



FACULTAD DE MEDICINA  
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

## GRADO EN MEDICINA

### TRABAJO FIN DE GRADO

**¿Existen diferencias en las tasas de implantación de embriones criopreservados en ciclo sustituido o ciclo natural?**

Are there differences in cryopreserved embryo implantation rates between hormonal replacement treatment cycle and natural cycle?

**Autor:** Dña. Lucía Rodríguez Fernández

**Director/es:** Dña. Concepción Ceballos Rodríguez

**Santander, Junio 2019**

# ÍNDICE

RESUMEN .....	3
ABSTRACT .....	4
INTRODUCCIÓN .....	5
1. ESTERILIDAD. SITUACIÓN EN ESPAÑA. ....	5
2. IMPORTANCIA DE LAS TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA EN NUESTRA POBLACIÓN.....	6
3. TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA .....	7
3.1 Inseminación Artificial Conyugal/Donante (IAC/IAD) .....	7
3.2 Fecundación In Vitro /ICSI.....	7
3.2.1 Estimulación ovárica/ Maduración de los óvulos .....	8
3.2.2 Punción ovárica.....	8
3.2.3 Fecundación.....	9
3.2.4 Transferencia embrionaria .....	10
3.3 Criopreservación de embriones .....	10
3.3.1 Preparación endometrial en ciclos de embriones criopreservados.....	12
OBJETIVOS .....	14
MATERIAL Y MÉTODOS .....	14
RESULTADOS.....	16
DISCUSIÓN.....	20
CONCLUSIONES.....	22
BIBLIOGRAFÍA .....	23
AGRADECIMIENTOS .....	26

## RESUMEN

**Introducción:** La esterilidad es un problema importante en nuestro país, al que las Técnicas de Reproducción Asistida intentan dar solución. La Fecundación in vitro, una de las técnicas más utilizada, consiste en la fecundación de los óvulos por los espermatozoides en el laboratorio para posteriormente introducir el embrión o embriones dentro del útero, proceso denominado transferencia embrionaria. Dicha transferencia se puede realizar inmediatamente después de la punción, transferencia en fresco, o en un segundo tiempo tras la congelación de los embriones, transferencia en diferido o criotransferencia. Para esta última es necesario coordinar el día de desarrollo del embrión con el del ciclo endometrial, proceso conocido como preparación endometrial. En la Unidad de Reproducción Asistida (URA) del HUMV esta preparación se realiza mayoritariamente de dos formas: preparación natural, en la que aprovecharemos el ciclo natural de la mujer y, preparación en ciclo sustituido en la que modificaremos el endometrio con tratamiento hormonal sustituido.

**Objetivos:** Comparar las tasas de implantación y embarazo evolutivo de embriones criopreservados entre pacientes sometidas a transferencia embrionaria con ciclo endometrial natural modificado o sustituido.

**Material y métodos:** Se han estudiado las 264 transferencias de embriones criopreservados realizadas en la URA del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (HUMV) desde enero 2017 hasta diciembre 2018. Estudio comparativo, observacional y prospectivo en el que se recogieron las siguientes variables: edad, tipo preparación endometrial, nivel TSH, grosor endometrial, positividad de la prueba de embarazo y evolución del embarazo. Aplicándose la prueba  $\chi^2$  para evaluar la asociación de variables cualitativas y estableciéndose el nivel de significación cuando la  $p \leq 0.05$ .

**Resultados y discusión:** Se realizaron 147 transferencias con ciclo sustituido y 113 con ciclo natural modificado. La tasa de implantación en el grupo de preparación endometrial sustituido resultó de 34,69% frente a un 20,30% en el ciclo natural modificado, con una  $p=0.06$ . Respecto al embarazo evolutivo, se observaron unos resultados de 21,78% en el ciclo sustituido frente a un 13,27% en el grupo de preparación natural,  $p=0.07$ .

**Conclusiones:** No se observaron diferencias significativas en las tasas de implantación embrionaria, tampoco en las complicaciones de la técnica, nivel de TSH, grosor endometrial y número de transferencias previas.

-

**Palabras claves:** embriones, ciopreservación, preparación endometrial, implantación, vitrificación.

## ABSTRACT

**Introduction:** Infertility is a very important problem in our country, which Assisted Reproductive Technology aims to solve. In Vitro Fertilisation (IVF) is one of the most widely used Assisted Reproductive Technologies. It consists of the fertilization of the ovum by spermatocytes in the laboratory, to then subsequently implant the embryo or embryos into the uterus; this is called embryo transfer. The transfer can be carried out immediately, known as fresh transfer, or the embryo can be frozen and implanted later, known as cryotransfer. It is necessary to coordinate the day of embryo development with a specific day in the endometrial cycle; this is referred to as endometrial preparation. In the Assisted Reproductive Unit of HUMV, the endometrial preparation of the frozen embryo cycle is carried out in two different ways: natural preparation, where the natural cycle of the woman is used; or hormonal replacement cycle, where the endometrium is modified with a hormonal treatment.

**Objective:** To assess if there are differences in embryo implantation and pregnancy rates between patients in which embryo transfer has been made with natural endometrial preparation or hormonal preparation.

**Material and methods:** We studied the 264 embryo transfers of cryopreserved embryos made at the Marques De Valdecilla University Hospital from January 2017 to December 2018. A comparative, observational and prospective study was carried out, in which following data were collected: age of women, endometrial preparation type, TSH level, endometrial thickness, positive pregnancy test and evolution of pregnancy if it occurred. The  $\chi^2$  test was applied to evaluate the association of qualitative variables. Significance was accepted when  $p \leq 0.05$ .

**Results and discussion:** Higher implantation rates were obtained in the hormonal preparation group (34,69%) compared to natural cycle (20,30%) with  $p=0.06$ . Regarding the evolutionary pregnancy, results of 21,78% are observed in the hormonal replacement cycle compared to 13,27% in the natural cycle.

**Conclusion:** The type of endometrial preparation didn't present significant differences in embryo implantation. Moreover, neither were differences in the complications of the technique, endometrial thickness and number of previous transfers made.

-

**Keywords:** embryo, cryopreservation, endometrial preparation, implantation, vitrification.

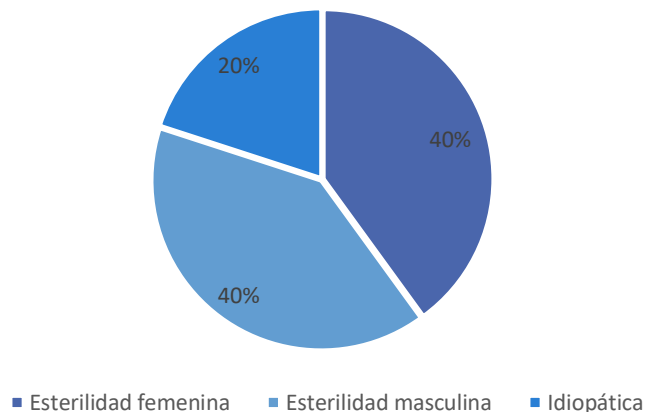
## INTRODUCCIÓN

### 1. ESTERILIDAD. SITUACIÓN EN ESPAÑA.

Según la OMS definimos esterilidad como la incapacidad para la consecución de un embarazo clínico en una pareja que no toma medidas anticonceptivas, y es sexualmente activa, durante un periodo de, al menos, 24 meses. Para otras sociedades científicas, Sociedad Española de Fertilidad (SEF), Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (ESHRE) y la Asociación Americana de Medicina de la Reproducción (ASRM) este periodo queda reducido a 12 meses. Se considera primaria si la pareja no ha tenido gestaciones previas y secundaria cuando si las ha habido, no logra una nueva concepción.

Los conceptos esterilidad e infertilidad se utilizan indistintamente a efectos prácticos, aunque son situaciones clínicas distintas, incapacidad para concebir frente a incapacidad para que los embarazos finalicen en recién nacidos vivos(1).

Actualmente la prevalencia de esterilidad en España se sitúa entre el 10 y el 20% de las parejas en edad fértil. Aunque estimar la tasa de esterilidad no es fácil, ya que se pueden subestimar los datos, pues no todas las parejas estériles consultan o desean someterse a un tratamiento. Es un problema muy frecuente en nuestra población, se calcula que 1 pareja por año y por cada 1.000 habitantes consultará por esterilidad, dando lugar a que unas 600 parejas nuevas al año consultarán por este motivo en Cantabria. Las causas de la esterilidad son variables, pero podemos simplificarlo en el siguiente esquema: esterilidad femenina (40%), esterilidad masculina (40%), esterilidad mixta y esterilidad idiopática o de origen desconocido (5-20%).



*Figura 1. Representación causas esterilidad*

La edad avanzada en las mujeres con deseo reproductivo puede considerarse como la principal causa actual de incremento de la esterilidad en nuestro medio, este aumento en la edad materna se relaciona directamente con cambios socioculturales en el mundo desarrollado en las últimas décadas, tales como la incorporación de la mujer al mundo laboral, el retraso en la independencia económica de las parejas jóvenes y el retraso en las uniones matrimoniales.

En Cantabria, según los últimos datos oficiales, la edad a la que la mujer tiene el primer hijo ha ido creciendo hasta situarse en los 31,27 años, mientras que en España se sitúa en 31,47 años(1,2).

Diversos estudios han confirmado que hay una clara tendencia a la disminución de la fertilidad a medida que aumenta la edad de la mujer siendo más destacada a partir de los 35 años. Respecto a la edad del varón la relación no está tan demostrada, pero se ha visto que la infertilidad en una pareja es mayor cuando la edad de ambos supera los 35. Por otro lado, sí que se ha relacionado la infertilidad masculina con el deterioro de la calidad del semen relacionándose con factores ambientales como la exposición ocupacional, el sobrepeso o los tóxicos como tabaco y alcohol(3).

## 2. IMPORTANCIA DE LAS TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA EN NUESTRA POBLACIÓN

Debido a lo expuesto anteriormente, durante los últimos años se ha registrado un aumento en la demanda de servicios asistenciales en relación con el problema de esterilidad y el desarrollo de las Técnicas de Reproducción Asistida (TRA), esta demanda se ha visto incrementada también por la existencia de nuevos modelos de familia por parte de mujeres sin pareja masculina, bien sea de parejas homosexuales o maternidad monoparental.

Según datos recogidos por el INE, en una encuesta realizada en España en el año 2018, un 5.4% de las mujeres españolas se ha realizado un tratamiento de reproducción asistida, siendo la Inseminación Artificial (IA) y la FIV (Fecundación in vitro) las técnicas más frecuentes. Dicho porcentaje aumenta proporcionalmente con la edad alcanzando su máximo en el grupo de entre 40 y 44 años con un 8.8%(2).

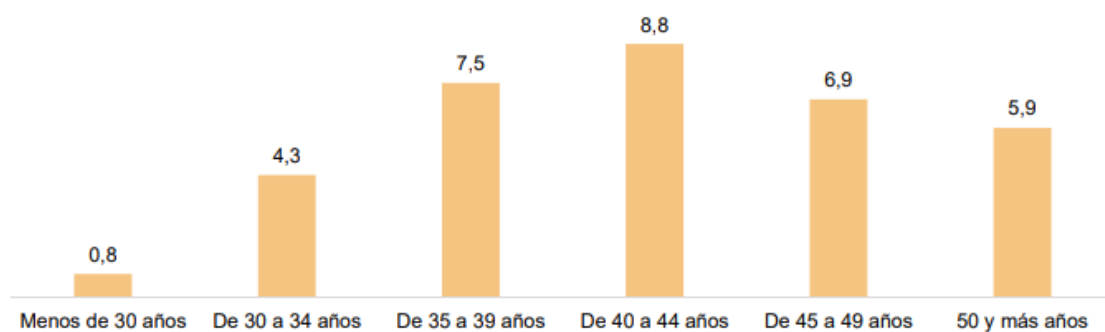


Figura 2. Porcentajes de mujeres que se han realizado tratamiento de RA en España por edades en 2018

La Sociedad Española de Fertilidad (SEF) recoge anualmente, desde el año 2002, los resultados de todos los centros españoles que desarrollan técnicas de reproducción asistida, bien por IA y/o FIV/ICSI. Partiendo de 56 centros en el año 2002, a contar con 240 centros que realizan FIV/ICSI en el 2016. En este último registro se observan unos resultados globales de 32.716 nacidos vivos mediante FIV(4).

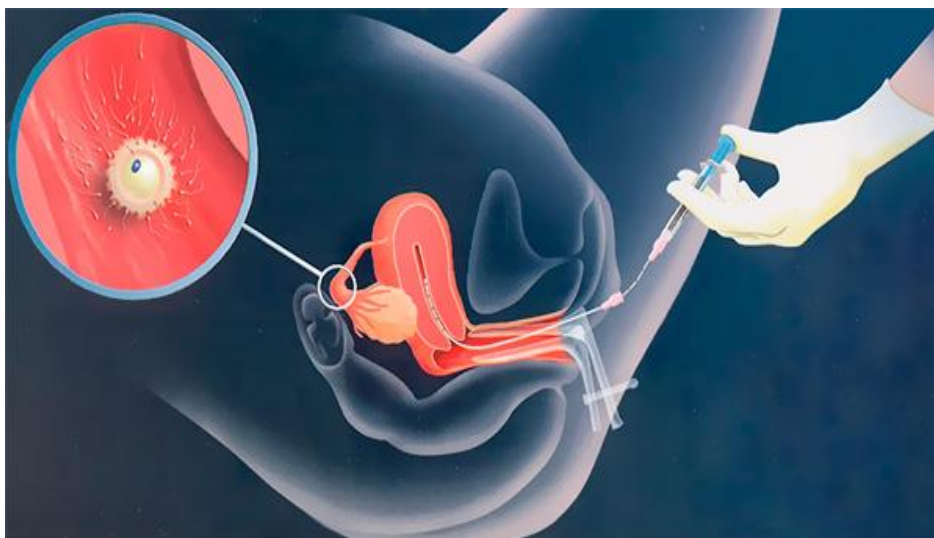
Uno de estos 240 centros especializados es la Unidad de Reproducción Asistida (URA) del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla donde se realizan técnicas de reproducción sencillas como son la IA y técnicas de reproducción avanzadas como FIV/ICSI.

### 3. TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA

Las técnicas de reproducción asistida consisten en un conjunto de procedimientos caracterizados por la actuación directa sobre los gametos (ovocitos y/o espermatozoides) con el fin de favorecer la fecundación y lograr una gestación.

#### 3.1 Inseminación Artificial Conyugal/Donante (IAC/IAD)

Consiste en el depósito espermatozoides, previamente preparados en el laboratorio, de la pareja o de donante, en la cavidad uterina de la mujer durante el período ovulatorio con el propósito de buscar gestación. Esta unión del óvulo y espermatozoide se produce en la trompa (1).



*Imagen 1. Técnica Inseminación Artificial*

#### 3.2 Fecundación In Vitro /ICSI

La FIV/ICSI consiste en una técnica en la cual la unión del óvulo y los espermatozoides se produce en el laboratorio, fuera del aparato reproductor femenino, y en la cual los embriones obtenidos serán posteriormente transferidos al útero de la mujer(1).

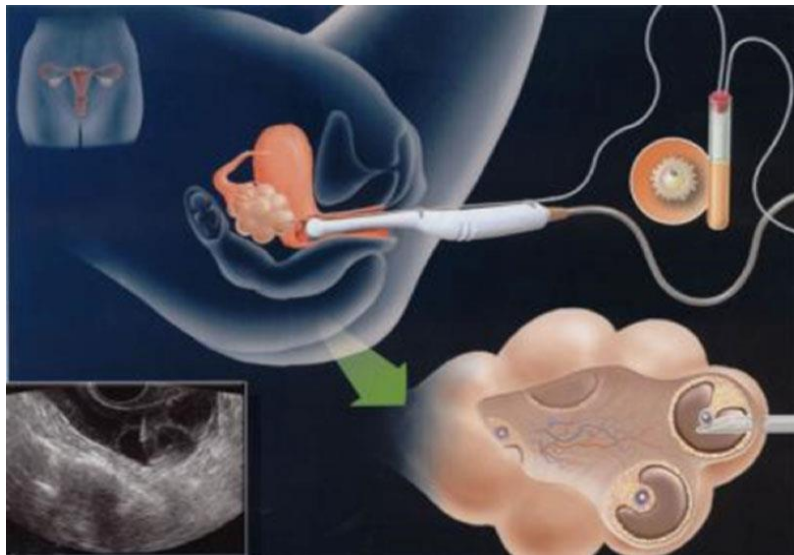
Un ciclo de FIV-ICSI es un proceso complejo que podemos dividir en varias partes:

### 3.2.1 Estimulación ovárica/ Maduración de los óvulos

El primer punto que se lleva a cabo en esta técnica de reproducción asistida consiste en la estimulación ovárica intentando conseguir una respuesta multifolicular. Existen diferentes fármacos y protocolos, los cuales se aplicarán de la forma más personalizada posible a cada mujer (citrato de clomifeno, inhibidores de la aromatasa, gonadotropinas y análogos de GnRH). Se monitoriza analítica y ecográficamente el desarrollo folicular hasta conseguir el tamaño adecuado de los folículos, momento en el que se administraran los fármacos adecuados para inducir la ovulación (HCG o agonistas de la GnRH), lo que se denomina trigger(5,6).

### 3.2.2 Punción ovárica

Aproximadamente 36 horas después del trigger se procede a la extracción de los óvulos. Antiguamente se realizaba mediante laparoscopia lo que permitía la visualización directa de los folículos, hoy en día se ha sustituido por la extracción guiada por ecografía transvaginal bajo sedación de la paciente. Se introduce una aguja tras fondo vaginal puncionando el ovario y aspirando fluido folicular, identificando y aislando posteriormente los óvulos y preparándolos para la fecundación(7).



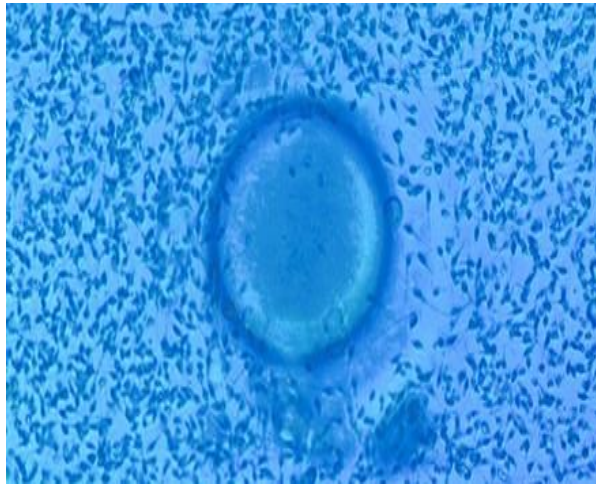
*Imagen 2. Punción ovárica ecoguiada en ciclo FIV*



### 3.2.3 Fecundación

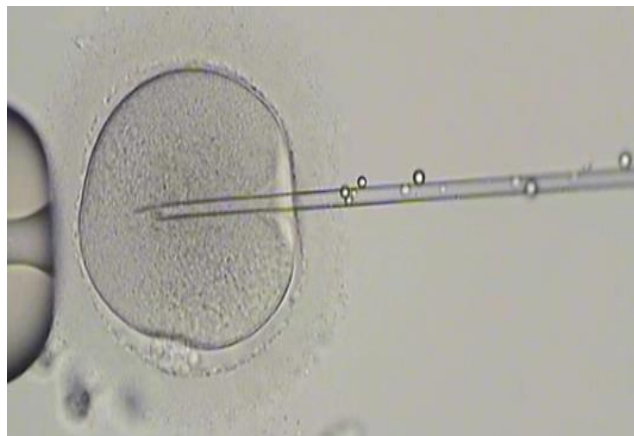
Una vez extraídos los óvulos se procede a la fecundación por el espermatozoide en el medio de cultivo dentro del laboratorio. Existen dos técnicas:

- FIV convencional: Los espermatozoides se ponen en contacto con el ovocito maduro en el medio de cultivo y se incuban durante 12-16 horas en una placa calefactada a 37°.



*Imagen 3. FIV convencional: espermatozoides en contacto con el óvulo*

- ICSI: consiste en la microinyección directamente de un solo espermatozoide en el ovocito maduro. Esta técnica está principalmente indicada en pacientes con historia de fracaso en FIV previas y alteraciones en el espermato (oligospermia, astenozoospermia, teratozoospermia) (8–10).



*Imagen 4. ICSI: microinyección espermatozoide en ovocito maduro*

Una vez realizada la fertilización mediante FIV convencional o ICSI los cigotos se transfieren a medios de cultivo, los cuales pueden ser de monocultivo o secuenciales. Estos últimos son los más utilizados en la actualidad, los cuales difieren de los de monocultivo por ir adaptándose a las necesidades del embrión en cada etapa e ir cambiando los elementos que los componen a medida que el embrión se desarrolla hasta la etapa de blastocito(9).

#### 3.2.4 Transferencia embrionaria

La técnica más comúnmente utilizada es la transferencia a través del canal cervical. Existen diferentes factores que influyen en la correcta utilización de la técnica como:

- Grosor endometrial: el cual debe ser como mínimo de 8mm.
- El tipo de catéter: sobre este hay mucha controversia, pero algunos estudios han destacado que podría ser más efectivo uno de tipo blando, el cual genera menos complicaciones posteriores.
- Transferencia ecoguiada: el uso de transferencia ecoguiada mejora la tasa de embarazos sobre todo en transferencias que se presuponen difíciles de realizar(11,12).

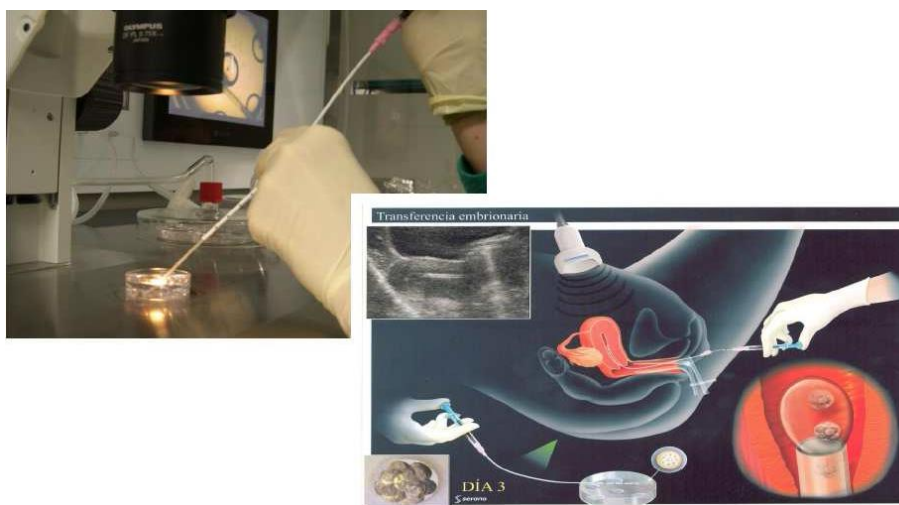


Imagen 5. Transferencia embrionaria en ciclo FIV

### 3.3 Criopreservación de embriones

Los embriones que no se transfieren, bien porque se han generado embriones sobrantes o porque por causas médicas se decida diferir su transferencia, se procederán a criopreservar. La congelación del embrión ha brindado a los profesionales la capacidad de controlar el ciclo reproductivo para mejorar los resultados y reducir las complicaciones, como el síndrome de hiperestimulación ovárica(13–15).

Una muestra del auge de esta técnica son los resultados obtenidos, concretamente en España en el año 2016 se han realizado 25.851 transferencias procedentes de 27.202 descongelaciones, con un 34,4% de tasa de embarazo por ciclos de descongelación de embriones(4).

Existen dos técnicas de criopreservación:

#### **a. Congelación lenta**

Consiste en someter a una célula a temperaturas bajo cero con el fin de disminuir sus funciones vitales (químicas y biológicas), cuando la célula se descongela o se calienta dichas funciones se recuperan. El líquido que mantiene a la célula se congela mientras que el agua intracelular permanece únicamente sobre-enfriada. Este enfriamiento de la célula debe ser lo suficientemente lento como para permitir la eliminación de agua previniendo de esta manera la formación de hielo intracelular y el daño de dicha célula. Este daño celular se puede prevenir con el uso de agentes crioprotectores como glicerol, etilenglicol... que actúan alrededor de la célula aumentando su osmolalidad, es decir, favoreciendo la salida de agua de dentro de ésta(16).

#### **b. Vitrificación**

En este proceso lo que se produce es la solidificación acuosa del embrión sin llegar a formarse cristales de hielo, a diferencia de la congelación lenta, disminuyendo por tanto los daños celulares. Las tasas de supervivencia en la descongelación con esta técnica se acercan al 100% (14,17,18). Para que esto sea posible y aumentar la velocidad de enfriamiento se han fabricado sistemas especiales de vitrificación ultrarrápida como el Cryotop o el BHemi-Straw. Hay diversas opiniones acerca del mejor sistema pero lo cierto es que el riesgo de contaminación, las tasas de maduración, de fertilización y de embarazo no son concluyentes hacia uno u otro tipo de sistema, ya que se han registrado tasas muy elevadas para ambos(19–21).

Una vez que los embriones han sido vitrificados se introducen en nitrógeno líquido para su almacenamiento hasta el momento en el que se descongelen para su utilización.



*Imagen 6. Almacenamiento embriones en nitrógeno líquido*

Las principales indicaciones de la vitrificación de embriones son(22,23):

Pacientes en las que se decide realizar la transferencia embrionaria en un ciclo distinto al de la estimulación folicular, lo que se denomina **transferencia diferida o ciclo segmentado**. Indicado en:

- Ciclos con riesgo de complicaciones en el proceso (síndrome de hiperestimulación ovárica).
- Ciclos con riesgo de disminución en la tasa de gestación (niveles de hormonas no adecuados, endometrio no adecuado, etc.).
- Protocolos en mujeres con baja reserva ovárica.
- Ciclos en los que se decida hacer estudio genético de los embriones.
- La técnica de vitrificación no solo se utiliza en embriones sino también en óvulos de:
  - o Pacientes oncológicas y no oncológicas que van a recibir tratamientos gonadotóxicos.
  - o Mujeres que desean preservar la fertilidad por motivos sociales.

Las finalidades de las técnicas de reproducción asistida no solo son aplicables para buscar gestaciones a corto plazo, también pueden buscar preservar la fertilidad. En este punto se ha producido un gran avance con las técnicas de criopreservación. El auge de este proceso se relaciona con los cambios en la sociedad: incorporación de las mujeres al mundo laboral posponiendo la edad a la que desean ser madres, así como la creación de nuevos modelos de familias: maternidad monoparental, parejas homosexuales, segundos matrimonios. En la sociedad en la que nos encontramos hoy en día esto supone una gran ventaja ya que criopreservando los óvulos de una mujer en su etapa más fértil, se evitan los problemas derivados de una edad materna elevada.

### *3.3.1 Preparación endometrial en ciclos de embriones criopreservados*

En los ciclos de transferencia diferida es fundamental la sincronización entre el día en que esta vitrificado el/los embriones y la maduración endometrial. Encontrando lo que se conoce como “ventana de implantación”. Para favorecer la maduración endometrial en este tipo de ciclos se lleva a cabo la preparación del endometrio mediante diferentes formas(24,25).

#### **Tipos preparación endometrial:**

- Ciclo natural/ciclo natural modificado

En este tipo de preparación el endometrio se estimula por las hormonas producidas por el folículo de manera natural y fisiológica. Está indicado en mujeres con ciclo menstruales regulares y función folicular conservada. Hay q monitorizar el momento de la ovulación, bien hormonalmente, midiendo el pico preovulatorio de LH en sangre

u orina. Estas mediciones son complicadas e incómodas, por lo que para intentar evitar su variabilidad y asegurar el tiempo en que se va a producir la ovulación se estudia mediante ecografía el desarrollo folicular, cuando el folículo dominante ha alcanzado aproximadamente los 18mm y se administra a la paciente **HCG**, trascurren aproximadamente entre 36 y 38 horas hasta el momento en el que se produce la ovulación. A esta variación del ciclo natural se le denomina ciclo natural modificado, el cual tiene la ventaja de monitorizar de mejor manera el momento exacto de la ovulación.

La fase lútea del ciclo se complementa con la administración de **progesterona**, necesaria para estimular la receptividad endometrial y posterior implantación del embrión. En este tipo de ciclo las dosis necesarias son bajas. Esta administración de progesterona se mantiene hasta semanas después de la positivización de la B-HCG, individualizando en cada paciente el momento de su retirada(26).

La ventaja de los ciclos naturales/naturales modificados es la buena tolerancia por las pacientes debido al escaso suplemento hormonal que se administra. Cabe destacar como puntos negativos, que la ovulación puede ocurrir inesperadamente en un ciclo natural lo que dificulta el proceso de descongelación y transferencia de embriones, provocando de esta manera la cancelación del ciclo debido a una ovulación no detectada en un 7 a 12% de los casos. (25,26). En las URA en las que no es posible controlar este proceso diariamente estas cancelaciones pueden aumentar.

- Ciclo sustituido:

Este método se basa en la preparación endometrial de manera exógena con estrógeno y progesterona, a veces se incluyen además agonistas de GnRH en algunas ocasiones para frenar la secreción de las hormonas endógenas hipofisarias.

Se administran **estrógenos** al comienzo del ciclo (por vía oral, transdérmica o vaginal), estimulando el desarrollo del endometrio, y manteniéndose hasta que el grosor endometrial alcanza al menos 8mm lo cual se comprueba mediante ecografía. A partir de este momento se añade progesterona, intentando de esta forma simular un ciclo fisiológico(26,27). La forma de administrar la **progesterona** también tiene diferentes vías: intramuscular, subcutánea y mediante supositorios o geles vaginales. Esta hormona debe empezar a administrarse una vez que el grosor endometrial alcance los 8 mm, un dato muy importante a tener en cuenta es que el tiempo de descongelación y la transferencia de embriones se planifica en torno al comienzo de su administración(26,27).

Este sistema sería el de elección en mujeres con reglas irregulares o en fallo ovárico, ya que no dependemos de la ovulación y además se puede adaptar mejor al funcionamiento de una unidad de reproducción. En contrapartida hay que destacar que las pacientes reciben más hormonas y además si se produce la gestación, éstas serán administradas durante un periodo largo.

## OBJETIVOS

Evaluar si hay diferencias en la tasa de implantación de embriones y de embarazo evolutivo entre pacientes en las que se han realizado transferencia embrionaria con preparación endometrial natural o sustituida con hormonas.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio comparativo, observacional y retrospectivo realizado mediante la recogida de datos a través de historias clínicas de pacientes sometidas a transferencias de embriones congelados en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (HUMV) entre enero de 2017 y diciembre 2018.

Se recogieron los datos de un total de 264 transferencias realizadas a 163 pacientes a las cuales se dividió en dos grupos:

- **Ciclo natural modificado:** pacientes a las cuales se les monitorizó ecográficamente la fase folicular y a las que se administró 250 mcgr de HCG subcutáneo (Ovitrelle<sup>R</sup>) cuando se observó un folículo de aproximadamente 18mm.
- **Ciclo sustituido con tratamiento hormonal:** estrógenos vía oral, con pauta ascendente de hasta 6 mg. Se monitorizó ecográficamente el grosor endometrial, se consideró óptimo un grosor de al menos 8mm y a partir de entonces se añadió progesterona natural micronizada vía vaginal a dosis de 200mg cada 8 h durante los días necesarios para alcanzar el estadio del embrión congelado.

Se analizaron en cada caso las siguientes variables:

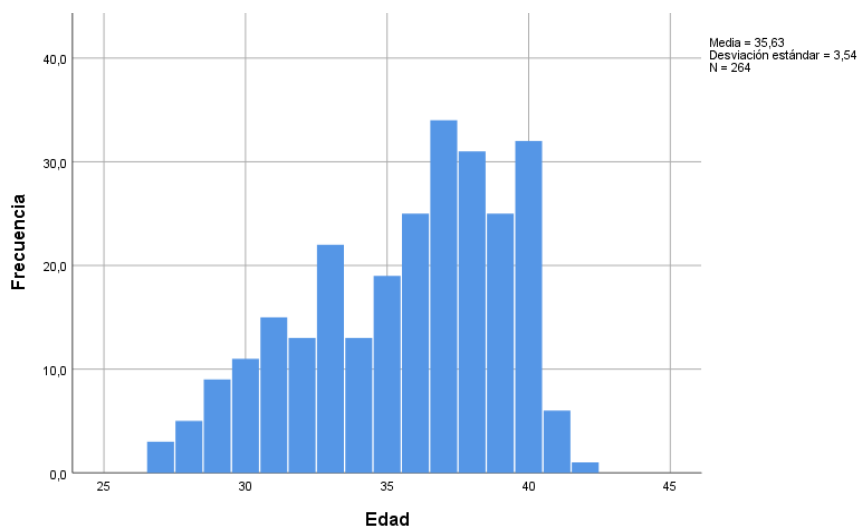
- ✚ Edad
- ✚ Antecedentes quirúrgicos ginecológicos
- ✚ Antecedentes de infecciones
- ✚ TSH
- ✚ Número de transferencias realizadas previamente
- ✚ Grosor endometrial
- ✚ Número de embriones congelados
- ✚ Día desarrollo evolutivo
- ✚ Número de embriones transferidos
- ✚ Dificultad en la técnica
- ✚ Nivel de B-HCG
- ✚ Control semana 6 mediante ecografía
- ✚ Control semana 12 mediante ecografía
- ✚ En el periodo analizado un porcentaje elevado de casos todavía no había finalizado su gestación por lo que no se recogieron más variables.

Dichas variables fueron incluidas en el programa SPSS Statistics 25, realizándose un estudio descriptivo de las variables cualitativas y cuantitativas. Para la evaluación de la asociación de variables cualitativas se utilizó la prueba  $\chi^2$ , recogiendo en cada asociación el valor de p. Se aceptó significación cuando  $p \leq 0.05$ .

## RESULTADOS

Se estudiaron un total de 264 transferencias de embriones realizadas en 163 pacientes entre enero de 2017 y diciembre de 2018.

La **edad** media de las pacientes del estudio fue 35,63 años con una edad mínima de 27 y máxima de 42.



Respeto a la medida del **grosor endometrial** recogida antes de realizar las transferencias de embriones, se observó una media de 9,19mm con una desviación estándar de 1,92. Los niveles de **TSH** fueron recogidos en un total de 165 transferencias con una media de 1,92 mU/L y una desviación estándar de 1,03.

El **número medio de transferencias realizadas previamente** en estas pacientes fue de 0,51, distribuyéndose de la siguiente forma:

NÚMERO	FRECUENCIA	PORCENTAJE
0	168	64,1
1	66	25,2
2	18	6,9
3	8	3,1
4	2	0,8



Observando que más de la mitad de las pacientes estudiadas, concretamente un 64,1%, estaban realizando su primer ciclo de implantación embrionaria.

En un 79,5% de las transferencias embrionarias las pacientes no presentaban **antecedentes de cirugías ginecológicas**. Dentro de las patologías más frecuentes asociadas a antecedentes quirúrgicos se observaron:

- Miomectomía con un 5,3%
- Salpinguectomía bilateral con un 3,4%
- Otros antecedentes quirúrgicos ginecológicos observados fueron:
  - o Legrados
  - o Quistectomía en uno u otro ovario
  - o Polipectomía
  - o Septoplastia vaginal
  - o Metroplastia

**Tipo de preparación endometrial:** Se realizaron 264 transferencias, de las cuales 147 recibieron una preparación endometrial con hormonas (**ciclo sustituido**) y 113 preparación endometrial natural (**ciclo natural modificado**). Correspondiendo a un 55,7% y 42,8% respectivamente. Hubo 4 transferencias en las que no se pudo recoger el tipo de preparación endometrial realizada.

Las transferencias de embriones se realizaron entre los **días 2 y 6 de desarrollo del ciclo**, la mayor parte se realizaron el día 2 y 3 de desarrollo evolutivo (80,3%).

En cuanto a las **dificultades en la realización de la técnica**, tan solo se observaron en un 6,1% de las 264 transferencias. Estas dificultades encontradas fueron:

- Estenosis de orificio de canal interno recogido en 10 transferencias suponiendo un 3,8% de las dificultades.
- Estenosis de orificio de canal externo recogido en 3 transferencias suponiendo un 1,1% de las dificultades.
- Dificultad de canalizar útero observado en una única ocasión.
- Sedación por vaginismo observado en una única ocasión.

**Positividad B-HCG:** De las 264 transferencias realizadas, se analizó el nivel de hormona B-HCG resultando positiva en 78 transferencias, suponiendo una tasa de 29,5% de éxito de implantación embrionaria.

A las 12 semanas se realizó un control ecográfico el cual resultó dentro de la normalidad, categorizándose de embarazo evolutivo, en 48 de las 78 B-HCG positivas, suponiendo un 61,53% de evolución dentro de la normalidad de la implantación embrionaria. Con relación a las 264 transferencias realizadas supone un **18,18% de embarazos** a nivel de la semana 12.

Dentro de estos 48 controles ecográficos normales hubo un único caso que presentó un riesgo alto para trisomía del cromosoma 21.

Se compararon los resultados de las variables en cada grupo para evaluar posibles diferencias respecto al tipo de preparación realizado. Los resultados obtenidos se recogieron en la siguiente tabla:

Variable	Ciclo natural n = 113	Ciclo sustituido n = 147	Valor estadístico (p)
Edad (años)	35,53±3,54	35,78±3,48	0,58
Antecedentes cirugía ginecológica	27	28	0,34
Nº transferencias previas	0,60±0,89	0,46±0,75	0,15
TSH (mU/L)	1,99±1,07	1,83±0,97	0,32
Grosor endometrial (mm)	8,94±1,83	9,42±1,96	0,30
Nº embriones transferidos	161	224	0,56
Dificultad técnica	18	19	0,49
Tasa B-HCG positiva (%)	20,30	34,69	0,06
Control normal Semana 12 (%)	13,27	21,78	0,07

No se observaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en las variables estudiadas: edad, antecedentes de cirugía ginecológica, número de transferencias previas realizadas, TSH, grosor endometrial, número de embriones transferidos, dificultades en la técnica. Por lo que podemos concluir que los dos grupos era comparables.

No se observaron diferencias significativas en las variables a analizar: positividad B-HCG y embarazo evolutivo en semana 12.

El **grosor endometrial** en el momento de la implantación de embriones no resultó tener diferencias significativas entre un tipo de preparación y otra siendo de 8,94mm de media en las transferencias realizadas con preparación natural y de 9,42mm en las realizadas con preparación sustitutiva.

La mayor diferencia en las variables observadas y comparadas entre un grupo y otro se observó en la tasa de positividad de la hormona **B-HCG**:

- 20,30 % de positividad en las transferencias realizadas con preparación natural.
- 34,69 % de positividad en las transferencias realizadas con preparación sustituida con hormonas.

A pesar de esta llamativa diferencia entre un tipo y otro de preparación no se observaron diferencias significativas con un valor de p de 0,06 siendo superior a  $p < 0.05$ , el cual consideramos como nivel de significancia.

En cuanto al **control ecográfico de la semana 12**, el cual correspondería con un desarrollo evolutivo del embarazo, no se encontraron diferencias significativas entre un grupo y otro con una p de 0,07. Aunque hay un mayor tanto por ciento de controles ecográficos normales en el ciclo sustituido (21,78%) frente a un 13,27% en el grupo de preparación natural. Datos esperados ya que la positividad de la B-HCG fue mayor en el grupo de ciclo sustituido.

## DISCUSIÓN

Respecto a los aspectos epidemiológicos de esta técnica de reproducción asistida, según los datos recogidos por el INE en 2018 la edad de mayor tanto por cierto de uso de esta técnica se recoge entre los 35 y los 44 años, observándose en nuestro estudio una edad media de 35,63 con edades comprendidas entre los 27 y los 42 (2).

Varios estudios han analizado la relación entre la tasa de implantación de embriones con el grosor endometrial, confirmando que existe una mayor tasa de embarazos cuando el grosor endometrial mide más de 7mm en el momento de la transferencia embrionaria(24). De acuerdo con estos estudios, en nuestro caso la media del grosor endometrial recogido a partir de todas las transferencias fue de 9,19mm.

Sin embargo, en el estudio realizado por Yoeli et al. no se encontraron diferencias entre un grupo con grosor endometrial entre 9 y 14mm y otro con grosor superior a 14mm(28).

La tasa de éxito de implantación de nuestro estudio se situó en 34,69% en el ciclo sustituido y 20,30% en el natural, valores muy similares a los obtenidos en otros estudios como el de Chang et al. siendo de 34,9% y 24,3%, sin embargo, en este caso el mayor porcentaje se corresponde con el grupo sometido a preparación natural(29).

Diversos estudios realizados durante los últimos años, además de metaanálisis realizado por Cochrane han concluido que no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las tasas de embarazo comparando ciclos de transferencias de embriones en los que se utilizó preparación endometrial natural o preparación endometrial con hormonas, lo cual concuerda con nuestro estudio (30,31). Uno de estos estudios es el realizado por Greco et al. en el que las tasas de implantación fueron de 54,1% en el ciclo sustituido frente a 50,4% en el ciclo natural, con una  $p=0.677$  (32).

Recientemente se llevó a cabo un metaanálisis de 8 estudios retrospectivos que comparaban ambos métodos de preparación endometrial previo a la transferencia embrionaria concluyendo que no existían diferencias en cuanto a términos clínicos(33).

Sí que se encontraron diferencias significativas en un estudio realizado por Bonetti et al. en el que se comparó un grupo en el que se administró HCG y otro en el que no se hizo nada. Observándose una diferencia en las tasas de embarazo de 31,1% en el ciclo natural frente a un 14,3% en el ciclo natural modificado (administración de HCG). Refieren que dicha diferencia pueda estar debida a la alteración endometrial producida por la administración de dicha hormona(34).

En dos estudios, uno realizado por Zheng et al, y otro realizado por Hill et al. sí que se observaron diferencias significativas en las tasas de embarazo a favor del ciclo programado con hormonas exógenas (ciclo sustituido). En el primero las tasas de implantación fueron de 29,3% en el ciclo sustituido y de 21,5% con valor estadístico de  $p=0.01$  y tasas de embarazo correspondiendo a una positividad de B-HCG de 48.7% en el ciclo sustituido y 36.1% en el ciclo natural, con una  $p=0.01$ (35).

En el estudio de Hill et al. se encontraron diferencias significativas a favor del ciclo sustituido cuando se evaluaron todos los pacientes sometidos a estudio una vez excluidas las transferencias canceladas. Los resultados obtenidos fueron de tasa de implantación de 68,1% frente a 56,3% con una  $p < 0.01$  (36).

La no evidencia de diferencias en los resultados entre los dos tipos de preparación es un factor tranquilizador para la elección de ciclos sustituidos, los cuales se adaptan mejor al funcionamiento de laboratorios de reproducción, con la ventaja de poder planificar mejor los ciclos. Sin embargo, en los últimos meses The American Heart Association nos alerta de la posible relación entre ciclos criotransferidos sustituidos y preeclampsia, buscando la explicación en la ausencia del influjo debido al cuerpo lúteo (37, 38).

## CONCLUSIONES

Las conclusiones encontradas en este estudio fueron:

- La edad media de las pacientes del estudio supera los 35 años.
- No se observaron diferencias significativas en cuanto al grosor endometrial, niveles de TSH, número de embriones transferidos o dificultades en la técnica.
- Las complicaciones más frecuentes encontradas al realizar la técnica fueron: estenosis de orificio cervical interno y externo.
- No se observan diferencias significativas entre el tipo de preparación endometrial utilizado, aunque sí hay un mayor porcentaje de tasa de implantación embrionaria en el grupo con ciclo sustituido.
- Finalmente podemos concluir que en estos momentos podemos elegir la forma de preparación del endometrio que mejor se adapte a la paciente y a la situación de la unidad, pero siguiendo analizando y estudiando los datos y resultados finales.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Ceballos Rodríguez MC, Jubete Castaneda Y et al. Guía de reproducción humana asistida en el sistema sanitario público de Cantabria. 2018.
2. INE IN de E. Encuesta de Fecundidad. 2018;1–6.
3. López Moratalla N, Palacios Ortega S. [Delay the age of procreation, decline in fertility and increased use of assisted reproduction: risk of birth defects]. Cuad Bioet [Internet]. 2011;22(75):259–72.
4. Sociedad Española de Fertilidad (SEF). Registro Nacional de Actividad 2016-Registro SEF. Informe estadístico de Técnicas de Reproducción Asistida 2016. 2016;1–50.
5. Hamdine, O, Broekmans, FJ, Fauser B. Human Fertility: Methods and Protocols. Br Med J. 2014;1154:305–28.
6. Nargund G, Datta AK, Fauser BCJM. Mild stimulation for in vitro fertilization. Fertil Steril. 2017;108(4):558–67.
7. Leung ASO, Dahan MH, Tan SL. Techniques and technology for human oocyte collection. Expert Rev Med Devices. 2016;13(8):701–3.
8. Liu X, Liu G, Liu J, Zhu P, Wang J, Wang Y, et al. ITRAQ-based analysis of sperm proteome from normozoospermic men achieving the rescue-ICSI pregnancy after the IVF failure. Clin Proteomics. 2018;15(1):1–15.
9. Huang, Jack. Rosenwaks Z. Human Fertility: Methods and Protocols. Vol. 1154, British Medical Journal. 2014. 171–230 p.
10. Rubino P, Viganò P, Luddi A, Piomboni P. The ICSI procedure from past to future: A systematic review of the more controversial aspects. Hum Reprod Update. 2016;22(2):194–227.
11. Penzias A, Bendikson K, Butts S, Coutifaris C, Falcone T, Fossum G, et al. Performing the embryo transfer: a guideline. Fertil Steril. 2017;107(4):882–96.
12. Matorras R HJ. Estudio y tratamiento de la pareja estéril: Recomendaciones de la Sociedad Española de Fertilidad, con la colaboración de la Asociación Española para el Estudio de la Biología de la Reproducción, de la Asociación Española de Andrología y de la Sociedad Es. 2007. 181–195 p.
13. Niederberger C, Pellicer A, Cohen J, Gardner DK, Palermo GD, O'Neill CL, et al. Forty years of IVF. Fertil Steril. 2018;110(2):185-324.e5.
14. Paramanantham, Janini. Talmor, Alon. Osianlis T. Cryopreserved oocytes: update on clinical applications and succes rates. Obstet Gynecol Surv. 2015;70(2).
15. Roque M, Lattes K, Serra S, Solà I, Geber S, Carreras R, et al. Fresh embryo transfer versus frozen embryo transfer in in vitro fertilization cycles: A systematic review and meta-analysis. Fertil Steril. 2013;99(1):156–62.
16. Leibo SP, Pool TB. The principal variables of cryopreservation: Solutions, temperatures, and rate changes. Fertil Steril. 2011;96(2):269–76.

17. Wikland M, Hardarson T, Hillensjö T, Westin C, Westlander G, Wood M, et al. Obstetric outcomes after transfer of vitrified blastocysts. *Hum Reprod.* 2010;25(7):1699–707.
18. Khalili MA, Shahedi A, Ashourzadeh S, Nottola SA, Macchiarelli G, Palmerini MG. Vitrification of human immature oocytes before and after in vitro maturation: a review. *J Assist Reprod Genet.* 2017;34(11):1413–26.
19. De Munck N, Santos-Ribeiro S, Stoop D, Van De Velde H, Verheyen G. Open versus closed oocyte vitrification in an oocyte donation programme: A prospective randomized sibling oocyte study. *Hum Reprod.* 2016;31(2):377–84.
20. Bonetti A, Cervi M, Tomei F, Marchini M, Ortolani F, Manno M. Ultrastructural evaluation of human metaphase II oocytes after vitrification: Closed versus open devices. *Fertil Steril.* 2011;95(3):928–35.
21. Molina I, Mari M, Martínez JV, Novella-Maestre E, Pellicer N, Pemán J. Bacterial and fungal contamination risks in human oocyte and embryo cryopreservation: open versus closed vitrification systems. *Fertil Steril.* 2016;106(1):127–32.
22. Cobo A, Garcia-Velasco JA, Domingo J, Remohí J, Pellicer A. Is vitrification of oocytes useful for fertility preservation for age-related fertility decline and in cancer patients? *Fertil Steril.* 2013;99(6):1485–95.
23. Gunnala V, Schattman G. Oocyte vitrification for elective fertility preservation. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2017;29(1):59–63.
24. Rodriguez-purata J, Physician A. Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism The endometrium during and after ovarian hyperstimulation and the role of segmentation of infertility treatment. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2018;1–15.
25. Teh W, Mcbain J, Rogers P. What is the contribution of embryo-endometrial asynchrony to implantation failure? *J Assist Reprod Genet.* 2016;1419–30.
26. Kalem Z, Kalem MN, Gürgan T. Methods for endometrial preparation in frozen-thawed embryo transfer cycles. *J Turkish Ger Gynecol Assoc.* 2016;17(3):168–72.
27. Smith MB, Paulson RJ. Endometrial preparation for third-party parenting and cryopreserved embryo transfer. *Fertil Steril.* 2019;111(4):641–9.
28. Yoeli R, Ashkenazi J, Orvieto R, Shelef M, Kaplan B, Bar-Hava I. Significance of increased endometrial thickness in assisted reproduction technology treatments. *J Assist Reprod Genet.* 2004;21(8):285–9.
29. Chang EM, Han JE, Kim YS, Lyu SW, Lee WS, Yoon TK. Use of the natural cycle and vitrification thawed blastocyst transfer results in better in-vitro fertilization outcomes : Cycle regimens of vitrification thawed blastocyst transfer. *J Assist Reprod Genet.* 2011;28(4):369–74.
30. Allersma T, Farquhar C, Aep C. Natural cycle in vitro fertilisation ( IVF ) for subfertile couples. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013;(8).
31. Hancke K, More S, Kreienberg R, Weiss JM. Patients undergoing frozen-thawed embryo transfer have similar live birth rates in spontaneous and artificial cycles. *J Assist Reprod Genet.* 2012;29(5):403–7.



32. Greco E, Litwicka K, Arrivi C, Varricchio MT, Caragia A, Greco A, et al. The endometrial preparation for frozen-thawed euploid blastocyst transfer: a prospective randomized trial comparing clinical results from natural modified cycle and exogenous hormone stimulation with GnRH agonist. *J Assist Reprod Genet.* 2016;33(7):873–84.
33. Groenewoud ER, Cohlen BJ, Macklon NS. Programming the endometrium for deferred transfer of cryopreserved embryos: hormone replacement versus modified natural cycles. *Fertil Steril.* 2018;109(5):768–74.
34. Kyrou D, Fatemi HM, Blockeel C, Stoop D, Albuarki H, Verheyen G, et al. Transfer of cryopreserved - Thawed embryos in hCG induced natural or clomiphene citrate cycles yields similar live birth rates in normo-ovulatory women. *J Assist Reprod Genet.* 2010;27(12):683–9.
35. Zheng Y, Li Z, Xiong M, Luo T, Dong X, Huang B, et al. Hormonal replacement treatment improves clinical pregnancy in frozen-thawed embryos transfer cycles: A retrospective cohort study. *Am J Transl Res.* 2014;6(1):85–90.
36. Hill MJ, Miller KA, Frattarelli JL. A GnRH agonist and exogenous hormone stimulation protocol has a higher live-birth rate than a natural endogenous hormone protocol for frozen-thawed blastocyst-stage embryo transfer cycles: an analysis of 1391 cycles. *Fertil Steril.* 2010;93(2):416–22.
37. Von Versen-Höynck, Schaub AM, Chi YY. Increased Preclampsia risk and Reduced Aortic Compliance with in vitro Fertilization Cycles in the Absence of a Corpus Luteum. *Hypertension.* 2019, Mar, 73(3). 640-649.
38. Von Versen-Höynck, Naramsimhan P, Selamet Tierney et al. Absent or Excessive Corpus Luteum Number is Associated with Altered Maternal Vascular Health in Early Pregnancy. *Hypertension.* 2019, Mar, 73(3). 680-690.

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, agradecer a la tutora de este Trabajo Fin de Grado, la doctora Concepción Ceballos Rodríguez, por su dedicación, tiempo y trabajo empleado para la realización de este trabajo. Así como a la doctora Barbara Arozamena Llano por su disponibilidad y enorme ayuda en la recogida de datos.