



I Congreso Argentino
de la Sociedad Argentina de Embriología Clínica.

Estimados colegas

Nos complace anunciar el **I Congreso Argentino de la Sociedad Argentina de Embriología Clínica (SAEC)**. Nuestra primera edición será un evento científico de grandes oportunidades para embriólogos, genetistas, investigadores, ginecólogos, andrólogos y psicólogos.

Nos van a estar acompañando, entre otras, la **Sociedad Argentina de Biología (SAB)**, **Red Latinoamericana de Reproducción Asistida (REDLARA)**, la **Asociación Latinoamericana de Reproducción Asistida (ALMER)**, **Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva (SAMeR)**

AUTORIDADES



Emb. Iván Anduaga Marchetti

Presidente del Comité Científico



Emb. Ignacio Moreno

Presidente del Congreso

COMITÉ CIENTÍFICO



Dra. Lidia

Cantú



Dra. Mariana

Hernandez



Dr. Gustavo

Martinez



Dr. Javier

Crosby

COMITÉ ORGANIZADOR



Dra. Alicia

Pené



Dra. Susana

Roble



Dra. Patricia

Failo



Lic. José

Talarico

Simposio SAEC-ALMER "Avances en implantación embrionaria"

Manejo de las fallas reiteradas de implantación

Dr. Agustín Pascualini

La implantación embrionaria depende de la presencia de un endometrio receptivo y de un embrión viable. Este proceso puede estar alterado si alguno de los dos factores se ve afectado. La falla reiterada de implantación es diagnosticada cuando embriones de buen aspecto morfológico fallan en implantar en reiteradas oportunidades en ciclos de reproducción asistida.

Existen múltiples definiciones de fallas reiteradas de implantación, y la misma constituye un síntoma más que un diagnóstico. Es decir, la falla de implantación debe ser considerada como el reflejo final de algo que está ocurriendo en forma repetitiva para que esa pareja no logre el embarazo.

Este "diálogo" entre el endometrio y el embrión puede estar afectado por distintas situaciones. Estas pueden ser del lado materno, en el útero, como ser alteraciones anatómicas, la presencia de un endometrio no receptivo, o por condiciones médicas maternas que afecten potencialmente la implantación como ser algunas trombofilias o trastornos inmunológicos.

Pero también pueden estar del lado del embrión, originados por un factor espermático paterno, materno por el ovocito, o de ambos.

Dadas estas condiciones, el estudio de la falla de implantación debe involucrar al estudio de la pareja como uno.

A pesar de los avances en reproducción, el análisis de las tablas de tasas de embarazo acumulada luego de múltiples intentos de tratamientos ha demostrado que los tratamientos de reproducción no son la panacea y muchas parejas permanecen sin lograr el embarazo a pesar de someterse a estas técnicas.

Con las mejoras de las técnicas de análisis cromosómico de los embriones (PGT-A) hemos visto que muchas de las fallas de implantación corresponden a fallas embrionarias por trastornos genéticos. Y se ha demostrado que la "técnica" de transferencia embrionaria y la calidad de los laboratorios también afectan la tasa

de implantación, por lo que es probable que la incidencia real de esta alteración dependa de cada Centro de Reproducción.

Gestación por Sustitución en la Argentina

Dr. Sergio Papier

La sociedad y particularmente la concepción del término familia han experimentado un conjunto de cambios que han llevado a la ciencia, y especialmente a aquellos que trabajamos en la ciencia de la salud, a adaptarnos a nuevas necesidades. Debemos comprender que la forma en que concebimos la familia y las relaciones de parentesco ha sido reconfigurada. Todos estos cambios han sido acompañados además por una mayor prevalencia de la infertilidad en el mundo.

En este momento, según los datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), se estima que en el mundo hay 80 millones de parejas con problemas de fertilidad entre ellos el factor uterino absoluto. En sus comienzos, la medicina reproductiva, poco podía hacer para resolver la mayoría de los casos de infertilidad por factor uterino absoluto que requerían algún tipo de tratamiento médico o quirúrgico. Los cambios de las últimas décadas han generado la necesidad de avances en las técnicas de reproducción asistida, las cuales se han consolidado fuertemente y la situación de las personas con dificultad para gestar por esa causa ha cambiado radicalmente.

Clásicamente, las indicaciones médicas para la subrogación uterina eran determinadas por un factor uterino (por ausencia del mismo o porque éste presentaba alguna alteración) o por alguna enfermedad que contraindique el embarazo en la mujer.

En los últimos años se están presentando situaciones distintas, que vienen derivadas de los distintos modelos de familia existentes en la sociedad actual, como ser las parejas homosexuales masculinas o de los varones sin pareja. Por lo tanto, las indicaciones de la subrogación uterina se han extendido y ya no solo se consideran frente a una patología femenina, sino que viene determinada por la ausencia de la mujer para poder gestar y la necesidad de disponer de una madre subrogada

La gestación por sustitución emerge como parte de estas técnicas y puede llegar a ser la única respuesta para algunas familias para que sus hijos tengan la misma identidad genética. Si bien la gestación por

sustitución tiene antecedentes desde hace más de cuatro décadas, en la Argentina es un camino que empezamos a recorrer, tanto los profesionales como los pacientes. Será un proceso en donde todos nos enriqueceremos e iremos aprendiendo. Debemos destacar que la subrogación uterina no debe ser vista desde un único enfoque, sino como un trabajo de asistencia multidisciplinario, en donde todos los profesionales de la salud implicados y la asistencia legal serán todos puntos de apoyo fundamentales, no sólo para los comitentes y la gestante, sino para nutrirnos entre las diferentes disciplinas y obtener los mejores resultados.

Plenaria “Control de la especificación y segregación de la línea germinal durante el desarrollo embrionario en mamíferos”

Dr. Ramiro Alberio

**Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad de Nottingham,
Reino Unido**

Los precursores de las gametas adultas se originan durante el desarrollo temprano del embrión mamífero. La biología de estas células es muy particular primero porque su lugar de origen es remoto a su localización definitiva del ovario/testículo del adulto, con lo cual estas células deben migrar a su destino final. Segundo que el epigenoma de estas células es reprogramado extensivamente de manera que la memoria epigenética de la cromatina es eliminada evitando la herencia intergeneracional de mutaciones epigenéticas.

Estudios recientes en sistemas de diferenciación a gametas humanas *in vitro* e *in vivo* en el embrión de cerdo han demostrado que la regulación genética de estas células sigue un programa diferente a aquel descrito en ratones (Irie et al., 2015; Kobayashi et al., 2017). En esta presentación discutiremos el programa de especificación y desarrollo de los precursores de la línea germinal durante el desarrollo temprano (~semanas 2-5 de vida) del embrión humano, utilizando el embrión de cerdo como modelo.

Modelos animales para el estudio del desarrollo humano

La limitante crítica para el estudio del programa de diferenciación de las células que conforman el embrión humano es la inaccesibilidad de material de estudio. El período en el cual ocurre la gastrulación humana es durante la segunda y la tercera semana luego de la fertilización del oocito. Modelos alternativos utilizando embriones de otros primates son limitados por las implicancias éticas en la obtención de este material, de manera que el cerdo se ha convertido en una especie de especial relevancia por numerosas razones prácticas así como biológicas: 1) de una cerda preñada se pueden obtener entre 20-25 embriones preimplantacionales en estado de gastrulación avanzada; 2) los animales utilizados pueden ser obtenidos de granjas comerciales; 3) el programa de desarrollo

temprano del cerdo tiene muchas similitudes con el embrión humano ; 4) los embriones de cerdo pueden ser modificados genéticamente para generar mutantes con gran eficiencia ; 5) el cerdo es una especie que tiene muchos aspectos fisiológicos relevantes para el humano, de manera que es un modelo excelente de biomedicina.

Circuito regulatorio y reprogramación epigenética de la línea germinal humana

En el año 2001 se descubrió el rol esencial del gen Prdm1 (o Blimp1) del ratón en la especificación de la línea germinal. Un grupo de 6 células en el extremo proximo-posterior del epiblasto es inducido a los 6.75 días del desarrollo a partir de la molécula BMP4 producida por el endodermo extraembrionario que cubre el embrión en este momento del desarrollo. Estas observaciones indicaban que llamativamente, la especificación de las células más importantes para la preservación de una especie, la línea germinal, dependen de la expresión génica de un tejido extraembrionario. Es posible que este mecanismo esté conservado en otros mamíferos? Esta pregunta no fue respondida hasta el 2015 cuando estudios utilizando métodos de diferenciación *in vitro* mostraron que el gen SOX17 era importante durante la especificación de la línea germinal humana. Dos años después nuestro laboratorio, en colaboración con colegas en Cambridge, demostró por primera vez que este programa de especificación está conservado en humanos, monos y cerdos.

Una observación importante de este trabajo es que la inducción de la línea germinal no dependía del tejido extraembrionario, sino del mesodermo extraembrionario, un tejido derivado del epiblasto. Esto demostró que señales intrínsecas del embrión son responsables de la inducción del programa de la línea germinal en mamíferos, excepto roedores.

Habiendo demostrado las similitudes entre el cerdo y el humano realizamos estudios de las células germinales utilizando la tecnología de transcriptómica de células individuales colectadas antes y después de la llegada a la gonada. Además hicimos un estudio del estado de metilación de la línea germinal luego de la llegada a la gonada. La observación más importante de este trabajo es que el programa de especificación de la línea germinal es concordante con lo observado en líneas humanas diferenciadas *in vitro*. Más importante aún es que la línea germinal del cerdo inicia la reprogramación del genoma antes de que estas células comiencen la migración hacia la gonada. Por

ejemplo, en la línea germinal femenina la reactivación del cromosoma X, que ocurre en la gónada en el ratón, se inicia en células premeióticas en el cerdo. Asociado con esto se observaron cambios en la demetilación de diversas histonas.

Cuando las células se encuentran en las gónadas la línea germinal es prácticamente completamente demetilada, y esto sugiere que es un mecanismo que previene la transferencia de epimutaciones a la nueva generación. Sin embargo nuestro trabajo muestra que aproximadamente 1% del genoma, mantienen alto porcentaje de metilación en la línea germinal. Muchos de estas áreas están asociadas con genes relacionados a enfermedades metabólicas, como la diabetes, y trastornos neurológicos, como esquizofrenia. Estos resultados fueron también encontrados en la línea germinal de humanos, lo que ha dado a sugerir que es posible que si estas regiones escapan la reprogramación del metiloma podrían ser la base de la transmisión intergeneracional de epimutaciones adquiridas durante la vida de nuestro ancestros.

En la charla discutire en más detalle esas observaciones y propondré como utilizando el cerdo como modelo estas hipótesis podrían ser evaluadas en el futuro.

Simposio SAEC-REDLARA "Controles de calidad en el laboratorio de embriología y su impacto en los resultados clínicos)

ORGANIZACIÓN DE UN CENTRO DE FERTILIDAD EN LA ARGENTINA

Dr. A. Gustavo Martínez

Director del Laboratorio de Medicina Reproductiva Fertilis
Vicepresidente de la Red Latinoamericana de Reproducción Asistida
Director del Comité de Acreditaciones de la Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva

Desde la sanción en el año 2013 de la Ley 26862 de "Acceso integral a los procedimientos y técnicas médico-asistenciales de reproducción médicamente asistida", las características de nuestro trabajo han cambiado. Quizás el principal cambio ha sido el aumento del volumen de trabajo.

Pero, pese a lo que la gente en general cree, esta solo fue una ley de "acceso". Esto significa que la ley solo determina quién debe cubrir los tratamientos: obras sociales, empresas de medicina prepaga, el estado nacional o los estados provinciales.

A mi entender se perdió una oportunidad única de regular nuestra práctica en forma integral, ya que, como veremos más adelante, los decretos posteriores actuaron en forma parcial como parches que trataron de cubrir los espacios vacíos que dejó la Ley 26862.

El Decreto 956/2013 es el que reglamentó la Ley 26862. En él solo se detalla quienes son los prestadores que deben cubrir los tratamientos, determinando que: *"El Ministerio de Salud de la Nación elaborará los criterios de habilitación de los establecimientos y las normas de diagnóstico y utilización de las técnicas de reproducción asistida para su cobertura dentro del Programa Médico Obligatorio (PMO)"*.

Las modificaciones posteriores que sufrió el Decreto 956/2013 determinaron qué se consideraba un tratamiento reproducción asistida, cuál era el número de tratamientos de baja y alta complejidad y cuál era el número de transferencias de embriones criopreservados que debían cubrirse.

Finalmente en el año 2015 el Ministerio de Salud de la Nación redactó el Decreto 1305/15, el cual marcó las pautas que determinan las condiciones básicas para habilitar los establecimientos de reproducción asistida. Estas pautas incluyen las características edilicias y de equipamiento de un centro de fertilidad, y determinan que profesionales pueden ejercer la dirección médica y de los laboratorios.

Este decreto del Ministerio de Salud de la Nación tiene alcance solo en la Ciudad Autónoma de Buenos Aires y en aquellos establecimientos sanitarios radicados fuera de dicha Ciudad que dependan del Ministerio de Salud de la Nación. Muchas provincias lo han adoptado como propias, mientras que otras han hecho modificaciones parciales y otras, como Buenos Aires, han redactado uno propio.

La presentación que tengo a mi cargo describe las condiciones impuestas por el Decreto 1305/15 para la habilitación de un centro de fertilidad.

Este decreto determina las condiciones edilicias y de equipamiento de:

- 1- Consultorio de reproducción médicamente asistida
- 2- Centro de reproducción médicamente asistida de baja complejidad
- 3- Establecimientos de reproducción médicamente asistida de alta complejidad con área quirúrgica y áreas complementarias
- 4- Banco de gametos
 - Banco de semen
 - Banco de ovocitos

Todavía quedan cuestiones no resueltas. Por un lado el compromiso del Ministerio de Salud de llevar adelante un Registro de Donantes de Gametas y de los tratamientos en general. Por el otro determinar fehacientemente que profesionales tienen incumbencias para trabajar en el laboratorio de reproducción asistida.

Reporte 2017 del registro latino Americano: Región Cono Sur

Dr. Javier A. Crosby. Asesor de Registro

Resumen: Se evalúan los datos entregados por 44 centros de la Región Cono Sur (Argentina, Bolivia, Chile, Paraguay y Uruguay). Es una recolección de datos caso a caso de forma retrospectiva de los procedimientos de reproducción asistida realizados durante el año 2017.

Resultados: Se reportan 26,358 ciclos iniciados en este periodo. De todos los procedimientos el 50.4% se realizó en pacientes de entre 35 a 39 años de edad y el 33.2% en mujeres de 40 o más años- La tasa de parto por transferencia en la región es de 21.8%. La transferencia de un embrión en casos de FIV/ICSI representa el 38.1% de todas las aspiraciones con una tasa de parto por transferencia de 18.5%. La transferencia de dos embriones representa el 59.3% de las transferencias con una tasa de parto de 23.9%. Las transferencias electivas de la región representan el 30% de todas las transferencias y tienen una tasa de parto por transferencia de 34.0%. Las transferencias de 5to y 6to día de desarrollo representan el 38.5% de todas las transferencias con una tasa de parto de 29.9%, pero si se consideran solo las de forma electiva, la tasa de parto llega a 45.3%. En ovodonación, la tasa de parto global es de 31.9% y en los casos de criopreservación total la tasa de parto es de 25.7%.

Conclusiones: El número de ciclos iniciados reportados en año 2017 es 12% menos que el año anterior. La frecuencia de tratamientos con crio preservación total ha aumentado en un 3%. La tasa de parto de casos de FIV/ICSI también ha aumentado de 19.7% a 21.8% entre el 2016 y 2017. Es de elogiar la frecuencia de tres o más embriones transferidos que es de 2.6%, por largo la menor de todas las regiones de Latino América.

Cambios que enfrenta un centro de acuerdo a la aparición de la legislación en la región

Dra. Lidia Cantú

La región ha experimentado cambios a partir de legislación reproductiva. Estos cambios llevaron a aumentar la inclusión haciendo que esta sea la más alta de América Latina acercándose a los datos de USA.

Actualmente hay dos países con leyes reproductivas en los que se reconoce la infertilidad como una patología y el derecho de las personas a la atención de tratamientos de baja y alta complejidad. Otros países están en proceso de aprobación de leyes y normativas reproductivas.

Esta nueva situación trae aparejado un aumento en la consulta reproductiva con el consiguiente aumento de casos de RA de alta complejidad.

Los centros se ven enfrentados a un incremento de la cantidad de casos. La planificación e implementación de políticas de calidad son imprescindibles para poder mantener los resultados.

Analizaremos los cambios a los que nos enfrentamos y las estrategias que podemos utilizar para ofrecer resultados de calidad cuando nos vemos enfrentados a un aumento significativo de casos.

Simposio SAEC "Edición génica en reproducción asistida"

CRISPR como una plataforma rápida, económica y portable para el diagnóstico de enfermedades.

Dr. Federico Pereyra Bonnet, INPA-UBA-CONICET

La tecnología CRISPR generó grandes avances en las investigaciones básicas y promete un impacto de igual magnitud en los tratamientos terapéuticos donde se necesite reparar genes dañados. Sin embargo, año tras año con CRISPR surgen nuevas e interesantes aplicaciones.

Junto con mi grupo estamos trabajando para usar CRISPR como un sistema de diagnóstico de enfermedades. Con solo tres componentes (la enzima Cas, una guía de ARN y una molécula reportera), podemos detectar un amplio grupo de organismos causantes de enfermedades. Con esta estrategia ya hemos podido detectar muchas de las resistencias a antibióticos que generan las superbacterias, hemos podido detectar virus como el zika, el dengue y el hantavirus, y actualmente lo estamos utilizando para detecciones sexuales en embriones animales.

Parte de nuestra estrategia consiste en automatizar este método de diagnóstico a través de la asociación de las moléculas CRISPR con un chip de microfluidica acoplado a un device que lee fluorescencia. Pero asimismo estamos trabajando en la portabilidad del sistema para obtener la lectura del resultado en tiras reactivas portables. Esto último traerá grandes ventajas a la hora de pensar en utilizar este sistema de detección en zonas sin equipamiento.

Este método de sencilla aplicación es además rápido ya que se pueden obtener los resultados en menos de una hora. El método de detección con CRISPR es también económico. Según un cálculo preliminar, cada detección de muestra puede tener un costo menor a los 0,60 centavos de dólar. Asimismo, acoplando el sistema CRISPR

con una técnica de amplificación del ADN, alcanzamos un límite de detección del target del orden atómico, lo que significa que el sistema es capaz de detectar hasta 2 moléculas de target por mililitro.

Por último, a través de una empresa de base tecnológica (EBT) bajo normativa CONICET, estamos embarcados en el desafío biotecnológico de transferir esta tecnología desde el laboratorio hasta los pacientes.

Edición epigenética del genoma del embrionario por el uso del sistema CRISPR/ *dead-Cas9*

Virginia Savy, Rafael Fernandez Martin, Romina Bevacqua y Daniel Salamone.

Laboratorio de Biotecnología Animal FA.UBA-CONICET

Se describirá el uso de diferentes estrategias alternativas que persiguen controlar la expresión génica de embriones producidos *in vitro*. Mediante ingeniería genética se logró obtener una versión inactiva de la nucleasa Cas9 dando lugar a una proteína programable que no corta el ADN pero con capacidad de reconocimiento y unión a sitios específicos del ADN, llamada dCas9 (del inglés "*dead-Cas9*"). La dCas9 fue luego fusionada a diferentes dominios efectores, permitiendo entonces obtener una proteína programable con actividad específica, que puede ser dirigida de forma precisa a un sitio preciso en el genoma. Entre las versiones actualmente disponibles de proteínas basadas en CRISPR/Cas9 se cuenta con enzimas metiladoras de ADN, acetiladoras o desacetiladoras de histonas, activadoras o represoras de la transcripción génica, entre otros. La fusión de la dCas9 con dominios de activación de la transcripción permitió modular los niveles de expresión de genes endógenos de forma precisa y simple. Con esta finalidad se evaluó

una estrategia sumamente novedosa para afectar genes que puedan afectar implantación y placentación de los clones. En este sentido, empleamos el sistema CRISPR/dCas9-VP160 (CRISPR-on) para inducir la expresión endógena de los genes *CDX2*, *SMARCA4* y *TFAP2C*, de modo de dirigir la diferenciación a TE en embriones. Dado hasta la fecha, no existen reportes sobre el uso de este sistema para la modulación de la expresión de genes endógenos en embriones con este sistema, inicialmente evaluamos esta técnica sobre embriones producidos por fecundación *in vitro* (FIV). Mediante análisis por inmunofluorescencia se comprobó la correcta síntesis y traducción del ARNm codificante para dCas9-VP160, en embriones murinos y bovinos. Además, por ensayos de RTqPCR se comprobó que el sistema es eficiente para la inducción de la expresión de *SMARCA4* dos días luego de la microinyección; aunque el efecto dejó de ser detectable a nivel ARNm a día 4 y 7. No sólo se evidenció la modulación de la expresión en el gen diana, sino también en la de efectores que operan río abajo de éste, como es *CDX2*. De hecho, aun cuando no pudo evidenciarse una inducción de la expresión de *TFAP2C* mediada por CRISPR-on, fue posible detectar un incremento significativo en la abundancia de transcritos de *NANOG*, para este grupo. Estos resultados alientan la aplicación de este sistema a embriones producidos *in vitro*, con el fin de corregir la expresión génica aberrante de los mismos para una mejora en el desarrollo y calidad del TE podría mejorar el reconocimiento materno-fetal, se estima esta metodología podría utilizarse al menos en reproducción asistida animal.

Simposio SAEC-SAMER "Fronteras en la estimulación ovárica"

Transferencia embrionaria diferida. ¿A quién y cuándo?

Dr. Agustín Pascualini

Las mejoras en la técnica de vitrificación, crio protectores e infraestructura en los laboratorios de reproducción han permitido que las tasas de embarazo con embriones criopreservados sean comparables a las tasas en fresco.

Aunque la transferencia de embriones en fresco es lo habitual en las técnicas de reproducción asistida, la estrategia de diferir la transferencia embrionaria ("Freeze all") con la segmentación del tratamiento, dado el uso de protocolos de estimulación ovárica con antagonistas de GnRH, maduración final con análogos de GnRH y la criopreservación electiva de todos los embriones tiende a ser una práctica habitual, mas aún en los casos de una buena respuesta ovárica a la estimulación. En esta estrategia la totalidad de los embriones son criopreservados (no solo "los segundos mejores"), para ser transferidos en otro ciclo con una preparación mas "fisiológica" del endometrio. El éxito de las técnicas de fertilización in vitro no solo depende de la calidad embrionaria sino, también, de la receptividad endometrial. Las modificaciones que sufre el endometrio durante la estimulación ovárica pueden afectar esta receptividad. Realizando una transferencia de embriones criopreservados en diferido, este efecto sería evitado y se podrían esperar mejores resultados.

Sin embargo, no hay evidencia científica de que esta "estrategia" mejore las expectativas de embarazo en población no seleccionada y que no tenga riesgos relacionados. La transferencia de embriones criopreservados debe tomarse con cautela ya que puede estar asociada a recién nacidos con mayor peso para la edad gestacional o con trastornos hipertensivos del embarazo. Además, que implica un aumento del costo y cambios en la rutina de trabajo con aumento de la carga laboral del laboratorio.

En algunos casos es una alternativa para tener en cuenta: evitar el síndrome de hiperestimulación ovárica o ante el aumento de la progesterona el día de la hCG.

La estimulación ovárica controlada es necesaria para incentivar el desarrollo multi folicular y aumentar la cantidad de ovocitos obtenidos con lo que se logran mayores tasas de éxito y mejores tasas de embarazo acumulada. Los niveles de hormonas supra fisiológicos que se logran durante la estimulación están asociados con modificaciones en el endometrio que en algunos casos pueden afectar la implantación y llevar a peores resultados obstétricos. Dado este efecto, potencialmente deletéreo de la estimulación ovárica sobre el endometrio, hace pensar que la estrategia de "Freeze all" sería una buena alternativa para todas las pacientes.

Protocolos de estimulación ovárica para TRHA: revisión sistemática de la literatura.

Dra. Idelma Serpa

La infertilidad es un problema común en todo el mundo, que afecta a aproximadamente hasta el 15% de las parejas, con tasas variables en diferentes partes del mundo. Factores como el inicio tardío del deseo de conformar una familia, el estilo de vida sedentario que produce obesidad, desnutrición, estrés, tabaquismo y adicción a las drogas o al alcohol son algunos de los factores que contribuyen al aumento de la infertilidad y al impacto adverso sobre la fertilidad. Las tasas de infertilidad son más altas en las mujeres urbanas, posiblemente debido al estilo de vida (estrés y hábitos alimenticios) y al matrimonio tardío. Además, aproximadamente el 1% de las mujeres desarrollan insuficiencia ovárica prematura antes de la cuarta década de la vida, principalmente debido a razones idiopáticas.

La inducción de la ovulación y la fertilidad se pueden lograr en un número significativo de estas mujeres con un enfoque de manejo multiespecializado. La terapia con gonadotropina es un componente importante del manejo de la infertilidad. Desde la introducción de las gonadotropinas, ha habido avances significativos en su desarrollo, especialmente durante las últimas dos o tres décadas. Actualmente, las gonadotropinas se usan ampliamente en todo el mundo para la inducción de la ovulación y la estimulación ovárica controlada para ciclos de hiperestimulación ovárica para tratamientos de reproducción asistida.

El uso de gonadotropinas para el desarrollo folicular múltiple ha mejorado significativamente las tasas de resultados de la fertilización

in vitro (FIV) a través de la estimulación ovárica controlada. Existen diferentes protocolos propuestos para la hiperestimulación ovárica controlada. Protocolos con Agonistas GnRH, con Antagonistas, diferentes tipos de gonadotrofinas e inhibidores de la aromatasa. Se describen protocolos largos, cortos, de estimulación mínima, doble estímulo. Algunos esquemas son más indicados en la baja respuesta; para la alta respuesta se recomienda usar gonadotrofinas en bajas dosis. También se ha llevado investigaciones para evaluar la utilidad de medicamentos pre-tratamiento de estimulación ovárica: ACO, DHEA, Testosterona, estrógenos, progesterona, hormona del crecimiento.

La evidencia disponible actualmente no muestra ninguna diferencia significativa entre las gonadotropinas urinarias y recombinantes con respecto a las tasas de implantación, embarazos clínicos, nacimientos vivos, abortos espontáneos y embarazos múltiples. Sin embargo, hay que ser cautelosos frente a esto dada la gran heterogeneidad de los trabajos publicados.

En conclusión, la elección de un esquema de hiperestimulación ovárica controlada debe depender del costo total de la terapia, la asequibilidad del paciente y la disponibilidad.

Agonistas GnRH

triptorelin

leuprorelin

deslorelin

goserelin

nafarelin

Antagonistas GnRH

Cetrorelix

garnirelix

Plenaria “cuatro décadas de Fertilización in vitro”

Kay Elder
Bourn Hall Clinic, Cambridge UK
A History of the First IVF Births

The successful birth of the first test tube baby represented the culmination of several decades of medical and scientific research: Patrick Steptoe, from his NHS practice in Oldham, introduced the technique of laparoscopy into the field of gynaecology during the early 1960's. With a special interest in the problems of infertility, he was the first to visualise the pelvis and develop a means of recovering mature pre-ovulatory oocytes from the surface of an ovary. Robert Edwards began studying reproductive biology during the 1950s, first in Edinburgh, followed by the USA, London, and then the University of Cambridge, where he extended his studies with animal systems to the human field by using material obtained from ovarian biopsies or pathology specimens, examining oocyte development and maturation in vitro. After a chance meeting at the Royal Society in 1968, they began a unique collaboration, combining Patrick's medical and surgical skills with Bob's scientific expertise in the manipulation of gametes to create embryos in vitro. It took 10 years of dedicated and persistent effort, in the face of not only repeated disappointment and failure, but considerable controversy and criticism from their peers, before their goal was eventually realised with the birth of Louise Brown.

Some of the team's laboratory and clinical records from 1969-1978 became available during 2013, revealing the numerous technical and scientific challenges that had to be overcome in order to achieve the ultimate goal of a live birth: correct timing, endocrinology and an in vitro culture system that would produce viable healthy embryos, as well as endometrial physiology capable of implanting and sustaining embryo development. A set of 21 notebooks and a box containing 571 pages of loose sheets and scraps of paper were cross-referenced and reconstructed to present an overview of the IVF work carried out in Oldham between January 9th 1969 and July 31st 1978. A minimum of 282 women was involved in 495 cycles scheduled for laparoscopic

oocyte recovery (LOR), of which 457 cycles (92%) proceeded to attempted egg collection. A total of 1361 eggs were recovered over 388 cycles, of which 1237 (91%) are recorded as having been inseminated in 331 (85%) of these cycles. Approximately 221 embryos were described in 165 (43%) of the 388 cycles, and 112 embryo transfers procedures were attempted, which resulted in five clinical pregnancies with two live births.

The birth of Louise Brown on July 25th 1978 became the focus of international media attention as headlines all over the world proclaimed "Test tube baby born" "Baby of the century" ..." "It's the all-British miracle..." However, within a very short period of time headlines had a different tone: "Test tube baby: was it a hoax?" "We must not allow doctors to play God", "Test tube birth immoral". Attempts to continue their ideas for research faced outright rejection from both medical and scientific communities, as well as the public. Looking for support to continue their work, they were refused and rejected by the NHS, MRC, and all academic establishments. By the end of 1978, Patrick had retired from the NHS and left Oldham General Hospital; it seemed that they had reached the end of the road. This Brave New World technique was heralded as dangerous, one that would never become medically or ethically acceptable. However, with exceptional and courageous determination and faith in their convictions - they persisted in the quest to continue. Two years later, in September 1980, sufficient venture capital was raised to buy a run-down manor house in a spectacular rural setting near Cambridge, where they set up temporary Portacabins as wards, operating theatre, and laboratories - and started offering IVF treatment to infertile patients at Bourn Hall Clinic, with immediate and continuing success. In September 1981, the first International IVF Meeting was held at Bourn Hall, where teams from many parts of the world met to share and discuss their experience with this new and challenging medical discipline. Since that time, IVF treatment has evolved from a laborious and intensive hospital procedure into a simpler, streamlined, planned out-patient treatment - and is now a global commercial enterprise. An overview of clinical IVF practice in 2019 will briefly summarize changes in treatment and technology that have taken place over the past 50 years.

Reference:

Elder K, Johnson MJ (2015). Symposium: The Oldham Notebooks: an analysis of the development of IVF, 1969-1978. Reproductive BioMedicine and Society Online, Volume 1.

Simposio SAEC "innovaciones tecnológicas en reproducción"

Transferencia de Huso Meiótico

Dr. Ariel Ahumada, Ph.D.

Procrearte, Red de Medicina Reproductiva y Molecular

Las fallas de implantación embrionaria están relacionadas con desordenes genéticos y también con deficiencias en la competencia de los gametos que originan al embrión. Las evidencias muestran claramente una función de las mitocondrias en este proceso. La edad materna o factores biológicos determinan una disminución en el número de mitocondrias del ovocito (contenido de DNA) o mutaciones en su ADN. Esto determina una reducción en la producción de ATP. El ATP juega un papel central en un sinnúmero de procesos biológicos, por lo que su baja producción es decisiva en el retraso o detención temprana del desarrollo embrionario o en la expresión de enfermedades del ADN mitocondrial en la descendencia. Para soslayar tales deficiencias se han desarrollado terapias de reemplazo del repertorio mitocondrial, como es la transferencia del huso meiótico. Esta técnica consiste en transferir el material genético del ovocito con disfunción mitocondrial (carioplasto) a un citoplasma receptor sano (citoplasto) proveniente de un ovocito donante, previamente enucleado. El ovocito así reconstituido adquiere un repertorio de mitocondrias "saludables" capaz de producir altos niveles de ATP con un consecuente efecto "rejuvenecedor", evitando, a la vez, la transmisión de enfermedades de origen mitocondrial.

Los estudios en animales y en óvulos de donantes humanos donados para investigación han demostrado el potencial de esta técnica para el tratamiento de la infertilidad de origen mitocondrial. El objetivo de este estudio fue poner a punto esta técnica y estandarizar las condiciones para optimizar su aplicabilidad en patologías mitocondriales o metabólicas, cuyo asiento son deficiencias de la función mitocondrial.

Para la puesta a punto de esta técnica, se utilizó un modelo de maduración *in vitro* de ovocitos, recuperados en estadio inmaduro de

vesícula germinal (VG). Los ovocitos recuperados en estado de V.G (Profase) se dejan madurar espontáneamente y luego de aproximadamente 30h en medio cultivo embrionario logran alcanzar la madurez. Los ovocitos en estadio de metafase II se preincuban con un inhibidor del citoesqueleto de actina cortical (citochalasin B), lo que permite la extracción del huso meiotico (identificado por medio de luz polarizada) y su posterior transferencia al citoplasma receptor. Para fundir el huso meiótico (carioplasto) con el citoplasma del ovocito receptor, previamente enucleado (citoplasto), se utiliza una solución de proteínas de fusión de origen viral (HVJ). Culminado el proceso de fusión, 1h post transferencia del carioplasto, se realiza el ICSI y cultivo según la técnica convencional. Empleando esta estrategia se alcanza una eficiencia de fusión de alrededor del 90% y tasas de fecundación normal en torno al 70%. Sorprendentemente, resultados comparables se obtienen al fusionar el cuerpo polar a un citoplasto, por lo que de cada ovocito se pueden obtener dos gametos viables. Finalmente, el potencial de los embriones producidos por estas técnicas se ha evaluado empleando ovocitos de donante y muestras de semen de banco. Se ha obtenido embriones que alcanzan el estadio de blastocisto a los cuales se proyecta estudiar por NGS para establecer su status genético.

En síntesis, la transferencia de huso meiótico y corpúsculo polar representan alternativas terapéuticas únicas en pacientes portadoras de enfermedad mitocondrial o con deficiencias metabólicas irreversibles debidas a una disfunción mitocondrial.

Metabólica Embrionaria para la selección de embriones Euploides

Lic. Anduaga Marchetti Iván

Director del laboratorio de embriología clínica de NASCENTIS

Las investigaciones en el área de medicina reproductiva tienen como uno de los grandes desafíos generar nuevas tecnologías y herramientas para los procesos que involucran a la fertilización *in-vitro*, cultivo embrionario, y por sobre todo selección del mejor embrión con potencial de generar un embarazo. Los sistemas de selección de embriones basados en su morfología tienen limitaciones,

generando más de un 50% de fallas de implantación, motivo por el cual es necesario desarrollar nuevos sistemas de selección embrionaria. Las investigaciones actuales más prometedoras se enfocan en tecnologías como la genómica, transcriptómica, proteómica, metabolómica y morfología en tiempo real. Los estudios invasivos para el embrión se realizan mediante una biopsia blastomérica y se estudia a nivel de los cromosomas y genes, se usan técnicas como array Comparación Genómica Hibridativa (aCGH) y actualmente la secuenciación masiva (NGS-Next Generation Sequencing). Los estudios no invasivos para el embrión como la transcriptómica, proteómica están escasamente desarrollador. La metabolómica estudia el conjunto de metabolitos, pequeñas moléculas, que constituyen a un sistema biológico y reflejan el estado funcional fenotípico. En embriones humanos se ha estudiado con tecnologías de resonancia magnética nuclear (NMR-Nuclear Magnetic Resonance); mediante espectroscopia de infrarojo cercana (NIR-Near Infrared) y mediante espectroscopia infraroja (FTIR Fourier Transform Infrared).

El objetivo de nuestra línea de investigación es utilizar la metabolómica como una nueva herramienta no invasiva que nos permita aportar mayor información de los embriones para así poder escoger el de mayor potencial implantatorio. A lo largo de estos cinco años hemos investigado sobre: A) si es posible utilizar los perfiles metabolómicos para diferenciar blastocistos con distinto grado de expansión. B) diferenciar perfiles metabolómicos de blastocistos de distintas calidades embrionarias. C) diferenciar perfiles de blastocistos que generen embarazo y por ultimo D) estudiar los perfiles metabolómicos de blastocistos euploides y aneuploides.

Con herramientas de support vector machines (SVM), Análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales (PLS), Análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales de tipo *sparse* (SPLSDA), validación cruzada (LOOCV), Analisis de componentes principales (PCA) e inteligencia artificial (IA) es posible desarrollar algoritmos capaces de predecir un 78% la euploidia de un blastocisto comparado con la técnica de NGS.

Nuevos abordajes para estudiar el eje-embrio endometrial (SAEC 2019)

Dra. Rosanna Ramhorst

Laboratorio de Inmunología Reproductiva y de la Fertilidad

CONICET, Universidad de Buenos Aires. Instituto de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (IQUIBICEN). Buenos Aires, Argentina.

La eficacia de la implantación embrionaria es muy baja en humanos, dado que la implantación exitosa requiere de un blastocisto competente y del endometrio en etapa receptiva en forma sincronizada. Pese a los avances en el campo de la fecundación in vitro más del 30% de los blastocistos euploides no logran implantar en un endometrio receptivo. Recientemente se ha propuesto que la decidua tiene la capacidad de sensor la calidad embrionaria limitando la invasión de blastocistos inviabilizados. Los mecanismos involucrados no están completamente elucidados, lo cual se debe parcialmente a la falta de modelos in vivo adecuados. En este trabajo, abordamos el estudio del eje embrio endometrial a través del desarrollo y de la utilización de modelos in vitro, logrando estudiar distintos aspectos del mismo. Particularmente discutiremos nuevos abordajes para estudiar el sentido de la calidad embrionaria por parte de las células deciduales utilizando distintos modelos in vitro: 1) de decidualización, usando la línea celular humana de estroma endometrial (HESC); 2) de interacción embrio endometrial, utilizando células HESC deciduales y medios condicionados de blastocistos (MCB) clasificados según su calidad siguiendo criterios morfológicos; y 3) de invasión trofoblástica, mediante el co cultivo de células HESC con esferoides de células trofoblásticas (línea celular Swan 71). Este último modelo nos permite simular los momentos iniciales de la implantación embrionaria. Específicamente, podemos evaluar las interacciones celulares entre las células trofoblásticas y las deciduales, y cómo distintos tratamientos regulan la capacidad invasiva de las primeras sobre las segundas. Así se podrán responder situaciones experimentales de forma análoga a lo que sucede fisiológicamente, ya que las células deciduales se mostraron más permisivas a la invasión de células trofoblásticas que las no diferenciadas; y este comportamiento se modula al estimular con MCB según la calidad del mismo. Este modelo puede

complejizarse aún más con el agregado de Matrigel, permitiendo simular no sólo la interacción entre células trofoblásticas y endometriales sino también con la matriz extracelular, lo cual nos abre a futuro la posibilidad de profundizar en los procesos tempranos de la implantación que condicionan el futuro desarrollo del embarazo. Esperamos que estos y futuros avances en modelos de investigación permitan dilucidar los mecanismos moleculares de patologías asociadas a la implantación y placentación, y de este modo, obtener nuevos biomarcadores, así como también desarrollar nuevas estrategias terapéuticas para patologías de la reproducción.

Plenaria “Regulación del Desarrollo del embrión preimplantatorio, en el embrión mamífero” (excluyendo raton)

Ramiro Alberio

Escuela de Ciencias Biologicas, Universidad de Nottingham, Reino Unido

El desarrollo del embrión mamífero está regulado mediante procesos de inducción celular que promueven la segregación de los primeros linajes. Estos procesos son orquestados mediante la expresión de factores de transcripción, vías de señalización, y mecanismos epigenéticos que en los últimos años han sido estudiados a nivel de células individuales dentro de cada embrión, aumentando de manera fundamental y detallada nuestra capacidad de interrogar estos procesos de desarrollo. Aprovechando la disponibilidad de las secuencias de los genomas de muchas especies domésticas he sido posible expandir estudios de embriología comparativa. A partir de estas investigaciones han emergido nuevas interpretaciones sobre la conservación de mecanismos en diferentes especies, así como el descubrimiento de mecanismos evolutivos únicos de algunas especies.

Uno de los aspectos salientes del desarrollo preimplantacional es la formación del blastocisto, en la cual se establece la segregación de los precursores de tejidos extraembrionarios, como la placenta y el endodermo primitivo, así como la formación del epiblasto, precursor de todos los tipos celulares que contribuyen a la formación del feto. Estudios clásicos de los últimos 40 años definieron en gran detalle estos procesos gracias al desarrollo de tecnologías de fertilización *in vitro*, primero en el ratón, como modelo de desarrollo mamífero por excelencia, y más recientemente a partir de la disponibilidad de embriones humanos y de animales domésticos.

A partir de la fertilización del oocito, el embrión inicia una serie de divisiones reduccionistas, por la cual el número de células del embrión se incrementa gradualmente, sin incrementar su masa y manteniendo una identidad similar, desde el punto de vista de expresión génica, hasta aproximadamente las 16-células en ratón y entre 32/64 en humanos, cerdo y bovinos. A partir de este momento la primera decisión de separación de las células del trofoectodermo y la masa celular interna se lleva a cabo, dando lugar al blastocisto. Los

procesos que regulan la segregación del trofoblasto han sido estudiados en detalle en el ratón, y muestran que cambios en la polaridad de los blastómeros que se encuentran en la superficie de la morula están sujetas a diferentes fuerzas físicas que intervienen en la estimulación de vías de señalización que determinan la activación de factores de transcripción responsables de la especificación de este linaje. Un día más tarde, en el embrión de ratón, la masa celular interna inicia el segundo proceso de segregación, el endodermo primitivo y el epiblasto, y de esta manera queda configurado el blastocisto preimplantacional. Estudios recientes utilizando las técnicas de secuenciación de ARN en células individuales han, sin embargo, cuestionado la secuencia de este proceso en embriones humanos, postulando que en especies donde el número de células es mayor, y los procesos están más espaciados en el tiempo, la rigidez descrita del embrión de ratón es una peculiaridad de esta especie de roedores. En embriones humanos aparentemente el proceso de especificación de los linajes sería más relajada y más tardía, similar a lo descrito en otras especies de animales domésticos, como el cerdo o el bovino.

En esta presentación discutiré estos nuevos descubrimientos y presentaré futuras oportunidades para biotecnología y biología regenerativa basados en estos conceptos de la biología del desarrollo de embriones en diferentes especies.

Simposio SAEC "Perspectivas futuras del PGTA

Avances y límites naturales en el laboratorio PGT-A

Dr. Claudio Bosioli

Desde sus inicios y hasta la actualidad el diagnóstico genético pre-implantacional para la detección de aneuploidías (PGT-A en su denominación actual) ha merecido el embate de críticas, a veces acertadas, otras injustificadas, pero que siempre deberían ser bienvenidas. Desde la lápida impuesta al FISH por Sebastiaan Mastenbroek y sus colaboradores en el *New England Journal of Medicine* de julio de 2007, pasando por las respuestas de quienes marcaban las falencias de su trabajo hasta el advenimiento de las nuevas técnicas de aCGh y NGS, y la evidencia aun limitada a pesar de contar con trabajos aleatorizados controlados bien diseñados, todo ha repercutido en la manera en que nosotros hemos llevado adelante estos diagnósticos durante los últimos 14 años. Teniendo esto presente nos proponemos en primer lugar trazar una línea de tiempo de nuestro propio desarrollo personal en esta materia (FISH con biopsias con ácido de Tyrode, oligonucleótidos, aCGH, biopsia en D3 vs D5, NGS, SNPs) para luego dedicarnos a comentar sus avances:

1. Su uso para el rescate de ovocitos fertilizados anormalmente con un pronúcleo o con dos pronúcleos más un mini-pronúcleo;
2. Las diferentes tasas de aneuploidías y mosaicismo en diferentes laboratorios y una posible explicación adicional a las ya presentadas para intentar develar este misterio;
3. Los diagnósticos no invasivos: la transcriptómica, la genómica no invasiva y lo que nos ha enseñado la metabolómica y el lugar que aún puede tener en un futuro cercano;
4. El probable futuro en la predicción de la normalidad genética y la viabilidad embrionaria que nos prometen la suma de alguna de las llamadas "ómicas", el registro continuo del desarrollo embrionario y la inteligencia artificial.
5. Desandaremos brevemente los usos y mal usos de la palabra "inteligencia artificial", o sea de las herramientas provenientes de la automatización de los procesos y de los algoritmos que entrenan a máquinas y programas para que aprendan de la experiencia y que finalmente mimeticen el comportamiento humano con el fin de procesar y hacer útil la llamada *big data*.

6. Preguntarnos si entonces estamos recién en el lanzamiento de estas novedades o ya situados en el pico de las expectativas sobredimensionadas, con el fin de no caer demasiado profundo en el abismo de la desilusión y llegar cuanto antes a la meseta de la productividad, luego de haber remontado la rampa de la consolidación.

7. Finalmente nos preguntaremos si en verdad existen límites impuestos por la misma naturaleza o por la técnica y el significado de la plasticidad y la resiliencia (término acuñado en la psicología, adoptado por la ecología y la física de materiales y que bien podríamos estrenar nosotros) del material biológico con el que trabajamos.

Biopsiar o no biopsiar: la nueva era del análisis de aneuploidías embrionarias.

Dr. Luis Navarro Sánchez, Molecular Biology Specialist, Igenomix

El éxito de los tratamientos de reproducción asistida se basa en transferir los mejores embriones, es decir, aquellos con el mayor potencial de implantación y que tendrán, por tanto, las mejores tasas de embarazo evolutivo. La selección de embriones euploides se ha propuesto como la técnica idónea para seleccionar los embriones con mayor capacidad de implantación y reducir las tasas de aborto.

En la actualidad, el diagnóstico de aneuploidías embrionarias o PGT-A (del inglés "preimplantation genetic testing for aneuploidies") se basa en la biopsia de células del trofoectodermo (TE). Otras alternativas, como la morfología y la morfocinética, tienen poca correlación con la ploidía del embrión, por lo que no pueden reemplazar a las técnicas de PGT-A.

Las estrategias de PGT-A basadas en biopsia implican ciertas limitaciones técnicas, económicas e incluso legales en algunos países, dado que es necesario manipular el embrión, lo que podría afectar a su viabilidad. Por ello, en los últimos años, se han propuesto diferentes estrategias con el objetivo de diagnosticar el contenido cromosómico del embrión sin necesidad de llevar a cabo una biopsia de trofoectodermo.

Algunos grupos han analizado el fluido del blastocelo, obtenido por aspiración mediante una fina micropipeta, lo cual es un método menos invasivo que la biopsia de TE aunque también implica cierta

manipulación del embrión. Otros grupos se han decantado por el estudio del medio de cultivo. Se ha propuesto que en ese medio puede encontrarse ADN libre secretado por el embrión en los últimos estadios de su desarrollo. Las primeras publicaciones relacionadas con estas estrategias no invasivas han comparado los resultados de PGT-A con biopsia de TE ('el gold estándar actual'), con los resultados del análisis del medio de cultivo, para establecer las tasas de concordancia entre ambas aproximaciones. En dichos estudios, los porcentajes de informatividad y concordancia varían ampliamente, probablemente reflejo de la existencia de mosaicismo, la presencia de ADN procedente de células del cúmulo o corpúsculos polares en el medio de cultivo, así como la variedad de metodologías empleadas en cuanto al cultivo del embrión (volumen de la microgota y tiempo en cultivo), la manipulación previa del blastocisto (vitrificación, hatching asistido) o el análisis del ADN (métodos de amplificación y detección). Esto pone de manifiesto la necesidad de optimizar tanto las condiciones de cultivo como las técnicas moleculares antes de poder aplicar clínicamente estas tecnologías no invasivas.

Nuestro grupo ha llevado a cabo un estudio piloto usando una aproximación totalmente no invasiva (sin vitrificación, ni hatching asistido, ni ningún otro tipo de manipulación del embrión durante su cultivo). En este estudio, hemos comparado, para un mismo embrión, el resultado del análisis de aneuploidías de su medio de cultivo y de una biopsia de TE. En este estudio la tasa de concordancia global ha sido del 78.7% y la concordancia ha sido incluso superior, 84%, cuando el medio de cultivo se recuperaba en el día 6 del desarrollo embrionario.

Además, hemos realizado el seguimiento de un grupo de pacientes incluidas en el estudio piloto a las que se les hizo transferencia de un único embrión basada en el resultado de la biopsia de TE. Se han comparado los resultados en función del resultado del medio de cultivo y se ha observado que las tasas de embarazo evolutivo fueron superiores cuando ambos TE y medio de cultivo eran euploides, respecto a cuando TE era euploide pero el medio de cultivo aneuploide. Estos resultados indican que el medio de cultivo embrionario contiene ADN embrionario que puede servir para determinar la dotación cromosómica embrionaria.

Human preimplantation embryos in vitro, 1969 – 2019

*Kay Elder
Bourn Hall Clinic, Cambridge UK*

Bourn Hall Clinic in Cambridge opened in September 1980 as the first Clinic in the world to offer IVF for the treatment of infertility. In October 1980, 23 patients were admitted for natural cycle IVF treatment, with laparoscopic oocyte retrieval of single eggs timed by detection of the LH surge. Two of these patients delivered healthy babies the following summer, and similar success was achieved with the next cohort of 44 patients treated before the end of that year. Mild ovarian stimulation with Clomiphene/LH or HCG and then Cl/MHG was introduced during 1981, with an average of 5.6 oocytes retrieved per laparoscopy; a clinical pregnancy success rate of 26% was reported after 406 embryo transfers, increasing to nearly 30% after 1200 ET by April 1983. After 767 pregnancies and 500 live births by July 1985, a milestone paper analysed and summarised all of the clinical parameters associated with 3450 laparoscopies: age, infertility cause, type of stimulation, number of embryos transferred, abortion rate, weight and abnormalities after live births, etc. By December 1987, 1000 babies had been born as a result of treatment at Bourn Hall.

Forty years later, Assisted Reproductive Technology has evolved significantly, with extensive changes in types of treatment and technology – and yet selecting embryos with the optimal implantation potential remains an ongoing challenge: a wide range of both objective and subjective strategies for selection have been applied for ‘choosing the right embryo’. However, embryo ‘quality’ can only be defined in terms of the prognosis for successfully implantation leading to a healthy live birth, and this is fundamentally based upon gamete health, initially determined by a range of in vivo factors. In vitro fertilization and embryo development is then influenced by numerous clinical and laboratory factors/parameters. New and sophisticated technology has opened a window into previously inaccessible pathways of embryonic development: advanced research techniques can be applied to single embryos, and even to single cells.

A clinical strategy that allows immature oocytes and surplus cryopreserved human embryos to be donated for research can lead to a better understanding of human pre-implantation embryo development and the factors that may predict developmental outcome. Understanding the fundamental cell and molecular biology that underpins normal development will allow *in vitro* culture protocols to be refined, in order to provide optimal conditions that will maximise and sustain embryo viability. Mouse embryo culture has long provided a convenient system for research and quality control testing, although its suitability as a model for human IVF culture has repeatedly been challenged. Over the past five years, experiments carried out using human immature oocytes and cryopreserved human embryos donated for research have revealed clear differences in early development between mouse and human embryos. Human IVF protocols are now in need of re-evaluation in the light of current advances in knowledge about the development of human preimplantation embryos.

References:

Boiso, I (2002). Fundamentals of human embryonic growth *in vitro* and the selection of high-quality embryos for transfer (Review). *Reproductive BioMedicine Online* 5(3):328-350.

Elder K , Dale B (2019). *In Vitro Fertilization*, 4th edition. Cambridge University Press

Ménézo Y, Dale B, Elder K (2018). Time to evaluate ART protocols in the light of advances in knowledge about methylation and epigenetics. *Human Fertility* 21(3):156-62.

Simposio SAEC-SAB "Avances en el conocimiento de las gametas femeninas y masculinas"

Mecanismos de Activación Ovocitaria

Dr. Matías D. Gómez Elías (IBYME-CONICET)

En mamíferos, la entrada del espermatozoide fertilizante gatilla en el ovocito una serie de cambios que en conjunto se denominan "activación ovocitaria" y constituyen las primeras etapas del desarrollo embrionario. La activación del ovocito abarca eventos tempranos como la exocitosis de gránulos corticales, con roles en la prevención de la polispermia, y la reasunción de la detenida meiosis, y eventos tardíos que incluyen la extrusión del segundo corpúsculo polar, la descondensación de la cabeza espermática y el reclutamiento de ARNm. Si bien ha sido claramente establecido el papel fundamental del Ca^{2+} en la iniciación de estos eventos, es poco lo que se sabe aún sobre los efectores moleculares que transducirían dicho aumento a los diferentes eventos celulares, lo que es motivo de estudio en nuestro grupo. En este sentido, hemos descripto por primera vez la existencia de una exposición transitoria de fosfatidilserina en la membrana plasmática del ovocito fertilizado de ratón, la cual no está asociada a apoptosis, y que podría entonces estar cumpliendo un rol en la regulación de los mecanismos moleculares asociados a la activación. Nuestros resultados mostraron que la exposición de fosfatidilserina no depende de la fusión de las gametas, sino del aumento de Ca^{2+} citoplasmático producido tanto por el espermatozoide fertilizante como por la activación partenogenética con SrCl_2 . Sin embargo, el tratamiento con el ionóforo de calcio A23187, que también gatilla la activación del ovocito, no indujo la translocación, sugiriendo diferencias en los mecanismos asociados a las distintas vías de señalización. En este sentido, nuestros resultados apoyan que la entrada de Ca^{2+} del medio extracelular sería necesaria para la exposición de fosfatidilserina. Por otro lado, si bien este fenómeno no es consecuencia de la desorganización de la membrana producto de la exocitosis cortical, se evidenció que la fosfatidilserina se expone mayoritariamente en los sitios de fusión de los gránulos corticales, sugiriendo una posible función como señal para un evento posterior. En concordancia con este resultado, observamos por primera vez que luego de la

exocitosis masiva de gránulos corticales en el ovocito de ratón ocurre un mecanismo de endocitosis compensatoria, que contribuiría a la homeostasis de la membrana plasmática. Esta endocitosis fue evidenciada tanto en ovocitos fertilizados como activados con SrCl_2 , y ocurriría por un mecanismo que depende de la dinámica del citoesqueleto de actina y de la actividad de calcineurina, dinamina y proteína quinasas. Finalmente, en los ovocitos activados con el ionóforo A23187, que sufrían normalmente la exocitosis de los gránulos, la endocitosis compensatoria se encontraba muy disminuida, sugiriendo que este mecanismo podría estar precedido y regulado por la exposición de fosfatidilserina antes mencionada. En conjunto, estos estudios proveen información novedosa asociada a los eventos celulares y moleculares gatillados por el espermatozoide en el ovocito, que podrían ser cruciales para el correcto desarrollo del embrión resultante como así también para el desarrollo de nuevos métodos de diagnóstico y tratamiento de la infertilidad por fallas en activación ovocitaria.

RESÚMENES SELECCIONADOS A PREMIO

MODULACIÓN EN EL CONSUMO DE GLUCOSA DURANTE LA MADURACIÓN *IN VITRO* DE COC PORCINOS. EFECTO DE INSULINA-TRANSFERRINA-SELENIO Y METFORMINA

Luchetti Carolina Griselda^{1,3}, Lorenzo María Soledad^{1,3}, Elia Evelin Mariel^{2,4}, Teplitz Gabriela Maia^{1,3}, Cruzans Paula Romina¹, Ghersa Josefina¹, Lombardo Daniel Marcelo¹

¹Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA)- ²Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental -³Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET)- ⁴CONICET-UBA-Instituto de Fisiología, Biología Molecular y Neurociencias (IFIBYNE).

El objetivo del trabajo fue evaluar los efectos de la suplementación de los medios de maduración *in vitro* (MIV) con metformina (M), insulina - transferrina- selenio (ITS) e ITS+M, sobre la modulación en el consumo de glucosa de los complejos *cumulus*-ovocito (COC) porcinos. El cerdo es un excelente modelo para estudiar los efectos de la suplementación de medios definidos para la MIV sobre los ovocitos debido a las similitudes metabólicas y fisiológicas de esta especie con la humana, además de la facilidad de obtención de un gran número de COC desde ovarios de frigorífico. Es conocido que existe una baja eficiencia en la producción *in vitro* de embriones porcinos a nivel mundial, debido principalmente a que los sistemas de MIV son ineficientes. Se ha visto que la suplementación del medio de MIV con M e insulina mejora el desarrollo embrionario porcino. En nuestro laboratorio vimos que ITS+M aumenta la maduración nuclear, disminuye el estrés oxidativo y aumenta la viabilidad de las células del *cumulus*. Estudiando los mecanismos involucrados, consideramos que el consumo de glucosa puede tener un rol importante. COC porcinos obtenidos mediante aspiración folicular a partir de ovarios de matadero fueron seleccionados según calidad y sometidos a MIV 44-48 h en TCM-199 + fluido folicular porcino (10%) y FSH (30 µg/mL). Los COC fueron distribuidos al azar en gotas de MIV suplementadas con: Grupo M: M (10⁻⁴ M), Grupo ITS: ITS (1 µg/ml), Grupo ITS+M: ITS (1 µg/ml)+M (10⁻⁴ M) y Grupo C: sin suplemento. La concentración de glucosa fue detectada con el kit Glucose Liquid Plus (GT Lab, Rosario, Argentina) en muestras de los medios, antes y después de la MIV, almacenadas a -20°C hasta su utilización (n = 4 / grupo experimental, 10 µL por determinación). Se

calculó el consumo de glucosa como la diferencia entre la concentración en el medio pre y postMIV. Los resultados se expresaron en mg de glucosa/dL y fueron analizados mediante el test de Kruskal-Wallis y el test de Dunn para diferencias entre columnas. El consumo de glucosa se vio incrementado en los grupos ITS e ITS+M comparados con el grupo C ($p < 0.05$), mientras que el grupo M no mostró diferencias. El efecto de ITS resulta esperable, dada su actividad "IGF-like" (similar a la insulina) sin embargo sorprende que los grupos C y M no tuvieran un consumo significativo de glucosa. Es probable que este incremento en la utilización de glucosa exógena, esté relacionado con el aumento observado previamente en la maduración nuclear, y por lo tanto en el desarrollo embrionario posterior. Concluimos que la suplementación de los medios de MIV con ITS e ITS+M incrementa el consumo de glucosa por parte de los COC porcinos, favoreciendo la maduración de los mismos.

EVALUACIÓN DE TIARNS COMO POTENCIALES NUEVOS BIOMARCADORES SEMINALES CON UTILIDAD PRONÓSTICA EN TRATAMIENTOS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA

Autores: Calvo Karina¹, Zoff Luciana², Perez Mariana¹, Carbonaro Marines¹, Casella Laura¹, Brignardello Claudia¹, Morente Carlos¹, Spinelli Silvana²

Institución: ¹ Laboratorios Biológicos PROAR, ² IDICER CONICET-UNR

Objetivo: Evaluar el empleo de la cuantificación de ARNs pequeños (tiARNs y miARNs) en plasma seminal como predictores de la eficacia de los tratamientos de reproducción asistida. Específicamente, este estudio se enfocó en pacientes con parámetros seminales normales, sin anomalías urogenitales o genéticas con el fin último de identificar nuevos posibles biomarcadores de infertilidad masculina inexplicada.

Diseño: Estudio prospectivo.

Materiales y métodos: se reclutaron parejas con parámetros espermáticos superiores al 5^{to} percentilo según OMS 2010, que se sometieron a uno o más tratamientos de ICSI con ovocitos donados en el nuestro Centro entre 2015 y 2018 (n=41). Las muestras de semen fueron utilizadas en el procedimiento de ICSI y del plasma seminal de todos los pacientes enrolados al estudio, previa firma de consentimiento informado, se extrajo ARN y por RT-qPCR se cuantificaron los tiARN-Glu, tiARN-Lys, tiARN-Phe, tiARN-Gly, tiARN-Met, miARN let-7 y miR-320, dado que constituyen los ARNs pequeños más abundantes en plasma seminal según diversos relevamientos bibliográficos. Además se determinó cortisol en plasma

seminal mediante ELISA. En función del resultado del procedimiento los pacientes fueron divididos en 3 grupos: Grupo1: lograron el embarazo en el primer o segundo ciclo, Grupo2: realizaron solo 1 ciclo sin embarazo y Grupo3: realizaron más de un ciclo sin éxito. Se correlacionaron los datos con los parámetros clínicos y de laboratorio, se realizó análisis estadístico mediante tests no paramétricos, $p < 0,05$.

Resultados: los niveles de miR-320 se mantuvieron estables en todas las muestras por lo que se utilizó como control endógeno, los niveles de tiARNs se encontraron elevados en el Grupo3 respecto al Grupo1, siendo estadísticamente significativo para tiARNLys ($p < 0,001$) y tiARNGlu ($p < 0,01$). Mientras que miARNs let-7 presentó una tendencia opuesta, con niveles disminuidos en el plasma seminal del Grupo3. Los niveles de cortisol en plasma seminal mostraron una correlación positiva con tiARNLys y tiARNGlu ($p < 0,05$). No se encontraron diferencias entre los grupos en edad e IMC, así como los parámetros espermáticos concentración, motilidad y vitalidad. Tampoco se observó diferencias en la tasa de fertilización, división o calidad embrionaria.

Conclusiones: Los ARNs pequeños son reguladores claves tanto de procesos fisiológicos como patológicos con un gran impacto en la función reproductiva. Estas moléculas se encuentran en diversos fluidos biológicos, incluido el plasma seminal, donde posiblemente actúan como mensajeros parácrinos o endócrinos. Los estudios realizados en nuestro laboratorio muestran un perfil de ARNs pequeños alterado en plasma seminal de pacientes normozoospermicos que se sometieron a más de un ciclo fallido de ICSI con ovocitos donados (posibles casos de infertilidad inexplicada), sentando las bases para su potencial empleo como marcadores pronóstico. Así mismo, la asociación encontrada entre los niveles de cortisol y tiARNs en plasma seminal sugiere un posible rol de estas moléculas en la respuesta fisiológica al estrés. Un mayor número de casos con diferentes situaciones clínicas podrían confirmar este hallazgo preliminar.

DIA DE BLASTULACION, TASA DE ANEUPLOIDIAS Y EDAD MATERNA

Roble María Susana, Colabianchi Matías, Colabianchi Ramiro, Perez Audero María Eugenia, Fontela Sol

Instituto de Fertilidad Asistida Dr. J. Colabianchi – Rosario - Argentina

OBJETIVO: El estudio genético preimplantatorio se basa en la hipótesis de que la transferencia selectiva de embriones euploides mejora los resultados clínicos de los pacientes sometidos a

Fertilización In Vitro, particularmente aquellos en riesgo de aneuploidía fetal o que tienen experiencias de pérdidas recurrentes de embarazos.

El cultivo extendido de los embriones es una herramienta útil para la selección de embriones viables, demostrando que cuanto más tiempo tarda en desarrollarse el blastocisto sus chances de implantación y embarazo van disminuyendo, así se define como día 5 al día ideal de desarrollo del blastocisto, demostrándose embarazos aun en día 7 de cultivo embrionario.

Nuestro interés es demostrar si el mayor porcentaje de embriones aneuploides obtenidos en día 6 y 7 se debe al desarrollo tardío de los blastocistos o se debe a una población de pacientes de mayor edad en día 6 y 7.

DISEÑO: Estudio transversal con pacientes que concurren a un centro de reproducción asistida y realizan estudio genético preimplantacional (PGT).

MATERIALES Y METODOS: Se cuenta con resultados de biopsias de 462 embriones, analizados en un centro privado de Argentina entre 2012 y 2018. Se calcularon las tasas de aneuploidías según el día de biopsia y además se dividió a la población según la edad materna de los embriones (mayores de 37 años). Se realizaron test de chi-cuadrado de asociación con el correspondiente ajuste de Yates cuando fue necesario.

RESULTADOS: El 59% de los embriones fueron aneuploides. La tasa de aneuploidía registrada parece ser diferente según el día de la biopsia (*Tabla 1*). La probabilidad de aneuploidía es 1,5 veces mayor en las biopsias del día 6 o 7 comparativamente con las biopsias del día 5 ($\chi^2 = 1,55$) (1,3; 2,1) $p < 0,05$. El porcentaje de aneuploidía en pacientes mayores de 37 años fue del 62% (*tabla 2*). El 60% de los embriones analizados fueron generados por pacientes mayores de 37 años. La proporción de pacientes mayores de 37 años cuyos embriones fueron biopsiados el día 6 y 7 es similar a la totalidad de los embriones analizados (62%).

Tabla 1 – Resultado de PGT y Día de biopsia

Día biopsia	Aneuploide	Euploide	Mosaico	TOTAL
5	72 (51%)	59 (42%)	9 (7%)	140
6	173 (61%)	93 (33%)	76 (6%)	282
7	27	9	4	40

	(68%)	(23%)	(10%)	
TOTAL	272 (59%)	160 (35%)	30 (6%)	462

Tabla 2 – Resultado de PGT y grupo etario

Edad	Aneuploide	Euploide	Mosaico	TOTAL
<37	98 (54%)	70 (38%)	15 (8%)	183
>=37	174 (62%)	90 (32%)	15 (5%)	279
TOTAL	272 (59%)	160 (35%)	30 (6%)	462

CONCLUSIONES: La tasa de aneuploidía se ve aumentada conforme se retrasa el momento de la biopsia. La proporción de embriones aneuploides aumenta directamente con la edad materna, el análisis de los embriones analizados en días 6 y 7 muestra que no hay diferencias en la proporción de pacientes mayores a 37 años respecto al total estudiado. Nuestros datos muestran que los embriones con retraso en la blastulación tienen más chance de ser aneuploides siendo independientes de la edad materna.

IMPACTO DEL PERFIL LÍPIDO DE LA DONANTE EN CICLOS DE OVODONACIÓN: FRESCO VS VITRIFICADOS

Barrera Natalibeth^{1,2}, Bonelli Carla^{1,2}, Surka Carolina¹, Canepa Mariel¹, Montes José María¹, Alciaturi Jimena², Cantú Lidia^{1,2}

¹Fertilab, Laboratorio de análisis clínicos, Montevideo, Uruguay

²Centro Esterilidad de Montevideo (CEM), Montevideo, Uruguay

Los lípidos no sólo son una fuente energética, sino también tienen efecto sobre la biología de las membranas, por consiguiente, su peroxidación en procesos de vitrificación podría afectar la competencia ovocitaria y el desarrollo embrionario. Recientes análisis han reportado que la mayoría de los metabolitos lipídicos presentes en suero, están en el líquido folicular a menor concentración.

Objetivo: correlacionar los niveles de colesterol total, triglicéridos, lipoproteína de alta densidad (HDL), lipoproteína de baja densidad (VLDL) y lipoproteína de muy baja densidad (VLDL) presente en el suero sanguíneo de donantes de ovocitos con la tasa de fertilización y desarrollo embrionario en ciclos de ovodonación con ovocitos frescos vs vitrificados. **Diseño:** se realizó un estudio retrospectivo analítico, utilizando una población de 18 donantes, quienes donaron ovocitos en fresco y cuyos ovocitos maduros remanentes fueron vitrificados y utilizados en ciclos posteriores de ovodonación.

Materiales y Métodos: los niveles séricos de HLD, VLDL, triglicéridos y colesterol total detectados en la donante durante sus estudios de rutina, fueron correlacionados con la tasa de fertilización y desarrollo de los ciclos de ovodonación que utilizaron ovocitos frescos vs vitrificados. No se consideró el factor masculino en ninguno de los grupos de estudio. Se realizó una prueba t-student pareada para determinar diferencias en la tasa de fertilización y desarrollo de los ciclos con ovocitos frescos vs. vitrificados. Los coeficientes de correlación de Spearman fueron determinados con la finalidad de establecer asociación entre las variables estudiadas. Un valor de $p < 0.05$ se consideró significativo.

Resultados: todas las donantes estudiadas presentaban un perfil lipídico dentro de los niveles normales. Se encontró una asociación negativa significativa entre la tasa de fertilización y los niveles de LDL y colesterol en el grupo de ovocitos vitrificados, mientras que los niveles de HDL correlacionaron positivamente con la tasa de fertilización en el grupo de ovocitos frescos (Tabla I). No se encontraron asociaciones significativas entre las variables lipídicas y la tasa de desarrollo para ninguno de los grupos de estudio.

Conclusión: si bien no se observaron diferencias significativas entre la tasa de fertilización y la tasa de desarrollo en el grupo de estudio, 12/18 donantes estudiadas tuvieron peores tasas de fertilización cuando los ovocitos eran vitrificados, lo que podría indicar que la vitrificación afecta la competencia ovocitaria. La correlación negativa entre los niveles de colesterol y LDL y la tasa de fertilización de ciclos realizados con ovocitos vitrificados, podría indicar que diferencias sutiles en los niveles séricos de estos metabolitos podrían afectar la competencia ovocitaria post-vitrificación. Futuros estudios prospectivos con mayor rigor son necesarios para determinar el comportamiento observado en un mayor número de casos y establecer el mecanismo subyacente.

Tabla I. Coeficientes de correlación entre la tasa de fertilización en ciclos de ovodonación y los niveles séricos de lípidos de donantes de ovocitos en ciclos frescos vs. vitrificados.

Tasa de Fertilización	VLDL	LDL	HDL	Colesterol Total	Triglicéridos
Ciclos con ovocitos frescos	-0.039	-0.123	0.559	0.057	-0.212
Ciclos con ovocitos vitrificados	-0.318	-0.637	0.050	-0.527	-0.300

Valores en negrita
 $p < 0.05$

RESÚMENES GRUPO A

ANÁLISIS DE LA COHORTE EMBRIONARIA ANTES DE TRANSFERIR EN DÍA 3: RESULTADOS CLÍNICOS SEGÚN PORCENTAJE DE EMBRIONES DE BUENA CALIDAD

De Martino Evelyn, Gómez Peña Mariana, Papayannis Mercedes, Horton Marcos, Terrado Guillermo, Maidana Jimena, Filardi Paula, Bisioli Claudio

Pregna Medicina Reproductiva, Buenos Aires, Argentina.

Objetivo: En los comienzos de las técnicas de reproducción asistida (ART), hasta tres o cuatro embriones se transferían simultáneamente para lograr tasas de embarazo satisfactorias. El aumento en la eficiencia de los procedimientos llevó finalmente a mayores tasas de gestación múltiple y, en consecuencia, a una mayor morbilidad y mortalidad materna y neonatal. Los embarazos múltiples han disminuido en los últimos años, pero sigue siendo un resultado indeseable en los tratamientos de reproducción asistida. El objetivo es lograr un embarazo único mediante la transferencia de un solo embrión (SET) como una estrategia efectiva para reducir la posibilidad de embarazo múltiple.

A pesar de los conocidos beneficios del cultivo prolongado a blastocisto y SET, la transferencia de dos embriones (DET) en el día 3 sigue siendo una práctica ampliamente adoptada en muchas clínicas de Latinoamérica.

El presente estudio evalúa la relación entre el porcentaje de embriones de buena calidad (GQE) en una cohorte dada y su resultado clínico en términos de tasa de embarazo clínico (OPR), tasa de implantación (IR) y tasa de embarazo múltiple (MPR).

Diseño: de cohorte retrospectivo

Materiales y Métodos: Se incluyeron los ciclos de FIV/ICSI realizados desde enero de 2015 a diciembre de 2017 que contaban con ≥ 4 cigotos y DET en día 3 ($n = 784$). Las pacientes fueron divididas en 2 grupos acorde al porcentaje de embriones de buena calidad (Grado 1 y 2 según Consenso de Estambul) presentes en la cohorte de día 3 ($\geq 50\%$ vs. $< 50\%$). El análisis de datos fue realizado con Test de Student y Chi-cuadrado según correspondiera.

Resultados: En los ciclos donde el porcentaje de GQE fue mayor o igual a 50%, las tasas de embarazo clínico evolutivo, implantación y embarazo múltiple fueron mayores (31.2 vs 19.6; 22.7 vs 14.0; 9.7 vs 4.8). La edad femenina no fue diferente entre grupos (37.4 vs. 37.7).

Característica	\geq 50% (n=513)	GQE	\leq 50% (n=271)	GQE	P
Edad (años)	37.4		37.7		NS
OPR	31.2		19.6		0.0005
IR	22.7		14.0		0.0001
MPR	9.7		4.8		0.0182

Conclusiones: Estos resultados sugieren que el porcentaje de embriones de buena calidad en una cohorte en día 3 está relacionado con los resultados clínicos obtenidos (OPR, IR, MPR). Curiosamente, ambos grupos no difieren en la edad del paciente. Esta información podría ser útil para considerar la transferencia electiva de 1 embrión en día 3 y así reducir la posibilidad de embarazos múltiples. Es necesario ampliar esta investigación para obtener más resultados que permitan mejorar las opciones para los pacientes.

CALIDAD EMBRIONARIA E IMPLANTACION

Roble María Susana, Klug Estefanía, Vallejos Evangelina, Colabianchi Matías.

Instituto de Fertilidad Asistida Dr. J. Colabianchi- Rosario-Argentina

OBJETIVO: Determinar las tasas de implantación para cada grado de calidad embrionaria según la clasificación de Gardner adoptada por un centro privado de fertilización asistida. Así poder transferir el embrión con la mejor tasa de implantación para cada paciente que realice un tratamiento de reproducción asistida.

DISEÑO: Estudio retrospectivo descriptivo.

MATERIALES Y METODO: Estudio retrospectivo que incluye todos los ciclos realizados en un centro privado de Argentina desde el año 2014 a junio de 2019, donde se transfirieron blastocistos clasificados según Gardner y se pudo corroborar su implantación.

Se incluyeron transferencias de un solo embrión y las de dos embriones con igual resultado de implantación para ambos.

Se calcularon las tasas de implantación de 1.466 embriones clasificados según Gardner, el cual contempla el grado de expansión del blastocele (1 a 6), en los blastocistos expandidos (3 a 6) se califica a la masa celular interna (A, B y C) y la calidad del trofoectodermo (A, B y C).

RESULTADOS: La tabla siguiente muestra los resultados de tasa de implantación para cada grado de clasificación embrionaria según Gardner, solo se incluyeron aquellos grados de calidad embrionaria que al menos contenían 10 valores. La tasa de implantación aumenta con el grado de calidad embrionaria.

GRADO	IMPLANTADOS	TOTAL	TASA DE IMPLANTACION
MORULAS	23	196	12,0
3CB	4	32	12,5
3BC	13	95	14,0
1--	26	117	22,0
2--	28	118	24,0
3CC	5	34	25,0
4BB	18	62	29,0
4BC	3	10	30,0
4BA	6	19	32,0
3BB	70	196	36,0
5BC	5	13	38,0
3AB	47	115	41,0
5BB	19	42	45,0
4AB	30	67	45,0
3AA	42	93	45,0
4AA	56	119	47,0
3BA	11	23	48,0
5BA	9	16	56,0
5AB	17	27	63,0
5AA	20	31	65,0

CONCLUSION: Cada laboratorio de reproducción asistida debe realizar la comprobación de las tasas de implantación para la clasificación embrionaria elegida, según sus condiciones de trabajo y tender a unificar criterios de clasificación entre los distintos operarios.

La validación del criterio de clasificación embrionaria en un centro de reproducción asistida, permite predecir los resultados de acuerdo a la calidad del embrión transferido.

ESTUDIO COMPARATIVO SOBRE TRANSFERENCIA SIMPLE Y DOBLE: IMPACTO EN LAS TASAS DE EMBARAZO E IMPLANTACION EN VITAE MEDICINA REPRODUCTIVA

CHAR Adrian, CORDOBA LISKO Miguel, PLATA Patricia, HERRERA Florencia, GUAYMAS Alfredo, YAPURA Rolando, LICUDIS Mara, TRUJILLO Miryan, MARTINEZ Gustavo. VITAE MEDICINA REPRODUCTIVA, Salta, Argentina.

embriologiavitae@gmail.com 20 de Febrero 1394 Salta-Capital.
Tel.3874211437

Palabras claves: Blastocito. Reproducción Asistida. Ovodonación

RESUMEN: La eficiencia de los laboratorios de Reproducción Asistida aumenta, a medida que las técnicas de cultivo de embriones y control de condiciones ambientales, lo hacen. Dada estas mejoras se busca la transferencia de un único embrión, manteniendo los resultados dentro de los límites aceptables.

En nuestro centro se realizó un estudio retrospectivo de corte con el objetivo de conocer si las tasas tanto de embarazo como de implantación difieren cuando se transfiere 1 o 2 blastocitos de buena calidad endía 5(fresco).

Se tomaron datos a partir de enero del 2016 a marzo del 2019 tanto de pacientes de óvulos propios como de ovodonación. La selección fue aleatoria y en base a criterios clínicos, excluyendo pacientes mayores de 38 años y aquellas en donde no se obtuvo más de 2 ovocitos fertilizados.

Los datos fueron analizados con el programa *Infostat* y la prueba *Mann-Whitney U* con corrección de *Wilcoxon* resultando en óvulos propios 121 transferencias: 18 con transferencia simple y 103 doble: la tasa de embarazo fue 44,44% (8/18) vs 40,77%(42/103) no fueron significativas $p=0,33$, tasa de implantación de 38,88%(7/8) vs 22,33%(46/206) $p=0,05$, respectivamente.

Para el caso de pacientes de ovodonación 82 casos, de los cuales 38 fueron simple y 44 doble: 26,31%(10/38) vs 36,4%(16/44), $p=0,66$, fueron las tasas de embarazo y 21,05%(8/38) vs 20,4%(18/88) $p=0,29$, la tasa de implantación.

En base a los resultados obtenidos en nuestra institución y en vista que las tasas tanto de embarazo e implantación no difieren

estadísticamente en pacientes de óvulos propios como para las del programa de ovodonación, el centro buscara transferir un único embrión en todos los ciclos que permitan hacerlo.

Las tasas de blastulación son en nuestro centro y similares tanto para pacientes de óvulos propios como para pacientes del programa de ovodonación.

EVALUACIÓN DE LAS TASAS DE BLASTULACIÓN, IMPLANTACIÓN Y CALIDAD DE EMBRIONES CULTIVADOS EN MEDIO G1-G2 Y GLOBAL

Giménez Florencia, Maldonado Melina Anabel, Simón María Luz, Aguilera Juan José SARESA,

Centro de Salud Reproductiva

Existen en la actualidad dos principios para el cultivo de embriones hasta día 5 (D+5) o día 6 (D+6). El primero, se basa en la diferente composición existente entre el oviducto y el útero del tracto reproductivo femenino, generando así un protocolo con medios secuenciales. El segundo, en cambio, utiliza medios que poseen concentraciones adecuadas de distintos constituyentes dejando que el embrión utilice lo que precisa según el estadio en el que se encuentra. Si bien existen en la actualidad estudios que comparan la eficiencia de ambos tipos de cultivos, los resultados no son concluyentes.

Es por esto que el presente trabajo tiene por objetivo estimar la calidad, tasas de blastulación e implantación de embriones cultivados en medios secuencial y único.

Se realizó un estudio observacional retrospectivo evaluando 180 ciclos en fresco. Todos de alta complejidad (FIV/ICSI) con ovocitos propios o donados. 90 tratamientos correspondieron a embriones cultivados (incubadoras Cook) en medio G1-G2 (Vitrolife) y los 90 restantes en medio Global (Life Global) sin renovación en D+3. En D+5 se realizó la evaluación morfológica de los blastocitos en base a los criterios estipulados por ASEBIR y clasificándolos en A, B C o D según correspondiera. Además se calculó la tasa de implantación de embriones transferidos en fresco de dichos ciclos.

Las tasas de blastulación obtenidas fueron de 54.4 y 52.33 para medio secuencial y único respectivamente. Asimismo, las tasas de implantación fueron similares entre ambos grupos analizados siendo 40.47 para G1-G2 y 45 para Global. Finalmente, los porcentajes de

calidades embrionarias obtenidos en cada grupo se detallan en la Tabla 1.

Tabla 1. Porcentaje de embriones A, B, C o D en D+5 y D+6 Clasificados según criterio de ASEBIR.

	Gradación de calidad embrionaria en D+5 y D+6			
	A	B	C	D
G1-G2	7%	29%	53%	11%
Global	11%	34%	44%	11%

Los resultados indican que las tasas de blastulación e implantación de los embriones cultivados en medio secuencial y en medio único son similares entre sí. De igual manera, no se observaron grandes diferencias en los porcentajes de calidad embrionaria de cada grupo.

Considerando que las tasas de blastulación e implantación en ambos grupos fueron similares se enfatiza la idea de que en medio único los embriones se incuban de manera ininterrumpida hasta el estadio de D+5. De esta manera se logra evitar los cambios de temperatura, pH o estrés osmótico que podrían ocurrir al cambiarlos de medio y sacarlos del incubador. Existen reportes que indican que el desarrollo embrionario estaría más protegido en los protocolos de cultivo único al evitar la manipulación en D+3 de los mismos. Además, en dichos estudios no se encuentran diferencias estadísticamente significativas en la calidad embrionaria ni en las tasas de blastulación.

Podemos concluir que el uso de medio único sería más conveniente en las prácticas de nuestro laboratorio dado que facilita la organización del trabajo cotidiano y permite disminuir el estrés en los embriones al evitar pasos de manipulación de los mismos.

RESÚMENES GRUPO B

COMPARACIÓN DE LAS TÉCNICAS DE CAPACITACIÓN ESPERMÁTICA SWIM UP Y GRADIENTES DISCONTINUOS DE DENSIDAD EN CICLOS DE ICSI

Castro Félix, García María, Carretero Inés, Vielma Vanessa, Palacio Liseth, Calamari Nahuel, Pasqualini R. Sergio, Pasqualini R. Agustín

Halitus Instituto Médico. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

OBJETIVO: Comparar las técnicas de capacitación espermática swim up y gradientes discontinuos de densidad en ciclos de ICSI como técnica de reproducción asistida.

DISEÑO: estudio retrospectivo descriptivo.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se llevó a cabo un estudio retrospectivo que incluyó 147 casos de ovodonación realizados entre enero y diciembre del 2018, con muestras normozoospermicas para la inyección intracitoplasmática (ICSI). Generando dos grupos, GRUPO A: 79 casos utilizaron como técnica de capacitación el swim up y GRUPO B: 68 casos con gradiente discontinuo de densidad. Se analizaron los siguientes parámetros: porcentaje de fertilización y porcentaje de utilización. Como parámetros de éxito reproductivo se tomaron en cuenta el porcentaje de β -hCG positiva y porcentaje de embarazo clínico (saco gestacional con embrión de 5 semanas y latido cardíaco). Asimismo se determinó porcentaje de embarazos bioquímicos y porcentajes de aborto.

Para el análisis de datos se usó el paquete estadístico *Info Stat/L*, aplicando el test *de Fisher* considerando significancia estadística un valor de $p < 0.05$ para la comparación de porcentajes entre grupos.

RESULTADOS: En la tabla se detallan los resultados de ambos grupos. No se observaron diferencias significativas en las tasas de fertilización (73,1 % vs 73,4%) y tasa de utilización (50,9% vs 50,3%). De igual manera tampoco se observó diferencia significativa en las tasas de embarazo bioquímico (14% vs 15%).

Por otro lado, se obtuvieron resultados con diferencia significativa en la tasa de β -hCG positiva con 61% para el grupo A y 44% para el grupo B. Asimismo sobre la tasa de embarazo clínico con 75% para el grupo A y 67% para el grupo B y para la tasa de aborto con 11% para el grupo A y 25% para el grupo B.

CONCLUSIONES: Nuestros resultados sugieren que el swim up como técnica de capacitación espermática en los tratamientos de

reproducción asistida de alta complejidad (ICSI) evidencia mejores tasas de β -hCG positiva y de embarazo clínico que aquellos casos en los cuales se utilizó gradientes discontinuos de densidad.

El fundamento sería que el swim up es una técnica que permite una selección más "natural" de los espermatozoides con capacidad fecundante puesto que habría menor daño mecánico como consecuencia de los procesos de centrifugación, los cuales son más evidentes en la capacitación espermática a través de gradientes de densidad.

Tabla: Comparación de parámetros de laboratorio y clínicos en los grupos de estudio.

Parámetros	Swim up Grupo A	Gradientes Grupo B	Significancia estadística
Casos (N)	79	68	
Tasa de fertilización (%)	73,1	73,4	>0.05
Tasa de utilización (%)	50,9	50,3	>0.05
Tasa de beta positiva (%)	61%	44%	<0.05
Tasa de embarazo clínico (%)	75%	67%	<0.05
Tasa de bioquímico (%)	14%	15%	>0.05
Tasa de Aborto (%)	11%	25%	<0.05

IMPACTO NEGATIVO DE LA FRAGMENTACIÓN DEL ADN ESPERMÁTICO SOBRE EL DESARROLLO EMBRIONARIO IN-VITRO EN UN PROGRAMA DE OVODONACION

Correa Brito Lourdes, Bleckwedel Federico, UriondoBoudriHeydy, Salazar Carolina, Vic Natalia, López Osa Diego, Sancho Miñano Carlos, Alvarez Sedó Cristian.

FERTILIA- Medicina Reproductiva, Tucumán, Argentina

Objetivo: El objetivo de este estudio fue investigar el efecto de la fragmentación del ADN espermático en el desarrollo embrionario, y su asociación con resultados clínicos en parejas que realizaron ciclos de ovodonación.

Diseño: Prospectivo - controlado.

Materiales y métodos: 114 parejas incluidas dentro de un programa de ovodonación compartida fueron consideradas para este estudio (2017-2019). Las receptoras incluidas prospectivamente tuvieron una edad promedio de 42.4 ± 3.2 (35-50) años, respecto a las donantes que fue de 28.5 ± 3.8 (21-33) años. Del total de ciclos, 59 fueron realizados con muestras de semen fresco, mientras que 55 ciclos se realizaron con muestras de semen criopreservadas previamente. La edad de los pacientes fue de 42.6 ± 5.4 (32-58). Todos los procedimientos fueron realizados mediante ICSI, y la muestra utilizada para la inyección, post-gradiente de centrifugación, fue fijada inmediatamente (formaldehído 1%) para realizar el estudio de fragmentación de ADN (TUNEL). Se consideró para la técnica de TUNEL un valor de corte del 15% (grupo A: $<15\%$ -control y grupo B: $\geq 15\%$). Se contaron por lo menos 500 espermatozoides por muestra. Como variables a evaluar se determinaron las tasas de: fecundación, blastulación y tasa de embarazo por transferencia, así como la tasa de correlación entre la tasa de blastulación y la fragmentación del ADN. Los datos fueron analizados mediante los tests de Mann Whitney, chi-cuadrado, y correlación de Pearson, respectivamente ($p < 0,05$).

Resultados: En promedio se asignaron 7.8 ± 2.4 (4-14) ovocitos en metafase II por receptora. En la población total, el promedio de la concentración espermática fue: 76.7 ± 34 millones/mL, la movilidad progresiva: 52.4 ± 18.2 , morfología estricta: 5.7 ± 3.4 , y la fragmentación del ADN: 17.4 ± 9.8 . El presente estudio demostró que existe una correlación negativa entre los niveles de fragmentación del ADN y la tasa de blastulación ($R = -0.38$). En general la tasa de fecundación, blastulación y embarazo fue del 78.8 ± 20.2 , 54.6 ± 24.2 y 62% , respectivamente. Cuando se compararon los pacientes del grupo A (N=67) vs. B (N=47), se observó que la tasa de fecundación no fue diferente entre los grupos (76.6 ± 16.8 vs. 80.4 ± 18.4); sin embargo, la tasa de blastulación fue significativamente menor en el grupo B respecto al A (44% vs. 62%). Finalmente, la tasa de embarazo en el grupo A (68%) fue mayor que en el grupo B (54%), sin embargo, no fue estadísticamente significativa.

Conclusiones: La fragmentación del ADN espermático tiene un impacto negativo en el desarrollo embrionario in vitro, evidenciado por la menor tasa de blastulación y tasas de embarazo incluso en ovocitos de mujeres jóvenes.

MORFOLOGÍA ESPERMÁTICA Y PARÁMETROS SEMINALES EL DÍA DEL PROCEDIMIENTO: IMPACTO EN LOS RESULTADOS CLÍNICOS

Chiera Mariel, Cicaré Juliana, Hovanyecz Paula, Ventura Viviana, Paz Valeria.

Servicio de Medicina Reproductiva, Instituto Gamma, Rosario.

Objetivo: evaluar la influencia de la morfología espermática y otros parámetros seminales (concentración y motilidad) observados el día del procedimiento, en los resultados clínicos de nuestro Centro.

Diseño: Estudio retrospectivo analítico.

Materiales y métodos: Se incluyeron pacientes menores de 40 años que realizaron FIV/ICSI con semen homólogo, con 4 o más ovocitos MII propios, entre enero 2016 - marzo 2019. Se excluyeron los PESA y TESE. Se analizaron los resultados clínicos de las transferencias en fresco y la primera transferencia diferida.

Las muestras seminales fueron evaluadas según concentración y motilidad para decidir el método de selección espermática. Al momento de la inyección, se seleccionaron en el microscopio óptico a 40X los mejores espermatozoides según su morfología y se registraron los casos en los que resultaba dificultoso encontrar espermatozoides normales. Se clasificaron a los pacientes en dos grupos de acuerdo a la morfología espermática: morfología normal y morfología anormal (anomalías severas). A su vez, se realizó una subdivisión en cada grupo según concentración y motilidad: parámetros normales (concentración ≥ 15 mill/ml y motilidad progresiva $\geq 35\%$), y parámetros anormales (concentración < 15 mill/ml y motilidad progresiva $< 35\%$).

Se analizaron las tasas de fertilización, blastulación, sub B hCG positivas, embarazo clínico, implantación y embarazo evolutivo.

Análisis estadístico: prueba de Kruskal-Wallis (programa SPSS versión 2.1); considerando estadísticamente significativo $p < 0,05$.

Resultados: Se analizaron 538 casos y 500 transferencias. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 1.

Se observó una disminución significativa en la tasa de fertilización cuando la concentración y motilidad eran anormales, independientemente de la morfología.

La tasa de blastulación sólo se vio afectada cuando todos los parámetros eran anormales. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en las tasas de embarazo clínico, implantación y embarazo evolutivo entre los distintos grupos.

Conclusión: se puede observar una disminución en la tasa de fertilización al utilizar muestras de semen con concentración o motilidad alteradas, independientemente de su morfología. A su vez, se vería afectada la tasa de blastulación, la cual disminuiría cuando tanto la morfología como la concentración y motilidad son anormales.

En la población estudiada, no se verían afectadas las tasas de embarazo al disponer de muestras de semen de mala calidad tanto en concentración, motilidad como en morfología. Así, cuando el día del procedimiento llegan al laboratorio muestras seminales anormales, el biólogo, empleando la técnica de ICSI, puede elegir el espermatozoide con mejor morfología para ser inyectado, logrando de este modo no afectar las tasas de embarazo. Sin embargo, considerando que la cantidad de blastocistos utilizables obtenidos sería menor, disminuiría la posibilidad de criopreservar y lograr un embarazo con una futura transferencia.

Tabla 1: Resultados clínicos de los grupos en estudio

	Morfología normal		Morfología anormal		Valor-p
	Concentración y motilidad normales	Concentración y motilidad anormales	Concentración y motilidad normal	Concentración y motilidad anormales	
Tasa de Fertilización	74,59% ^a (2011/2696)	70,17% ^b (247/352)	75,79% ^c (504/665)	69,50% ^d (360/518)	0,02240 *
Tasa de blastulación	51,57% ^a (906/1757)	49,11% ^b (111/226)	52,83% ^c (224/424)	41,20% ^d (124/301)	0,006407**
Tasa de BhCG(+)	54,73% (185/338)	57,14% (20/35)	65,71% (46/70)	52,63% (30/57)	0,3651
Tasa de Embarazo clínico	48,52% (164/338)	51,42% (18/35)	51,43% (36/70)	43,86% (25/57)	0,8375
Tasa de Implantación	37,97% (191/503)	40% (20/50)	35,45% (39/110)	35,71% (30/84)	0,9207
Tasa de evolución	40,2% (136/338)	48,5% (17/35)	44,3% (31/70)	33,3% (19/57)	0,47

* (tasa de fertilización) P^{dc}:0,009 P^{db}:0,4 P^{da}:0,009 P^{bc}:0,03
 P^{ba}:0,04 P^{ca}:0,3

** (tasa de blastulación) P^{dc}:0,001 P^{db}:0,04 P^{da}:0,0005 P^{bc}:0,2
 P^{ba}:0,3 P^{ca}:0,3

CUANDO EL TRABAJO ES SALUD: ANÁLISIS DE CALIDAD ESPERMÁTICA EN DOS GRUPOS OCUPACIONALES DE LA CIUDAD DE CÓRDOBA

Marconetto Anabella¹, Cánepa Mariela Alejandra^{1,3}, Tissera Andrea², Córdoba Elda Aida³, Maero Báez Karina¹, Molina Rosa², Babini Ana María¹

¹Laboratorio de Andrología y Embriología, Instituto Universitario de Medicina Reproductiva (IUMER), II° Cátedra de Clínica Ginecológica, Hospital Universitario de Maternidad y Neonatología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba.

²Laboratorio de Andrología y Reproducción (LAR), Córdoba.

³ Sección Andrología, Hospital Materno Provincial Dr. Raúl Felipe Lucini, Córdoba

OBJETIVO: Comparar parámetros seminales entre un grupo hombres que realizan trabajos sedentarios y otro cuyas jornadas laborales involucran actividad física.

DISEÑO: retrospectivo, observacional.

MATERIAL Y MÉTODO: Se analizaron 258 pacientes, 161 trabajadores sedentarios cuya actividad laboral implica permanecer más de 6 horas sentados (trabajadores sedentarios) y 97 trabajadores obreros de la construcción con jornadas laborales que involucran actividad física (trabajadores activos).

La muestra seminal se recolectó con 2 a 7 días de abstinencia sexual mediante masturbación y permaneció en un contenedor estéril hasta su evaluación. El análisis incluyó volumen, concentración, movilidad y morfología espermática. El procedimiento fue realizado en base al *Manual de laboratorio de la OMS para análisis y procesamiento del semen humano Ed. 2010*. Análisis estadístico, las variables se informan como mediana y rango intercuartílico (25-75) (distribuciones anormales). Para la comparación de los grupos se utilizaron test de Mann-Whitney (no paramétrico) para muestras independientes. Para la comparación de proporciones se utilizó Chi ². Una $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativa.

	Trabajadores activos	Trabajadores sedentarios	
	MEDIANA (P25-P75)	MEDIANA (P25-P75)	p*
VOLUMEN SEMINAL (ml)	2.5 (2-3)	2.8 (1.9-3.8)	0.02
CONCENTRACIÓN (millones/ml)	101 (69-150)	80.1 (34.1-138.3)	0.002
MOVILIDAD (%)	71 (58-83)	42.5 (29-56)	0.0001
MORFOLOGÍA NORMAL(%)	5 (4-7)	4.0 (2-7)	0.07

RESULTADOS:

DISCUSIÓN: En las poblaciones evaluadas se encontraron diferencias significativas en la calidad seminal. En los trabajadores activos se observó mayor concentración y movilidad espermática respecto a los sedentarios. El resto de parámetros evaluados no presentaron diferencias.

Un obrero de la construcción en Argentina debe trabajar 44 horas semanales, lo que implica jornadas laborales de lunes a sábado de aproximadamente 7.30 horas. Las tareas de albañilería y construcción implican esfuerzos físicos aeróbicos, de fuerza y/o resistencia dependiendo de las tareas que le sean asignadas. Diversos autores explican que individuos físicamente activos

	Trabajadores activos	Trabajadores sedentarios	
	%	%	p*
>10 cigarrillos /día	30.2 (29/96)	11.3 (18/160)	0.0003

presentan mejores niveles hormonales y seminales, lo que generaría un ambiente favorable para la producción espermática, evidenciado por un aumento en la producción de testosterona y una disminución de cortisol, dando lugar a un estado anabólico a nivel testicular. La actividad física, además provoca un balance positivo en la actividad antioxidante lo que contribuiría con la generación de este entorno saludable.

Las actividades aire libre y el levantamiento de peso resultarían beneficiosos para la producción espermática, concordando con lo hallado en el grupo activo.

La hipertermia escrotal es un factor de riesgo para la infertilidad masculina. Periodos prolongados en posición sedente generarían estrés térmico testicular provocando arresto espermático, apoptosis de células germinales, estrés oxidativo y daño de ADN espermático. Los trabajadores sedentarios que permanecen más de 6 horas sentados diariamente podrían estar generando este tipo de desorden testicular.

Un 30,2% de los trabajadores activos fuman más de 10 cigarrillos diarios mientras que de los sedentarios el 11,3% lo hace. El consumo de tabaco está descrito como perjudicial para la función testicular. Sin embargo, los trabajadores activos no presentaron el deterioro pronosticado, probablemente debido a una compensación generada por el ambiente homeostático-anabólico del ejercicio.

Las diferencias en la calidad seminal de los grupos estudiados sugieren que la actividad física tiene un efecto favorable en el eje hipotálamo-hipófisis-gonadal generando un ambiente beneficioso

para la fisiología testicular. Si bien existen numerosos trabajos que lo afirman, hasta nuestro conocimiento, este es el primero que utiliza como 'población activa' a un grupo de trabajadores cuya actividad física pertenece a su quehacer laboral.

RESÚMENES GRUPO C

CULTIVO CIEGO Y SUS MEJORAS EN LAS TASAS DE BLASTOCISTOS UTILIZABLES

Carbonaro Marinés, Calvo Karina, Pérez Mariana, Brignardello Claudia, López Carla, Iglesias Diego, Solari Leticia, Morente Carlos.

Institución: Centro Médico PROAR- Rosario

Objetivo: Analizar las tasas de blastocistos utilizables (transferidos más vitrificados) y tasas de embarazo en los cultivos embrionarios que no fueron retirados del incubador para evaluar el estadio embrionario desde la fertilización hasta día 5 (cultivo ciego) comparado con aquellos cultivos que fueron retirados luego de la fertilización al menos una vez antes de día 5.

Diseño: estudio retrospectivo descriptivo de corte transversal.

Materiales y Métodos: se analizaron 219 pacientes que realizaron ICSI o FIV de enero a junio de 2019 en nuestro centro con cultivo a blastocisto. Se compararon 2 grupos, Grupo 1: cultivos que fueron retirados del incubador luego de la fertilización al menos una vez antes de día 5 y Grupo 2: cultivos en los que luego de evaluar fertilización no fueron retirados del incubador hasta día 5 (cultivo ciego). Las variables cuantitativas se analizaron mediante test de Student o U Mann Whitney, mientras que las categóricas por test de Fisher, $p < 0,05$.

Resultados: no hubo diferencias entre ambos grupos según edad, número de ovocitos y tasa de fertilización. El grupo 2 presentó mayor tasa de blastocistos y mayor número promedio de embriones congelados respecto al grupo 1, sin evidenciar variación en la tasa de embarazo (Tabla)

Tabla	Grupo 1	Grupo 2	p	RR	RR IC 95%
Nº Pacientes	124	95			
Edad Media (IC 95%)	37,3(36,6-38,0)	36,5(35,7-37,4)	0,17		
Nº de ovocitos Inseminados Mediana (RI)	5(3-9)	7(4-9)	0,14		
Nº de ovocitos fertilizados Mediana (RI)	4(2-6)	5(3-7)	0,15		
Tasa de blastocistos utilizables	44%	53%	* $<0,01$	1,22	1,07-1,38

Tasa completamente expandidos D5	Bl.	28%	36%	* < 0,01	1,27	1,06-1,51
Cancelación n (%)		18(15%)	13(14%)	0,99		
Vitrificación total n (%)		35(28%)	22(23%)	0,44		
Transferencias en fresco n (%)		71(57%)	60(62%)	0,41		
Nº de embriones congelados Media (IC 95%)		1,4 (1,0-1,7)	2,1(1,6-2,6)	* < 0,01		
Nº de embriones transferidos Media (IC 95%)		1,2 (1,1-1,3)	1,1(1,0-1,2)	0,18		
Tasa de embarazo (%)		26(37%)	20(33%)	0,72		

Conclusión: En función de nuestra experiencia inicial minimizar la observación de los embriones mejoraría la tasa de Blastocistos utilizables. Si bien las tasas de embarazo se mantuvieron iguales para ambos grupos el hecho de contar con un mayor número de Blastocistos para vitrificar podría mejorar la tasa acumulativa de embarazo en el grupo de cultivo ciego. Para hacer más robusto este estudio se necesitaría sumar mayor cantidad de casos y evaluar la tasa de embarazo por paciente.

CORRELACION ENTRE LOS PERFILES METABOLÓMICOS Y PGTA EN BLASTOCISTOS

De la Rosa Ezequiel¹, Martinelli Marisa^{2,3}, Beltramo Maximiliano⁴, Cullere Marcela⁴, Martínez Valeria⁴, Fernandez Elmer^{3,5}, Sánchez Sarmiento Cesar⁴, Anduaga Marchetti Iván⁴

¹Technical University of Munich, ²Universidad Nacional de Córdoba, ³Conicet, ⁴Nascentis. Especialistas en Fertilidad y Genética Reproductiva, ⁵Universidad Católica de Córdoba

Existe un desafío constante en la precisión diagnóstica para la selección de embriones viables con potencial de implantación y que desarrollen un embarazo a término. En este sentido los desarrollos más innovadores emplean tecnologías como la genómica, transcriptómica, proteómica, metabolómica y morfología en tiempo real. Actualmente, el diagnóstico de genes y/o cromosomas embrionarios se realiza mediante la extracción de blastómeros y la

utilización de técnicas moleculares. La determinación de la euploidía de forma no invasiva, mediante el uso de la transcriptómica, la genómica o incluso la metabolómica aún continúan en estado de desarrollo. Es así que el estudio de macromoléculas y metabolitos disueltos en el sobranje del cultivo embrionario (SCE) es un área poco estudiada. Estas moléculas podrían ser utilizadas como biomarcadores no invasivos para diferenciar embriones con potencial de implantación, incluso determinar la euploidía del mismo. El objetivo de este trabajo fue diseñar un algoritmo capaz de diagnosticar embriones euploides a través del análisis de los perfiles metabólicos de los SCE, utilizando espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR).

DISEÑO: Retrospectivamente se estudiaron 28 SCE de 14 pacientes que realizaron PGTA.

MATERIALES Y METODOS: Los embriones fueron cultivados individualmente hasta el estadio de blastocisto en G1plus y G2plus (Vitrolife, Goteberg, Sweden). Se utilizó la clasificación de Gardner para los días 5 y 6. Se colectaron 40 μL de cada SCE y fueron analizados en un microscopio-FTIR (iN10 Nicolet, ThermoScientific). Para cada muestra se obtuvo un espectro con un rango de 400 and 4000 cm^{-1} (9 mediciones por muestra) y una resolución de 2 cm^{-1} . El test PGT-A se realiza utilizando la tecnología de secuenciación masiva (NGS), librerías Ion ReproSeq PGS, secuenciador Ion S5 System (Thermo Fisher Scientific, USA). Se registró el resultado de cada embrión como euploide o aneuploide. Utilizando la señal de FTIR se empleó un análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales de tipo *sparse* (SPLSDA) para la conjunta selección de metabolitos informativos y entrenamiento del clasificador. La predicción de cada muestra se realizó mediante una validación cruzada mediante la técnica de *leave-one-out* (LOOCV). Además, se identificó el intervalo de frecuencia de aquellos metabolitos retenidos en los modelos.

RESULTADOS: El estatus cromosómico de los blastocistos fue de 14 euploides y 14 aneuploides. El clasificador SPLSDA propuesto para diferenciar blastocitos euploides de aneuploides utilizando información metabólica obtuvo un área bajo la curva ROC de 0.75, pudiendo clasificar correctamente 11 embriones euploides de los 14 establecidos mediante NGS, de igual forma se pudieron clasificar correctamente 11 embriones aneuploides de los 14 diagnosticados mediante NGS. La mejor performance discriminatoria entre ambos grupos se logró con sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo de 78.6% en el LOOCV. En promedio, solo 31 puntos muestrales de la señal FTIR fueron suficientes para discriminar ambos grupos.

CONCLUSIONES: El metaboloma embrionario difiere según el estatus cromosómico del mismo. Se pudo generar un algoritmo capaz de predecir con aceptable exactitud, 78.6%, la euploidía de los blastocistos analizados. Si bien es necesario más estudios retrospectivos y prospectivos esta tecnología podría ser factible de aplicación para la selección embrionaria.

MEJORAS EN LOS RESULTADOS DE UN PROGRAMA DE OVODONACION LUEGO DEL ACONDICIONAMIENTO DEL LABORATORIO DE REPRODUCCION ASISTIDA.

Carretero Inés, Vielma Vanessa, Castro Félix, Palacio Liseth, Piscicelli Clara, Inciarte Florencia, Lucini Carlota, Pasqualini R. Agustín

Halitus Instituto Médico, M. T. de Alvear 2084 (1122) Buenos Aires

OBJETIVO: valorar si cambios físicos y ambientales en el laboratorio suponen una variación en los resultados de nuestro programa de ovodonación.

DISEÑO: estudio retrospectivo descriptivo.

MATERIALES Y METODOS: por el interés de seguir las recomendaciones referidas en la bibliografía y por la necesidad de disponer de mayor espacio, durante 2017 nuestro laboratorio fue trasladado, con reordenamiento de espacios y renovación de tecnología. Las principales reformas fueron: mayor restricción de acceso al laboratorio; un sistema de presión positiva desde ambientes críticos hacia ingresos; instalación de un sistema Casiba de filtrado especial con filtros absolutos HEPA, minipliegue de 99,99% de eficiencia para partículas de 0,3 micrones; estación doble K-Systems para recuperación ovocitaria; 3 estaciones de ICSI, una de ellas montada sobre una estación de trabajo K-Systems L126 MP. El estudio comprendió 226 ciclos de ovodonación realizados durante enero 2016 a Marzo 2017 en el laboratorio antiguo (Grupo 1) y 216 ciclos de ovodonación realizados durante enero 2018 a Marzo 2019 en el laboratorio nuevo (Grupo 2). Se seleccionaron las variables más representativas y comunes de todos los ciclos: edad, ovocitos MII inyectados, tasa de fecundación, embriones transferidos por ciclo, porcentaje de ciclos con llegada a blastocisto y tasa de embarazo. Para el análisis de datos se usó el paquete estadístico Info Stat/L, aplicando el test de Fisher considerando significancia estadística un valor de $p < 0.05$ para la comparación de porcentajes entre grupos.

RESULTADOS: En la tabla se detallan los resultados de ambos grupos. No se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre el

grupo 1 y 2 respecto a la edad de las pacientes ($42,1 \pm 3,5$ vs. $42,4 \pm 4,3$), ni al número de ovocitos inyectados ($8,9 \pm 2,2$ vs. $8,9 \pm 1,7$); mientras que se obtuvieron diferencias significativas respecto a la tasa de fertilización ($70,0\%$ vs $76,5\%$) ($p < 0,05$) y el porcentaje de ciclos con llegada a blastocisto (59.3 vs 89.8%) ($p < 0,05$). Se observó una ligera disminución del número de embriones transferidos en el laboratorio nuevo (1.9 vs 1.6). En cuanto a los resultados clínicos, se observaron diferencias estadísticas en la tasa de embarazo ($42,9$ vs. $57,9$) ($p < 0,05$).

CONCLUSIONES: Si bien hubo mejoras en el proceso de selección y seguimiento clínico de las donantes con estos resultados demostramos que las modificaciones realizadas en el laboratorio de embriología tienen una relación directa con la mejora de los resultados de los ciclos de ovodonación. Específicamente el mejoramiento de las condiciones de cultivo se ve reflejada en el aumento del porcentaje de llegada a blastocisto, aumento de la tasa de embarazo y disminución del número de embriones a transferir con una calidad embrionaria superior que nos permitió incrementar, según nuestros resultados, el éxito reproductivo. El establecimiento de las condiciones óptimas de trabajo en el laboratorio de FIV es una tarea ardua y continua, pero a las que sin duda deben aspirar todos los laboratorios de embriología para asegurar las mejores posibilidades de éxito.

Tabla. Comparación de parámetros de laboratorio y clínicos entre los grupos en estudio.

Parámetros	Laboratorio Antiguo	Laboratorio Nuevo	Significancia
Nº de ciclos	226	216	-
Edad	42,1 ± 3,5	42,4 ± 4,3	> 0,05
Nº ovocitos inyectados	8,9 ± 2,2	8,9 ± 1,7	> 0,05
Nº embriones transferidos	1,9 ± 0,4	1,6 ± 0,5	> 0,05
Tasa de fertilización	70,0	76,5	< 0,05
% Ciclos con llegada a blastocisto	59,3	89,8	< 0,05
Tasa de embarazo	42,9	57,9	< 0,05

TIEMPO DESDE LA OBTENCION DE LAS GAMETAS HASTA EL ICSI: SU EFECTO EN LOS RESULTADOS REPRODUCTIVOS

Marconetto Anabella, Frautschi Camila, D'Agostino Anahí, Dematteis Andrea, Estofan Gustavo, Estofan Lucas, García Carolina, Hernández Mariana

CIGOR - Centro Integral de Ginecología, Obstetricia y Reproducción. Córdoba.

Dirigir correspondencia a: marconettoa8@gmail.com

OBJETIVO: Evaluar los resultados reproductivos en ciclos de ICSI según el tiempo transcurrido desde la obtención de ovocitos y espermatozoides, hasta el momento del ICSI.

MATERIALES Y METODOS

Población de estudio: 319 ciclos de ICSI realizados entre enero de 2016 y abril de 2019.

Criterios de inclusión: mujeres menores a 40 años, ciclos con ovocitos propios, obtención de más de 2 ovocitos maduros, semen homólogo en fresco, con transferencia de blastocistos en fresco.

Diseño: longitudinal retrospectivo

Análisis de datos y estadística:

- Para ovocitos (tiempo ASPIRACIÓN-ICSI), se registró el tiempo transcurrido desde la hora de inicio de la aspiración folicular hasta la hora en que comenzó la inyección.
- Para espermatozoides (tiempo SEMEN-ICSI), se registró el tiempo transcurrido desde la hora de recolección de la muestra hasta la hora en que comenzó la inyección, para semen normal y semen con OAT.

Se utilizaron test Mann-Whitney y Kruskal-Wallis para comparar promedios y desvíos y Chi² para comparar proporciones. Un $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo.

RESULTADOS: No hubo diferencias en los resultados según el tiempo ASPIRACIÓN-ICSI (Tabla 1), ni según el tiempo SEMEN-ICSI en semen normal (Tabla 2).

En semen alterado (Tabla 2), la demora hasta el ICSI afectó negativamente la proporción de blastocistos totales y de buena calidad obtenidos. La tasa de embarazo acumulado fue comparable, sin embargo, el grupo ≥ 5.00 hs utilizó significativamente más blastocistos para lograrlo.

Tabla 1. Resultados según tiempo ASPIRACIÓN-ICSI

	<5:30hs	5:30-5:55hs	6:00-6:25hs	6:30-6:55hs	$\geq 7:00$ hs	p
Pacientes	39	40	141	38	61	
MII inyectados	231	262	866	279	438	
% fertilización	80%	76%	76%	76%	78%	0,6994
Blastocistos obtenidos/2PN	56%	55%	59%	56%	54%	0,5204
Blastocistos 3BB en día 5/2PN	34%	24%	29%	30%	26%	0,2337
RESULTADOS EN FRESCO						
Embarazo clínico	62%	48%	43%	50%	41%	0,2783
Embarazo en curso	49%	40%	34%	47%	34%	0,3270
RESULTADOS ACUMULADOS						
Blastocistos utilizados	56%	56%	65%	63%	61%	0,36

Embarazo acumulado /paciente	72%	55%	61%	66%	54%	42
Embarazo acumulado en curso/paciente	59%	48%	48%	61%	44%	0,39
						37
						0,40
						36

Tabla 2. Resultados según tiempo SEMEN-ICSI

	semen normal			semen OAT		
	<5:0	≥5:0	p	<5:0	≥5:0	p
	0hs	0hs		0hs	0hs	
Pacientes	24	126		33	136	
MII inyectados	142	820		211	903	
% fertilización	73%	76%	0,46	75%	79%	0,24
Blastocistos obtenidos/2PN	64%	57%	0,18	<u>65%</u>	<u>54%</u>	<u>0,02</u>
Blastocistos ≥3BB día 5/2PN	40%	43%	0,68	<u>28%</u>	<u>14%</u>	<u>0,00</u>
Blastocistos transferidos	1.2+	1.2+	0,95	1.3+	1.2+	0,64
	0.4	0.4	0,09	0.5	0.4	0,26
Embarazo clínico	38%	45%	0,63	55%	47%	0,56
Embarazo en curso	33%	37%	0,97	42%	39%	0,86
			0,88			0,86
RESULTADOS ACUMULADOS						
Blastocistos utilizados	73%	80%	0,31	<u>66%</u>	<u>83%</u>	<u>0,00</u>
Emb.clínico acumulado /paciente	67%	72%	0,76	76%	76%	0,82
Emb.clín. acumulado en curso/paciente	58%	61%	0,97	61%	63%	0,99
			82			91

DISCUSION: El tiempo transcurrido desde la aspiración de los ovocitos hasta el ICSI no tuvo impacto en los resultados. Lo mismo se observó en pacientes con semen normal, cuando se analizó el tiempo transcurrido entre la recolección y el ICSI. En cambio, en pacientes con semen alterado, a mayor tiempo de espera entre la recolección

de la muestra y el ICSI se observó un menor porcentaje de blastulación y de blastocistos de buena calidad.

En diferentes trabajos se ha descripto la asociación entre el daño de ADN espermático y parámetros seminales alterados, tiempo de espera luego de procesada la muestra y arresto embrionario.

Si bien este trabajo no cuenta con el análisis de fragmentación del ADN, los resultados coinciden con lo esperado: muestras de semen con OAT (que podrían presentar mayor daño de ADN) tuvieron peores resultados en tiempos de espera ≥ 5.00 hs.

Las muestras de semen normal y alterado no presentaron diferencias de embarazo en fresco posiblemente porque se transfirió el blastocisto de mejor calidad en todos los casos. Ambos grupos de pacientes con semen alterado lograron 76% de embarazo acumulado. Sin embargo, el grupo de ≥ 5.00 hs utilizó 17% más blastocistos que el grupo de < 5.00 hs. Si se usaran todos los blastocistos de este último grupo aparecerían diferencias entre ellos. Este efecto se agravaría en pacientes con baja respuesta ovárica, en las que una disminución en la blastulación podría significar no tener blastocistos para transferir.

El presente trabajo es el primero en relacionar el tiempo desde la recolección de la muestra de semen hasta su utilización y su impacto en los resultados reproductivos.

RESÚMENES GRUPO D

EFFECTO DE LAS COMORBILIDADES SOBRE LOS PARÁMETROS SEMINALES Y LA FRAGMENTACIÓN DEL ADN ESPERMÁTICO

Correa Brito Lourdes, Bleckwedel Federico, UriondoBoudriHeydy, Salazar Carolina, Vic Natalia, López Osa Diego, Sancho Miñano Carlos, Alvarez Sedó Cristian.

FERTILIA - Medicina Reproductiva, Tucumán, Argentina

Objetivo: Varias publicaciones han demostrado que podría existir una relación entre la infertilidad masculina y el estado de salud general. El objetivo de este estudio fue investigar la prevalencia y el efecto de algunas comorbilidades sobre los parámetros espermáticos y la fragmentación del ADN en una población de varones que consultan por infertilidad.

Diseño: Retrospectivo-comparativo.

Materiales y métodos: Bajo la aprobación del comité de ética institucional, se realizó un estudio retrospectivo para 1.122 hombres que consultaron por infertilidad entre agosto del 2017 y abril de 2019. Las evaluaciones iniciales incluyeron un historial médico completo, examen físico, evaluación endócrina, y al menos dos análisis de semen. Los parámetros espermáticos y la fragmentación del ADN se compararon entre hombres con y sin comorbilidades médicas.

Resultados: Se encontraron comorbilidades médicas significativas en 112 de 1092 (10.3%) varones, incluyendo 3.6% con hipertensión, 2.3% con hipotiroidismo, 2% trastornos de ansiedad, 2% con diabetes/dislipemia, y 0.6% con enfermedad respiratoria.

El volumen seminal, el conteo de espermatozoides, y la motilidad progresiva fueron significativamente menores en hombres con comorbilidades respecto a hombres sin comorbilidades ($p=0.045$, $p=0.036$ y $p=0.025$, respectivamente). Con respecto a la fragmentación del ADN espermático, fue mayor en pacientes con comorbilidades ($p=0.018$). La vitalidad espermática y la morfología estricta no fueron significativamente diferentes. Dentro de los pacientes con comorbilidades, los pacientes con diabetes/dislipemia y trastornos de ansiedad presentaron niveles significativamente más altos de fragmentación del ADN ($p=0,001$).

Conclusiones: Después del análisis de este estudio preliminar, podemos concluir que las comorbilidades médicas están asociadas con el deterioro de la producción y función de los espermatozoides. Se ha publicado que la obesidad y los trastornos metabólicos podrían estar asociados con el deterioro de la función espermática al modificarse la estructura física y molecular de las células germinales. Una evaluación completa de infertilidad masculina, que incluye una anamnesis exhaustiva, podría ofrecer la posibilidad de una terapia específica para mejorar algunos parámetros del semen.

EVALUACIÓN DE LA RECUPERACIÓN ESPERMÁTICA MEDIANTE LA TÉCNICA DE SWIM UP EMPLEANDO HTF Y HTF-H COMO MEDIOS DE CULTIVOS

Mallozzi Gisela Yanina, Ferreiro Paz Alejandra.

CREAR Medicina Reproductiva, Posadas, Misiones, Argentina.

Objetivo: Determinar si la recuperación espermática post-swim up es mayor con HTF que con HTF-H en pacientes que realizan tratamientos de medicina reproductiva.

Diseño: comparativo, a muestras independientes, experimental, prospectivo, transversal.

Se utilizaron muestras seminales homólogas destinadas a tratamientos de reproducción asistida. Se realizaron los swim up, en simultáneo y en las mismas condiciones, empleando diferentes medios de cultivo y se evaluó la recuperación espermática la cual está dada por la concentración, la movilidad final y el tipo de movilidad.

Materiales y métodos: En este estudio, se utilizaron 50 muestras seminales homólogas, obtenidas por masturbación, con abstinencia de 3 a 5 días, en vasos colectores estériles; destinadas a tratamientos de reproducción asistida. Antes de procesar las muestras se midieron los parámetros iniciales de recuento (MILL/ml) y tipo de movilidad, porcentaje de: móviles progresivos (%MP), móviles no progresivos (%MNP) e inmóviles (% INM), en cámara de Makler, microscopio óptico 100X. Luego, se colocó 1 ml de cada muestra en dos tubos falcón estériles y se realizaron los swim up en simultáneo y en las mismas condiciones, empleando como medios de cultivo 1 ml de Fertilization (HTF) y Medium w/HEPES (HTF-H), Quinn`s Advantage SAGE Media, ambos suplementados al 10% con Serum Protein Substitute (SPS). Estos, se incubaron inclinados a 45 grados en estufa 5 % de CO₂ durante 1 h. La incubación del tubo con medio HTF se realizó con la tapa del tubo floja mientras que el de HTF-H, cerrada para lograr las condiciones de pH necesarias. Transcurrido el tiempo, se trasvaso 0,5 ml del sobrenadante de cada swim up, en tubo estéril y se centrifugo a 2000 rpm durante 5 minutos. El pelet obtenido se re suspendió en 200 ul del respectivo medio empleado y se evaluaron los parámetros de recuento y movilidad final. Para el análisis de los datos se utilizó el programa Statgraphics Centurion XVI en donde se empleó ANOVA con un nivel de significancia de 95%.

Resultados: Los resultados obtenidos no evidencian diferencias estadísticamente significativas en cuanto a recuento final (MILL/ml) en la realización de los swim up con los distintos medios de cultivo. En cambio, en tipo de movilidad si se observan diferencias, siendo mayor el %MP utilizando como medio HTF.

Conclusión: Podemos concluir que la realización de swim up empleando HTF como medio de cultivo, bajo las condiciones descriptas, aumenta la probabilidad de obtención de espermatozoides con movilidad progresiva, lo cual podría hacer que se obtengan mejores resultados en técnicas de reproducción asistida, como inseminación intra uterina (IIU) y FIV, donde la movilidad de los espermatozoides es importante.

DISTRIBUCIÓN DIFERENCIADA DE ANEUPLOIDÍAS EMBRIONARIAS EN FUNCIÓN DE LA EDAD MATERNA.

Beltramo Maximiliano¹, Cullere Marcela¹, Anduaga Marchetti Ivan¹,
Martinez Valeria¹, Nievas Teresa¹, Genesio Karina¹, Sanchez
Sarmiento Cesar¹

Nascentis. Especialistas en Fertilidad y Genética Reproductiva.
(Córdoba, Argentina)

Con el advenimiento de las pruebas genéticas preimplantacionales ha sido posible analizar en profundidad los perfiles genéticos embrionarios, para determinar el grado de aneuploidías presentes en el conjunto cromosómico y decidir, en función de esto, la posibilidad de transferir el embrión al útero materno.

Se ha demostrado ampliamente que la edad materna representa uno de los factores predictores de aneuploidía embrionaria más importantes, y que, a mayor edad, el grado de aneuploidía aumenta considerablemente. Por otro lado, existen estudios que sugieren que las aneuploidías cromosómicas se presentan en mayor medida en ciertos grupos de cromosomas, también en función de la edad materna. Por ejemplo, se ha sugerido que en mujeres mayores de 38 años, los cromosomas más afectados son los correspondientes a los grupos D, E, F y G, los que además parecen estar íntimamente relacionados no solo con falla de implantación, sino también con embarazos evolutivos con anomalías cromosómicas.

DISEÑO: Retrospectivo.

OBJETIVO: Evaluar la relación entre la tasa de aneuploidía embrionaria y la edad materna. Además, determinar el grado de diferencias en la distribución cromosómica de las aneuploidías embrionarias, también en función de la edad materna.

MATERIALES Y METODOS: Se analizó un total de 199 embriones a los que se les realizó PGT-A por NGS en día 5 o día 6 y se determinaron las diferencias en las tasas de aneuploidía en función de la edad materna (menores vs. mayores de 35 años). De aquellos que presentaron resultados anormales, se registraron las tasas de aneuploidía en los pares de cromosomas 1-12 (grupos A-C) y en los pares 13-23 (grupos D, E, F y G), en función de 3 intervalos de edad materna a) menores de 23 b) 24-36 c) mayores de 37. Se utilizó la prueba de chi cuadrado para determinar diferencia significativa entre proporciones.

RESULTADOS: La tasa de aneuploidía en el grupo de mujeres mayores de 35 años fue del 54%, mientras que la tasa en el grupo de mujeres más jóvenes fue del 26% ($\chi^2 = 13.042$ $p < 0,001$). Además,

se observaron diferencias significativas cuando se analizó la distribución de las aneuploidías cromosómicas embrionarias de los grupos D, E, F y G. Particularmente, los embriones anormales provenientes de madres menores a 23 años presentan solo el 40% de sus aneuploidías en los cromosomas 13-23, mientras que aquellos provenientes de madres mayores de 37 presentan en un 78% de las aneuploidías en este conjunto cromosómico ($\chi^2 = 5.3455$, $p < 0,05$). Por otro lado, el grupo de edad intermedia no presentó diferencias con respecto a ninguno de los otros dos grupos.

CONCLUSIONES: La edad materna influye de manera directa sobre la ocurrencia de aneuploidías cromosómicas embrionarias, estando directamente relacionadas entre sí.

Además de observar un aumento en la tasa de aneuploidía cuando aumenta la edad materna, también fue posible observar un aumento de las alteraciones cromosómicas particularmente en los grupos D, E F y G, donde los pacientes no solo son propensos a tener embriones aneuploides con implantación fallida, sino también a obtener embriones anormales con mayores probabilidades de generar embarazos evolutivos cromosómicamente alterados.

RESULTADOS DE PGT REALIZADOS INTEGRAMENTE EN UN CENTRO DE FERTILIDAD

Roble María Susana, Colabianchi Matías, Colabianchi Ramiro

Instituto de Fertilidad Asistida Dr. J. Colabianchi – Rosario - Argentina

OBJETIVO: Los estudios genéticos preimplantacionales (PGT) permiten la selección de embriones Euploides para transferir, disminuyendo así las pérdidas y complicaciones del embarazo. Presentamos los resultados de todas nuestras pacientes que realizan (PGT) de acuerdo a su diagnóstico previo.

DISEÑO: Estudio retrospectivo descriptivo.

MATERIALES Y METODOS: Se incluyeron 273 ciclos de PGT entre diciembre del 2012 y febrero del 2019. Las células del trofoectodermo fueron biopsiadas en Día 5, 6 o 7 y luego se vitrificaron los blastocistos hasta la transferencia en ciclo diferido. Las amplificaciones de DNA se hicieron en nuestro laboratorio de Biología Molecular (*SurePlex, Illumina*). Hasta el año 2015 el PGT se realizó por arreglos de hibridación genómica comparativa (*24Sure Cytochip, BlueGnome Illumina*) y desde el año 2015 se realizó secuenciación de nueva generación (NGS) (*MiSeq, Illumina*). Los resultados fueron analizados de acuerdo a la indicación de PGT: Abortos a repetición,

Edad materna avanzada, Fallas repetidas de FIV/ICSI y Antecedentes genéticos(*aneuploidías, monosomías y traslocaciones*). Se transfirieron los embriones Euploides luego de preparar el endometrio en ciclo diferido y se constató el embarazo clínico por la presencia de latidos cardiacos en saco gestacional. Se calcularon también las tasas de abortos.

RESULTADOS: Un total de 206 (75.4%) ciclos tuvieron embriones con calidad para biopsiar. Se biopsiaron 548 embriones, resultando Euploides el 32,3%, Aneuploides un 55,2%, Mosaicos un 6,8% y 5,6% resultaron sin diagnóstico. Los resultados de acuerdo a la indicación del PGT se muestran a continuación en una Tabla.

En los grupos con Antecedentes genéticos y Edad materna avanzada la proporción de ciclos que no obtuvieron embriones Euploides es alta (56% y 53,4%). Las tasas de embarazo clínico son más elevadas en el grupo con antecedentes genéticos y menores en el grupo de Fallas repetidas de FIV/ICSI, siendo similares para las de Abortos repetidos y Edad materna avanzada. En el grupo de Abortos a repetición y Antecedentes genético no se observó ningún aborto y en los grupos de Edad avanzada y Fallas Repetidas 9,6 % y 4,6 % respectivamente.

GRUPOS	ABORTOS A REPETICION	ANTECEDENTES GENETICOS	EDAD	FALLAS REPETIDAS
DISTRIB. CICLOS	26 (9,5%)	29 (10,6%)	147 (53,9%)	71 (26,0%)
EDAD	35,27 ($\pm 2,85$)	32,97 ($\pm 4,47$)	40,05 ($\pm 2,06$)	35,59 ($\pm 2,56$)
CICLOS S/BIOPSIA	3 (11,5%)	4 (13,7%)	45 (30,6%)	14 (19,7%)
% EUPLOIDES	32,0%	21,9%	30,8%	33,3%
CICLOS S/EUPLOIDES	10 (43,4%)	14 (56%)	54 (53,4%)	18 (31,7%)
TRANSFERENCIAS	18	12	52	43
SUBUNIDAD BETA POSITIVA	12 (66%)	8 (66%)	32 (61,5%)	22 (51,1%)
EMB CLINICO	10 (55%)	8 (66%)	30 (57,6%)	18 (41,8%)
TASA ABORTO	0	0	5 (9,6%)	2 (4,6%)

CONCLUSIONES: El PGT claramente aumenta las chances de tener un recién nacido vivo sano, el 56% de los ciclos que tenían algún

antecedente genético no obtuvieron embriones Euploides y la tasa de embarazo clínico de este grupo fue la más alta (66%). El grupo de edad materna avanzada tiene una alta tasa de cancelación (30,6%) al cual no se le pudo biopsiar ningún embrión y a su vez la tasa de embarazo clínica es similar a la de las mujeres jóvenes de los demás grupos. Se disminuye con esta técnica el riesgo de tener un nuevo aborto y al transferir un solo embrión en todos los casos la chance de embarazos múltiples es casi nula.

RESÚMENES GRUPO E

¿DEBEMOS SEGUIR PENSANDO QUE LA DONACIÓN DE OVOCITOS EN FRESCO Y VITRIFICADOS NO SON COMPARABLES?

Ferracuti Virginia, Pascual Mercedes, Veiga María Florencia, Dobler Dara, Torres Claudia, Biagini Ana, Giordana Santiago, Neuspiller Fernando.

IVI RMA Buenos Aires.

Objetivo: La eficiencia alcanzada en las técnicas de vitrificación de ovocitos ha permitido optimizar el uso de los bancos de óvulos. En el marco de un programa de ovodonación (OD), esta herramienta resulta ser de gran importancia ya que permite acortar tiempos de espera de las receptoras para realizar el tratamiento y organizar mejor el trabajo en la clínica, ya que disponemos de mayor flexibilidad al programar ciclos. El objetivo del trabajo es demostrar que la utilización de ovocitos de banco tiene la misma eficiencia comparado con ovocitos frescos.

Diseño: Se realizó un análisis retrospectivo observacional que incluyó 290 ciclos de OD que fueron realizados desde el 01/01/2018 hasta el 30/06/2019 en la clínica. Se excluyeron los casos de DPI.

Los ciclos de OD fueron divididos en dos grupos de acuerdo al origen de los ovocitos: Frescos (n=187) o Vitrificados (n=103). Se compararon tasas de fecundación, tasas de llegada a blasto y tasas de implantación entre ambos grupos.

Materiales y métodos: Se incluyeron pacientes con indicación de OD. El número de MII a donar se definió en función de la edad de la receptora.

Se utilizó la técnica de fecundación *in vitro* ICSI. Luego de evaluar fecundación se cultivaron los embriones sin interrupción hasta D5/D6.

Los blastos fueron clasificados según los criterios de ASEBIR. Los embriones con clasificación A, B y C fueron transferidos o vitrificados. El protocolo de preparación endometrial y suplemento de P4 fue el utilizado normalmente en la clínica.

El análisis estadístico se realizó a través del programa *IBM SPSS Statistics*. Las variables continuas fueron comparadas usando el test *t de Studenty* las frecuencias fueron analizadas con el test de *Pearson χ^2* .

Resultados: Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 1. No se observan diferencias significativas en los parámetros analizados: tasas defecundación, tasas de llegada a blastocisto y tasas de implantación de ambos grupos.

Tabla 1

Variable	Frescos	Vitrificados	P
Ovocitos MII recibidos (□ ± sd)	9,10 (± 2,41)	8,47 (± 2,11)	0,103
Tasa de fecundación (%)	75,25	77,52	0,201
Blastocistos obtenidos (□ ± sd)	2,92 (± 1,70)	2,64 (± 1,74)	0,149
Tasa de blastocisto(%)	44,4	41,9	0,337
Tasa de implantación(%)	57,74	56,63	0,867

Conclusiones: Unas de las mayores dificultades en la donación de ovocitos en fresco es la sincronización de los ciclos entre la donante y la receptora. Tanto el endometrio en la receptora como la respuesta ovárica en la donante no son completamente predecibles. Como sabemos, no se puede garantizar una buena condición del endometrio en la receptora, así como tampoco una adecuada concentración de progesterona; y por el lado de la donante tampoco puede garantizarse la recuperación de una cohorte óptima de ovocitos, lo que puede derivar en la cancelación del ciclo de OD.

Estas limitaciones pueden ser resueltas con un programa efectivo de criopreservación de ovocitos permitiendo disponer de los mismos cuando la receptora se encuentra en condiciones óptimas. Como muestran los resultados; con un buen manejo de la técnica de vitrificación ovocitaria, el uso del banco de óvulos aporta flexibilidad a la hora de programar los ciclos de OD, facilitando la organización de la clínica y acortando los tiempos de espera.

Utilizando ovocitos vitrificados obtuvimos resultados similares con las donaciones en fresco, sin aumentar la media de ovocitos donados.

EFFECTO DE LA CRIOPRESERVACIÓN Y EL ESTADIO DE DESARROLLO SOBRE LOS RESULTADOS PERINATALES POST TRANSFERENCIA EMBRIONARIA

Cullere Marcela¹, Martinez Valeria¹, Beltramo Maximiliano¹, Avalos Pablo¹, Batello Natalia¹, Fussero Virginia¹, Anduaga Marchetti Ivan¹.

Nascentis. Especialista en Fertilidad y Genética Reproductiva.

Numerosos estudios se han realizado en el campo de la medicina reproductiva para determinar si los parámetros perinatales de niños nacidos como producto de procedimientos de fertilización *in vitro* presentan diferencias con respecto a los de la población proveniente de embarazos naturales. Los resultados a lo largo del tiempo son contradictorios, se han reportado tasas de peso al nacer, anomalías congénitas y semanas de gestación diferenciales para cada población. Más aún, con el advenimiento de la criopreservación de embriones se planteó el interrogante sobre si la exposición a los crioprotectores o al nitrógeno líquido durante un tiempo prolongado representan también factores capaces de modificar dichos parámetros al nacer. De la misma manera, numerosos trabajos informan diferencias en los resultados de poblaciones de niños provenientes de transferencias embrionarias en fresco o criopreservados, mientras que otros sugieren que ambas poblaciones presentan características similares.

OBJETIVO: Analizar posibles diferencias en los parámetros perinatales (peso al nacer y semanas de gestación) entre poblaciones de niños provenientes de embriones transferidos en fresco o de criopreservados, en función del estadio de desarrollo embrionario.

DISEÑO: Retrospectivo.

MATERIALES Y METODOS: Retrospectivamente se analizaron 323 ciclos FIV/ICSI entre 2010 y 2019 en Nascentis (Córdoba, Argentina). Se incluyeron únicamente los embarazos con un (1) saco gestacional con latido cardiaco fetal positivo. Dos grupos fueron confeccionados acorde a las semanas de gestación, (NT) nacimientos a término (≥ 36 semanas) y (NPT) nacimientos pre-término (< 36 semanas), en ambos grupos se evaluó el peso al nacer y las semanas de gestación de los neonatos en función del estadio del embrión (clivado o blastocisto) y de la condición de la transferencia (fresco o criopreservado). Se realizó análisis de varianza y test a posteriori LSD de Fisher para determinar diferencias significativas.

RESULTADOS: Se analizaron 255 bebés provenientes de transferencias en fresco y 68 de transferencias de embriones

criopreservados. La media de peso al nacer en NPT fue de 2478,59 g (+/- 191,13 g) mientras que en PT fue de 3247,40 g (+/- 103,16 g) ($F=13,95$ $p<0,001$). La media de semanas de gestación fueron 34,04 (+/- 0,27) vs 38,42 (+/- 0,15) ($F=224,38$ $p<0,001$) para NPT y PT respectivamente. Cuando se analizó la interacción entre los factores estadio de desarrollo embrionario y condición de transferencia con las variables peso al nacer (tabla 1) y semanas de gestación (tabla 2) no se encontraron diferencias significativas.

	Pre término		A término	
	Fresco	Criopreservado	Fresco	Criopreservado
Clivado	2572 ^(a)	2143 ^(a)	3262 ^(b)	3296 ^(b)
Blastocisto	2578 ^(a)	2620 ^(a)	3139 ^(b)	3306 ^(b)

Tabla 1. Peso al nacer (expresado en gramos) en función de la condición de transferencia y estadio del desarrollo embrionario (Medias con una letra común no son significativamente diferentes)

	Pre término		A término	
	Fresco	Criopreservado	Fresco	Criopreservado
Clivado	34,3 ^(a)	33,3 ^(a)	38,4 ^(b)	38,4 ^(b)
Blastocisto	34,0 ^(a)	34,5 ^(a)	38,4 ^(b)	38,3 ^(b)

Tabla 2. Semanas de gestación en función de la condición de transferencia y desarrollo embrionario (Medias con una letra común no son significativamente diferentes)

CONCLUSIONES: La exposición del embrión al cultivo prolongado, como así también los efectos de los crioprotectores o al nitrógeno

líquido durante períodos prolongados de tiempo no parecen ser factores capaces de alterar los resultados perinatales de los niños nacidos por tratamientos de fertilización *in vitro*. La ausencia de diferencias significativas entre los grupos estudiados permite sugerir que la manipulación embrionaria bajo estas variables no afecta el desarrollo normal de los niños nacidos vivos como productos de estos tratamientos.

EVALUACIÓN DEL GRADO DE REEXPANSIÓN DEL BLASTOCISTO POST VITRIFICACIÓN / DESCONGELACIÓN Y SU RELACIÓN CON LA TASA DE EMBARAZO

Lardizábal María Noelia, Torres Monserrat Valentina, Delpiccolo María Cecilia, Moreno Ignacio, Cueto Santiago, Leiva Trinidad, Carizza Nicolás, Carizza Carlos.

Fertya, Medicina Reproductiva (Grupo Oroño).

OBJETIVO: Evaluar si el grado de reexpansión del blastocistodescongelado tiene algún efecto sobre la tasa de embarazo en pacientes que transferencias embrionarias (TE) diferidas. El propósito de este estudio es aportar herramientas para mejorar las tasas de embarazo del Centro.

DISEÑO: Se clasificaron los blastocistos post descongelación agrupándolos en cuatro categorías, según su grado de reexpansiónal momento de la TE (Tabla 1) y se correlacionó con las tasas de embarazo por TE. Todas las TE fueron de blastocistos únicos. Se excluyeron pacientes: i) con edad reproductiva avanzada; ii) con TE dificultosas; iii) con TE de embriones de mala calidad; iv) que hayan realizado 2 o más TE previas con resultados negativos.

Clasificación	Grado expansión
1	No expandido
2	<100%
3	100%
4	100% y eclosionando

Tabla 1: Clasificación de blastocistos según su grado de reexpansión

MATERIALES Y MÉTODOS: Los embriones fueron descongelados por el método Kitazato según indicaciones del proveedor, e inmediatamente fueron sometidos a la técnica de eclosión asistida mediada por láser (Lykos, Hamilton Thorne) con una potencia de 200 mW. Posteriormente fueron cultivados en medios de cultivo Blastocyst (SAGE) o Global Total (Global), e incubados en incubadoras K-SystemG-185 o ThermoScientificHeracel 150i, por un período variable (0.5 a 12hs). Se evaluó la correlación entre el tiempo transcurrido desde la descongelación hasta la TE y el grado de reexpansión mediante el Test Exacto de Fisher. Se comparó la tasa de embarazo entre las distintas categorías de reexpansión mediante el Test Chi Cuadrado.

RESULTADOS: Se observó una relación estadísticamente significativa entre el tiempo desde la descongelación hasta la TE y el grado de reexpansión del blastocisto ($p < 0,0001$). La tasa de embarazos fue mayor en transferencias de embriones con mayor grado de reexpansión (Tabla 2).

Clasificación	Total casos	Total Beta+	% Embarazo
1	33	9	27,3
2	21	5	23,8
3	167	73	43,7
4	107	61	57,0

Tabla 2: Porcentaje de embarazos según grado de reexpansión del blastocisto descongelado

CONCLUSIONES: El grado de reexpansión del blastocisto sometido a procesos de vitrificación y descongelación en TE diferidas influye en su probabilidad de embarazo. Debido a que el tiempo transcurrido desde su descongelación hasta su transferencia se relaciona con el grado de reexpansión, se recomienda espaciar ambos procedimientos por un mínimo de 2 horas. A su vez, a partir de estos resultados, se puede inferir que aquellas TE cuyos blastocistos no han reexpandido, tienen un peor pronóstico en cuanto a sus probabilidades de embarazo.

EVALUACIÓN DEL IMPACTO EMOCIONAL CAUSADO POR EL PROCEDIMIENTO DE TERAPIA DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA CON OVODONACION EN RECEPTORAS DE OVOCITOS.

Polenta Julieta¹, Exposito Soledad¹, Caruso Sabrina¹, Orlietti Melina¹, Gómez Marcelo¹, Cullere Marcela¹.

Nascentis. Especialistas en Fertilidad y Genética Reproductiva. (Córdoba, Argentina)

Se ha sugerido en la bibliografía que las personas que deben atravesar por tratamientos de fertilización asistida para lograr un embarazo están expuestas a altos niveles de ansiedad y estrés. Por este motivo, la intervención de profesionales psicólogos durante esta etapa es importante para lograr el éxito en la salud tanto reproductiva como mental de los pacientes. Sin embargo, no existen demasiados trabajos que aborden el estudio de las pacientes que se someten a estos tratamientos como receptoras de óvulos donados las que, además de presentar la ansiedad típica del tratamiento, deben atravesar por un "duelo genético" y lograr la aceptación del hecho que sus futuros hijos provendrán de gametas ajenas. Resulta de interés para el manejo de estas pacientes analizar toda esta carga emotiva, así como su salud psicológica, para conocer cuáles son los puntos sensibles donde se debería mejorar la calidad y la contención en la atención.

OBJETIVO: Evaluar algunos aspectos del impacto emocional que sufren las pacientes receptoras de ovocitos que atraviesan tratamientos de reproducción asistida con ovodonación.

DISEÑO: Observacional, prospectivo.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se realizaron 100 encuestas a pacientes que realizaron tratamientos de alta complejidad como receptoras de ovocitos donados, durante todo el año 2018 en Nascentis (Córdoba, Argentina). Las preguntas estuvieron orientadas a analizar las respuestas emocionales de las pacientes durante y después del tratamiento a través de encuestas cerradas de tipo estructurado con opción múltiple.

RESULTADOS: Los resultados principales arrojaron un predominio de sentimientos positivos hacia la realización del tratamiento (71% sintió felicidad de poder tener hijos de esta manera, 85% señaló ausencia de problemas en la pareja por causa del tratamiento, 76% expresó no tener miedo de la posible relación con su hijo en el futuro). Sin embargo, fue fuerte la manifestación de la ansiedad durante el tratamiento (67% de las entrevistadas) y la relación con las características físicas de la donante (41% solicitó características físicas determinadas de la donante). Por otro lado, un alto porcentaje de las pacientes señaló no haber contado nada al respecto del tratamiento a su círculo íntimo (47%), por lo que no contaron con apoyo de sus familiares y seres queridos.

CONCLUSIONES: La realización de tratamientos de reproducción asistida con ovocitos donados representa un desafío para la salud

psicológica de las pacientes que los atraviesan. Si bien existen sentimientos positivos y de esperanza en el inicio del tratamiento, también son fuertes los sentimientos de ansiedad, necesidad de ocultarse de la mirada y juicio moral de los pares, y dudas acerca de las características físicas de la donante de los ovocitos asignados, y por ende de los futuros hijos. Por estos motivos, resulta de fundamental importancia la asistencia psicológica de estas pacientes por parte de profesionales especializados que sean capaces de manejar la carga emocional y puedan equilibrarla si se tornara demasiado abrumadora para la paciente.

RESÚMENES GRUPO F

RESULTADOS REPRODUCTIVOS EN VITRIFICACIÓN DE OOCITOS POR RAZONES SOCIALES. ¿ALTERNATIVA VÁLIDA A CUALQUIER EDAD?

Felici María Macarena, Tiveron Marisa, Guidobono Mercedes, Bouzas Soledad, Kenny Alberto, Viglierchio María Inés, Lorenzo Fabián, Valcárcel Alberto.

IFER, Buenos Aires, Argentina

OBJETIVO: Evaluar los resultados reproductivos de nuestro programa de vitrificación de oocitos de mujeres en edad fértil y sin pareja estable que criopreservaron por razones sociales.

DISEÑO: Estudio descriptivo retrospectivo.

MATERIALES Y MÉTODOS: Resultados correspondientes al período 2008- Junio 2019. De las 637 mujeres incluidas en nuestro estudio, 150 (23,5%) tenían < 36 años, 337 (52,9%) entre 36-39 años y 148 (23,6%) eran ≥ 40 años al criopreservar.

RESULTADOS: La edad promedio de las pacientes al momento de vitrificar oocitos fue $37,3 \pm 3,5$ años, el número de oocitos MII vitrificados fue $6,3 \pm 5,1$. Sólo 50 mujeres (7,8%) utilizaron sus oocitos almacenados hasta la fecha.

En este grupo, la edad promedio al crioconservar fue $38,2 \pm 4,1$ años, el tiempo promedio de almacenamiento fue $3,4 \pm 2,1$ años y la edad promedio cuando descongelaron fue $41,7 \pm 4,0$ años. El promedio de oocitos vitrificados fue $6,4 \pm 4,5$, con sobrevida de $94,2 \pm 17,1\%$. El promedio de oocitos inyectados fue $5,4 \pm 3,2$ y $4,1 \pm 2,4$ fertilizaron normales. La tasa de fertilización fue de $77,1 \pm 26,9\%$. El número de embriones producidos fue $3,3 \pm 2,0$ y $2,2 \pm 0,9$ se transfirieron en día 3. El 72% de las mujeres que

descongelaron sus oocitos utilizaron semen autólogo (36/50), mientras que el 28% (14/50) semen heterólogo. Se efectuaron 50 ICSIs en 43 mujeres con 47 transferencias de embriones. Tres pacientes no tuvieron embriones para transferir. En los tres casos se trató de mujeres que habían vitrificado un único oocito el cual no fertilizó luego de ser desvitrificado. Se transfirieron un total de 114 embriones. La tasa de embarazo clínico/transferencia fue 27,6% (13/47), la de implantación 12,3% (14/114), la de aborto 15,4% (2/13) y la de nacidos vivos+evolutivos/transferencia 23,4% (11/47). La tasa de nacidos vivos/oocito descongelado fue 3,9% (11/285). De los 10 partos registrados, 3 correspondieron a mujeres que vitrificaron a los 40 años, 2 a los 41 años y 1 a mujeres de 24 años, 31 años, 35 años, 38 años y 42 años. De los 10 partos nacieron 11 niños. Nueve fueron partos simples y un doble. Este último correspondió a la paciente que vitrificó a los 38 años. El embarazo evolutivo corresponde a una paciente que criopreservó a los 36 años.

CONCLUSIONES: De acuerdo con nuestros resultados, la criopreservación de oocitos por razones sociales es una estrategia reproductiva válida. Sin embargo, no debe interpretarse que la sola crioconservación de cualquier número de oocitos a cualquier edad garantiza la futura maternidad con oocitos propios. En este sentido, es necesario dar un consejo claro, basado en el número de oocitos recuperados y la edad de la paciente en el momento de la criopreservación, con respecto a las posibilidades reales de convertirse en madre cuando se utilice ese material crioconservado. A pesar de ello, es importante destacar que esta estrategia reproductiva ofrece, para este grupo de mujeres y en particular en aquellas de edad reproductiva avanzada, tal vez la única posibilidad de tener hijos genéticos en el futuro.

EVALUACIÓN DE LAS MOTIVACIONES PARA DONAR OVULOS EN UN PROGRAMA DE OVODONACIÓN.

Caruso Sabrina¹, Exposito Soledad¹, Polenta Julieta¹, Orlietti Melina¹, Gomez Marcelo¹, Cullere Marcela¹.

Nascentis. Especialistas en Fertilidad y Genética Reproductiva.
(Córdoba, Argentina)

Con el desarrollo de las técnicas de criopreservación de ovocitos y embriones, numerosos pacientes fueron capaces de acceder a tratamientos de reproducción asistida con ovocitos donados y, de esa manera lograr un embarazo. El ingreso de una mujer como donante a un programa de ovodonación ocurre como resultado de una serie de

análisis (ginecológicos, serológicos, psicológicos y genéticos) que deben arrojar valores adecuados y brinden al equipo médico seguridad acerca de sus posibles resultados reproductivos. Sin embargo, la decisión de la mujer de convertirse en donante de ovocitos, proviene de una serie de valoraciones (morales, éticas y prácticas) que la llevan a darle la posibilidad a otra mujer de convertirse en madre. Esta decisión involucra una carga emocional importante cuya observación resulta importante a la hora de realizar el seguimiento de la donante a lo largo de todo el proceso de ovodonación, desde el ingreso al programa hasta después de haber realizado el procedimiento.

OBJETIVO: Conocer las motivaciones que llevan a las donantes a tomar la decisión de entrar en un programa de ovodonación y cómo viven el procedimiento desde el ingreso al programa hasta la realización de la donación.

DISEÑO: Prospectivo, observacional.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se realizaron 91 encuestas a mujeres que ingresaron al programa de ovodonación de Nascentis (Córdoba, Argentina) desde febrero 2018 a febrero de 2019. Las preguntas estuvieron orientadas a analizar las razones por las que la mujer decidió convertirse en donante de ovocitos y cómo vivió la experiencia de donación, a través de encuestas mixtas con respuestas libres y de opción múltiple.

RESULTADOS: Se observaron motivaciones de tipo altruistas en las donantes, siendo el 78,02% las que tuvieron la intención de ayudar a otras personas y el 12,08% las que vivieron experiencias de infertilidad en su círculo cercano y por eso exclusivamente buscaban ayudar a otras mujeres que estuvieran pasando por la misma situación. En este sentido, 70% del total refirió conocer personas con problemas de infertilidad, factor determinante para llevar a cabo el procedimiento. Por otro lado, se catalogaron dos beneficios principales como resultado de la decisión: satisfacción personal (50,55%) y tranquilidad en cuanto a su salud por haber pasado por la batería de estudios que la aprobaron como donante (17,58%). Finalmente, el 100% de las donantes manifestó la voluntad de volver a realizar el procedimiento y de recomendarle a otra persona que lo realice.

CONCLUSIONES: Las motivaciones que movilizan a las mujeres para convertirse en donantes de óvulos están estrechamente relacionadas con experiencias de infertilidad en su círculo cercano, y con la necesidad de ayudar a otras mujeres a tener la posibilidad de tener hijos. Una vez tomada la decisión de realizar el procedimiento, las

donantes sienten satisfacción personal por la ayuda brindada y encuentran además un intercambio que les brinda seguridad acerca de su salud reproductiva. En general, la experiencia de donación de óvulos representa una situación de carga emocional que satisface las necesidades altruistas de las mujeres y valoran como positiva y recomendable.

¿ES POSIBLE MEJORAR LAS TASAS DE FECUNDACION LUEGO DEL ICSI?

Pascual Mercedes, Ferracuti Virginia, Veiga Maria Florencia, Dobler Dara, Biagini Ana Maria, Torres Claudia, Giordana Santiago, Neuspiller Fernando

IVI Buenos Aires

OBJETIVO: La tasa de fecundación (TF) es el parámetro que mide el éxito de la inyección intracitoplasmática del espermatozoide (ICSI). Por un lado, este valores uno de los indicadores del correcto funcionamiento del laboratorio, mientras que, por otro, altas TF implican para el paciente más posibilidades de éxito. Las últimas actualizaciones establecen que no debería ser inferior al 75%. Es importante entonces, introducir mejoras en el caso que no se alcance dichomínimo. El objetivo de este trabajo es analizar el impacto de una serie de cambios metodológicos introducidos en el laboratorio destinados a aumentar nuestras TF.

DISEÑO: Estudio retrospectivo comparando las TF entre dos periodos de tiempo, antes y después de la modificación enciertas variables de trabajo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Pacientes y variables: Se compararon todos los ciclos de ICSI realizados entre el 01/01/2018 hasta el 30/06/2018 y entre el 01/01/2019 hasta el 30/06/2019. En el primer grupo fueron 374 casos con ovocitos propios (P) y 109 de ovodonación (O), con una edad promedio de pacientes de $36,81 \pm 3,81$ y de donantes de $25,17 \pm 3,69$. Mientras que en el segundo fueron 370 casos de P y 96 de O, con las siguientes edades medias respectivamente: $37,40 \pm 3,83$ y $24,53 \pm 3,47$.

Para cada paciente se obtuvo la TF, considerando el número de cigotos con 2 pronúcleos sobre el total de ovocitos maduros

microinyectados. Luego se calcularon las TF promedio por grupo (O18, P18, O19 y P19) y por embriólogo.

Cambios realizados: Los cambios fueron: Micro-inyectarun máximo de 3 ovocitos por placa;preparar las placas con 1h de anticipación con medio y aceite(empleando 12-14mL) gaseadosdesde el día previo y mantenerlas siempre en el incubador;cargar la muestra de semen en el momento previo a la inyección;monitorear tiempos (máximo 5 min por placa) y usar indicadores diarios.

Análisis estadístico: Los resultados fueron analizados estadísticamente mediante el *test de t-Student*.

RESULTADOS: Las siguientes tablasmuestran las TF promedio de 2018 y 2019.Se observó un aumento significativo al comparar ambos grupos (P y O). A su vez, todos los embriólogos aumentaron sus tasas, siendo este aumentosignificativopara dos de ellos.

	TF promedio 2018	TF promedio 2019	
OVODON	75,27	81,27	p <0.05
PROPIOS	72,86	77,73	p <0.05

Tabla 1:TF promedio en cada grupo.

	TF promedio2018	TF promedio2019	
EMB #1	73,45	75,66	NS
EMB #2	75,47	82,59	p <0.05
EMB #3	72,58	79,94	p <0.05

Tabla 2:TF promedio por embriólogo.

CONCLUSIONES: El conjunto de modificaciones introducidas impactan positivamente sobre las TF. Teniendo en cuenta que es un estudio retrospectivo, no podemos cuantificar la contribución individual de

cada cambio. Aun así, hipotetizamos que el aumento se debe a la suma de variables que en conjunto redundan en menos tiempo de los ovocitos fuera del incubador, expuestos a la luz y a variaciones en la temperatura. A su vez, el uso de un medio sin HEPES implicaría menor estrés para los ovocitos ya que el mismo puede resultar tóxico.

RESÚMENES GRUPO G

RUPTURA DE QUISTE ENDOMETRIÓICO EN EMBARAZO GEMELAR BICORIAL-BIAMNIÓTICO DE 24 SEMANAS

Orlietti Melina^{1-2*}, Camargo Cecilia¹, Mariel Henzen¹, Cullere Marcela², Sanchez Sarmiento Cesar²

1. Sanatorio Allende
2. Nascentis. Especialistas en Fertilidad y Genética Reproductiva.

La endometriosis suele asociarse con dolor abdominal variable, subfertilidad y complicaciones tempranas en el embarazo. Es posible la ocurrencia de rupturas de lesiones endometriósicas, causando hemoperitoneo. Es escasa la literatura que describa tanto casos de hemoperitoneo masivo en embarazos tardíos (con sus resultados obstétricos y/o perinatales asociados), como casos de hemoperitoneo por ruptura de quiste endometriósico en embarazos gemelares tardíos provenientes de tratamientos de fertilidad de alta complejidad, con nacimiento de ambos niños posterior al alta quirúrgica materna.

OBJETIVO: presentar un caso de hemoperitoneo causado por la ruptura de un quiste endometriósico en una paciente cursando embarazo gemelar bicorialbiamniótico de 24 semanas de gestación post tratamiento de fertilización *in vitro* (ICSI).

CASO CLÍNICO: Paciente de 31 años cursando embarazo gemelar bicorialbiamniótico de 24 semanas de gestación post tratamiento de fertilización *in vitro* (Nascentis, Córdoba, Argentina), que consulta por guardia de obstetricia en el Sanatorio Allende (Córdoba, Argentina) en agosto 2018, por dolor abdominal generalizado de leve intensidad, contracciones irregulares, asociado a síntomas digestivos. Se realiza diagnóstico presuntivo de Corioamnionitis/Apendicitis. Habiendo valorado el bienestar materno-fetal se deriva a cirugía. Se realiza incisión de Pfannestiel, evidenciando hemoperitoneo moderado con coágulos, se amplía incisión abdominal a mediana supra e infraumbilical, se evidencia ruptura de quiste endometriósico en ovario izquierdo, se realizan puntos hemostáticos, latidos cardíacos fetales de ambos fetos positivos 150 y 155 lpm mediante control

ecográfico intraoperatorio. Evoluciona favorablemente en su postquirúrgico clínico y obstétrico, dando alta con indicaciones y control.

En una segunda internación con diagnóstico presuntivo de hepatitis vs. hígado graso agudo, se realiza ateneo conjunto con el grupo de alto riesgo del servicio de neonatología y diagnóstico por imágenes, para valorar riesgo-beneficio materno y fetal. Se decide continuar el embarazo con observación estricta de bienestar fetal. Evoluciona favorablemente, se le indica alta sanatorial con controles ambulatorios. Se ingresa nuevamente por contracciones. Se indica realizar el protocolo completo para amenaza de parto prematuro y, por fracaso en todos los esquemas, se realiza cesárea a las 30,6 semanas: gemelar A, femenino, 1450 grs, apgar 7/8; gemelar B, femenino, 1510 grs, apgar 7/8. A las 48 hs alta sanatorial materna y evolución favorable de los niños con respuesta neurológica acorde y controles programados.

COMENTARIOS: La endometriosis severa durante el embarazo puede causar complicaciones graves y en algunos casos llevar a la muerte fetal o a la interrupción prematura del embarazo para salvar la vida de la madre. La pérdida de un embarazo avanzado puede representar un evento extremadamente traumático para la mujer. Este trabajo describe uno de los pocos casos del país de tratamiento quirúrgico de ruptura de quiste endometriósico con embarazo por FIV (ICSI) en curso, con valoración de latido cardíaco fetal por monitoreo ecográfico minuto a minuto. Más importante aún, el logro del nacimiento de ambos niños vivos semanas después, el alta quirúrgica materna.

TEST DE RECEPTIVIDAD ENDOMETRIAL (ERA), ANALISIS DE NUESTROS CASOS

Legascue Lisandro, Perez Mariana, Carbonaro Marines, Calvo Karina, Brignardello Claudia, Hallberg Alejandra, Lima Anabella, MorenteCarlos

Institución: Centro Médico PROAR - Rosario

Objetivo: Evaluar los resultados reproductivos en pacientes que realizaron ERA y posterior transferencia embrionaria

Diseño: estudio de cohorte retrospectivo

Materiales y Métodos: Se analizaron biopsias endometriales de 19 pacientes (9 con ovocitos propios y 10 donados) con al menos 1

transferencia embrionaria sin embarazo entre diciembre de 2017 y mayo 2019. Los ciclos se prepararon con estrógenos (6 mg/día) y progesterona (800 mg/día). Se realizó una evaluación ecográfica entre 7 a 10 días luego del comienzo de la administración de estradiol. Cuando se obtuvo un endometrio trilaminar ≥ 6 mm, con un nivel de progesterona < 1 ng/ml, se comenzó el tratamiento con progesterona (P+0) y la biopsia se tomó tras 5 días (aproximadamente 120 horas) completos de administración de progesterona (P+5).

La biopsia endometrial se tomó del fondo uterino, usando una cánula de Pipelle en la mayoría de los casos, salvo 2 en los cuales se realizó mediante histeroscopia ya que las pacientes presentaban cérvix de difícil acceso y el procedimiento debió realizarse bajo anestesia. Tras realizar las biopsias, las muestras se transfirieron inmediatamente al criotubo suministrado por IGENOMIX. Se agitó el tubo vigorosamente durante unos segundos. Las muestras fueron remitidas para el análisis según protocolo recomendado por el fabricante.

En todos los casos las transferencias embrionarias post ERA se realizaron en día 5 siguiendo los protocolos habituales de la clínica respetando estrictamente el número de horas de administración de progesterona recomendados por el test.

Resultados: La tasa global de embarazo clínico post ERA fue del 53%. Para pacientes con un promedio de 3,4 transferencias previas la tasa de embarazo post ERA fue de 28%, mientras que para receptoras con 2,6 transferencias previas fue del 75%. (Tabla 1)

Tabla 1	N	N Transf pre ERA	% Embarazo	N Transf post ERA	% Embarazo (N)
Pacientes	9	31	0%	7	28 % (2)
Receptoras	10	26	0%	8	75 % (6)
total	19	57	0%	15	53 % (8)

Teniendo en cuenta el tipo de receptividad endometrial las tasas de embarazo post ERA fueron de 83%, 25% y 50% para pacientes con endometrios pre receptivos, receptivos tempranos y receptivos respectivamente, no observándose embarazos para los endometrios receptivo tardío. (Tabla 2)

Tabla 2	N	N Transf pre ERA	N Embarazo (%)	N Transf post ERA	N Embarazo (%)
Pre receptivo	7(37%)	19	0	6	5(83%)
Receptivo temprano	4(21%)	18	0	4	1(25%)
Receptivo	5(26%)	12	0	4	50% (2)
Receptivo tardío	2(11%)	6	0	1	0

Post receptivo	0	*	*	*	*
No informativa	1(5%)	2	0	0	0

Conclusiones: A las pacientes con endometrios pre receptivos o receptivos tempranos se les modificó la cantidad horas de progesterona previa a la transferencia respetando las indicaciones del test. En estos casos fue trascendente la dosificación óptima de progesterona y resultó en un aumento de la tasa de embarazo. En los casos con endometrios receptivos, si bien se administraron 5 días de progesterona, se respetó estrictamente la cantidad de horas pre transferencia recomendadas por el test, y se logró de esta manera también un incremento en la tasa de embarazo. El número de casos analizados es pequeño, sin embargo la transferencia personalizada parecería beneficiar a este grupo de pacientes con fallas repetidas de implantación.

DISMINUCIÓN DE LA POSIBILIDAD DE EMBARAZO EN UN TRATAMIENTO DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA POR AUMENTO EN EL ÍNDICE DE MASA CORPORAL.

Sánchez Páez Juan Carlos, Zgrablich Pía, Gómez Arreseygor Vanina

Centro de reproducción asistida GESTAR

Objetivo: El objetivo de este estudio fue examinar cuanto disminuye la posibilidad de embarazo en un tratamiento de reproducción asistida según aumenta el índice de masa corporal de la paciente (IMC).

Diseño: Se realizó un estudio retrospectivo de casos y controles.

Materiales y métodos: Se seleccionaron las pacientes en dos grupos, casos (pacientes que lograron embarazo) y controles (pacientes que no lograron embarazo) emparejados por edad, con un N de 394 pacientes que realizaron tratamiento de reproducción asistida, entre 2013 y 2017. La asociación entre el IMC y la posibilidad de embarazo se analizó mediante regresión logística calculando el ODDS RATIO (OR).

Resultados: El OR calculado por regresión logística en Stata 11 fue de $0,80 \pm (0,76, 0,86)$ IC95%, lo que indica una disminución del 20% en la posibilidad de embarazo por cada punto que aumenta la paciente en la escala de IMC.

Conclusión: La obesidad está asociada a la disminución de la posibilidad de embarazo en un tratamiento de reproducción asistida. A medida que aumenta el índice de masa corporal disminuye la posibilidad de embarazo.

AUSPICIAN



SPONSOR

