Al-Quraan G, Abu-Assaf, Hadaddein MF, Abu -Jassar H.**: In vitro fertilisation treatment: factors affecting its results and outcome. *J Obstet Gynaecol*, 2005 Oct; 25 (7): 689-93.
3. **Inge GB, Brinsden PR, Elder KT.**: Oocyte number per live birth in IVF: were Steptoe and Edwards less Wasteful?. *Hum Reprod*, 2005 Mar; 20 (3): 588-92.
4. **Lee TH, Chen CD, Tsai YY, Chang LJ, Ho HN, Yang YS.**: Embryo quality is more important for younger women whereas age is more important for older women with regard to in vitro fertilization outcome and multiple pregnancy. *Fertil Steril*, 2006 Jul; 86(1):64-9.
5. **Giannini P, Piscitelli C, Giallonardo A, Sbracia M, Morgia F, Torti M, Montigiani M, Schimberni M.**: Number of embryos transferred and implantation. *Ann N Y Acad Sci*. 2004 Dec; 1034: 278-83.
6. **Laasch C and Puscheck E.** : Cumulative embryo score, not endometrial thickness, is best for pregnancy prediction in IVF. *J.Assist.Reprod.Genet*, 2004 Feb; 21 (2):47-50.
7. **Van Monfort APA, Dumoulin JCM, Laud JA, Coonen E, Derhang JG and Evers JLH.**: Elective single embryo transfer (eSET) policy in the first three IVF/ICSI treatment cycles. *Hum.Reprod*, 2005; Vol. 20, N° 2, pp.433-36.
8. **Thurin A, Hausken J, Hillensjö T, Jablonowska B, Pinborg A, Strandell A and Bergh C.**: Elective single embryo transfer versus doble embryo transfer in in vitro fertilization. *The New England Journal of Medicine*, 2004; Vol. 351, N° 23, pp.2392-2402.
9. **Hsu MI, Mayer J, Aronshon M, Lanzendorf S, Muasher S, Kolm P, Oehninger S.**: Embryo implantation in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection: impact of cleavage status, morphology grade and number of embryos transferred. *Fertil.Steril*, 1999 Oct; 72 (4): 679-85.
10. **Hardarson T, Hanson C, Sjögren A, Lundin K.**: Human embryos with unevenly sized blastómeras have lower pregnancy and implantation rates: indications for aneuploidy and multinucleation. *Hum.Reprod*, 2002 Feb; 16 (2): 313-8.

11. **Edwards RG and Beard HK.:** Oocyte polarity and cell determination in early mammalian embryos. *Mol.Hum.Reprod*, 1997; Vol. 3, 863-905.
12. **Bavister BD.:** Culture of preimplantation embryos: facts and artefacts. *Hum.Reprod.Update*, 1995; 1, 91-148.
13. **Bqczkowski T, Kurzawa R, Glabowski W.:** Methods of embryo scoring in in vitro fertilization. *Reproductive Biology*, 2004; Vol. 4, Nº 1, 5-22.
14. **Alikani M, Cohen J, Tomkin B.A, et al.:** Human embryo fragmentation in Vitro and its implication for pregnancy and implantation. *Fertil.Steril*, 1999 ; 71, 836-842.
15. **Hardy K, Handyside A.H., and Winston R.M.L.:** The human blastocyst: cell number, death and allocation during late preimplantation development in vitro. *Development*. 1989; 107, 597-604.
16. **Pelinck MJ, De Vos M, Dekens M, Van der Elst J, De Sutter P, Dhont M.:** Embryos cultured in vitro with multinucleated blastomeres have poor implantation potencial in human in vitro fertilization and intra cytoplasmic sperm injection. *Human Reprod*, 1998, 13: 960-963.
17. **Devreker F, Pogonici E, De Maertelaer V, Revelard P, Van den Berg M and Englert Y.:** Selection of good embryos for transfer depends on embryo cohort size: implications for the 'mild ovarian stimulation' debate. *Hum Reprod*, 1999; Vol.14, Nº12, pp.3002-3008.