

UNIVERSIDAD DE OVIEDO

**MÁSTER UNIVERSITARIO EN BIOLOGÍA Y TECNOLOGÍA DE LA
REPRODUCCIÓN**

***INFLUENCIA DE LA TÉCNICA DE
TRANSFERENCIA EMBRIONARIA EN LA
CONSECUCIÓN DE EMBARAZO EN LOS CICLOS
DE FIV/ICSI***

TRABAJO DE FIN DE MASTER

María Barrios Madiedo

TUTORA

Lourdes Sánchez Castro

La Dra. Lourdes Sánchez Castro, Jefa de Laboratorio de la Unidad de Reproducción Asistida del Hospital Universitario Central de Asturias, por la presente informa:

Que la alumna María Barrios Madiedo ha realizado bajo su supervisión el Trabajo de Fin de Máster titulado “Influencia de la Técnica de Transferencia Embrionaria en la consecución de embarazo en los ciclos de FIV/ICSI”.

Dicho trabajo cumple con las directrices exigidas y por ello autoriza la presentación del mismo.

Fdo.



Lourdes Sánchez Castro.

A 10 de Junio el 2013.

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer a la Dra. Lourdes Sánchez Castro su apoyo, ayuda y dedicación durante la elaboración de este trabajo.

A Vanesa Castañón, por su ayuda durante el *Practicum*, y al personal de la Unidad.

A Pablo, por su ayuda con los análisis estadísticos.

A mis padres, que me han apoyado siempre durante mi formación académica. A mis tíos, por hacerme sentir como si no estuviera lejos de casa.

Y a mis amigas del máster Sara, Estefanía y Coppelia, por hacerme este año mucho más fácil.

ABREVIATURAS

(por orden de aparición)

- OMS: Organización Mundial de la Salud.
- ICSI: Inyección intracitoplásmica de espermatozoide (*IntraCytoplasmic Sperm Injection*).
- TRA: Técnicas de Reproducción Asistida.
- DGP: Diagnóstico Genético Preimplantacional.
- FIV: Fecundación *in vitro*.
- TE: Transferencia Embrionaria.
- RO: Reserva Ovárica.
- AMH: Hormona Antimülleriana.
- FSH: Hormona Folículo Estimulante.
- AFC: Contaje de Folículos Antrales.
- IU: Unidades Internacionales.
- E₂: Estradiol.
- IMC: Índice de Masa Corporal.
- hCG: Gonadotropina Coriónica humana.
- ASEBIR: Asociación Española para el Estudio de la Biología Reproductiva.
- LH: Hormona Luteinizante.
- GnRH: Hormona liberadora de gonadotropina (*Gonadotropin Releasing Hormone*).

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	6
<i>MARCADORES DE RESERVA OVÁRICA</i>	7
<i>TRANSFERENCIA EMBRIONARIA</i>	9
1. Técnica	9
2. Factores que influyen	10
II. OBJETIVO DEL ESTUDIO	17
III. MATERIAL Y MÉTODOS	18
<i>POBLACIÓN DE ESTUDIO</i>	18
<i>PROTOCOLO DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA</i>	18
<i>PUNCIÓN FOLICULAR</i>	20
<i>PROTOCOLO DE LABORATORIO</i>	21
<i>TRANSFERENCIA EMBRIONARIA</i>	22
<i>ANÁLISIS ESTADÍSTICOS</i>	23
IV. RESULTADOS	24
<i>TASA DE EMBARAZO Y MARCADORES DE RO</i>	24
<i>TASA DE EMBARAZO Y NIVEL DEL ÚLTIMO ESTRADIOL Y NÚMERO DE OVOCITOS TOTALES RECUPERADOS</i>	25
<i>TASA DE EMBARAZO Y EL GROSOR ENDOMETRIAL</i>	25
<i>TASA DE EMBARAZO Y DIFICULTAD EN LA TRANSFERENCIA EMBRIONARIA</i>	26
V. DISCUSIÓN	28
VI. CONCLUSIONES	33
VII. BIBLIOGRAFÍA	34

I. INTRODUCCIÓN

La incapacidad de tener hijos es un problema que afecta a hombres y mujeres alrededor de todo el planeta y puede causar estrés, depresión, e incluso discriminación y ostracismo dependiendo de las culturas. La definición clínica de infertilidad dada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) es “enfermedad del sistema reproductivo definida por un fallo en la obtención de un embarazo clínico tras 12 meses o más de relaciones sexuales sin protección”. Se trata de una enfermedad común en la población mundial y, en 2010, se calculó que aproximadamente 48,5 millones de parejas en todo el mundo no consiguieron tener descendencia después de 5 años de intentos fallidos[1].

Desde el nacimiento de Louise Brown en 1978[2, 3], el uso de la fecundación *in vitro* ha sido común, y junto con la introducción de la técnica de la inyección intracitoplásmica de espermatozoide (ICSI) en 1992, se han podido resolver muchos problemas de fertilidad en múltiples parejas. Actualmente, más de 3 500 000 niños en el mundo han nacido gracias a las técnicas de reproducción asistida (TRA), lo que quiere decir que en los países más desarrollados de un 0,8 a un 4,1% de los niños han sido concebidos en un laboratorio[3]. Aunque inicialmente hubo mucha preocupación sobre la seguridad de estas técnicas, diversos estudios muestran que los niños nacidos mediante TRA no tienen más problemas que los descritos para aquellos concebidos de forma natural. También es cierto que ponen de relevancia la necesidad de realizar más estudios, sobre todo acerca de los efectos a largo plazo, que den más seguridad sobre la técnica[4]. Asimismo, las TRA están en continua evolución, y han aparecido otras asociadas como las de congelación y descongelación de semen, ovocitos y embriones, o el DGP, que ha ayudado a detectar múltiples enfermedades y a transferir aquellos embriones libres de graves desórdenes genéticos[3].

El éxito de las técnicas de reproducción asistida depende de muchos factores, entre ellos, la edad materna, el factor de esterilidad de la pareja, la calidad de los gametos y de los embriones[5, 6] además del número de ciclos previos realizados[6, 7]. Se sabe que conforme aumenta la edad de la madre la calidad embrionaria es peor y hay peores tasas de embarazo, siendo 37 años la edad límite a partir de la cual la eficacia de las TRA disminuye claramente[8]. Además, los pacientes con una mayor calidad embrionaria tienen unas tasas más altas de embarazo[2].

Por otra parte, la infertilidad masculina ha tenido mejores resultados en tratamientos de FIV que los problemas tubáricos de la mujer, que tiene una prognosis especialmente negativa[7]. En la actualidad, sólo un tercio de los ciclos de FIV terminan en embarazo y sólo un cuarto de ellos terminan en un nacido vivo[8, 9, 10, 11], y el fallo recurrente de implantación del embrión (dos o más ciclos de FIV no exitosos) es un problema característico de los mismos[8]. A parte de los mencionados, otro factor importante implicado en el éxito de la técnica es la transferencia embrionaria (TE)[5] que es el paso final más importante [12, 13] y, a la vez, el más vulnerable e ineficiente[9]. En los 30 años que llevan las TRA en desarrollo se ha prestado mucha atención a la mejora de las técnicas de laboratorio pero, el mecanismo de la transferencia embrionaria no ha variado prácticamente desde que se creó a pesar de ser un punto crítico en el proceso[11, 14, 15]. Quizás se le da poca importancia porque es un proceso que no suele representar grandes dificultades, y los técnicos que lo realizan no consideran al paso del catéter por el cérvix uterino una tarea excesivamente compleja[16].

MARCADORES DE RESERVA OVÁRICA

Por lo general, el principal objetivo de las técnicas de fecundación *in vitro* es obtener uno o dos embriones de calidad óptima para obtener embarazo, pero en los últimos años se empieza a apreciar que la técnica y la calidad de la transferencia es una variable que puede impactar sobre las tasas de embarazo de forma significativa[12, 17].

Antes de someterse al tratamiento, es esencial estimar las probabilidades de éxito del mismo[7] y, para ello, entre otros factores, hay que diseñar un protocolo para la mujer, lo más individualizado posible, teniendo en cuenta sus niveles hormonales para asegurar su efectividad y reducir los problemas asociados[18]. Actualmente las dos principales complicaciones asociadas con las TRA, el Síndrome de Hiperestimulación Ovárica y los embarazos múltiples, se minimizan con un protocolo de estimulación más suave y mediante la transferencia de un único embrión[19].

Acertar con la dosis de gonadotropinas es esencial para evitar una respuesta excesivamente alta o baja al tratamiento[18]. Con ella se persigue obtener un número de ovocitos maduros lo suficientemente alto como para poder escoger al embrión más viable para transferir. Además de la cantidad de ovocitos, también es importante su

calidad de cara al éxito del TRA. Lo ideal sería transferir un único embrión para evitar un embarazo múltiple, la principal complicación de los TRA[20].

Al inicio del tratamiento, es importante medir la reserva ovárica (RO) de la mujer para predecir cómo va a responder al tratamiento de la estimulación. En la clínica diaria, aunque no hay un marcador de reserva ovárica que sea totalmente específico y permita ajustar la dosis a la paciente, hay varios parámetros que se tienen en cuenta para individualizar el protocolo, en la medida de lo posible, al inicio del tratamiento. Estos indicadores son hormonales (Hormona Antimülleriana o AMH, FSH, inhibina B, estradiol) y ecográficos (contaje de folículos antrales o AFC) y nos ayudan a ver los folículos que están presentes en los ovarios[18, 20, 21]. Es importante señalar, además, que los marcadores no deben considerarse por separado, sino que la predicción de la respuesta a un TRA debe realizarse estudiando la combinación de todos los parámetros mencionados[20]:

- La AMH circulante quizás sea el mejor marcador, por encima de la FSH, estradiol, inhibina B[18, 20] y comparable con el AFC; y, de hecho, ambos podrían tener correlación con un embarazo viable[18]. Si los niveles son mayores de 45 pmol/l, son indicativos de un ovario poliquístico y las pacientes serán susceptibles de sufrir el Síndrome de Hiperestimulación Ovárica. Por otra parte, no parece que la AMH circulante tenga correlación con el potencial de implantación del embrión transferido[10].

- La FSH basal es uno de los marcadores más usados para determinar la reserva ovárica, medidos en el día 3 del ciclo[22]. Unos valores basales de FSH mayores a 10 IU/L son un factor pronóstico de una respuesta ovárica pobre[7, 22].

- Los niveles de estradiol (E_2) basal menores de 20 y mayores de 80 pg/ml muestran una tasa de cancelación de los ciclos mayor que el resto. En esos casos, suelen aspirarse menos ovocitos. Aún así es un marcador mucho menos útil para pronosticar la respuesta a la estimulación ovárica, y se utiliza más para aconsejar y diagnosticar a parejas que van a iniciar un TRA[22]. Por otra parte un valor superior a 4000 pg/ml en el día de administración de hCG o en los días previos a la punción (valor del último estradiol), junto con otros parámetros, es indicativo de un Síndrome de Hiperestimulación Ovárica[23].

- Los niveles de inhibina B son menos usados para predecir la respuesta a un tratamiento FIV, porque dan una tasa alta de falsos positivos. Hay una relación inversamente proporcional entre los niveles de este marcador y los de FSH, y una correlación positiva entre la inhibina B y el conteo de folículos antrales[22].

- Se considera que una mujer va a responder bien al tratamiento cuando el AFC es superior a 5 unidades de 5 mm o menos[22]. Se debe llevar a cabo durante la fase folicular temprana para evitar fluctuaciones intra-ciclo[21].

A parte de los mencionados, los niveles basales de LH y hCG (mediados por el mismo receptor) podrían ayudar a preveer el éxito o fracaso de un tratamiento de FIV[10] al igual que los de progesterona[24].

Por otro lado, el éxito o fracaso de un tratamiento de FIV es dependiente de los índices hormonales y estos, a su vez, están íntimamente relacionados con el IMC de la mujer. Durante los tratamientos de FIV, las mujeres obesas y por tanto, con un IMC mayor, requieren más cantidad de gonadotropinas en su tratamiento, sus folículos desarrollan peor y tras la punción obtienen menos ovocitos. Todo ello, según la bibliografía, indica que tienen menor tasa de embarazo con respecto a las mujeres de un IMC normal, aunque otros estudios indican que, una vez ajustado el tratamiento a las características de la mujer, sus probabilidades de éxito frente a las mujeres de peso normal son similares[25].

Se considera que una mujer ha respondido adecuadamente al estímulo cuando se obtienen entre 5 y 14 ovocitos. Obtener menos de 5 correspondería a una baja respondedora, mientras que más de 21 sería una respuesta excesiva al tratamiento[21].

TRANSFERENCIA EMBRIONARIA

1. Técnica

Existen varias técnicas para realizar la transferencia embrionaria. En el inicio de las TRA, el uso de ecógrafo era reducido, por lo que el catéter solía colocarse “a ciegas” mediante un método conocido como “*clinical touch*”. A lo largo de los años, este procedimiento ha sido reemplazado por el uso de la guía por ultrasonidos transabdominal con la vejiga de la paciente llena[12, 15]. Suele preferirse esta última técnica porque deja ver el camino que toma el catéter dentro del útero y el lugar aproximado en donde se deja al embrión[12, 13, 14,

16] mientras que de la otra manera habría que confiar en la intuición del clínico para depositar los embriones cerca del *fundus* uterino[15] con lo que podrían colocarse fuera de esta cavidad con más facilidad[12].

Más concretamente, la técnica “a ciegas” resulta en una posición incorrecta del embrión en más de un 25% de los casos, lo que indica que la técnica no es totalmente fiable[15]. Es más, la tasa de embarazo ha mejorado sustancialmente desde que se adquirió el sistema de transferencia ecoguiada [6, 12, 15, 26].

Esta técnica más moderna ha permitido comprobar que, con la vejiga de la paciente llena, hay una mejor alineación del ángulo cervicouterino que facilita la entrada del catéter y por tanto, la transferencia, especialmente en úteros con hiperanteversión[14].

2. Factores que influyen

a. Localización de la transferencia

Está aceptado que el lugar óptimo en donde depositar al embrión es a unos 5-10 mm bajo el *fundus* del útero, aunque en algunos casos se ha llegado a pensar que colocarlo un poco más abajo podría mejorar las tasas de embarazo, ya que es muy importante no tocar el endometrio ni el *fundus* en la medida de lo posible, para obtener mejores resultados[12, 14, 16, 26]. Otros estudios indican que, siempre y cuando el embrión se coloque en la mitad superior de la cavidad uterina, la profundidad a la que se deposite al embrión no es relevante[15].

b. Clínico que realiza la transferencia

Se sabe que las tasas de embarazo varían sustancialmente según en el técnico que ha llevado a cabo la transferencia[5, 6, 13, 27] y, al igual que otras técnicas, requiere una curva de aprendizaje.

c. Grosor endometrial

El control del endometrio durante las TRA es un paso muy importante, y está directamente implicado en el éxito del proceso[28].

Por lo general se toma como punto de corte un endometrio de, al menos, 8 mm de grosor en el día de administración de hCG[29]. De hecho, un espesor de menos de 7 mm o mayor de 14 mm disminuye la

probabilidad de embarazo[30]. Es importante también observar un patrón ecográfico de triple línea, asociado con buenos resultados[31]. Un endometrio de un grosor y apariencia aceptables juega un papel fundamental en la implantación embrionaria y en el desarrollo del embarazo. Un grosor subóptimo está directamente implicado en los fallos de implantación[29, 31] y en tal caso se suelen congelar los embriones a la espera de un ambiente más adecuado para ellos[31]. Por otra parte, hay estudios que sugieren que un daño mecánico en ciclos naturales o inducidos previos mejora la receptividad uterina, porque genera una reacción inflamatoria que crea un ambiente más favorable para la implantación embrionaria[28, 32].

Durante las TRA se pretende, mediante una superovulación controlada, recuperar un número de ovocitos suficiente como para poder escoger, más tarde, de entre un grupo de embriones, aquellos que van a ser transferidos [33]. Se sabe que hay relación entre el número de ovocitos recogidos y las tasas de embarazo tras una transferencia embrionaria en fresco, seguramente debido a que si se recogen más ovocitos hay más posibilidades de escoger entre aquellos de más calidad, que den mejores embriones para ser transferidos[2]. A pesar de todo ello, los protocolos de estimulación ovárica tienen efectos colaterales. Los niveles suprafisiológicos de hormonas esteroideas y mediadores paracrinos no sólo nos permiten obtener más ovocitos de lo normal, sino que tienen efecto sobre el endometrio y podrían trastocarlo[33]. Por lo tanto, el ambiente proporcionado al embrión durante los TRA sería distinto al que se encontraría durante un ciclo natural[19, 33], y entonces la ventana de implantación podría estar alterada o incluso ausente[34]. Este efecto deletéreo de la estimulación ovárica parece ser todavía peor en altas respondedoras a las gonadotropinas[33]. En un estudio se sugiere que unas estimulaciones ováricas más suaves podrían mejorar la receptividad endometrial y la función del cuerpo lúteo, que están alteradas en los tratamientos habituales[19].

Hay que tener en cuenta que de por sí las pacientes sometidas a un TRA tienen una receptividad uterina alterada, en muchos casos asociada a anomalías en el útero como endometritis, miomas submucosos,

pólipos endometriales, adhesiones intrauterinas, e incluso, anomalías müllerianas, todas ellas varían entre un 21% y un 56% en mujeres infértiles sometidas a tratamiento [35].

Esta alteración también parece estar presente en pacientes con un índice de masa corporal mayor de 22, y aquellas con un IMC mayor de 30 tienen más riesgo de padecer pólipos endometriales que las de un menor IMC[35]. Aun así, no existe consenso con respecto al efecto del IMC sobre el grosor endometrial. Mientras unos estudios indican que en mujeres obesas se espera obtener un endometrio más grueso, en otros se indica que ni el grosor endometrial, ni la implantación o la tasa de aborto difieren significativamente de las mujeres con un IMC más bajo; aunque los resultados siempre son ligeramente más bajos[25].

d. Dificultad de la transferencia

La TE debe ser un proceso lo más atraumático posible, y cualquier complicación reduce la tasa de embarazo significativamente[6], y no sólo eso, sino que si hay dificultad, las posibilidades de aborto después de haber logrado embarazo aumentan [12].

El punto clave de la transferencia es lograr pasar el catéter por el cuello uterino[9]. Este paso puede estar alterado por problemas de estenosis cervical o por cierto grado de anteversión/retroversión del útero[14], algo que en algunos casos requiere el uso de catéteres rígidos o incluso estiletes[9].

La manipulación del cérvix al mover el catéter o al utilizar instrumentación adicional provoca la liberación de prostaglandinas y oxitocina, que hacen contraerse al útero[11, 14] y podrían dar lugar a expulsión transcervical de los embriones[6, 11] por lo que se recomienda realizar una transferencia lo más delicadamente posible. Ocurre lo mismo si se toca el *fundus*, y en ambos casos hay una reducción en la tasa de embarazo[13]. Hay estudios que indican que una vez depositados los embriones se debería esperar un tiempo a que el útero se estabilice para retirar el catéter, así se evitaría arrastrar a los embriones hacia el exterior. Por otro lado otros estudios indican que esto no mejora las tasas de embarazo[14].

La técnica de TE puede fallar por diversos motivos: daño de los embriones durante el proceso, alteraciones en el endometrio[14], inducción de contracciones uterinas, y colocación de los embriones en una localización subóptima[5, 14, 16]. Hay un cierto riesgo de contaminación bacteriana del catéter[12] aunque esto actualmente es muy improbable.

Los factores asociados negativamente con la calidad de la transferencia embrionaria son los siguientes:

i. Necesidad de manipulación extra durante la transferencia

Por lo general se considera que si se necesita una manipulación extra durante la TE, hay menos probabilidad de embarazo[13]. Un ejemplo de ello sería el uso de pinza Pozzi o *tenaculum*, que provocaría contracciones en el útero, por lo que las tasas de embarazo caerían[11].

ii. Presencia de sangre

Si hay sangre en el catéter[5, 13, 14] se esperan menores tasas de embarazo[13] y una mayor incidencia de embriones retenidos en el catéter[14].

iii. Presencia de mucus

La presencia de mucus en el catéter[5, 14] podría taponarlo o incluso arrastrar a los embriones y evitar que estos sean transferidos en el lugar correspondiente[14].

iv. Repetición en la transferencia

Después de la transferencia, el embriólogo toma el catéter y lo inspecciona para ver si hay embriones retenidos. En tal caso, se volverían a colocar en el catéter y se volverían a transferir en el útero[14]. Aunque hay estudios que indican que este hecho disminuye las tasas de embarazo, otros más recientes indican que no hay diferencias significativas[6, 14].

v. Estenosis cervical

En casos extremos en que la estenosis cervical es tan acusada que el catéter no puede pasar por el endocérvix, o ha habido varios ciclos de FIV fallidos, se utiliza la “técnica

Towako” o transferencia embrionaria transmiometrial. En ella, el catéter se inserta transmiometrialmente con ayuda del ecógrafo. Al presentarse esta técnica, Kato y colaboradores daban una tasa de embarazo aproximada de un 44,9% con embriones obtenidos mediante ICSI[14]. En presente estudio sólo un caso responde a estas características.

e. Test de transferencia

En muchos casos se suele llevar a cabo una transferencia embrionaria “de prueba” o “*mock transfer*” previa a la definitiva, con un catéter vacío, para tantear la dificultad de una posterior transferencia embrionaria. Puede realizarse previa al ciclo de estimulación ovárica o justo antes de la transferencia real y se sabe que reduce la incidencia de TE difíciles[13, 14].

Durante esta simulación se mide aproximadamente la longitud de la cavidad uterina y el canal cervical, y se observa si el cérvix está muy estenosado como para permitir el paso del catéter, y en tal caso se planificaría la transferencia como difícil[14, 26]. Hay estudios que indican que la medida de la longitud durante esta prueba podría variar tras la estimulación hormonal del tratamiento de FIV[26].

En algunos casos se plantea la posibilidad de realizar una dilatación cervical previa a la TE[6, 9, 14]. Esta técnica se ha propuesto como una solución a algunos casos de estenosis cervical, aunque los criterios por los cuales una mujer necesita o no someterse a este tratamiento no están aún del todo claros. Tampoco hay consenso sobre el momento en el que se ha de llevar a cabo esta técnica. Hay estudios que indican que realizarla en el momento de la primera consulta, justo antes de comenzar el tratamiento de estimulación ovárica, tiene mejores resultados que si se practica tras la punción folicular y, que incrementa las tasas de embarazo[7].

f. Catéter de elección

El catéter de transferencia ideal es aquel lo suficientemente moldeable como para evitar el trauma del endocervix y el endometrio, pero lo suficientemente rígido como para ser dirigido hacia el interior de la cavidad uterina a lo largo de su contorno natural[14].

Hay dos tipos de catéteres, los suaves o moldeables y los rígidos (**tabla 1**). Entre los catéteres moldeables, el catéter Cook es más suave que el Wallace[14]. Tal y como puede observarse en la **tabla 1**, el mercado ofrece muchas posibilidades con nuevas tecnologías que pueden adaptarse a las necesidades de cada transferencia[17].

Catéteres suaves o moldeables		Catéteres rígidos	
Catéter	Casa comercial	Catéter	Casa comercial
Cook	Cook Ob/Gyn, Inc., Bloomington, IN	TDT(con obturador metálico)	Laboratoire CCD, Paris, Francia
Wallace	Marlow Technologies, Willoughby, OH	Frydman	Laboratoire CCD
		Tomcat	Kendell Health Care, Hampshire, MA
		Tefcat	Kendell Heath Care
		Rocket ET	Medical, Tyne and Wear, Reino Unido

Tabla 1. Tipos de catéteres de TE[14].

Por lo general suele preferirse el uso de un catéter moldeable en comparación con uno rígido, de hecho, como punto de partida siempre suele escogerse un catéter suave, que suele estar relacionado con una mayor tasa de embarazo[15, 27]. Este hecho, junto con la TE ecoguiada, ha ayudado a incrementar sustancialmente la eficacia de la técnica de la transferencia[9, 12]. Si la transferencia se complica pueden utilizarse guías o catéteres semirígidos, y en caso de mayor dificultad, catéteres rígidos[27].

Aunque el catéter rígido facilita la permeabilidad del cuello uterino, está por lo general asociado a mayor sangrado, trauma y suele estimular más las contracciones uterinas[14].

En los estudios comparativos sobre catéteres de los últimos años se ha utilizado el Wallace como estándar, ya que es lo suficientemente eficaz en las transferencias difíciles, en donde no funcionan los catéteres

más suaves y el uso de catéteres más rígidos da peores tasas de éxito[17]. Si se comparan datos, hay daño cervical en un 50% de las pacientes en las que se usó un catéter Tomcat en comparación con un 12,5% en las que se usó un Wallace. En cambio, si se comparan los distintos catéteres suaves, no hay diferencias significativas entre uno y otro [14].

Los catéteres rígidos están asociados con una transferencia difícil[9, 14]. Aun así, el catéter suave tiene una funda rígida que puede torcerse al alinear el catéter en el eje uterino. La canulación del cérvix no ha mostrado una disminución de la tasa de embarazo, pero esta funda rígida tiene que usarse lo menos posible y de tal forma que evite cualquier secreción de prostaglandinas[14].

g. Carga del catéter

Generalmente se cargan los embriones en una columna de 20 μ l, si ésta es mayor de 60 μ l lo más probable es que se expulsen los embriones en la vagina, y si es menor de 10 μ l, las tasas de implantación están afectadas negativamente. También la columna de fluido con los embriones suele estar rodeada de columnas de aire, y no se ha visto que las burbujas afecten negativamente a las tasas de embarazo[14] aunque afecta negativamente a la colocación de los embriones en el lugar adecuado porque los embriones suelen quedar adheridos a las burbujas del catéter y no salen de él a la hora de hacer la transferencia. Además, es aconsejable que la descarga del líquido se haga lo más suavemente posible[15].

El medio contiene concentraciones determinadas de iones, aminoácidos y carbohidratos. Últimamente se ha visto que incluir una determinada concentración de ácido hialurónico afecta positivamente en el desarrollo del embrión y en la implantación y algunos estudios indican que aumenta la tasa de embarazo y de implantación[14].

Además, la transferencia embrionaria *per se* podría impactar en el proceso de implantación embrionaria, sobre todo si es complicada.

II.OBJETIVO DEL ESTUDIO

En base a todo lo expuesto anteriormente, el principal objetivo de este estudio es analizar qué factores influyen en la posibilidad de conseguir embarazo en pacientes que son menores de 37 años y tienen buena calidad embrionaria (embriones tipo A y/o B) en el momento de la transferencia.

En concreto, se pretende ver:

- Si en el grupo de pacientes sometidas al estudio los marcadores de RO influyen significativamente en la probabilidad de conseguir embarazo.
- Si el resultado del estímulo, medido como el valor del último estradiol o el número de ovocitos recuperados, influye en la probabilidad de embarazo.
- Comprobar si existen diferencias significativas en el grosor del endometrio del grupo de pacientes que consiguen embarazo y las que no.
- Si hay diferencias significativas en la probabilidad de conseguir embarazo entre pacientes de transferencias fáciles y difíciles.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

POBLACIÓN DE ESTUDIO

En el presente trabajo se lleva a cabo un estudio retrospectivo realizado en pacientes atendidas en la Unidad de Reproducción del Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA) entre enero del 2011 y abril del 2013.

Se escogieron para ello parejas sometidas a tratamiento de Fecundación *in vitro*/ICSI, de las cuales la mujer tenía menos de 37 años y se les habían transferido al menos un embrión de calidad alta (tipo A o B, según la clasificación de ASEBIR). Todas las pacientes eran mayores de 18 años, cumpliendo con la ley vigente 14/2006. Además, las pacientes que acuden a la Unidad vienen con un estudio de esterilidad básico: perfil hormonal, histerosalpingografía, cariotipo y serología.

En este estudio no se tuvieron en cuenta los factores de esterilidad de los miembros de la pareja, ni el protocolo de estimulación ovárica que se siguió. Se valoró el perfil hormonal de la mujer entre los días 3 y 5 de cada ciclo, así como su IMC. Para determinar el resultado de la estimulación ovárica controlada, se tomó el valor del último estradiol antes de la punción, y se tuvo en cuenta el número de ovocitos recuperados.

En total se analizaron 54 pacientes, 27 de ellas dentro del grupo control y el resto dentro del grupo considerado como transferencia con complicaciones. Se definió por separado la transferencia que tuvo que repetirse, y la transferencia complicada. Esta última se consideró así por el uso de catéteres semirígidos (Wallace) o rígidos (Frydman y Towako). El catéter utilizado en las transferencias fáciles fue el Cook oliva.

PROTOCOLO DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA

En el grupo estudiado se utilizaron principalmente dos tipos de protocolos de estimulación ovárica: protocolo corto, o largo. En ambos se utilizan gonadotropinas para estimular el desarrollo folicular, pero varía el tipo de análogo usado para realizar el frenado hipofisario, que nos permite iniciar el estímulo con un ovario en reposo y evitar un pico endógeno de LH. Se trata de obtener una superovulación en un solo ciclo y, por tanto, un mayor número de ovocitos que aseguren la eficacia de la técnica. Se persigue evitar, en la medida de lo posible, complicaciones como el Síndrome de

MATERIAL Y MÉTODOS

Hiperestimulación Ovárica, que es uno de los efectos adversos asociados a estas técnicas.

En el caso de los protocolos largos, se administran agonistas de la GnRH (0,2 ml/día) a mitad de la fase lútea del ciclo previo a la estimulación (normalmente en el día 21) para poner el ovario en reposo, evitando una descarga prematura de LH, antes de estimular la ovulación. Posteriormente, en el día 1 de la estimulación se administra hormona FSH (150-300 IU/día) y se disminuye la dosis de análogo de GnRH a 0,1 ml/día. El protocolo está esquematizado en la **figura 1**.

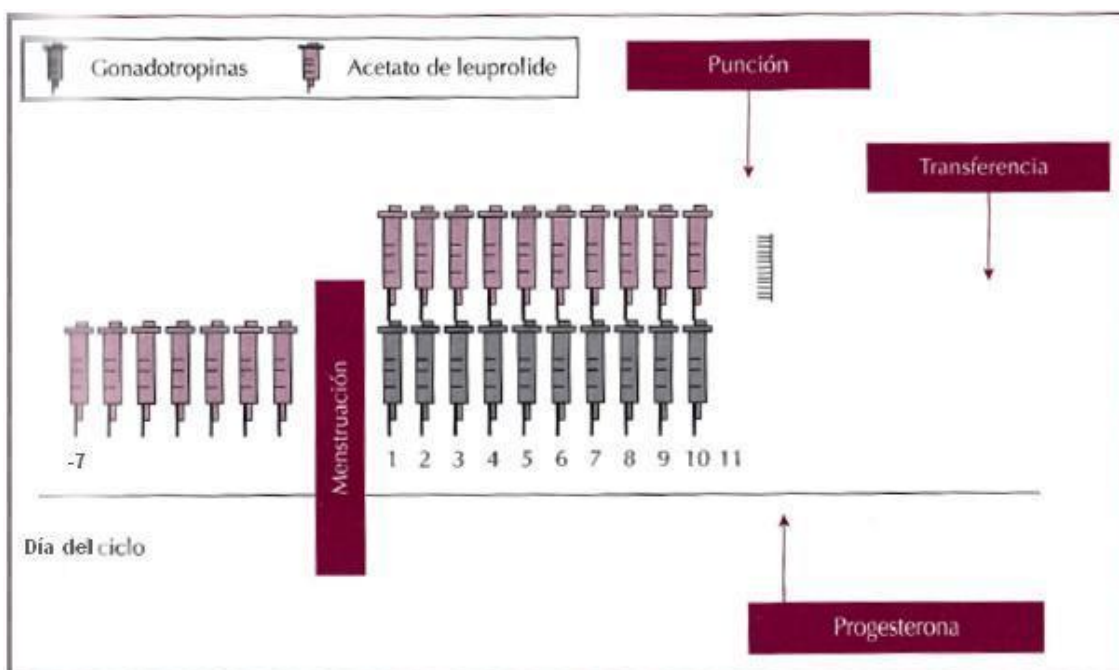


Figura 1. Esquema de estimulación con protocolo largo[36].

En el caso de los protocolos con antagonistas de la GnRH (**figura 2**), en el día 2 ó 3 del ciclo se administra hormona FSH (150-300 IU/día) y el antagonista de la gonadotropina se añade al 7º día de comenzar el estímulo en dosis de 0,25 mg/día mediante inyección subcutánea. Las pacientes tomaron anticonceptivos orales en el ciclo previo para mantener el ovario en reposo. En este caso, se produce una supresión de las gonadotropinas mediante el bloqueo de los receptores de la GnRH en la hipófisis y así no se libera ni LH ni FSH. De esta forma, no hay estimulación de la ovulación prematuramente.

MATERIAL Y MÉTODOS

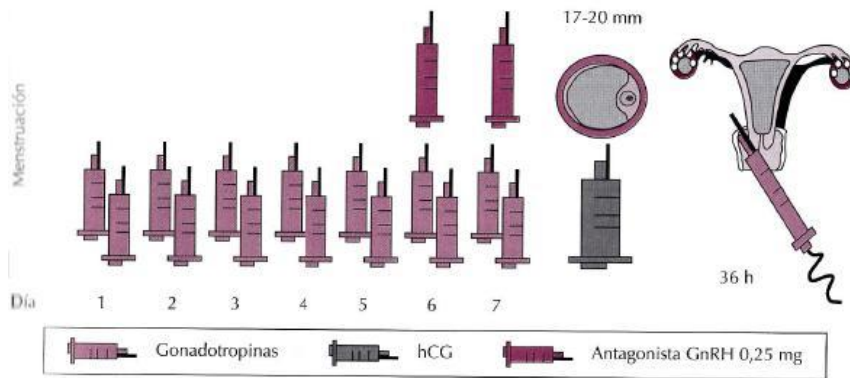


Figura 2. Esquema de estimulación con protocolo corto[36].

La estimulación ovárica se realizó con gonadotropinas recombinantes. Las dosis se ajustaron en función de la edad y el peso de la paciente, y de marcadores de reserva ovárica como la FSH y el estradiol, medidos en el tercer día del ciclo, o en el recuento de folículos antrales.

El día 10 del estímulo, aproximadamente de 24 a 48 horas antes de la administración de hCG, se llevó a cabo un control ecográfico y se analizó el nivel de estradiol en sangre periférica (valor del último estradiol) para determinar si el desarrollo folicular era el adecuado. Debería haber al menos 4 folículos de entre 18 y 20 mm para considerar la respuesta como normal. También en esta ecografía se observó la calidad y el grosor del endometrio de la paciente. Si no cumplía los requisitos (triple línea y un grosor de entre 7 y 14 mm) el ciclo era cancelado.

La inducción de la ovulación se produjo en las 36 horas previas a la punción folicular y en la mayoría de los casos se utilizó hCG recombinante. En los casos en que había riesgo de Síndrome de Hiperestimulación Ovárica, y el protocolo llevaba antagonista (protocolo corto), se utilizó agonista para estimular la ovulación.

La duración del estímulo dura entre 10 y 12 días dependiendo de la respuesta de la paciente al tratamiento.

PUNCIÓN FOLICULAR

La recuperación de los ovocitos se realizó en el día 13 o 14 del ciclo, siempre 36 horas tras la administración de la hormona hCG o la agonista de GnRH que desencadenaría la ovulación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se llevó a cabo en quirófano, con la paciente sometida a sedación en posición de litotomía. La recuperación se realizó mediante punción transvaginal ecoguiada. El ecógrafo tenía acoplada una aguja conectada a un sistema de aspiración, la aguja puncionaba el folículo que se observaba en el ecógrafo y se aspiraba el líquido folicular en donde se encontraba el ovocito. Los tubos con el líquido folicular se vaciaron en la campana de flujo laminar con superficie calefactada a 37°C, situada en el laboratorio.

Desde el día de la punción hasta 15 días más tarde, las pacientes tienen un aporte de progesterona micronizada intravaginal para dar apoyo a la fase lútea.

PROTOCOLO DE LABORATORIO

Para realizar las técnicas de FIV/ICSI se siguieron los protocolos establecidos en el laboratorio de embriología de la Unidad. Los medios utilizados en el laboratorio fueron todos de la casa *COOK*[®], y se siguieron los protocolos establecidos por esta casa comercial para el cultivo de los gametos y de los embriones.

La capacitación del semen fue por *swim up*. El conteo de espermatozoides y el diagnóstico del estado del semen se realizaron según los criterios de referencia de la OMS (2010).

Los líquidos foliculares recuperados durante la punción se examinaron a la lupa, en campana de flujo laminar y sobre superficie calefactada, y se recogieron uno a uno los complejos cúmulo-ovocito que, posteriormente, se decumularon mediante hialuronidasa. La morfología ovocitaria se valoró según los criterios de ASEBIR.

La fertilización se realizó principalmente por ICSI, pero según las condiciones de cada paciente, también se pudo practicar FIV con parte de los gametos recuperados.

Los ovocitos fertilizados se mantuvieron dentro del incubador a una temperatura de 37 °C y a un 6% CO₂ hasta que fueron transferidos.

La fertilización se valoró a las 16-18 horas tras la punción, de tal manera que sólo se mantuvieron en el incubador aquellos cigotos que fertilizaron adecuadamente y poseían, por tanto, dos pronúcleos y dos corpúsculos polares. Tras ese momento, cada día se observaba el estado embrionario y su calidad hasta el momento de la transferencia (2 o 3 días tras la punción). Era entonces cuando se decidía el destino de cada embrión: congelación o vitrificación, transferencia o no evolución. Los parámetros de diagnóstico

MATERIAL Y MÉTODOS

de la calidad embrionaria eran los indicados por ASEBIR, según el número, tamaño y disposición de las blastómeras. La calidad embrionaria fue establecida según cuatro categorías (A, B, C, o D) de tal manera que los embriones tipo A eran aquellos con más probabilidad de implantación, mientras que los tipo D eran los que peor pronóstico tenían, con muchas posibilidades de no implantarse.

TRANSFERENCIA EMBRIONARIA

En todas las pacientes se realizó una transferencia embrionaria de prueba o test de transferencia previa a la estimulación ovárica, y se anotó si se preveía una transferencia embrionaria fácil o difícil y las complicaciones anatómicas que la paciente pudiera tener para el paso del catéter. El catéter de prueba siempre fue un Cook oliva.

La transferencia embrionaria en las pacientes se realizó aproximadamente entre las 48 y las 72 horas después de realizar las punciones foliculares. En primer lugar, se colocó a la paciente en posición de litotomía y con ayuda de un espéculo se visualizó el cérvix, posteriormente, se realizó un lavado de la vagina y el cérvix con suero fisiológico. Gracias a la ecoguía, se colocó la funda del catéter a través del endocérvix, hasta llegar hasta en el punto de útero en que se deseaba colocar a los embriones.

Posteriormente, se cargaron los embriones que se iban a transferir en el catéter sin utilizar más de 0,2 ml de medio. Primero se cargó una columna de medio, posteriormente una columna de aire seguida por una columna de medio en cuyo interior estaban colocados los embriones, centrados, y finalmente tras una columna de aire se cargó la última columna de medio.

A continuación se introdujo el catéter en su guía hasta llegar al útero, con cuidado no tocar el *fundus* en la medida de lo posible, y se descargó su contenido. Finalmente se comprobó si el embrión se había descargado, y si no fuera así, hubo que repetir la operación de cargado y colocación del embrión cerca del *fundus* hasta hacer la transferencia correctamente.

Inicialmente, siempre se utilizó un catéter Cook oliva, indicado para transferencias fáciles, salvo que la prueba de transferencia indicara dificultad en la misma, en cuyo caso, se utilizaron los catéteres tipo Frydman y Wallace. Se anotó todo lo relacionado con la transferencia: si hubo sangrado, qué catéter se utilizó, si se necesitó instrumentación adicional (Pozzi), y si hubo que repetir la transferencia. Sólo

MATERIAL Y MÉTODOS

en un caso se utilizó el catéter Towako para una transferencia embrionaria transmiométral.

De acuerdo a la Ley vigente 14/2006, el máximo de embriones que pueden transferirse son 3. En el presente estudio, y siempre de acuerdo con la pareja, se transfirieron 2 embriones. En otros tres casos se transfirió 1 embrión. Sólo en un caso se transfirieron 3 embriones, debido a que se pretendía aumentar la probabilidad de embarazo valorando, en este caso concreto, que la posibilidad de que se produjera un embarazo triple era muy baja.

Tras la transferencia las pacientes tuvieron un aporte de progesterona como soporte de la fase lútea, y a los 15 días, se realizaron un test de embarazo con la primera orina de la mañana para confirmar la presencia de embarazo.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Las variables continuas se describen mediante medias y desviaciones típicas. Las variables categóricas se describen mediante frecuencias absolutas y relativas. Dado que se puede asumir que todas las variables continuas siguen una distribución normal (prueba de Kolmogorov-Smirnov) la comparación entre las medias de los diversos grupos se realizó mediante pruebas paramétricas (pruebas robustas de Welch). La relación entre las variables categóricas se contrastó mediante el test exacto de Chi². P-valores inferiores a 0.05 se consideraron estadísticamente significativas. Los análisis estadísticos se realizaron mediante el software de libre distribución R2.15 (www.r-project.org).

IV. RESULTADOS

TASA DE EMBARAZO Y MARCADORES DE RO

Para ver la influencia de los marcadores de RO sobre la tasa de embarazo, se tuvieron en cuenta la edad de la mujer, su IMC, y los niveles basales de estradiol y FSH.

Con ninguno de estos marcadores se observaron diferencias significativas en nuestro grupo de estudio entre las mujeres que resultaron embarazadas y las que no.

En la siguiente tabla (**Tabla 2**) se muestran las medias en cuanto a la edad, IMC, FSH y estradiol basales entre los dos grupos.

	Embarazo	N	Media	Desviación típica	Valor de P
Edad de la mujer (años)	No	33	34,55	1,697	,230
	Sí	21	33,86	2,197	
	Total	54	34,28	1,917	
IMC	No	33	22,83	3,730	,855
	Sí	21	22,659	3,1234	
	Total	54	22,764	3,4770	
FSH basal (UI/L)	No	33	6,639	2,0597	,918
	Sí	21	6,586	1,7308	
	Total	54	6,619	1,9216	
E₂ basal (pg/ml)	No	33	49,075	25,6932	,151
	Sí	21	39,548	21,8160	
	Total	54	45,370	24,4980	

Tabla 2. Resultados según la edad de la mujer medida en años, IMC, FSH basal (UI/L) y estradiol basal (pg/ml) entre el grupo que sí tuvo embarazo y el que no lo tuvo.

Aunque las diferencias no son significativas (con un valor de P de 0,151) se observa que los índices de E₂ basal de las mujeres que no se quedaron embarazadas es ligeramente superior al de las que sí se quedaron.

RESULTADOS

TASA DE EMBARAZO, NIVEL DEL ÚLTIMO ESTRADIOL Y NÚMERO DE OVOCITOS TOTALES RECUPERADOS

A la hora de analizar el resultado de la estimulación ovárica de las pacientes, se tomaron medidas del nivel de E₂ en el día que se indica la punción, medido entre las 24 y las 48 horas antes de la administración de hCG (valor del último estradiol), y también se tuvo en cuenta el número de ovocitos totales recogidos tras la punción ovárica.

Tal y como se observa en la **tabla 3**, entre el grupo de mujeres con embarazo y las que no lo tuvieron no hubo diferencias significativas en el valor del último estradiol ni en el total de ovocitos obtenidos, con unos valores de P de 0,619 y 0,113, respectivamente.

A pesar de ello, si se tienen en cuenta el total de ovocitos obtenidos tras la punción, el número de ovocitos recuperados en aquellas mujeres cuyo tratamiento no tuvo éxito es ligeramente superior al de aquellas que sí lo tuvo. Además, en ese grupo la desviación típica indica que los datos están dispersos ($\sigma= 6,827$) y ese valor es superior al del grupo que sí obtuvo embarazo ($\sigma=4,961$).

	Embarazo	N	Media	Desviación típica	Valor de P
Valor del último E₂ (pg/ml)	No	32	2086,031	1075,2157	,619
	Sí	20	1958,235	764,1450	
	Total	52	2036,879	961,3532	
Total de ovocitos obtenidos	No	33	13,88	6,827	,113
	Sí	21	11,29	4,961	
	Total	54	12,87	6,250	

Tabla 3. Resultados de la estimulación ovárica controlada, medida en valor del último estradiol (pg/ml) y número de ovocitos obtenidos entre el grupo que sí tuvo embarazo y el que no lo tuvo.

Si, en cambio, se tiene en cuenta el valor del último estradiol, la desviación típica en el grupo de mujeres que no se quedaron embarazadas es ligeramente superior a la del otro grupo, lo que indica que en ese caso las muestras estaban más dispersas.

RESULTADOS

TASA DE EMBARAZO Y EL GROSOR ENDOMETRIAL

En cuanto al grosor endometrial, se tuvo en cuenta su medida en el día que se indica la punción, entre las 24 y las 48 horas previas a la administración de la hCG.

Tampoco en este caso hay diferencias significativas (Valor de $P=0,776$) entre el grupo de mujeres que no obtuvo embarazo y el que sí. En ambos grupos la media del grosor endometrial está en torno a los 10 mm, siendo de 10,148 mm en las mujeres que no tuvieron embarazo y de 10,352 mm en las mujeres que sí quedaron embarazadas.

	Embarazo	N	Media	Desviación típica	Valor de P
Grosor endometrial	No	33	10,148	2,1706	,776
	Sí	21	10,352	2,7553	
	Total	54	10,228	2,3915	

Tabla 4. Resultados para el grosor endometrial (mm) entre mujeres que sí tuvieron embarazo y las que no lo tuvieron.

TASA DE EMBARAZO Y DIFICULTAD EN LA TRANSFERENCIA EMBRIONARIA

En este caso sí se observa una diferencia significativa (Valor de $P < 0,001$) entre las tasas de embarazo de las mujeres con transferencia difícil y el grupo control, cuya transferencia fue fácil. Tal y como se observa en la **tabla 5**, ninguna de las mujeres con transferencia dificultosa se quedó embarazada.

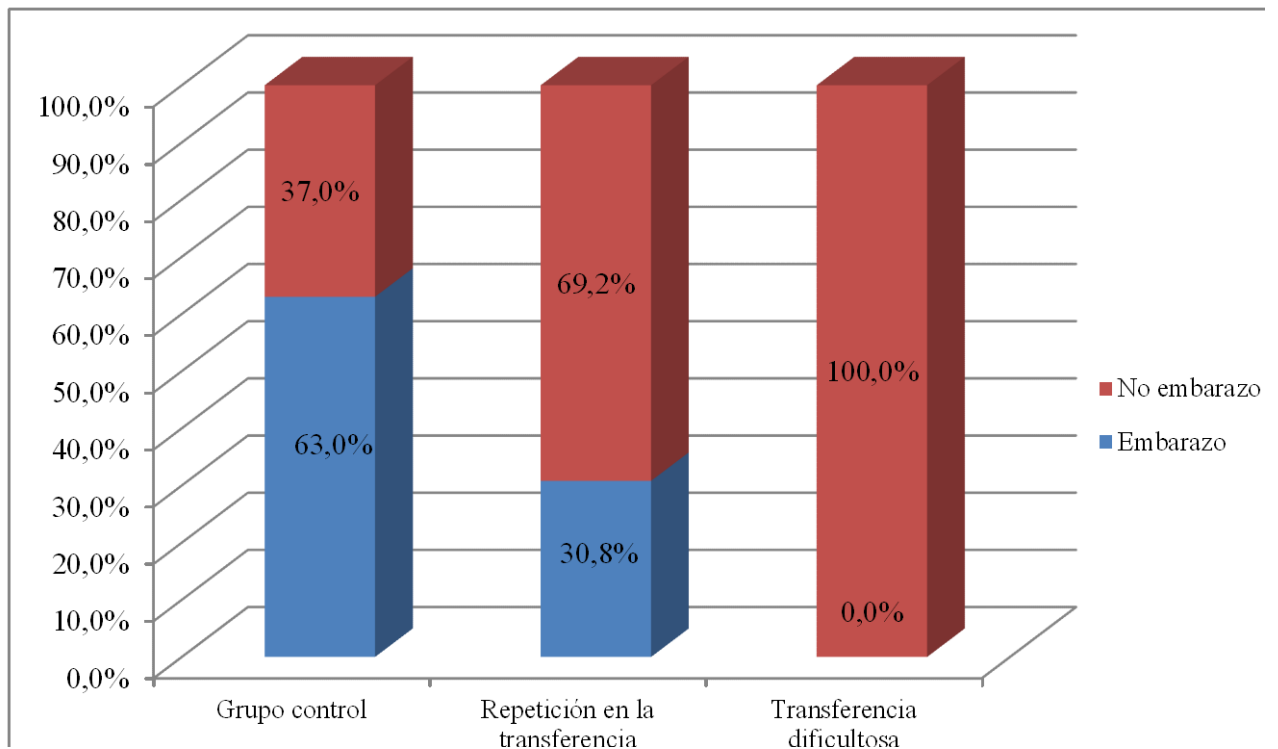
Cuando se analizan los resultados en los casos en que no se ha repetido la transferencia y ésta fue fácil, el 63% de las mujeres se quedaron embarazadas mientras que este porcentaje se reduce a aproximadamente la mitad (30,8%) en el caso de las mujeres con repetición en la transferencia embrionaria.

RESULTADOS

	Embarazo	Tipo de transferencia			Total
		Grupo control	Repetición en la transferencia	en Transferencia dificultosa (catéter rígido)	
Recuento	No	10	9	14	33
	Sí	17	4	0	21
% Tipo transferencia	No	37,0%	69,2%	100,0%	61,1%
	Sí	63,0%	30,8%	,0%	38,9%

Tabla 5. Resultados de los tipos de transferencia, recuento de mujeres con embarazo en comparación con las que no lo tuvieron.

Este resultado se muestra en el **gráfico 1**, en el que se observa un descenso de la tasa de embarazo conforme la transferencia es más dificultosa. Se observa además que hay una asociación entre la dificultad de la transferencia y el tipo de catéter usado. Así, en aquellas mujeres cuya transferencia fue difícil y se utilizó un catéter Frydman, Wallace o Towako, el 100% de las mujeres no obtuvieron embarazo.



Gráfica 1. Tasa de embarazo según la calidad de la transferencia embrionaria.

V. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este trabajo indican que, en nuestro grupo de pacientes, la edad no influye en la posibilidad de conseguir embarazo. Queda patente que el grupo de mujeres estudiadas se homogeneizó de tal manera que todas fueran menores de 37 años, edad a partir de la cual la fertilidad de una mujer decae considerablemente y, por tanto, las TRA no son tan eficaces[8]. Este descenso de la fertilidad se da conforme avanza la edad reproductiva de la mujer. Por ejemplo, si se comparan las tasas de embarazo de mujeres de 20-24 años con la fertilidad en mujeres de 30-34 años, ésta se reduce un 14%. Aun así, las tasas de embarazo en parejas jóvenes que recurren a TRA en las que la mujer tiene menos de 35 años es de alrededor del 50%[37]. Nuestro resultado, de una tasa total de embarazos de un 38,9% independientemente de la dificultad de la TE, no coincide con ese pronóstico puesto que nuestro tamaño muestral era pequeño. Si éste hubiera sido mayor habríamos podido ajustar el resultado a uno más acorde con la realidad de la Unidad.

Según la bibliografía, la sensibilidad de una mujer a la estimulación ovárica no refleja la edad de la mujer cuando ésta es menor de 37 años, aunque ambos parámetros estén correlacionados, y esto coincide con lo obtenido en el presente trabajo[18].

Respecto al IMC, éste tampoco influyó en la posibilidad de conseguir embarazo. Está descrito que las mujeres con un elevado IMC responden peor al tratamiento y requieren, por tanto, una dosis mayor de gonadotropinas[25]. En el presente trabajo, los valores del IMC se mantuvieron en torno a 22, y por tanto no hay pacientes obesas. Dado que el IMC no se tomó como criterio para la selección del grupo de estudio, sería interesante estudiar la fertilidad en mujeres con un IMC mayor de 25. Es posible que los tratamientos, en estos casos, se hayan cancelado por baja respuesta, o que a la hora de transferir los embriones tuvieran una calidad peor, con ausencia de embriones tipo A o B. Aun así, en la bibliografía se indica que el ajuste del tratamiento de estimulación a la edad, peso y niveles hormonales basales de la mujer ayuda a que la respuesta sea independiente del IMC de la mujer, aunque en las clínicas de reproducción asistida recomiendan adelgazar antes de someterse a un TRA sobre todo por los efectos adversos de la obesidad durante la gestación[25].

DISCUSIÓN

En todas las mujeres los niveles basales de FSH eran inferiores a 10 UI/L, por lo que en ninguna de ellas fue prevista una baja respuesta ovárica al tratamiento[7, 22, 37], algo que suele ser más frecuente en mujeres con una edad superior a 37 años[37] y que por otra parte, nos ayudaría a prever la tasa de embarazo. En nuestra población se observa que los niveles de FSH basal no muestran diferencias significativas entre el grupo de mujeres que se quedaron embarazadas y las que no. Quizás esto se deba a que el nivel de FSH sólo sirve como marcador de RO cuando ésta está muy afectada[22], algo que no se dio en ninguno de los casos estudiados. Esto coincide con lo mencionado en la bibliografía, en que aunque en mujeres subfértiles menores de 40 años con niveles de FSH superiores de 8 UI/L la probabilidad de conseguir un embarazo espontáneo es muy reducida, y por tanto su fertilidad está comprometida, no se puede prever esta alteración con niveles más bajos de esta hormona[22].

Se sabe que unos niveles de estradiol basales comprendidos entre 20 y 80 pg/mL son indicativos de una mejor respuesta a la estimulación ovárica controlada[22]. En nuestro caso, todas las mujeres incluidas en el estudio tenían unos niveles hormonales de E₂ basal dentro de ese rango, y no hubo diferencias significativas entre los dos grupos, por lo cual estos niveles hormonales no ayudaron a prever el éxito o fracaso del tratamiento. Esto coincide con algunos estudios, en los que los niveles de E₂ basal no son determinantes para predecir la tasa de embarazos, y no se obtuvieron diferencias significativas en sus niveles entre mujeres de 24 y 52 años. Por tanto, se sugiere que el uso de éste marcador sólo podría servir para ver la respuesta al tratamiento de gonadotropinas exógenas y para aconsejar a aquellas parejas que desean someterse a una TRA[22].

Cuando se observa la respuesta al estímulo, medida como valor del último E₂ y número de ovocitos totales recuperados en la punción, estos resultados tampoco fueron concluyentes para predecir el éxito o fracaso de un TRA en mujeres jóvenes con alta calidad embrionaria.

Los valores del último estradiol, aunque fueron un poco superiores en el grupo de pacientes que no consiguió embarazo, tampoco eran significativamente diferentes entre ambos grupos.

DISCUSIÓN

El total de ovocitos recuperados tras la punción tampoco fue significativamente distinto entre las mujeres que quedaron embarazadas y las que no, aunque sí es cierto que en estas últimas el valor de su media era mayor que en las que tuvieron embarazo. En ambos grupos el número de ovocitos recuperados entraba dentro de lo considerado para una respuesta normal al tratamiento, no hubo casos de bajas respuestas o demasiado altas a la estimulación ovárica. Aunque según algunos estudios el hecho de obtener más cantidad de ovocitos es positivo para los resultados de un TRA[2], puesto que permiten al embriólogo escoger entre aquellos de mejor calidad para ser transferidos, en este caso el hecho de obtener más ovocitos está más relacionado con la no obtención de embarazo. Esto quizás se deba al efecto adverso de los estrógenos sobre el endometrio de la mujer[38], que reduce la tasa de implantación de los embriones transferidos, aunque éstos sean de buena calidad.

Estos resultados coinciden con los descritos en la bibliografía. La estimulación ovárica con FSH exógena hace que aumenten los niveles de E_2 en sangre, cuyo rango óptimo en el día de su medida previo a la administración de hCG está entre los 2300 y los 3000 pg/ml[38]. El aumento de E_2 provocado por la inducción de la superovulación controlada hace que se obtenga un mayor *pool* de ovocitos totales recuperados tras la punción folicular[33] que aumentan la probabilidad de escoger embriones de mejor calidad, y por tanto, unas tasas más altas de embarazo. A pesar de ello, está descrito que si estos niveles son demasiado elevados, tienen un efecto adverso sobre la calidad y el grosor endometrial, y por tanto, influyen negativamente sobre la tasa de embarazo[38].

En nuestros resultados, las mujeres que no se quedaron embarazadas tienen un mayores niveles de E_2 basal, de E_2 total tras el estímulo y un número total de ovocitos ligeramente superior, sin que las diferencias sean significativas.

Nuestros resultados sugieren que los estímulos más agresivos, medidos como valor del último E_2 y número de ovocitos totales influyen negativamente en la posibilidad de conseguir embarazo. Sería por tanto interesante estudiar en un futuro cómo afectan estos parámetros a la tasa de embarazo en otros grupos de pacientes con baja respuesta ovárica, bien por edad, por marcadores de RO o por un IMC superior a 25.

DISCUSIÓN

El grosor endometrial no fue útil como factor predictivo del embarazo de las mujeres sometidas a nuestro estudio. Es importante tener en cuenta que en aquellas pacientes con una línea endometrial fina, no adecuada para la implantación embrionaria, se suspendió la transferencia y se congelaron los embriones. Estos resultados coinciden con los obtenidos en otros estudios, en los que el grosor endometrial es independiente de la tasa de embarazo, aunque también es cierto que éste disminuye a medida que la edad de la madre es mayor [31]. Quizás, si en el estudio se hubieran incluido pacientes con grosores endometriales en el límite del rango óptimo hubiéramos obtenido distintos resultados. Por otra parte, en la bibliografía se indica que el patrón de triple línea es tan importante o más que un grosor endometrial adecuado [31, 39]. Por ello, sería interesante analizar si el grosor endometrial o el patrón de triple línea están relacionados ya no con la tasa de embarazo, sino con la tasa de pérdida de la gestación o de nacidos vivos, puesto que en la bibliografía se indica que un endometrio de condiciones no adecuadas es indicativo de una mayor tasa de aborto [31].

Cuando se analizó la dificultad de la transferencia se vio que era un factor determinante en la tasa de embarazos de nuestras pacientes. Tal y como se indica en la **tabla 5**, en el grupo de mujeres con transferencia fácil esta tasa fue de un 63%, mientras que sólo fue de un 30,8% entre las mujeres cuya transferencia se repitió, y ninguna de las pacientes con transferencia dificultosa obtuvo embarazo.

La repetición en la transferencia, tal y como se observa, redujo sustancialmente la tasa de embarazo. Esto coincide con lo obtenido en algunos estudios. El hecho de que la transferencia tenga que repetirse aumenta el tiempo del procedimiento, y por lo tanto el embrión se ve más expuesto a la luz, a la temperatura externa y a unas condiciones ambientales muy distintas a las que encontraría no sólo en el incubador, sino en el vientre materno [14]. Por tanto, la tasa de embarazo disminuye cuanto mayor sea el intervalo de tiempo entre la carga del catéter y su vaciado en el útero materno[40] Así, es lógico que la repetición en la transferencia haga disminuir la tasa de implantación del embrión.

Hay que tener en cuenta asimismo que al revisar el catéter tras la TE, si el embriólogo observa bajo la lupa que no se han transferido todos los embriones y hay que repetir la operación, podría ocurrir que los que no están en el catéter hayan quedado

DISCUSIÓN

mal emplazados en el útero o, incluso, podrían quedar adheridos a la guía del catéter y, por tanto, no ser transferidos en el lugar óptimo para implantarse.

Además, la repetición en la transferencia implicaría un mayor tiempo de manipulación del catéter dentro del útero, que estimula la liberación de prostaglandinas y oxitocina en la cavidad, provocando un aumento de las contracciones y por tanto los embriones podrían ser expulsados tras la TE [14]. Esto también ocurre en casos de transferencia difícil, con el uso de catéter Wallace y Frydman.

En el presente estudio no se ha analizado la presencia o no de mucus en el catéter. Aunque el ginecólogo retira lo máximo posible a la hora de limpiar el cérvix, podría haber cierta influencia del mucus en la repetición de la transferencia embrionaria. En cualquier caso, se observa que las complicaciones en la transferencia están asociadas al uso de catéteres más rígidos, y todo ello disminuye las tasas de embarazo significativamente.

El uso de un catéter rígido puede provocar trauma en el endometrio [14, 41, 42] que está medido por el clínico, indirectamente, como el sangrado durante la TE o su impresión de dificultad[42]. Estas lesiones del endometrio, que son de muchos tipos, provocan sangrado que puede impedir la implantación del embrión e incluso podría llegar a expulsarlo al embrión fuera de la cavidad uterina tras la TE[41]. Por ejemplo, el uso de catéteres rígidos como el Frydman, puede dañar el endometrio y el sangrado o bien taponaría la punta del catéter, o bien provocaría la colocación del embrión en un plano subendometrial relleno de sangre[41].

Todos estos traumas en el endometrio resultan en un fallo de implantación y, por tanto, en un tratamiento de FIV/ICSI fallido[11].

VI. CONCLUSIONES

- Los marcadores de RO tales como la edad, el IMC, y los niveles basales de estradiol y FSH no sirven como valores predictivos del éxito a un tratamiento de FIV/ICSI en mujeres menores de 37 años y con una calidad embrionaria alta.
- Aunque las diferencias no fueron significativas, se observa un cierto efecto negativo de los niveles de estradiol durante la estimulación ovárica sobre el resultado de un TRA.
- Entre mujeres menores de 37 años y con buena calidad embrionaria, el total de ovocitos recuperados no es útil para predecir el éxito de su tratamiento de FIV/ICSI.
- La repetición de la transferencia embrionaria reduce significativamente la tasa de embarazo, debido probablemente a un efecto deletéreo del intervalo de tiempo que transcurre desde la carga del catéter hasta su vaciado en la cavidad uterina, que en estos casos es superior al de las transferencias sin ninguna complicación.
- En mujeres menores a 37 años y con buena calidad embrionaria, las transferencias dificultosas tienen un efecto negativo sobre su tasa de embarazo. Esta tasa en el caso del presente trabajo es nula, mientras que en el caso de las transferencias fáciles es de un 63%.
- En futuros trabajos habría que estudiar como afectan a la posibilidad de conseguir embarazo, el E₂ total y el número total de ovocitos en pacientes con baja respuesta, buena calidad embrionaria y transferencia fácil.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Mascarenhas, M.N., Flaxman, S.R., Boerma, T., Vanderpoel, S., y Stevens, G.A., *National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys*. PLoS Med, 2012. **9**(12): p. e1001356.
2. Cai, Q., Wan, F., Huang, K., y Zhang, H., *Does the number of oocytes retrieved influence pregnancy after fresh embryo transfer?* Plos One, 2013. **8**(2): p. e56189.
3. Dupont, C.ySifer, C., *A Review of Outcome Data concerning Children Born following Assisted Reproductive Technologies*. ISRN Obstet Gynecol, 2012. **2012**: p. 405382.
4. Ludwig, A.K., Sutcliffe, A.G., Diedrich, K., y Ludwig, M., *Post-neonatal health and development of children born after assisted reproduction: a systematic review of controlled studies*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2006. **127**(1): p. 3-25.
5. Spitzer, D., Haidbauer, R., Corn, C., Stadler, J., Wirleitner, B., y Zech, N.H., *Effects of embryo transfer quality on pregnancy and live birth delivery rates*. J Assist Reprod Genet, 2012. **29**(2): p. 131-5.
6. Prapas, N., Prapas, Y., Panagiotidis, Y., Prapa, S., Vanderzwalmen, P., y Makedos, G., *Cervical dilatation has a positive impact on the outcome of IVF in randomly assigned cases having two previous difficult embryo transfers*. Hum Reprod, 2004. **19**(8): p. 1791-5.
7. Porcu, G., Lehert, P., Colella, C., y Giorgetti, C., *Predicting live birth chances for women with multiple consecutive failing IVF cycles: a simple and accurate prediction for routine medical practice*. Reprod Biol Endocrinol, 2013. **11**: p. 1.
8. El-Toukhy, T., Campo, R., Sunkara, S.K., Khalaf, Y., y Coomarasamy, A., *A multi-centre randomised controlled study of pre-IVF outpatient hysteroscopy in women with recurrent IVF implantation failure: Trial of Outpatient Hysteroscopy - [TROPHY] in IVF*. Reprod Health, 2009. **6**: p. 20.

BIBLIOGRAFÍA

9. Tiboni, G.M., Colangelo, E.C., Leonzio, E., y Gabriele, E., *Assisted reproduction outcomes after embryo transfers requiring a malleable stylet*. J Assist Reprod Genet, 2012. **29**(7): p. 585-8.
10. Chambers, A.E., Nayini, K.P., Mills, W.E., Lockwood, G.M., y Banerjee, S., *Circulating LH/hCG receptor (LHCGR) may identify pre-treatment IVF patients at risk of OHSS and poor implantation*. Reprod Biol Endocrinol, 2011. **9**: p. 161.
11. Phillips, J.A., Martins, W.P., Nastri, C.O., y Raine-Fenning, N.J., *Difficult embryo transfers or blood on catheter and assisted reproductive outcomes: a systematic review and meta-analysis*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2013.
12. Pacchiarotti, A., Mohamed, M.A., Micara, G., Tranquilli, D., Linari, A., Espinola, S.M., y Aragona, C., *The impact of the depth of embryo replacement on IVF outcome*. J Assist Reprod Genet, 2007. **24**(5): p. 189-93.
13. Singh, N., Gupta, P., Mittal, S., y Malhotra, N., *Correlation of technical difficulty during embryo transfer with rate of clinical pregnancy*. J Hum Reprod Sci, 2012. **5**(3): p. 258-61.
14. Mains, L.yVan Voorhis, B.J., *Optimizing the technique of embryo transfer*. Fertil Steril, 2010. **94**(3): p. 785-90.
15. Coroleu, B., Barri, P.N., Carreras, O., Martinez, F., Parriego, M., Hereter, L., Parera, N., Veiga, A., y Balasch, J., *The influence of the depth of embryo replacement into the uterine cavity on implantation rates after IVF: a controlled, ultrasound-guided study*. Hum Reprod, 2002. **17**(2): p. 341-6.
16. Franco, J.G., Jr., Martins, A.M., Baruffi, R.L., Mauri, A.L., Petersen, C.G., Felipe, V., Contart, P., Pontes, A., y Oliveira, J.B., *Best site for embryo transfer: the upper or lower half of endometrial cavity?* Hum Reprod, 2004. **19**(8): p. 1785-90.
17. Saldeen, P., Abou-Setta, A.M., Bergh, T., Sundstrom, P., y Holte, J., *A prospective randomized controlled trial comparing two embryo transfer catheters in an ART program*. Fertil Steril, 2008. **90**(3): p. 599-603.
18. Biasoni, V., Patriarca, A., Dalmaso, P., Bertagna, A., Manieri, C., Benedetto, C., y Revelli, A., *Ovarian sensitivity index is strongly related to circulating*

BIBLIOGRAFÍA

- AMH and may be used to predict ovarian response to exogenous gonadotropins in IVF.* *Reprod Biol Endocrinol*, 2011. **9**: p. 112.
19. Kato, K., Takehara, Y., Segawa, T., Kawachiya, S., Okuno, T., Kobayashi, T., Bodri, D., y Kato, O., *Minimal ovarian stimulation combined with elective single embryo transfer policy: age-specific results of a large, single-centre, Japanese cohort.* *Reprod Biol Endocrinol*, 2012. **10**: p. 35.
20. Boudjenah, R., Molina-Gomes, D., Torre, A., Bergere, M., Bailly, M., Boitrelle, F., Taieb, S., Wainer, R., Benahmed, M., de Mazancourt, P., Selva, J., y Vialard, F., *Genetic polymorphisms influence the ovarian response to rFSH stimulation in patients undergoing in vitro fertilization programs with ICSI.* *Plos One*, 2012. **7**(6): p. e38700.
21. Andersen, A.N., Witjes, H., Gordon, K., y Mannaerts, B., *Predictive factors of ovarian response and clinical outcome after IVF/ICSI following a rFSH/GnRH antagonist protocol with or without oral contraceptive pre-treatment.* *Hum Reprod*, 2011. **26**(12): p. 3413-23.
22. de Carvalho, B.R., Rosa e Silva, A.C., Rosa e Silva, J.C., dos Reis, R.M., Ferriani, R.A., y Silva de Sa, M.F., *Ovarian reserve evaluation: state of the art.* *J Assist Reprod Genet*, 2008. **25**(7): p. 311-22.
23. Lee, T.H., Liu, C.H., Huang, C.C., Wu, Y.L., Shih, Y.T., Ho, H.N., Yang, Y.S., y Lee, M.S., *Serum anti-Mullerian hormone and estradiol levels as predictors of ovarian hyperstimulation syndrome in assisted reproduction technology cycles.* *Hum Reprod*, 2008. **23**(1): p. 160-7.
24. Coulam, C.B., Jeyendran, R.S., y Roussev, R., *Association of progesterone receptor polymorphisms with recurrent implantation failure after in vitro fertilization and embryo transfer.* *J Assist Reprod Genet*, 2008. **25**(4): p. 119-22.
25. Souter, I., Baltagi, L.M., Kuleta, D., Meeker, J.D., y Petrozza, J.C., *Women, weight, and fertility: the effect of body mass index on the outcome of superovulation/intrauterine insemination cycles.* *Fertil Steril*, 2011. **95**(3): p. 1042-7.

BIBLIOGRAFÍA

26. Miller, K.L. y Frattarelli, J.L., *The pre-cycle blind mock embryo transfer is an inaccurate predictor of anticipated embryo transfer depth*. J Assist Reprod Genet, 2007. **24**(2-3): p. 77-82.
27. Yao, Z., Vansteelandt, S., Van der Elst, J., Coetsier, T., Dhont, M., y De Sutter, P., *The efficacy of the embryo transfer catheter in IVF and ICSI is operator-dependent: a randomized clinical trial*. Hum Reprod, 2009. **24**(4): p. 880-7.
28. Huang, S.Y., Wang, C.J., Soong, Y.K., Wang, H.S., Wang, M.L., Lin, C.Y., y Chang, C.L., *Site-specific endometrial injury improves implantation and pregnancy in patients with repeated implantation failures*. Reprod Biol Endocrinol, 2011. **9**: p. 140.
29. Bodbossou-Djobo, M.M., Zheng, C., Chen, S., y Yang, D., *Neuromuscular electrical stimulation and biofeedback therapy may improve endometrial growth for patients with thin endometrium during frozen-thawed embryo transfer: a preliminary report*. Reprod Biol Endocrinol, 2011. **9**: p. 122.
30. Al-Ghamdi, A., Coskun, S., Al-Hassan, S., Al-Rejjal, R., y Awartani, K., *The correlation between endometrial thickness and outcome of in vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET) outcome*. Reprod Biol Endocrinol, 2008. **6**: p. 37.
31. Chen, S.L., Wu, F.R., Luo, C., Chen, X., Shi, X.Y., Zheng, H.Y., y Ni, Y.P., *Combined analysis of endometrial thickness and pattern in predicting outcome of in vitro fertilization and embryo transfer: a retrospective cohort study*. Reprod Biol Endocrinol, 2010. **8**: p. 30.
32. Dekel, N., Gnainsky, Y., Granot, I., y Mor, G., *Inflammation and implantation*. Am J Reprod Immunol, 2010. **63**(1): p. 17-21.
33. Horcajadas, J.A., Diaz-Gimeno, P., Pellicer, A., y Simon, C., *Uterine receptivity and the ramifications of ovarian stimulation on endometrial function*. Semin Reprod Med, 2007. **25**(6): p. 454-60.
34. Evans, J., Hannan, N.J., Hincks, C., Rombauts, L.J., y Salamonsen, L.A., *Defective soil for a fertile seed? Altered endometrial development is detrimental to pregnancy success*. Plos One, 2012. **7**(12): p. e53098.

BIBLIOGRAFÍA

35. Yu, H.T., Wang, C.J., Lee, C.L., Huang, H.Y., Chen, C.K., y Wang, H.S., *The role of diagnostic hysteroscopy before the first in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection cycle*. Arch Gynecol Obstet, 2012. **286**(5): p. 1323-8.
36. Remohí, J.A., Beliver, J., Matorras, R., Ballesteros, A., y Pellicer, A., *Manual práctico de esterilidad y reproducción humana. Aspectos clínicos*. 4º ed, ed. E.M. Panamericana. 2012, Madrid. 642.
37. Leeners, B., Geraedts, K., Imthurn, B., y Stiller, R., *The relevance of age in female human reproduction - Current situation in Switzerland and pathophysiological background from a comparative perspective*. Gen Comp Endocrinol, 2013.
38. Loutradis, D., Beretsos, P., Arabatzi, E., Anagnostou, E., y Drakakis, P., *The role of steroid hormones in ART*. J Steroid Biochem Mol Biol, 2008. **112**(1-3): p. 1-4.
39. Zhao, J., Zhang, Q., y Li, Y., *The effect of endometrial thickness and pattern measured by ultrasonography on pregnancy outcomes during IVF-ET cycles*. Reprod Biol Endocrinol, 2012. **10**: p. 100.
40. Aletebi, F., *A new safe embryo transfer technique and its impact on ICSI outcome*. Middle East Fertility Society Journal, 2010. **15**: p. 153-158.
41. Marconi, G., Vilela, M., Bello, J., Diradourian, M., Quintana, R., y Sueldo, C., *Endometrial lesions caused by catheters used for embryo transfers: a preliminary report*. Fertil Steril, 2003. **80**(2): p. 363-7.
42. Cevrioglu, A.S., Esinler, I., Bozdog, G., y Yarali, H., *Assessment of endocervical and endometrial damage inflicted by embryo transfer trial: a hysteroscopic evaluation*. Reprod Biomed Online, 2006. **13**(4): p. 523-7.

