

## Factores clínico-terapéuticos y su relación con la calidad embrionaria en pacientes sometidas a fertilización *in vitro*

### Clinical and therapeutic factors and their relationship with the embryo quality in patients subjected to *in vitro* fertilization

Kenia Rodríguez Martínez, Idania María Reyes Martínez, Rosa María Flores Sánchez, Jatdielys Méndez Vidal

Hospital Clínicoquirúrgico "Hermanos Ameijeiras". La Habana, Cuba.

---

#### RESUMEN

**Introducción:** la fertilización *in vitro* con transferencia embrionaria es el tratamiento de infertilidad más empleado en las técnicas de reproducción asistida. **Objetivo:** identificar factores clínicos-terapéuticos que inciden en la calidad de los embriones obtenidos por fertilización *in vitro*, en pacientes infértiles en las que se emplea esta técnica.

**Métodos:** se realizó un estudio longitudinal de corte retrospectivo, en el cual se precisó la influencia de factores clínicos-terapéuticos, tales como, edad materna, dosificación de la hormona folículo estimulante en ciclo previo, número de ovocitos aspirados en el ciclo de fertilización *in vitro*, análogo de la hormona liberadora de gonadotropinas utilizado y la causa de infertilidad, en la calidad de los embriones cultivados.

**Resultados:** de 419 parejas estudiadas, se obtuvieron tríos embrionarios de buena calidad en el 60,86 %. Hubo diferencias estadísticamente significativas entre las pacientes con buena y mala calidad embrionaria, en cuanto a la edad ( $p= 0,029$ ), el número de ovocitos aspirados ( $p < 0,0001$ ) y la causa de infertilidad ( $p= 0,002$ ). En el análisis multivariado, la causa inexplicable de infertilidad (*odds ratio*: 0,13 [95 % IC: 0,036-0,49];  $p= 0,002$ ) y la edad (*odds ratio*: 0,96 [95 % IC: 0,81-0,99];  $p= 0,042$ ) se asociaron a la obtención de embriones de mala calidad, mientras que el mayor número de ovocitos aspirados se asoció con la obtención de embriones de buena calidad (*odds ratio*: 1,08 [95 % IC: 1,03-1,13];  $p= 0,002$ ).

**Conclusiones:** la obtención de embriones de buena calidad se favorece de un mayor número de ovocitos aspirados; mientras que la infertilidad de causa inexplicable, y el aumento de la edad, la disminuyen.

**Palabras clave:** fertilización *in vitro*; calidad embrionaria; técnicas de reproducción asistida.

---

## ABSTRACT

**Introduction:** *in vitro* fertilization with embryo transfer is the most used infertility treatment in the assisted reproductive techniques.

**Objective:** to identify the clinical and therapeutic factors affecting the quality of embryos obtained from *in vitro* fertilization in infertile patients undergoing this technique.

**Methods:** a retrospective longitudinal study was conducted to determine the influence of clinical and therapeutic factors such as maternal age, dosage of follicle-stimulating hormone in previous cycle, number of aspired oocytes in the *in vitro* fertilization cycle, the analogue of the gonadotropin-releasing hormone used and the cause of infertility on the quality of cultured embryos.

**Results:** of 419 studied couples, good quality embryo trios were obtained in 60.86 % of the sample. There were statistically significant differences between the patients with good and with bad embryo quality in terms of age ( $p= 0.029$ ), number of aspired ovocytes ( $p< 0.0001$ ) and cause of infertility ( $p< 0.002$ ). In multivariate analysis, the unknown cause of infertility (odds ratio: 0.13 [95 % CI: 0.036-0.49];  $p= 0.002$ ) and the age (odds ratio: 0.96 [95 % CI: 0.81-0.99];  $p= 0.042$ ) were associated to obtaining low quality embryos whereas the highest number of aspired ovocytes was associated to good quality embryos (odds ratio: 1.08 [95 % CI: 1.03-1.13];  $p= 0.002$ ).

**Conclusions:** a higher number of aspired oocytes encourages obtaining good quality embryos whereas infertility of unknown cause and older age reduce it.

**Keywords:** *in vitro* fertilization; embryo quality; assisted reproductive techniques.

---

## INTRODUCCIÓN

La infertilidad es una condición que mundialmente afecta entre 15 y 20 % de las parejas en edad reproductiva,<sup>1</sup> y se comporta de forma muy similar en nuestro país (entre 14 y 16 %, según estudio realizado por *Padrón*),<sup>2</sup> lo que hace de esta condición un problema que desorganiza la dinámica familiar, crea ansiedad en la pareja por el no desempeño del rol de padres, y con ello, un problema de difícil solución en algunos casos.

La fertilización *in vitro* (FIV) con transferencia embrionaria es el método más empleado, para tratar de dar solución a las parejas con problemas reproductivos. A pesar del desarrollo acelerado y sólido, y del amplio espectro de casos de infertilidad que hoy en día se pueden solucionar por las técnicas de reproducción asistida de alta tecnología (RAAT), las tasas de embarazo siguen siendo bajas.<sup>3,4</sup> Para revertir esta situación uno de los puntos clave en los que se debe trabajar es en mejorar los criterios de selección de los embriones a transferir;<sup>1-4</sup> pero, la mayor

---

dificultad radica en que, elegir los de mejor calidad dentro de la cohorte, depende de la pericia del embriólogo, ya que el método del que se dispone es la observación de las características morfológicas y la velocidad de división celular, porque aún hoy carecemos de los medios para determinar cuál embrión es susceptible de implantar, lo que trae como consecuencia la transferencia de más de un embrión para aumentar las posibilidades de embarazo, y con ello, el riesgo de embarazos múltiples.<sup>5</sup>

La calidad embrionaria es el potencial del embrión para implantarse en el útero, y dar lugar a un embarazo que llegue a término con un bebé sano. Este potencial de implantación se expresa en probabilidades, de modo que un embrión de buena calidad, tendrá mayor probabilidad de originar un embarazo, que otro de calidad inferior. Existen factores que influyen en el proceso de implantación embrionaria independientes a su calidad, como, la receptividad endometrial, la edad materna, la causa de infertilidad, el esquema de tratamiento; y los factores derivados del laboratorio de reproducción, como son, la calidad de los medios de cultivo y del material gastable, la temperatura, el pH y la gasificación dentro de las incubadoras, lo que representa una tarea aún más compleja para el embriólogo.<sup>3,5</sup>

A lo largo de los años se han ido desarrollado diferentes clasificaciones de la calidad de los embriones cultivados en los ciclos de FIV, para determinar cuáles tienen mayor capacidad de implantación, sin que ninguna de ellas sea la perfecta.<sup>6</sup> Una de las clasificaciones más utilizadas, es la *Veeck*,<sup>7</sup> que se basa en las características morfológicas del embrión a las 72 h, teniendo en cuenta -a la hora de seleccionarlos, para transferirlos-, el número de blastómeras (células), su tamaño y morfología, y el por ciento de fragmentación. El embrión de mejor calidad es aquel que se califica como grado I.

Dada la situación de incertidumbre asociada al examen morfológico en el día 3, algunos centros de reproducción han optado por el cultivo prolongado, para evaluar la calidad embrionaria;<sup>8</sup> sin embargo, la transferencia en el día 5 de blastocitos (masa esférica de células que presenta una cavidad central llena de líquido, y está rodeada por dos capas celulares), a pesar de mejorar las tasas de implantación y ser el resultado de una selección natural en la cohorte embrionaria, implica extender la duración del cultivo *in vitro*, lo que eleva las posibilidades de alteración de la expresión génica y de la herencia, así como los costos del tratamiento.<sup>8,9</sup>

Los embriones de mejor calidad se relacionan con una mayor probabilidad de implantación, embarazo clínico y nacimiento de un niño vivo.<sup>10</sup> De lo anterior se deriva la importancia de investigar los factores que intervienen en el desarrollo y calidad embrionaria.

Dada la alta demanda y frecuencia con que se realiza la técnica de FIV en nuestro país, es necesario realizar una investigación con rigor científico, que permita definir cuáles son los factores clínicos y terapéuticos que influyen en la calidad embrionaria en pacientes infértiles sometidas a esta técnica, pues su conocimiento, permitiría poder actuar sobre aquellos factores modificables; y de esta manera, cultivar embriones de mayor calidad, y en consecuencia, la realización de la FIV sería más eficaz en términos de embarazos clínicos.

## MÉTODOS

Se realizó un estudio longitudinal de corte retrospectivo en el Hospital Clínicoquirúrgico "Hermanos Ameijeiras", en el período comprendido entre enero de 2006 a diciembre de 2011.

El universo de estudio estuvo constituido por 548 parejas infértiles que requirieron FIV convencional con transferencia embrionaria, remitidas del Programa Nacional de Atención a la Pareja Infértil. La muestra quedó conformada por 419 pacientes que cumplieron los criterios de inclusión: mujeres menores de 42 años, hormona folículo estimulante (FSH) menor o igual a 15 mUI/mL en ciclo previo, así como espermograma del varón dentro de límites normales según la OMS.<sup>11</sup> Como criterios de exclusión se tuvo en cuenta que se tratara de pacientes que no respondieron a la inducción de la ovulación, que se consideró cuando al 6to. día tenían menos de 3 folículos por cada ovario, con diámetro folicular inferior a 10 mm y un valor de estradiol (E2) inferior 1 000 pmol/L; la presencia de fibroma uterino, o pólipos que comprometían la cavidad endometrial; pacientes a las que se les aspiró menos de 3 ovocitos; así como pacientes no fertilizadas.

Durante el proceso de FIV, y hasta la fase de cultivo del embrión, se recogieron una serie de variables que consideramos pueden influir en la calidad embrionaria, tales como: edad materna, valor basal de FSH en ciclo previo, número de folículos aspirados, tipo de tratamiento con análogos de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) utilizado (agonista o antagonista), y la causa de la infertilidad.

Las pacientes fueron seguidas durante todo el período del ciclo de FIV. Luego de la aspiración folicular y obtención de los complejos cúmulo-corona-ovocitos, fueron cultivados en medio de cultivo IVF *Médium*® (*medicult*, Dinamarca). El hombre, mediante masturbación, entregó una muestra de semen el mismo día de la aspiración folicular, así que para ello se precisó de 4 días de abstinencia. Una vez obtenida la muestra de semen, y que esta cumpliera con los parámetros de la OMS,<sup>11</sup> se procedió a la inseminación de los ovocitos aspirados, con una concentración de 100 000 espermatozoides por mL de medio de cultivo IVF, y se cultivaron los ovocitos de forma individualizada por pocillo con 400 microlitros de medio de cultivo IVF *Médium*® en placas Nunc de 4 pocillos, o en microgotas de 40 microlitros recubiertos de 5 mL de parafina líquida en placas Nunc de 60 x 15 mm. El cultivo individual se realizó para poder precisar las características individuales de cada cigoto o embrión, acorde con la etapa de desarrollo.

A las 16 h posinseminación, se evaluó la ocurrencia o no de la fertilización, y si esta era adecuada (presencia de dos pronúcleos en el citoplasma y dos corpúsculos polares en el espacio perivitelino del cigoto). Se desecharon los cigotos con fertilizaciones anómalas. Los cigotos correctamente fertilizados se cambiaron a igual placa y cantidad de medio de cultivo, y se devolvieron a sus incubadoras. A partir de este momento se evaluaron cada 24 h, cambiando las placas de cultivo y precisando las características de desarrollo individual de cada embrión.

En la evaluación embrionaria correspondiente a las 72 h posinseminación de los ovocitos, fue cuando se clasificaron los embriones, y se eligieron los tres de mejor calidad en función de sus características morfológicas (características de las blastómeras y por ciento de fragmentación), evaluada de la manera siguiente: grado I, grado IIa, grado IIb, grado III, grado IV y grado V, criterio de selección embrionaria que fue validado en el centro por Flores y otros (Flores Sánchez RM, Rodríguez Martínez K, Menocal Alayón A, Hidalgo B. La clasificación embrionaria y su papel decisivo en la elección de embriones a transferir en ensayo clínico de FIV convencional; 2006. En: Biblioteca de Hospital "Hermanos Ameijeiras"), momento en que se evaluó si los factores estudiados influyeron o no en la calidad de los embriones cultivados.

- Grado I: embrión con blastómeras de igual tamaño (simétrico), sin presencia de fragmentación, y con citoplasma claro y homogéneo.

- Grado IIa: embrión con blastómeras simétricas con fragmentación inferior al 10 %.
- Grado IIb: embrión con blastómeras simétricas con fragmentación entre el 10 y el 20 %.
- Grado III: embrión con blastómera asimétricas y/o con fragmentación entre 20 y 50 %.
- Grado IV: embrión con clivaje asimétrico con fragmentación blastomérica mayor del 50 %.
- Grado V: embrión totalmente fragmentado.

La calidad embrionaria del conjunto de embriones cultivados se determinó de acuerdo con la calidad de los embriones de la mejor tripleta (tres embriones). Se consideró una calidad embrionaria buena, si al menos se obtuvo una tripleta con embriones grado IIb o menores (I-IIa). Si al menos un embrión de la mejor tripleta poseía un grado  $\geq$  III (de III-V), se consideró mala calidad embrionaria.

Para el análisis de los datos se utilizaron medidas descriptivas de resumen: de tendencia central (media, valor mínimo y máximo), y de dispersión absoluta (desviación estándar). Los factores de riesgo estudiados se analizaron univariadamente, comparándolos entre las pacientes que lograron el embarazo, y las que no. Para variables cualitativas se empleó la prueba de chi cuadrado ( $\chi^2$ ) o *test* exacto de Fisher, según fue apropiado. Para las variables cuantitativas se utilizó el *t-test* para muestras independientes o la prueba U de Mann Whitney. En el caso de las variables independientes cualitativas, se determinó el riesgo relativo (RR) con su intervalo de confianza (IC) al 95 %, así como la reducción/incremento del RR.

La influencia de las variables independientes sobre la variable dependiente (cualitativa nominal dicotómica), se determinó mediante el análisis multivariado de regresión logística binominal. En el modelo se incluyeron las variables que en el análisis univariado mostraron una significación aceptable ( $p \leq 0,25$ ). Los resultados se muestran como *odds ratio* (OR), con intervalo de confianza al 95 %. Las pruebas estadísticas se consideran significativas con una  $p$  bilateral  $\leq 0,05$ .

## RESULTADOS

La muestra quedó conformada por 419 pacientes; de estas, 255 (60,86 %) tuvieron embriones de buena calidad, y 164, embriones de mala calidad (39,14 %).

En la tabla 1, se muestra el promedio de las variables clínicas entre las pacientes, en las cuales se obtuvo tripletas de buena calidad, y las que no lograron buena calidad embrionaria. La edad fue menor en las pacientes con buena calidad embrionaria, con una media de 34,38 años ( $\pm 4,35$ ); en las de mala calidad embrionaria la media de edad fue 35,38 años ( $\pm 3,99$ ). Esta diferencia resultó ser estadísticamente significativa entre los grupos estudiados ( $p = 0,029$ ).

La concentración basal de FSH no varió significativamente entre los grupos estudiados ( $p = 0,074$ ), y fue en el grupo de pacientes en los que se obtuvo embriones de buena calidad de 6,53 mUI/mL ( $\pm 2,27$ ), y en el de mala calidad de 6,96 mUI/mL ( $\pm 2,45$ ), aunque se observa un discreto aumento de las concentraciones de FSH en el grupo de embriones de mala calidad.

El promedio de ovocitos aspirados fue significativamente diferente ( $p \leq 0,0001$ ) entre las pacientes con buena calidad en los embriones, y mala calidad embrionaria, mayor en 9,13 ( $\pm 5,04$ ) en las primeras.

**Tabla 1.** Promedio de variables clínicas en relación con la calidad embrionaria

Variables	Buena calidad n= 255		Mala calidad n= 164		P
	$\bar{X}$	DE	$\bar{X}$	DE	
Edad	34,38	±4,35	35,38	±3,99	0,029
FSH basal	6,53	±2,27	6,96	±2,45	0,074
Ovocitos aspirados	9,13	±5,04	7,33	±4,39	0,0001

FSH: hormona folículo estimulante.

En la tabla 2 se muestra la distribución porcentual de las variables cualitativas estudiadas. Entre las mujeres con buena y mala calidad en sus embriones, existieron diferencias estadísticamente significativas ( $p = 0,002$ ) en relación con la causa de infertilidad. La patología tubárica resultó ser la más frecuente en ambos grupos, aunque con diferencias entre ellos, pues el mayor por ciento (87,05 %) se encontró en aquellas pacientes en las que se obtuvieron embriones de buena calidad. Entre las pacientes en las que se obtuvo mala calidad embrionaria, existió una mayor frecuencia de causas uterinas (6,10 %), ováricas (3,05 %) e inexplicables (25,06 %).

**Tabla 2.** Distribución porcentual de variables clínico-terapéuticas en relación con la calidad embrionaria

Variables	Buena calidad n= 255		Mala calidad n= 164		p
	No.	%	No.	%	
<b>Causa de infertilidad</b>					
Ovárica	1	0,39	5	3,05	0,002
Tubárica	222	87,05	107	65,24	
Uterina	3	1,18	10	6,10	
Inexplicable	29	11,37	42	25,63	
<b>Tipo de tratamiento con análogos de GnRH</b>					
Acetato de leuprorelina	174	68,24	108	65,85	0,689
Acetato de cetrorelix	81	31,76	56	35,15	

GnRH: hormona liberadora de gonadotropinas.

El tipo de tratamiento con análogos de GnRH no varió de manera significativa entre las pacientes con buena calidad embrionaria: acetato de leuprorelina (68,24 %) y acetato de cetrorelix (31,76 %); y con mala calidad en sus embriones, acetato de leuprorelina (65,85 %) y acetato de cetrorelix (34,15 %) ( $p = 0,689$ ) (tabla 2).

En la tabla 3 se expresa la magnitud del efecto de las variables cualitativas sobre la calidad embrionaria. Dentro de las causas de infertilidad, la categoría de infertilidad inexplicable fue estadísticamente significativa (RR: 0,19 [95 % IC: 0,05-0,69]) con

un riesgo de 0,19 veces de obtener embriones de buena calidad, lo que significa un riesgo de 5,3 veces para obtener embriones de mala calidad.

El tratamiento con análogos de GnRH no influyó significativamente en la calidad embrionaria, pues en la tabla 3 se muestra que el acetato de leuprorelina (Procrin) no modifica de manera significativa la calidad embrionaria (RR: 1,04 [95 %, IC: 0,90-1,19]).

**Tabla 3.** Medidas de la magnitud del efecto en las variables cualitativas, causa de infertilidad y tratamiento con análogos de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) sobre la calidad embrionaria

Variables	RR	IC 95 %
Causa de infertilidad		
Ovárica	-	-
Tubárica	1,02	0,92-1,13
Uterina	1,43	0,90-2,28
Inexplicable	0,19	0,05-1,13
Tratamiento con Procrin	1,04	0,90-1,19

En la tabla 4 se observan los resultados del análisis multivariado de regresión logística, y se corrobora que la edad, la causa inexplicable de infertilidad y el número de folículos aspirados, son los factores que más influyen en la calidad de los embriones cultivados dentro de los casos estudiados.

**Tabla 4.** Resultados en el análisis multivariado

Variable	OR	IC 95 %	p
Causa de infertilidad			
Ovárica	-	-	0,012
Tubárica	2,16	0,38-12,24	0,38
Uterina	0,94	0,47-1,85	0,85
Inexplicable	0,13	0,036-0,49	0,002
Número de ovocitos aspirados	1,08	1,03-1,13	0,002
Edad	0,96	1,81-0,99	0,042

OR: *odds ratio*; IC: intervalo de confianza.

## DISCUSIÓN

Existe consenso general sobre la relación directamente proporcional entre la calidad embrionaria y las tasas de implantación y embarazo clínico en los procedimientos de RAAT.<sup>3,4</sup> Los mecanismos que intervienen en la calidad embrionaria aún no son bien entendidos, y aunque se ha profundizado en algunos de los factores que participan en la maduración y calidad de los embriones, pocos estudios se han realizado para evaluar la influencia de factores clínicos-terapéuticos en su desarrollo y calidad.<sup>12</sup>

Nuestro estudio demostró una alta incidencia de embriones de buena calidad (60,86 %), resultado que está en relación con la edad promedio de nuestras pacientes, que fue inferior a los 35 años (34,38 [ $\pm$ 4,35 años]), edad en que la mujer se encuentra en condiciones fisiológicas óptimas para la reproducción. La causa tubárica de infertilidad prevaleció en las pacientes estudiadas (329), y se ha demostrado que esta indicación de FIV ofrece mejores resultados reproductivos,<sup>13</sup> pues es mayor en el grupo de las pacientes con buena calidad embrionaria (222; 87,05 %). Por otra parte, la muestra estuvo conformada por pacientes que no presentaban trastornos en el semen, factor que influye positivamente en el mayor por ciento de embriones de buena calidad.<sup>14</sup>

A continuación, nos proponemos el análisis de cada uno de los factores estudiados:

La importancia crítica de la edad en la fecundidad humana ha sido ampliamente estudiada, y se ha demostrado que a medida que la edad aumenta, disminuye la capacidad reproductiva.<sup>15</sup> Uno de los factores predictores de éxito de los procedimientos de reproducción asistida, es la calidad embrionaria, la cual, a su vez, depende fundamentalmente de la edad.<sup>16</sup> Se ha demostrado una alta frecuencia de alteraciones cromosómicas en embriones de mujeres mayores de 35 años,<sup>16,17</sup> que redundan en fallas de fertilización, generación de embriones anormales, menor desarrollo embrionario *in vitro*, menor implantación, incremento de abortos precoces, y por lo tanto, menor fecundidad.<sup>15-18</sup>

Nuestros resultados coinciden con varios estudios,<sup>17,18</sup> ya que encontramos una mayor edad (35,38 $\pm$ 3,99 años) en las pacientes en las que se obtuvieron embriones de mala calidad, y fue estadísticamente significativa la diferencia entre los dos grupos investigados. Este resultado se comprobó en el estudio multivariado, en el cual se encontró una influencia significativa de la edad como factor independiente sobre la calidad embrionaria, y se demostró que a medida que aumenta la edad, la probabilidad de tener embriones de buena calidad es de 0,96, con un IC de 0,81 a 0,99.

Según se envejece, los ovocitos también lo hacen. La mujer nace con una dotación ya establecida de estos, que desde la menarquia se van atresinando y envejeciendo.<sup>18</sup> A los 35 años quedan aproximadamente solo el 10 % de los óvulos, y su calidad se ve comprometida, ya que el paso del tiempo provoca alteraciones en el proceso de meiosis de sus cromosomas, disminución de la producción energética y el estado metabólico mitocondrial, con afección de los procesos de maduración ovocitaria, como la actividad del uso nuclear y la segregación cromosómica, y por tanto, la calidad del embrión resultante es menor, elementos que acreditan los resultados obtenidos en nuestro estudio.<sup>19</sup>

Las concentraciones séricas basales de FSH medidas en fase folicular temprana del ciclo menstrual, se vienen usando desde los años 80 como marcador de reserva ovárica.<sup>20</sup> La elevación de la hormona se vincula con alteraciones de la fase proliferativa, e incapacidad para regular la foliculogénesis y la maduración folicular. En mujeres de edad avanzada se ha observado un lento y progresivo aumento de FSH, relacionado con una disminución de la respuesta ovárica, un aumento de la tasa de aneuploidías y la consiguiente disminución de la calidad embrionaria.<sup>21</sup> En el estudio realizado por Rodríguez y Suárez,<sup>22</sup> encontraron que los marcadores que predecían la reserva ovárica en las parejas tributarias de FIV atendidas en el Hospital "Hermanos Ameijeiras", eran la edad de la mujer y los valores de FSH en fase folicular temprana, del tercer al quinto día del ciclo menstrual previo al tratamiento.

En nuestra investigación no se encontró relación alguna entre los valores de FSH y la calidad embrionaria, resultado que está basado en que el valor promedio de FSH estuvo por debajo de 10 mUI/mL en ambos grupos estudiados; y se ha reportado por *Ramalho*<sup>23</sup> y *Vital Reyes*,<sup>24</sup> que cuando se establece un punto de cohorte de 10 mUI/mL la determinación basal de FSH tiene sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivos y negativos de 87, 100 y 94,7 %, respectivamente, en pacientes mayores de 30 años sometidas a procedimientos de FIV. Ello determina que la relación negativa entre los valores de FSH y la calidad embrionaria es más evidente cuando esta supera dicha cifra, aunque quisiéramos plantear que, en nuestro estudio, los valores más bajos ( $6,53 \pm 2,27$ ), se encontraron en aquellas pacientes en las que se obtuvieron embriones de buena calidad.<sup>24</sup>

La ovogénesis es un evento determinado crono-genéticamente. En los ciclos de FIV con un mayor número de ovocitos aspirados, se incrementan las probabilidades de fecundación; y en consecuencia, de obtener embriones de buena calidad.<sup>25</sup> En nuestra investigación el número de ovocitos obtenidos por aspiración se relaciona de manera significativa ( $p < 0,0001$ ) con la producción de embriones de buena calidad, que se corroboran en el estudio multivariado en el cual se demuestra que, a mayor número de ovocitos aspirados, existe una probabilidad de 1,08 de obtener embriones de buena calidad. Estos resultados coinciden con los obtenidos por *Hoelker*,<sup>26</sup> quien encontró que un mayor número de embriones en cultivo, se asocia a un mejor desarrollo de estos, y en consecuencia, mejor calidad embrionaria, fenómeno que probablemente esté en relación con estímulos paracrinos y la influencia de factores de crecimiento. Existen datos que evidencian, que la respuesta ovárica excesiva, que deriva de un mayor número de ovocitos, da lugar a una mayor incidencia de defectos citoplasmáticos, lo que indica una deficiencia en la madurez del citoplasma ovocitario.<sup>24</sup> Esto es debido a que los ovocitos recuperados en los ciclos de FIV, pueden derivar de folículos con desarrollo más lento, por lo que el citoplasma sería deficiente en maduración.<sup>21,24</sup> Autores como *Llacer*<sup>27</sup> no encuentran relación entre el número de folículos aspirados y la calidad embrionaria. En nuestro estudio, en las pacientes en las que se obtuvo buena calidad embrionaria, el promedio de ovocitos aspirados fue de  $9,13 \pm 5,04$ , y son los valores por encima de 15, según algunos autores, los que se relacionan más con una mala calidad embrionaria.<sup>23-26</sup>

Se plantea que la FIV alcanza entre el 27-40 % de éxito, en dependencia de la enfermedad que tenga la paciente.<sup>28</sup> Con el trabajo realizado se demuestra que la causa de la infertilidad se relaciona, de manera significativa, con la calidad embrionaria ( $p < 0,002$ ). La causa que prevaleció en ambos grupos fue la tubárica, lo que coincide con estudios a nivel mundial, que la sitúan como principal causa de infertilidad en pacientes que reciben RAAT,<sup>28,29</sup> y fue superior en el grupo en el cual se obtuvieron embriones de buena calidad (87,05 %), como lo señala la literatura.<sup>26-28</sup> En aquellas pacientes en las cuales se demostró una infertilidad inexplicable, se evidenció un riesgo relativo de 0,19 veces de presentar embriones de buena calidad, lo que significa que presentan un riesgo mayor en 5,3 veces de tener embriones de mala calidad, resultado que se corroboró en el estudio multivariado. En el grupo en el que se obtuvieron embriones de mala calidad, las causas uterinas (6,10 %) y ováricas (3,05 %) de infertilidad, fueron más frecuentes que en el grupo de buena calidad.

La causa inexplicable de infertilidad es la que se diagnostica tras descartar otras causas, y luego de obtener un estudio básico de infertilidad normal.<sup>30</sup> Ello significa, que podrían ser de origen genético, masculino o femenino, que afecte la fecundación y/o el desarrollo embrionario. Estos resultados coinciden con los planteados por otros autores,<sup>1,3,30</sup> que manifiestan, al comparar la calidad embrionaria de pacientes con infertilidad de causa tubárica con las de causa inexplicable, que en estas últimas existía un mayor por ciento de embriones de

mala calidad. *Raga*<sup>31</sup> encuentra una mala calidad embrionaria en las parejas con infertilidad inexplicable, y demuestra en su estudio déficit en la capacidad fecundante del semen, a pesar de cumplir con los valores normales de la OMS.<sup>3,11,32</sup>

Se ha observado que, a mayor edad de la mujer, aumenta la causa inexplicable como etiología de la infertilidad,<sup>30</sup> sobre todo, en la infertilidad primaria, relación que puede condicionar la presencia de embriones de mala calidad en mayor cuantía en estas pacientes. En nuestra muestra las mujeres con mala calidad embrionaria eran más añosas (35,38±3,99), y tenían un mayor por ciento de infertilidad de causa tubárica (65,24 %), seguida de las de causa inexplicable (25,06 %).

Ensayos clínicos aleatorizados han demostrado que en la técnica de fertilización *in vitro*, la combinación de gonadotropinas exógenas, más análogos de GnRH, para la supresión de la secreción de la FSH y la hormona luteinizante (LH) hipofisaria, se han asociado con una mayor frecuencia de embarazo.<sup>33</sup> Los análogos de la GnRH, ya sean del tipo de agonistas o antagonistas, originan un incremento de número de folículos maduros y un mayor número de ovocitos obtenidos durante la aspiración, y así una mayor cohorte embrionaria, para seleccionar los mejores para transferir al útero.<sup>34</sup> Agonistas y antagonistas se consideran igualmente idóneos para prevenir los aumentos prematuros de LH, si bien sus mecanismos de acción y resultados clínicos son diferentes. Con la investigación realizada, comprobamos que no existieron diferencias en cuanto a la presencia de embriones de buena o mala calidad en las pacientes tratadas con agonistas de GnRH del tipo de acetato de leuprorelina, o antagonista del tipo de acetato de cetrorelix.

Los trabajos publicados hasta el momento referentes a estos fármacos son bastante contradictorios. *Matallin*<sup>35</sup> encontró que no existen diferencias en cuanto a la calidad embrionaria, según el uso de agonistas o antagonistas, pero sí en el número de ovocitos aspirados, y con ello, en el número de embriones disponibles, menor en las pacientes tratadas con antagonista. El tipo de análogo de la GnRH (agonistas y/o antagonistas) empleado en los protocolos de estimulación ovárica, influye sobre la cinética de desarrollo embrionario. Los cigotos derivados de ciclos estimulados con antagonistas de la GnRH, comienzan a dividirse antes que los embriones procedentes de ciclos estimulados con agonistas de la GnRH;<sup>36</sup> sin embargo, estas diferencias cinéticas, no se traducen en una mejora evidente de la calidad embrionaria a las 72 h, ni de los resultados en términos de embarazos clínicos.<sup>37</sup>

Se concluye que la edad de la paciente influye de manera negativa en la calidad de los embriones obtenidos. No se encuentra asociación entre la calidad embrionaria y el valor de FSH en ciclo previo a la FIV. El número aumentado de ovocitos aspirados es un factor que favorece la obtención de embriones de buena calidad. La infertilidad de causa inexplicable afecta negativamente la calidad de los embriones; y el esquema de tratamiento con agonistas o antagonistas de GnRH no se relaciona con la calidad de los embriones.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses en la realización del estudio.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Williams C, Sutcliffe A. Infant outcomes of assisted reproduction. *Early Hum Dev.* 2009;85:673-7.
2. Padrón RS. Epidemiología de la infertilidad en Cuba. *REVCOG.* 1996;6(3):80-4.
3. Bentle GR, Mascie-Taylor CGN. *Infertility in the modern World: present and future prospect.* Cambridge: University Press; 2007. p. 1-13.
4. Remohí J, Bellver J, Domingo J, Bosch E, Pellicer A. *Manual práctico esterilidad y reproducción humana.* New York: Mc Graw Hill; 2009. p. 76.
5. Gerris JM. Single embryo transfer and IVF/ICSI outcome: a balanced appraisal. *Hum Reproduc.* 2005;11:105-21.
6. Check JH, Sumerd-Chace MD. Effect of embryo quality on pregnancy outcome following single embryo transfer in women with a diminished egg reserve. *Fertil Steril.* 2007;87:749-56.
7. Veeck L. Evaluación de ovocitos y pre embriones en el laboratorio FIV. En: Remohi J, Pellicer A, Bonilla-Musoles F, eds. *Avances en Reproducción Asistida.* Madrid: Ediciones Díaz de Santos S.A.; 1992. p. 117-62.
8. Ragione T, Verheyen G, Papanikolaou E, Van Landuyt L, Devroey P, Van Steirteghem A. Developmental stage on day-5 and fragmentation rate on day-3 can influence the implantation potential of top-quality blastocysts in IVF cycles with single embryo transfer. *RB & E.* 2007;5(2):2.
9. Menézo Y, Elder K. Desarrollo embrionario hasta blastocito. En: Remohi J, Pellicer A, Simón C, Navarro J. *Reproducción humana: Madrid: Mc Graw-Hill/Interamericana de España;* 2002. p. 407-12.
10. Alikani M, Cohen J, Tomkin G, Garrisi GJ, Mack C, Scott RT. Human embryofragmentation *in vitro* and its implications for pregnancy and implantation. *Fertil Steril.* 1999;71:836-42.
11. Cardona Maya W. Manual de procesamiento de semen humano de la Organización Mundial de la Salud-2010. *Actas Urol Esp.* 2010;34:577-8.
12. Bruno I, Pérez F, Tur R, Ricciarelli E, De la Fuente A, Monzó A, et al. Grupo de interés en Salud Embrionaria. Sociedad Española de Fertilidad: Incidencia y criterios sobre la transferencia embrionaria. *Rev Iberoam Fertil.* 2005;22:99-110.
13. De Mouzon J, Goossens V, Bhattacharya S, Castilla JA. Assisted reproductive technology in Europe, 2006: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod.* 2010;25:1851-62.
14. Álvarez C, García-Garrido C, Taronger R, González de Merlo G. *In vitro* maturation, fertilization, embryo development & clinical outcome of human metaphase-I oocytes retrieved from stimulated intracytoplasmic sperm injection cycles. *Indian J Med Res.* 2013;137:331-8.

15. Figueura RCS, de Almeida Ferreira Braga DP, Semiao-Francisco L, Madaschi C, Laconelli A, Borges E. Morfología de los ovocitos, tasa de fertilización y desarrollo embrionario en función de los protocolos de estimulación ovárica y la edad materna. *Reprod Asist.* 2009;33:248-52.
16. Munné S, Chen S, Colls P, Garrisi J, Zheng X, Cekleniak N, et al. Maternal age, morphology, development and chromosome abnormalities in over 6000 cleavage-stage embryos. *RBM.* 2007;14(5):628-34.
17. Bentov Y, Esfandiari N, Burstein E, Casper RF. The use of mitochondrial nutrients to improve the outcome of infertility treatment in older patients. *Fertil Steril.* 2010;93:272-5.
18. Bartmann AK, Romão GS, Ramos Eda S, Ferriani RA. Why do older women have poor implantation rates? A possible role of the mitochondria. *J Assist Reprod Genet.* 2004;21:79-83.
19. Yih M C, Spandorfer SD, Rosenwaks Z. Egg production predicts a doubling of in vitro fertilization pregnancy rates even within defined age and ovarian reserve categories. *Fertility and Sterility.* 2005;83 (1):24-9.
20. Bancsi LF, Broekmans FJ, Nol BW, Habbema JD, Velde ER. Performance of basal follicle-stimulating hormone in the prediction poor ovarian response and failure to become pregnant after *in vitro* fertilization: a meta-analysis. *Fertility Steril.* 2003;79:1091-100.
21. Kaplan JR, Manuck SB. Ovarian function, stress and disease: a primate continuum. *ILAR J.* 2009;45:89-97.
22. Suárez Y. Reserva ovárica y respuesta a la estimulación con gonadotropinas en reproducción asistida [tesis de terminación de residencia]. Hospital "Hermanos Ameijeiras". La Habana; 2008.
23. Ramalho de Carvalho B, Japur da Sá Rosa, Silva AC, Rosa Silva JC. Ovarian reserve evaluation: state of art. *J Assist Reprod Genet.* 2008;25:311-22.
24. Vital Reyes V. Evaluación de la reserva ovárica. *Revista Mexicana de Medicina de la Reproducción.* 2010;2(4):89-95.
25. Fragouli E, Wells D. Aneuploidy in the Human Blastocyst. *Cytogenet Genome Res.* 2011;133:149-59.
26. Hoelker M, Rings F, Lund Q, Ghanem N, Phatsara C, Griese J, et al. Effect of the microenvironment and embryo density on developmental characteristics and gene expression profile preimplantative embryos cultured *in vitro*. *Reproduction.* 2009;137:415-25.
27. Llacer J, Moliner A, Rodriguez J, Guerrero J, Bernabeu R. High ovarian stimulation doesn't impair embryo quality. Clinical evidence using comparative model with shared egg donors. Instituto Bernabeu: *Reproductive Medicine*; 2009.
28. Keltz MD, Skorupski JC, Bradley K, Stein D. Predictors of embryo fragmentation and outcome after fragment removal *in vitro* fertilization. *Fertil Steril.* 2006;86:321-4.

29. Gonzalo A, Jaime V. Tubal Factor Infertility in the era of assisted Reproduction. *Rev Med Clin Condes*. 2010;21(3):397-402.
30. Sánchez Sánchez V. Esterilidad Idiopática: eficacia de la FIV y factores que se asocian con el mejor pronóstico para lograr gestación evolutiva. *Hum Reprod*. 2010;15:1851-62.
31. Gil Raga F, Monzó A, Peinado I, Gil Gracia F, Cabo A, Romeu A. Análisis de los resultados de ciclos de FIV-ICSI en parejas que no gestan tras cuatro inseminaciones. *Rev Iberoamericana de Fert*. 2005;22:113-9.
32. Kamel RM. Management of the infertile couple: an evidence-based protocol. *Reprod Biol Endocrinol*. 2007;8:21.
33. Depalo R, Jayakrishan K, Garruti G, Totaro I, Panzarino M, Giorgino F, et al. GnRH agonist *versus* GnRH antagonist in in vitro fertilization and embryo transfer (IVF/ET). *Reprod Biol Endocrinol*. 2012;10:26.
34. Kolibianakis P, Collins J, Tarlatzis BC. Among patients treated for IVF with gonadotropins and GnRH analogues, is the probability of live birth dependent of the type of analogue used? A systematic review and meta analysis. *Hum Reprod Update*. 2006;12:51-71.
35. Matallín MP, Eleno I, Fernández-Peinado A, Pardo C, Bernabeu I, Cremades N, et al. Estudio comparativo del uso de agonistas de GnRH vs antagonistas en pacientes normo respondedoras sometidas a estimulación ovárica controlada en ciclos de FIV/ICSI. *Fertility*. 2008;25:233-45.
36. Benítez I, González J. Influencia de los protocolos de estimulación ovárica en la calidad de los embriones. *Fert Steril*. 2009;89:321-6.
37. Nelson SM, Lawlor DA. Predicting Live Birth, Preterm Delivery, and Low Birth Weight in Infants Born from *In Vitro* Fertilisation: A Prospective Study of 144,018 Treatment Cycles. *PLoS Med*. 2011;8:e1000386.

Recibido: 3 de diciembre de 2015.

Aprobado: 29 de septiembre de 2016.

*Kenia Rodríguez Martínez*. Hospital Clínicoquirúrgico "Hermanos Ameijeiras". San Lázaro # 701, entre Marquez González Y Belascoaín, municipio Centro Habana. La Habana, Cuba. Correo electrónico: [keniardguez@infomed.sld.cu](mailto:keniardguez@infomed.sld.cu)