

ASEBIR

Revista de Embriología Clínica
y Biología de la Reproducción

OCTUBRE
2019

VOL. 24 Nº 2



CONGRESO
ASEBIR
CÁCERES 2019

PONENCIAS

COMUNICACIONES
ORALES

COMUNICACIONES
PÓSTER

ASEBIR

Índice

05

.....

EDITORIAL

X Congreso ASEBIR

Ignacio Santiago Álvarez Miguel,

Presidente Comité Científico y Organizador

Antonio Urries López,

Presidente ASEBIR

.....

06

X CONGRESO ASEBIR

Información

Comités y Premios

Programa científico

.....

16

PONENCIAS

.....

64

COMUNICACIONES ORALES

.....

120

COMUNICACIONES PÓSTER

.....

ASEBIR

Editores

EDITA

Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción

EDITORES Y DIRECTORES CIENTÍFICOS

Laura Mifsud i Elena. Hospital Quirónsalud, Valencia

Beatriz González López De Bustamante. Clínica Nida, Vigo, Pontevedra

Yosu Franco Iriarte. Hospital Ruber Internacional, Madrid

COMITÉ EDITORIAL

Presidente:

Antonio Urries López. Hospital Quirónsalud, Zaragoza

Vicepresidente:

Mark Grossmann i Camps. Barcelona IV F, Barcelona

Secretaría:

Beatriz González López de Bustamante. Clínica Nida, Vigo, Pontevedra

Tesorero:

Nicolás Prados Dodd. IVI Sevilla, S.L., Sevilla

Grupos de Interés:

Belén Buch Tome. Centro Gutenberg, Málaga

Nicolás Prados Dodd. IVI Sevilla, S.L., Sevilla

Docencia y Formación:

Antonio Alcaide Raya. REPROFIV, Madrid

Cristina Camprubí Sánchez. Genintegral, Reference Laboratory Genetics, UAB, Barcelona

Francisco Javier Vendrell Montón. Sistemas Genómicos, S. L., Paterna, Valencia

Congresos, Publicaciones e I+D:

Laura Mifsud i Elena. Hospital Quirónsalud, Valencia

Beatriz González López De Bustamante. Clínica Nida, Vigo, Pontevedra

Yosu Franco Iriarte. Hospital Ruber Internacional, Madrid

Tecnología de la información y comunicación:

Abel Gayo Lana. Clínica Ergo, Gijón

Enrique Olaya Vila. VITA Medicina Reproductiva, Elche, Alicante

La Revista de ASEBIR (Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción) está indexada en las bases de datos ICYT, de ciencia y tecnología, e IME, de Biomedicina, del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) de España y en las bases de datos LATINDEX, para Iberoamérica y CUIDEN®, de la Fundación Index.

PUBLICIDAD Y COLABORACIONES

Secretaría ASEBIR

C/ Cronos 20, Edificio 4, 1º, 6ª

28037 Madrid - Tfno: 91 367 89 94

www.asebir.com · asebir@asebir.com

DISEÑO Y MAQUETACIÓN

Take it Easy Comunicación

Paseo Ruiseñores, 9, 50006 Zaragoza

tiecomunicacion.es · comunicacion@tiecomunicacion.es

Tfno.: 876 64 29 97

Depósito legal: M-18873-1996 | ISSN: 1136-4424

SopORTE válido: 78-R-CM

ASEBIR no se responsabiliza de las opiniones vertidas en el contenido de esta revista



CONGRESO
ASEBIR
CÁCERES 2019

EDITORIAL

X CONGRESO ASEBIR

Estimados amigos y colegas.

En nombre de los Comités Científico y Organizador, y de la Junta Directiva de ASEBIR, ha sido un placer acogeros en el **X Congreso Nacional de ASEBIR**, que hemos celebrado del 23 al 25 de octubre de 2019 en Cáceres.

Organizar esta nueva edición ha supuesto un reto emocionante que hemos afrontado con mucha ilusión y responsabilidad. Hemos trabajado con el fin de ofrecer **un programa científico de alto nivel**, en el que se han debatido temas de máxima actualidad como el uso de nuevas técnicas de reproducción o la aplicación de la inteligencia artificial en la selección embrionaria.

Deseamos que hayáis disfrutado de Cáceres, ciudad que conserva uno de los conjuntos urbanos de la Edad Media y del Renacimiento más completos del mundo. Un lugar acogedor y amable, hasta en su climatología, que, seguro, os ha conquistado como **marco perfecto de nuestro Congreso**. Esperamos que vuestra estancia en nuestra ciudad haya sido lo más agradable y provechosa posible.

No queremos dejar pasar la ocasión para agradecer la colaboración de las empresas e instituciones que nos han apoyado y han mostrado su disposición para conseguir el éxito de este proyecto.

Ha sido un placer ser vuestros anfitriones.

Ignacio Santiago Álvarez Miguel

Presidente Comité Científico y Organizador

Antonio Urries López

Presidente de ASEBIR



X CONGRESO ASEBIR



CONGRESO ASEBIR CÁCERES 2019

INFORMACIÓN

FECHAS

23, 24 y 25 de octubre de 2019

SEDE

Palacio de Congresos de Cáceres. (Avda. de la Hispanidad, S/N, 10005 CÁCERES)

WEB

www.congresoasebir.es

SECRETARÍA TÉCNICA

GRUPO PROCESS, Betaproces, S.L.
C/ Cronos, 20, Bloque 4, 1º, 6ª
Madrid 28037

Telf.: +34 91 377 14 23

E-mail: info@congresoasebir.es
info2@congresoasebir.es

GRUPO
PROCESS
SMART EVENT

CRÉDITOS Y AUSPICIOS

Actividad auspiciada por la Sociedad Española de Fertilidad (SEF) y la Sociedad Española de Contracepción (SEC)

Reconocida de interés sanitario por la Consejería de Sanidad y Políticas Sociales para actos científicos y técnicos celebrados en la Comunidad Autónoma de Extremadura, con fecha 9 de abril de 2019.



Escuela de Ciencias de la Salud y de la Atención Sociosanitaria

JUNTA DE EXTREMADURA
Consejería de Sanidad y Políticas Sociales

Acreditado, con fecha 10 de mayo de 2019, por la Comisión de Formación Continuada de las Profesiones Sanitarias de Extremadura con 1,1 créditos. Nº de Expediente 254280373/1.

Para obtener los créditos se deberá cumplir, obligatoriamente, con los siguientes requisitos:

- *Asistencia a las Sesiones Científicas.*
- *Evaluación del Congreso.*

Una vez terminado el congreso se cotejarán los datos del control de asistencia y las encuestas. Y los asistentes que hayan cumplido con ambas normas podrán descargar los certificados correspondientes desde la web de ASEBIR.

CONSULTA LOS REQUISITOS PARA LA OBTENCIÓN DE CRÉDITOS

X CONGRESO ASEBIR

COMITÉS Y PREMIOS

COMITÉS

Presidente Comité Científico y Organizador Local:

Ignacio Santiago Álvarez Miguel

Vocales Comité Científico

Antonio Alcaide Raya

Belen Buch Tomé

José Antonio Castilla Alcalá

Yosu Franco Iriarte

José Luis Girela López

Beatriz González López de Bustamante

Victoria Hurtado de Mendoza i Acosta

Nereyda Ortiz Piñate

Joaquín Rueda Puente

Francisco Sánchez Margallo

Mireia Sandalinas Alabert

Antonio Urries López

Vocales Comité Organizador Local

José Mijares Gordún

Manuel Ardoy Vilches

Elena Delgado Niebla

Luis J. García Marín

Mark Grossmann i Camps

Nuria Hernández Rollán

Graciela Lozano Cordero

Laura Mifsud i Elena

Juana M^a Molina Villar

José Ramón Ortiz de Galisteo Cifuentes

Águeda Ortiz Ruiz

Nicolás Prados Dodd

Miquel Solé Inarejos

COMITÉ DE HONOR

Excma. Sra. D.^a María Luisa Carcedo Rocés

Ministra de Sanidad, Consumo y Bienestar Social
Gobierno de España

Excmo. Sr. D. Guillermo Fernández Vara

Presidente de la Junta de Extremadura

Excmo. Sr. D. José María Vergeles Blanca

Consejero de Sanidad y Políticas Sociales de la Junta
de Extremadura

Excmo. Sr. D. Luis Salaya Julián

Alcalde de Cáceres

Rector Magfco. Dr. D. Antonio Hidalgo García

Rector de la Universidad de Extremadura

Dr. D. Jesús Usón Gargallo

Catedrático de Patología Quirúrgica y Cirugía

Presidente honorífico del Centro de Cirugía de Mínima

Invasión de Cáceres

PREMIOS

Premio EMB-ASEBIR 2019

Las comunicaciones que según la valoración del comité científico, se presenten en formato oral optarán al PREMIO EMB-ASEBIR 2019.

El premio estará dotado con diploma acreditativo y la cantidad de 5.000 € por gentileza del Grupo Equipos Médico-Biológicos.

El anuncio de la comunicación ganadora se hará el último día del Congreso, y la entrega del premio se realizará durante la Cena de Clausura por parte del Sr. Sergio Oliveró (Dir. Gral. Grupo EMB) y el Dr. Antonio Urries López (Presidente de ASEBIR).

Premio ASEBIR al Mejor Póster 2019

Entre todas las comunicaciones que sean aceptadas en formato Póster, el Comité Científico del Congreso, elegirá las 6 mejores por su contenido y presentación.

Los seis finalistas harán la presentación de sus pósters a pie de pantalla el día 24 de octubre, para lo que dispondrán de 5 minutos cada uno. Tras la exposición de los Pósters, el Comité científico, decidirá cuál es el MEJOR PÓSTER 2019.

El ganador expondrá su trabajo en el Auditorio el viernes 25 de octubre entre las 19:05 - 19:15 hrs. para lo cual contará con 7 minutos para la exposición y 3 minutos para el turno de preguntas.

El premio será entregado el día 24 de octubre, según programa, por el Dr. Antonio Urries López (Presidente de ASEBIR) y estará dotado con diploma y 600 € para el ganador y un diploma acreditativo para los 5 finalistas.

Premio a la Innovación MERCK ASEBIR 2019

Este Premio, promovido por Merck, se otorgará a la comunicación científica que destaque por su carácter innovador en el ámbito de la biología de la Reproducción.

El premio estará dotado con 1.500 € y un diploma acreditativo que será entregado el día 24 de octubre, según programa, por el Dr. Antonio Urries López, presidente de ASEBIR y por un representante de Merck.

X CONGRESO ASEBIR

PROGRAMA CIENTÍFICO

PROGRAMA CIENTÍFICO

MIÉRCOLES 23 DE OCTUBRE

15:00 - 15:30 hrs. Inauguración

15:30 - 17:00 hrs. Sesión 1 - Calidad.

Moderadores:

Nereyda Ortiz Piñate, Presidenta GI de Calidad del Laboratorio de Reproducción Asistida.

Nicolás Prados, Dodd Clínica IVI Sevilla, Sevilla.

15:30 - 16:15 hrs. Actualización Norma Une.

Ponente: Manuel Ardoy Vilches. Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, España.

16:15 - 17:00 hrs. The ART laboratory through the prism of the cumulative pregnancy rate.

Speaker: Greta Verhagen. Centre for Reproductive Medicine, Universitair Ziekenhuis Brussel, Vrije Universiteit Brussel, Brussels, Belgium.

17:00 - 17:30 hrs. Coffee break.

17:30 - 18:15 hrs. Simposio COOPER SURGICAL.

Clinical and Lab Approaches for Poor- Prognosis Patients

Chairman: Inger Britt Carlsson, Medical Affairs Director CooperSurgical.

Enfoques para Pacientes de Difícil Tratamiento en Instituto Bernabeu

Ponente: Jorge Ten, Director de la Unidad de Embriología de Instituto Bernabeu.

The Impact of Protein Supplementation on Embryo Development and Ploidy Status

Speaker: Klaus Wiemer, Scientific Director, Poma Clinic (USA)

Test de Receptividad Endometrial: Diseño y Uso Clínico

Ponente: Jose Horcajadas, CSO Overture Life.

18:15 - 19:15 hrs. Comunicaciones Calidad.

Moderadores:

Nereyda Ortiz Piñate, Presidenta GI de Calidad del Laboratorio de Reproducción Asistida.

José Mijares Gordún, Clínica Norba/CCMIJU, Cáceres.

18:15 - 18:25 hrs. CO-001

¿EXISTE CORRELACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE ELEMENTOS TRAZA MEDIDOS EN SUERO Y LÍQUIDO FOLICULAR DE MUJERES SOMETIDAS A TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA?

V. Castañón Bernardo, C. Barneo Caragol, L. Sánchez Castro, P. Antuña González, B. Ramos Balbona, C. Fernández Blanco, C. González González, M. Méndez López, E. Fernández Fernández, P. Llana Coto.

Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo.

18:25 - 18:35 hrs. CO-002

EFECTO DEL CULTIVO EN AMBIENTE HÚMEDO EN EL DESARROLLO EMBRIONARIO Y EL PERFIL OXIDATIVO DEL MEDIO DE CULTIVO.

C. Albert Rodríguez, R. Del Gallego Bonilla, L. Alegre Ferri, Z. Larreategui Laiseca, J. Marcos Alises, B. Aparicio Ruiz, P. Gamíz Izquierdo, JM. De los Santos Molina, M. Meseguer Escrivá. MIRMA - Valencia (Valencia).

18:35 - 18:45 hrs. CO-003

DESARROLLO DEL PROCEDIMIENTO DE VALIDACIÓN DE LA BIOPSIA DE TROFOECTODERMO EN EL SISTEMA DE CALIDAD DEL LABORATORIO DE EMBRIOLOGÍA.

E. Ferrer Robles, P. Muñoz Soriano, V. Antequera Durán, M. Ferrer Buitrago, C. Calatayud Liso, M. Ruiz Jorro.

CREA. Centro Médico de Reproducción Asistida - Valencia (Valencia).

18:45 - 18:55 hrs. CO-004

¿SON LOS RECURSOS HUMANOS EN EL LABORATORIO DE EMBRIOLOGÍA SUFICIENTES?: UNA REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

C. Olmedo Illueca (1), E. Veiga Álvarez (2), E. Ferrer Robles (3), L. Sánchez Castro (4), M. Fernández Díaz (5), A. Mauri López (6), ML. López Regalado (7), I. Molina González (8), M. Borrallo Fernández (9), JA. Castilla Alcalá (10).

(1) Hospital General Universitario de Valencia - Valencia (Valencia), (2) Hospital Clínico Universitario de Santiago - Santiago de Compostela (La Coruña), (3) CREA- Centro Médico de Reproducción - Valencia (Valencia), (4) Hospital Universitario Central de Asturias - Oviedo (Asturias), (5) Clínica Ergo (Ergo Biotech s.l) - Gijón (Asturias), (6) Centro Procrear - Reus (Tarragona), (7) Clínica IFEM - Córdoba (Córdoba), (8) Hospital Universitario Río Hortega - Valladolid (Valladolid), (9) MiniFiv - Madrid (Madrid), (10) U. Reproducción, UGC Obstetricia y Ginecología. H.U Virgen de las Nieves. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs y Grupo de Interés de Calidad de ASEBIR - Granada (Granada).

18:55 - 19:05 hrs. CO-005

EVALUACIÓN DEL TAMPÓN HEPES EN RELACIÓN AL COMPORTAMIENTO DEL OVOCITO DURANTE LA MICROINYECCIÓN Y SU EVOLUCIÓN EMBRIONARIA.

E. Santos Gares (1), I. Peinado Casas (1), P. Torres Gómez (1), M. de la Orden Rodríguez (1), MJ. Gómez Torres (2).

X CONGRESO ASEBIR

PROGRAMA CIENTÍFICO

(1) Hospital Universitari i Politècnic La Fe - Valencia (Valencia),
(2) Universidad de Alicante - Sant Vicent del Raspeig (Alicante).

19:05 – 19:15 hrs. CO-006

¿PUEDEN VARIAR LAS TASAS DE ÉXITO REPRODUCTIVO SEGÚN LA CAUSA DE INFERTILIDAD?

E. Güell Penas, J. Cura Ruiz, L. Felip Roca, E. Morono Sobral, O. González Barreda, J. Ibarz Batet, R. Ibarz Serrat, J. Ruiz Romero, M. López Rodríguez.

Conceptum - Reus (Tarragona).

19:15 - 20:00 hrs. Simposio OLYMPUS

Visualización del huso meiótico y automatización.

Automatización del proceso de ICSI y combinación de metodologías de observación (Polarización y Relief Contrast)

Ponente: Pep Molist, Olympus Europe, Barcelona

Uso de la Polarización en reproducción asistida, revisión de aplicaciones y beneficios clínicos.

Ponente: Nuno Costa Borges, Embryotools SL, Barcelona

Demostración en vivo uso sistema Olympus SLICSI.

Ponentes: Nuno Costa Borges, Embryotools SL, Barcelona y Pep Molist, Olympus Europe, Barcelona

21:30 hrs. Cena Ponentes.

JUEVES 24 DE OCTUBRE

08:30 - 09:40 hrs. Sesión 2 - Embriología 1.

Moderadores: Victoria Hurtado de Mendoza, Presidenta GI de Embriología. Graciela Lozano Cordero, Hospital Materno Infantil, Badajoz.

08:30 - 09:05 hrs. Transferencia del Huso Meiótico.

Ponente: Nuno Costa-Borges, Embryotools SL, Barcelona, España.

09:05 - 09:40 hrs. Derivación de gametos a partir de células madre.

Ponente: José Vicente Medrano Plaza, Instituto de Investigación Sanitaria la Fe, Valencia, España.

09:40 – 10:40 hrs. Comunicaciones Embriología 1.

Moderadores: Victoria Hurtado de Mendoza, Presidenta GI de Embriología. Juana M^a Molina Villar, Hospital Clínico Universitario, Valladolid.

09:40 – 09:50 hrs. CO-007

APLICACIÓN DE LA RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR EN LA

PREDICCIÓN DE IMPLANTACIÓN EMBRIONARIA.

A. C. Ralha de Abreu (1), C. González Navas (2), A. Gómez García (3), I. Fernández De las Nieves (4), M. A. Vilches Ferrón (5).

(1) HOSPITAL UNIVERSITARIO TORRECARDENAS - Almería (Almería), (2) FIV Marbella - Marbella (Málaga), (3) Hospital Universitari Vall d'Hebron - Barcelona (Barcelona), (4) Universidad de Almería - Almería (Almería), (5) Hospital Universitario Torrecárdenas - Almería (Almería).

09:50 - 10:00 hrs. CO-008

APLICACIÓN DE LA INTELIGENCIA ARTIFICIAL PARA LA SELECCIÓN EMBRIONARIA COMBINANDO EL ANÁLISIS PROTEICO DEL MEDIO DEL CULTIVO EN CONTACTO CON EL BLASTOCISTO, LA MORFOCINÉTICA Y LA MORFOLOGÍA EN D5 DE DESARROLLO.

M. Mesguer Escrivá (1), L. Bori (1), M. Toschi (1), R. Del Gallego (1), L. Alegre (1), C. Hickman (2), C. Rocha (3).

(1) IVI Valencia, Valencia (2) Imperial College, London (3) UNESP, Sao Paulo.

10:00 - 10:10 hrs. CO-009

PULLING VS FLICKING. IMPACTO EN LA VIABILIDAD EMBRIONARIA DE LA TÉCNICA DE MICROMANIPULACIÓN UTILIZADA PARA LA BIOPSIA.

V. Montalvo Pallés, S. Novo Bruña, C. Castelló Zupanc, M. López-Teijón Pérez.

Institut Marqués - Barcelona (Barcelona)

10:10 - 10:20 hrs. CO-010

TRANSFERENCIA ELECTIVA DIFERIDA DE UN EMBRIÓN: RESULTADOS PRELIMINARES DE UN ENSAYO CLÍNICO BASADO EN TASAS DE GESTACIÓN DE LA PRIMERA TRANSFERENCIA Y CICLO ACUMULADO.

A. Clavero Gilabert, MC. Gonzalvo López, B. Romero Guadix, R. Sánchez Ruiz, N. Morales Rincón, A. Castro Rodríguez, M. Muñoz Sánchez, T. Ortega Martín, S. Rodríguez Guirado, JA. Castilla Alcalá.

H. U. Virgen de las Nieves - Granada (Granada).

10:20 - 10:30 hrs. CO-011

SHOULD WE REALLY DISCARD OOCYTES WITH SMOOTH ENDOPLASMIC RETICULUM CLUSTERS (SERC+)?

S. Marín Real, C. Olmedo Illueca, I. Chapa Chordá, A. Muijsenberg Alcalá, M. Palma Rodríguez, L. Abad Velasco, S. Royo Bolea, M. Barea Gómez, I. Cuevas Sáiz.

Hospital General Universitario de Valencia - Valencia (Valencia).

10:30 - 10:40 hrs. CO-012

PROBABILIDAD DE LLEGAR A BLASTOCISTO.

F. Graña Zanón, L. Rodríguez Menes, P. Nieto Olmedo, V. Sánchez Blasco, J. Quintana Paunette, P. De la Fuente Ciruelas,

X CONGRESO ASEBIR

PROGRAMA CIENTÍFICO

A. Francos Pérez, D. Bigotes Álvarez, L. Fernández Juárez, M. Gabia Rabano.

Centro de Fertilización In Vitro de Asturias CEFIVA - Oviedo (Asturias).

10:40 - 11:10 hrs. Coffee break.

11:10 - 12:20 hrs. Sesión 2 - Embriología 2.

Moderadores:

Victoria Hurtado de Mendoza, Presidenta GI de Embriología.

Laura Mifsud i Elena, Hospital QuirónSalud, Valencia.

11:10 - 11:45 hrs. Culture of human embryos through implantation stages in vitro.

Speaker: Matteo A. Molè. Magdalena Zernicka-Goetz Group. University of Cambridge. Department of Physiology, Development & Neuroscience. Cambridge, United Kingdom.

11:45 - 12:20 hrs. Embryo metabolism and interaction with culture media.

Speaker: Roger Sturmey. Hull York Medical School, Centre for Cardiovascular and Metabolic Research, York, United Kingdom.

12:20 - 13:10 hrs. Comunicaciones Embriología 2.

Moderadores:

Victoria Hurtado de Mendoza, Presidenta GI de Embriología.

José Mijares Gordún, Clínica Norba/CCMIJU Cáceres.

12:20 - 12:30 hrs. CO-013

EL ENDOMETRIO COMO BIOSENSOR: ANÁLISIS RETROSPECTIVO DE RESULTADOS EN SET Y DET EN FUNCIÓN DE LA CALIDAD EMBRIONARIA.

C. Márquez Bersabé (1), M. Dorado Silva (1), L. Montero Venegas (1), F. Sánchez Martín (2), P. Sánchez Martín (2).

(1) Ginemed Huelva, Huelva. (2) Ginemed Sevilla, Sevilla.

12:30 - 12:40 hrs. CO-014

¿TO (HORA DE INICIO TIME-LAPSE): PUEDE MODIFICAR LA VALORACIÓN MORFOCINÉTICA DE LOS EMBRIONES?

E. Güell Penas, J. Cura Ruiz, L. Felip Roca, E. Morono Sobral, O. González Barreda, J. Ibarz Batet, R. Ibarz Serrat, J. Ruiz Romero, M. López Rodríguez.

Conceptum - Reus (Tarragona).

12:40 - 12:50 hrs. CO-015

MORFOCINÉTICA DEL DESARROLLO PREIMPLANTACIONAL DE EMBRIONES PROCEDENTES DE ICSI CON Y SIN ACTIVACIÓN OVOCITARIA.

M. Martínez García (1), M. Durban (1), J. Santaló (2), A. Rodríguez (1), R. Vassena (1).

(1) Clínica Eugin, Barcelona (2) Facultat de Biociències UAB, Cerdanyola del Vallès, Barcelona.

12:50 - 13:00 hrs. CO-016

RELACION ENTRE LA CALIDAD Y EL RITMO DE EMBRIONES EUPLOIDES CON LA TASA DE IMPLANTACIÓN.

O. Gómez Picado, E. Martínez Sanz, M. de las Heras Martínez, G. Barrenetxea Ziarrusta.

(1) Reproducción Bilbao - Bilbao (Vizcaya).

13:00 - 13:10 hrs. CO-017

HOW IMPORTANT IS FIRST MITOTIC CLEAVAGE ON EMBRYO DEVELOPMENT?

Á. Muijsenberg Alcalá, C. Olmedo Illueca, S. Marín Rea, I. Chapa Chordá, M. Palma Rodríguez, S. Royo Bolea, L. Abad Velasco, M. Barea Gómez, I. Cuevas Sáiz.

Hospital General Universitario de Valencia - Valencia (Valencia).

13:15 - 14:00 hrs. Simposio MERCK.

La revolución de los datos: Un futuro apasionante

Millones de datos disponibles, ¿Cómo utilizarlos? De la correlación a la causalidad y a la decisión científica.

Ponente: Josep Lluís Arcos. Investigador Científico. Instituto de Investigación en Inteligencia Artificial (IIIA-CSIC)

Nuevos caminos inteligentes en la selección embrionaria, evolucionar para mejorar.

Ponente: Marcos Meseguer Escrivá. Supervisor Científico y Embriólogo Senior. IVIRMA

14:00 - 15:30 hrs. Comida.

15:30 - 17:00 hrs Sesión 3 - Criobiología.

Moderadores:

Mark Grossmann i Camps, Presidente GI de Criobiología.

Miquel Solé Inarejos, Institut Universitari Dexeus (Barcelona).

15:30 - 16:15 hrs. Principles of cryobiology: The effect of cryopreservation on the genome of gametes and embryos.

Speaker: Julia Kupeika, Guy's and St Thomas NHS Trust, London, United Kingdom.

16:15 - 17:00 hrs. Efecto de la vitrificación en ovocitos y sus efectos en la morfología y morfocinética de los embriones.

Ponente: Ana Cobo Cabal, Clínica IVI Valencia, Valencia, España.

17:00 - 17:30 hrs. Pausa.

X CONGRESO ASEBIR

PROGRAMA CIENTÍFICO

17:30 - 18:40 hrs. Comunicaciones Criobiología.

Moderadores:

Mark Grossmann i Camps, Presidente GI de Criobiología.

José Ramón Ortiz de Galisteo Cifuentes, IERA, Badajoz.

17:30 - 17:40 hrs. CO-018

ANÁLISIS IN SILICO E IN VITRO DEL COMPORTAMIENTO OSMÓTICO DE ÓVULOS M-II HUMANOS PARA REDUCIR EL TIEMPO DE EXPOSICIÓN A LAS SOLUCIONES DE CRIOPROTECTORES: PROTOCOLO DE 2 MINUTOS BASADO EN LA DESHIDRATACIÓN

M. Gallardo Molina (1), J. Sáenz Cuesta (2), R. Risco Delgado (3). (1) Ginemed Lisboa - Lisboa (Lisboa), (2) Escuela Técnica Superior de Ingeniería de Sevilla - Sevilla (Sevilla), (3) Centro Nacional de Aceleradores - Sevilla (Sevilla).

17:40 - 17:50 hrs. CO-019

SUPERVIVENCIA OVOCITARIA EN UN PROGRAMA DE DONACIÓN DE OVOCITOS: ¿CUÁLES SON LOS FACTORES DE MAYOR INFLUENCIA?

S. Cortés Gallego (1), A. Guijarro Ponce (2), A. Rodrigo Carbajosa (1), C. Anadrés Santé (1), C. Cordero Rosales (1), R. Pandolfi (1), M. Saladino (1).

(1) Clínica Tambre - Madrid (Madrid), (2) Hospital Virgen de la Luz - Cuenca (Cuenca).

17:50 - 18:00 hrs. CO-020

¿LA VITRIFICACIÓN DE OVOCITOS AFECTA LAS TASAS DE ANEUPLOIDÍA Y DE MOSAICISMO EN LOS BLASTOCISTOS?

F. Lozano García, R. Morales Sabater, B. Lledó Bosch, JA. Ortiz Salcedo, L. Cascales Romero, L. Herrero Grassa, J. Llácer Aparicio, R. Bernabéu Pérez.

Instituto Bernabéu de Fertilidad y Ginecología - Alicante, (Alicante).

18:00 - 18:10 hrs. CO-021

INFLUYE LA CALIDAD DEL EMBRION EN DIA 3 SOBRE LA TASA DE GESTACION Y RECIÉN NACIDO VIVO EN CRIOTRANSFERENCIAS DE BLASTOCISTOS?

I. Iniesta Mirón, J. Martínez Sanchís, J. Subirá Nadal, P. Polo Sánchez, J. Ferrer Balaguer, I. Moya Marín, J. Rubio Rubio.

Hospital La Fe - Valencia (Valencia).

18:10 - 18:20 hrs. CO-022

RESULTADOS PROGRAMA OVODONACIÓN: AFIANZAMIENTO DEL BANCO PROPIO DE OVOCITOS DE DONANTES

MJ. Figueroa García, M. Valcárcel Andreu, JM. Marín García, A. Valverde Mera, F. Smith Foddai, N. Hernández Torres, LM. García Matín.

HC FERTILITY, HC MARBELLA - Marbella (Málaga).

18:20 - 18:30 hrs. CO-023

ES EL RITMO DE DESARROLLO HASTA BLASTOCISTO EL MEJOR FACTOR PREDICTIVO DE ÉXITO EN LAS CRIOTRANSFERENCIAS?

M. Solé Inarejos, S. García Monclús, C. González Llagostera, M. Álvarez Almodóvar, M. Boada Palà, PN. Barri Soldevila, A. Veiga Lluch.

Dexeus Mujer - Barcelona (Barcelona).

18:30 - 18:40 hrs. CO-024

¿EXISTE RELACIÓN ENTRE EL MEDIO DE TRANSPORTE Y LA SUPERVIVENCIA Y LOS RESULTADOS CLÍNICOS EN LOS CICLOS DE FIV REALIZADOS CON OVOCITOS TRASLADADOS?

P. Campos Lozano, E. Sánchez Chiva, A. Coello Perles, B. Vallejo Villanueva, J. Serrano Notario, MJ. De los Santos Molina, A. Cobo Cabal.

IVIRMA VALENCIA - Valencia (Valencia).

18:40 - 19:25 hrs. Simposio Grupo EMB.

Shortening the time to a healthy live birth (Reduciendo el tiempo para conseguir un recién nacido sano)

Chairman: Mark Grossmann i Camps, Barcelona, Spain.

PGT-A and Embryo Selection

Speaker: PhD, Senthil Natesan, Senior Manager, Product Applications (Vitrolife Genomics, United Kingdom)

Time-lapse and Artificial Intelligence

Speaker: BSc, Jørgen Bernsten, Data Mining Manager (Vitrolife Time-lapse, Denmark)

Optimising Embryo Transfer with EmbryoGlue

Speaker: BSc, Hubert Joris, Media Development Manager (Vitrolife, Sweden)

19:25 - 19:40 hrs. Exposición premio EMB-ASEBIR 2017

Moderadores:

Antonio Urries López, Presidente ASEBIR.

Ignacio Santiago Álvarez Miguel, Presidente Congreso.

19:25 - 19:40 hrs. Validación de un nuevo protocolo basado en secuenciación masiva para el DGP de reordenamientos cromosómicos estructurales y segmentos intracromosómicos: El DGP de alta resolución.

Ponente: Xavier Vendrell Montón, Sistemas Genómicos, Valencia, España.

21:00 hrs. Cena y entrega del Premio ASEBIR al Mejor Póster 2019 y Premio a la Innovación MERCK ASEBIR 2019 en el Hotel Barceló V Centenario.

X CONGRESO ASEBIR

PROGRAMA CIENTÍFICO

VIERNES 25 DE OCTUBRE

08:30 - 10:00 hrs. Sesión 4 - Genética

Moderadores:

Mireia Sandalinas Alabert, Presidenta GI de Genética y Reproducción. Elena Delgado Niebla, Clínica Norba, Cáceres.

08:30 - 09:15 hrs. Update on Gene variations associated with male infertility

Speaker: Csilla Gabriella Krausz. Prof in Endocrinology, University of Florence, Italy., President of the European Academy of Andrology (EAA). Clinical Lead of the ESE Reproductive Endocrinology Focus Area.

09:15 - 10:00 hrs. Estudios cromosómicos de embriones humanos generados in vivo.

Ponente: Santiago Munné. Overture Life. Barcelona, España.

10:00 - 11:10 hrs. Comunicaciones Genética

Moderadores:

Mireia Sandalinas Alabert, Presidenta GI de Genética y Reproducción. Nuria Hernández Rollán, CCMIJU, Cáceres.

10:00 - 10:10 hrs. CO-025

LA PRODUCCIÓN DE ATP EMBRIONARIO PUEDE SER MODULADA POR EL ADN MITOCONDRIAL MATERNO SECRETADO POR EL ENDOMETRIO HUMANO EN VESÍCULAS EXTRACELULARES

D. Bolumar Recuero (1), A. Amadoz Navarro (2), I. Moreno Gimeno (3), C. Simón Vallés (4), F. Vilella Mitjana (5).

(1) Igenomix Foundation/Universidad de Valencia - Paterna (Valencia), (2) Igenomix S.L. - Paterna (Valencia), (3) Igenomix Foundation - Paterna (Valencia), (4) IVI Valencia, Igenomix Foundation, Universidad de Valencia - Paterna (Valencia), (5) Igenomix Foundation/INCLIVA - Paterna (Valencia)

10:10 - 10:20 hrs. CO-026

FACTORES TÉCNICOS DE LA BIOPSIA DE TROFOECTODERMO Y SU RELACIÓN CON EL MOSAICISMO.

C. Scarica, V. Montalvo Pallés, S. Novo Bruña, C. Castelló Zupanc, M. López-Teijón Pérez.

Institut Marqués - Barcelona (Barcelona).

10:20 - 10:30 hrs. CO-027

EMBRIONES MOSAICO: AUMENTO DE LA TASA DE TRANSFERENCIA EMBRIONARIA POR CICLO DE FIV-PGT-A EN PACIENTES DE EDAD MATERNA AVANZADA

M. Sánchez Castro, M. Palahí Bages, E. García Guixé, E. Balias Fort, D. Campos Rodero, C. Giménez Sevilla, M. Sandalinas Alabert.

Reprogenetics Spain - Barcelona (Barcelona).

10:30 - 10:40 hrs. CO-028

LAS ANEUPLOIDÍAS SEGMENTARIAS EN MOSAICO EN BLASTOCISTOS NO AFECTAN A LOS RESULTADOS DE LOS CICLOS DE PGT-A.

B. Lledó Bosch, R. Morales Sabater, JA. Ortiz Salcedo, E. García Hernández, D. Rodríguez Arnedo, J. Llácer Aparicio, A. Bernabéu García, R. Bernabéu Pérez.

Instituto Bernabéu - Alicante (Alicante).

10:40 - 10:50 hrs. CO-029

CARACTERIZACIÓN DEL TRANSCRIPTOMA ESPERMÁTICO ASOCIADO A LA FERTILIDAD MASCULINA MEDIANTE SECUENCIACIÓN MASIVA.

C. Corral Vázquez, J. Blanco, F. Vidal, E. Antón.

Unidad de Biología Celular (Universidad Autónoma de Barcelona) - Bellaterra (Barcelona).

10:50 - 11:00 hrs. CO-030

SCREENING GENÉTICO DE PORTADORES: ANÁLISIS DE LA COMPATIBILIDAD ENTRE DIFERENTES TESTS.

M. Palahi Bages, M. Pardo Rodriguez, A. Feliu Cuberes, D. Cotán Marín, L. Barreiro, M. Sandalinas Alabert.

FullGenomics S.L. - Barcelona (Barcelona).

11:00 - 11:10 hrs. CO-031

BLASTOCISTOS HUMANOS PROCEDENTES DE CIGOTOS UNIPRONUCLEARES: UN MODELO BIOLÓGICO PARA EL ESTUDIO DE LA PLOIDÍA, EUPLOIDÍA, TOPOGRAFÍA Y PARENTALIDAD CROMOSÓMICAS.

X. Vendrell Montón (1), R. Bautista Llàcer (1), R. Tena Ros (1), P. Ferrer Herrera (1), N. Soler Balaguer (2), A. González Picazo (2), MJ. Escribà Pérez (2).

(1) Sistemas Genómicos, Paterna, Valencia (2) IVIRMA-Valencia, Valencia.

11:10 - 11:40 hrs. Coffee break.

11:45 - 14:30 hrs. Asamblea General Ordinaria ASEBIR.

11:45 - 12:30 hrs. Asamblea

12:30 - 13:30 hrs. SIRHA

Ponente: D^a Nuria García-Escribano Ruez, Consejera Técnica de la SG. Cartera de Servicios del SNS y Fondos de Compensación.

Ponente: D^a Arantxa Borreguero Pascual, Consultora externa respectivamente, de la SG. Cartera de Servicios del SNS y Fondos de Compensación.

13:30 - 14:30 Profesión Sanitaria

Ponente: D^{ña}. M^a Ángeles López Orive, Subdirectora de

X CONGRESO ASEBIR

PROGRAMA CIENTÍFICO

Ordenación Profesional. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social

14:30 - 15:30 hrs. Comida.

15:30 - 17:00 hrs. Sesión 5 - Andrología.

Moderadores: José Luis Girela López, Presidente GI de Andrología. Luis J. García Marín, Universidad de Extremadura, Badajoz.

15:30 - 16:15 hrs. Nuevas técnicas y dispositivos de selección espermática

Ponente: Serafín Pérez Cerezales. INIA, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, Madrid, España.

16:15 - 17:00 hrs. Tendencias temporales en recuentos espermáticos y diferencias geográficas internacionales

Ponente: Jaime Mendiola Olivares. Universidad de Murcia, Murcia, España.

17:00 - 17:45 hrs. Simposio IGENOMIX

Synchrony, from the embryo to the endometrium.

¿Sigues siendo necesaria la biopsia para el estudio de aneuploidías embrionarias?

Speaker: Lorena Rodrigo, PhD. Lab Director PGT-A, Igenomix, Valencia, España.

El endometrio importa

Speaker: Nasser Al-Asmar, PhD. Scientific Advisor & Embryology Coordinator, Igenomix, Valencia, España.

17:45 - 18:05 hrs. Pausa.

18:05 - 19:05 hrs. Comunicaciones Andrología.

Moderadores: José Luis Girela López, Presidente GI de Andrología. Águeda Ortiz Ruiz, Hospital Materno Infantil, Badajoz.

18:05 - 18:15 hrs. CO-032

BETA2-ADRENERGIC RECEPTORS ARE EXPRESSED IN THE TERMINAL PIECE OF THE HUMAN SPERM FLAGELLUM.

JL. Girela López (1), M. Francou (1), A. De Juan (2), J. De Juan (3)

(1) Dpto. Biotecnología, Universidad de Alicante - Alicante (Alicante), (2) Hospital Universitario de San Juan de Alicante - San Juan (Alicante), (3) IUEG, Universidad de Alicante - Alicante (Alicante).

18:15 - 18:25 hrs. CO-033

ADHERENCE TO DIET QUALITY INDICES IN RELATION TO REPRODUCTIVE PARAMETERS IN YOUNG MEN.

E. Adoamnei (1), A. Cutillas Tolín (1), EM. Navarrete Muñoz (2), J. Vioque (2), M. Moñino García (1), J. Mendiola (1), AM. Torres Cantero (1).

(1) Universidad de Murcia, Murcia (2) Universidad Miguel Hernández de Elche, Alicante.

18:25 - 18:35 hrs. CO-034

EL ANÁLISIS DE LA CROMATINA ESPERMÁTICA MEDIANTE LA CITOMETRÍA DE FLUJO PUEDE PROPORCIONAR INFORMACIÓN ADICIONAL A LA FRAGMENTACIÓN DEL ADN Y A LA INMADUREZ.

C. González Moncada (1), E. Fernández Alegre (1), A. Núñez González (1), F. Martínez Pastor (2), B. Martín Fernández (1).

(1) Bianor Biotech - León (León), (2) Universidad de León - León (León).

18:35 - 18:45 hrs. CO-035

FERTILECHIP® MEJORA LOS RESULTADOS DE ICSI EN PACIENTES CON CADENA DOBLE DEL ADN ESPERMÁTICO ALTERADA.

C. Urda Muñoz (1), M. de la Casa Heras (1), S. Camacho Fernández-Pacheco (1), V. Badajoz Liébana (1), J. Gijón de la Santa (1), T. Lacruz Ruiz (2), S. Lara Cerrillo (2), A. García Peiró (2).

(1) GINEFIV - Madrid (Madrid), (2) CIMAB - Sant Quirze del Vallés (Barcelona).

18:45 - 18:55 hrs. CO-036

EL PORCENTAJE DE ESPERMATOZOIDEOS CON GAMMA-H2AX AUMENTA CON EL TIEMPO E INDICA LA CAPACIDAD ESPERMÁTICA DE SEÑALIZACIÓN DE NUEVAS ROTURAS DE ADN DE DOBLE CADENA.

A. Barberá Alberola, J. Bataller Sánchez, V. Moliner Aguilar, M. Ferrer Buitrago, C. Calatayud Lliso, M. Ruiz Jorro.

Crea medicina de la reproducción - Valencia (Valencia).

18:55 - 19:05 hrs. CO-037

EXPRESSION AND DISTRIBUTION OF ALPHA2A-ADRENERGIC RECEPTORS IN HUMAN SPERM.

JL. Girela López (1), C. Nonne (1), C. Giau (1), M. Escalante (1), M. Francou (1), A. De Juan (2), J. De Juan (3).

(1) Dpto. Biotecnología, Universidad de Alicante - Alicante (Alicante), (2) Hospital Universitario de San Juan de Alicante - San Juan (Alicante), (3) IUEG, Universidad de Alicante - Alicante (Alicante).

19:05 - 19:15 hrs. Exposición Mejor Póster 2019.

19:15 - 19:30 hrs. Cierre y Clausura del Congreso.

21:00 hrs. Cena de Clausura, Entrega del Premio EMB-ASEBIR 2019 y de la Distinción ASEBIR a los nuevos Centros de TRA con Certificación UNE 179007.

Castillo de la Arguñuela.

X CONGRESO ASEBIR

PROGRAMA CIENTÍFICO

PATROCINADORES PRINCIPALES

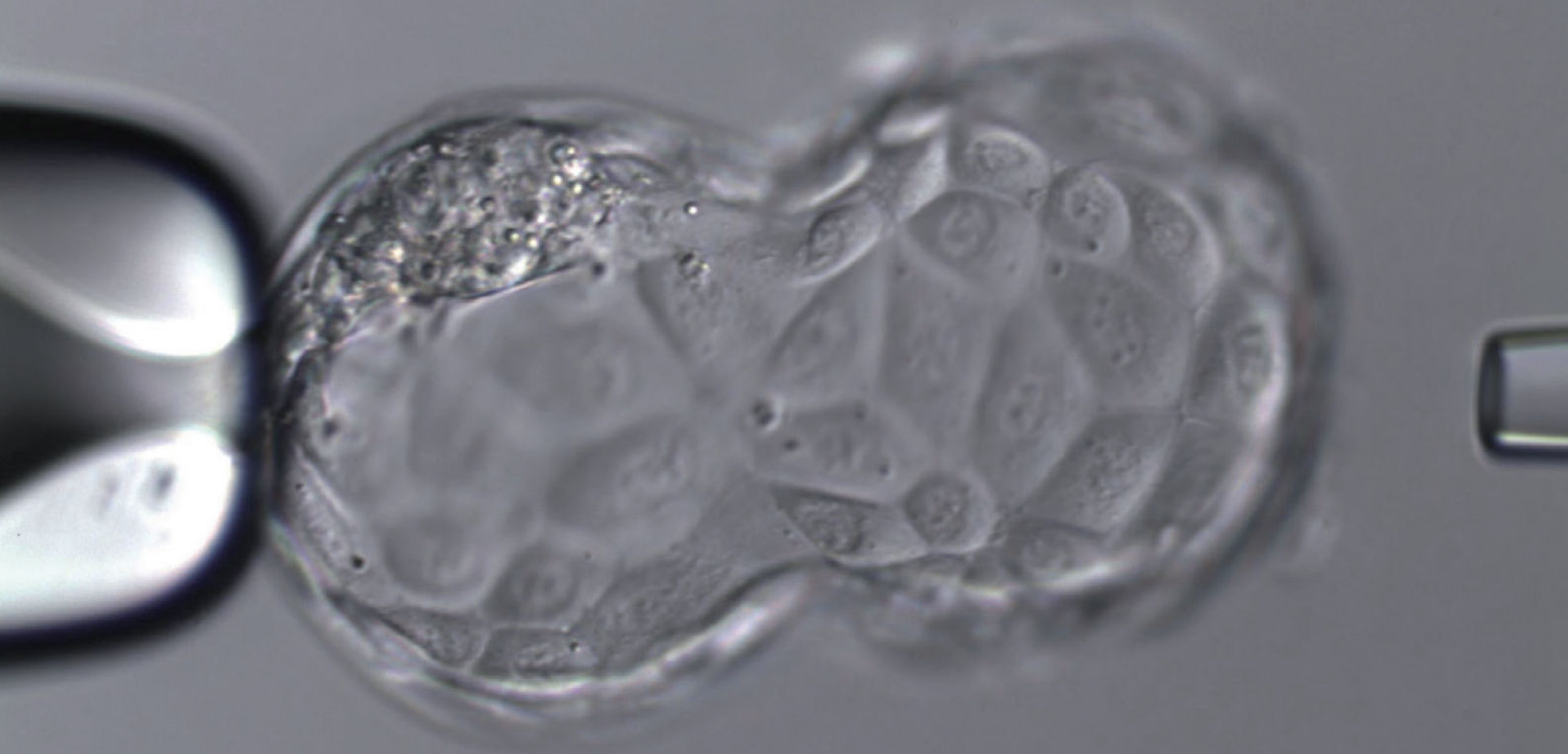


PATROCINADORES



OLYMPUS

Your Vision, Our Future



Solo con OLYMPUS lo verás así

Microscopio
invertido

IX73

Descubre un micromanipulador
flexible, ergonómico
y fácil de usar.



Más información en:
www.olympus4art.com



Imagen cedida por:
[embryotools](http://embryotools.com)



PONENCIAS



CALIDAD

EMBRIOLOGÍA

CRIOBIOLOGÍA

PREMIO EMB-ASEBIR

GENÉTICA

ANDROLOGÍA

SESIÓN DE CALIDAD

THE ART LABORATORY THROUGH THE PRISM OF THE CUMULATIVE PREGNANCY RATE

Greta Verheyen

Centre for Reproductive Medicine, UZ Brussel, Laarbeeklaan 101, 1090-Brussels, Belgium

INTRODUCTION

Even today, the success of IVF is often expressed in terms of live birth per fresh cycle or per embryo transfer. With increasingly different treatment strategies (as freeze-all, PGT with trophoctoderm biopsy), the need for more accurate parameters of IVF success has been imposed. Cumulative pregnancy rate (CPR), or even better cumulative live birth rate (CLBR) per oocyte retrieval is more meaningful as cryopreservation has become an integral part of IVF treatment. Moreover, CLBR allows much better comparison of IVF outcome between centers. However, even the definition of CLBR seems a challenge, the term being used differently in different reports, making comparison between reports unreliable. Strictly considered, all embryos from one stimulation cycles should be thawed for transfer, which may take a period of time, and many of them will never be used by the patients. Maheshwari et al. (2015) discussed the possible numerators and denominators for the definition of CLBR and suggested a three-step approach: short term CLBR being the first live birth per egg collection over a 2-year period, medium term CLBR being all live births per egg collection over a 5-year period, long term CLBR being all live births per 3 egg collections over a 10-year period. The International Glossary on Infertility and Fertility Care 2017 defined CLBR as the number of deliveries with at least one live birth from one initiated or aspirated ART cycle, including all cycles in which fresh and/or frozen embryos are transferred, until one delivery with a live birth occurs or until all embryos are used (Zegers-Hochschild et al., 2017).

A wide range of patient and treatment characteristics at the clinical and laboratory levels may affect CLBR. The current presentation focuses on different aspects and their possible effect on CLBR, which is considered the more valuable parameter to evaluate the success of ART.

MATERIALS AND METHODS

The ART aspects that have been investigated here were classified in (a) patient-related parameters, (b) clinical treatment

parameters and (c) laboratory parameters.

(a) Patient-related parameters

- Ovarian response and number of retrieved oocytes
- The late-follicular phase progesterone level

(b) Clinical procedures

- PGT-A
- Freeze-all policy

(c) Laboratory procedures

- IVF or ICSI for non-male infertility
- Cleavage-stage or blastocyst transfer
- Sequential or single media
- Non-invasive embryo selection
- Time-lapse imaging
- Cumulus-cell gene expression
- ...

For all above parameters, a search of the recent literature was performed and own data are presented where appropriate.

RESULTS

(a) Patient-related parameters

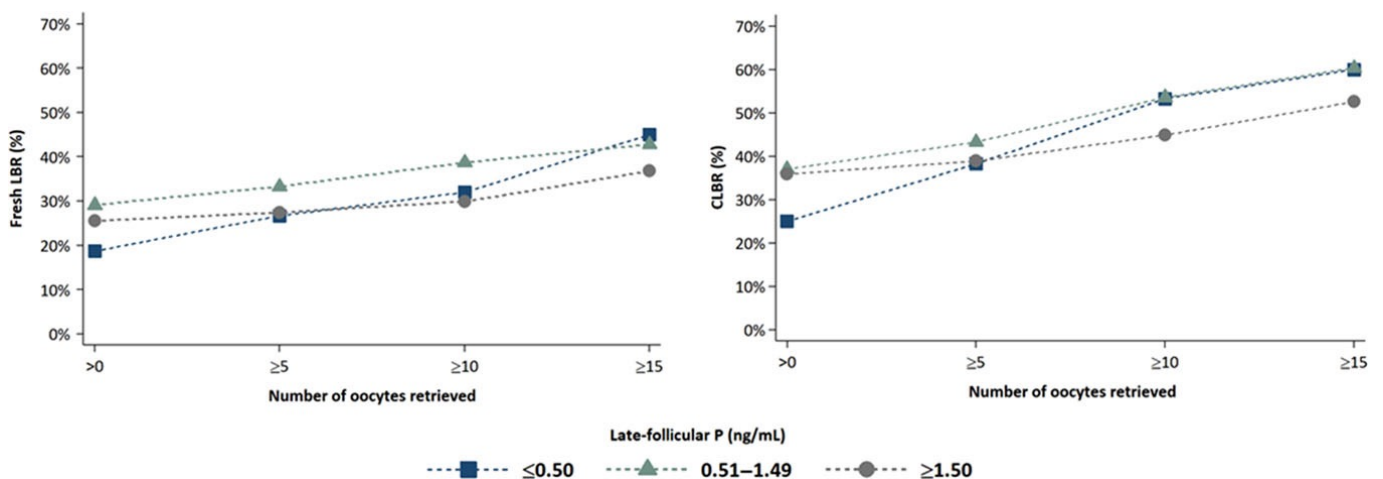
Although several trials suggested an optimal number of 8-18 oocytes to maximize CLBR, the populations and treatment protocols are very heterogeneous among different studies. A large retrospective cohort analysis on 1099 women of 18-40 years old undergoing their first IVF cycles was performed in UZ Brussel (Drakopoulos et al., 2016). All patients were treated with rFSH in a fixed GnRH antagonist protocol and underwent a fresh single embryo transfer (SET), followed by transfer of vitrified embryos until the first live birth was obtained within a period of 2 years after oocyte retrieval. Although the number of oocytes retrieved did not affect live birth rate (LBR) after the first fresh embryo transfer (ET), CLBR significantly increased with the number of oocytes retrieved, ranging from 21.7% in the group with 1-3 cumulus-oocyte complexes (COC) till 61.5% in the group with >15 COC. This observation was confirmed in a large multicenter study on 14,469 patients with the same design but including freeze-all cycles (Polyzos et al., 2018). This study suggests that a high response after ovarian

SESIÓN DE CALIDAD

stimulation may not have a detrimental effect on the oocyte/embryo quality in women <40 years old. Nevertheless, ovarian stimulation should be rationale and the risk of OHSS should be avoided.

The question whether increased serum progesterone (P) during ovarian stimulation may influence the IVF success rates has been a matter of debate over the last 30 years. While some find no association with late-follicular phase P, others find that elevated P negatively affects the IVF outcome. In retrospective cohort study at UZ Brussel between 2010 and 2015, the effect of supra-physiological P on embryo quality and on CLBR has been investigated (Racca et al. 2018). In total, 3400 cycles in 2492 patients were analysed. A high P level of ≥ 1.50 ng/ml was associated with a lower embryo quality and embryo utilization rate on day 3 and on day 5 than medium P (0.5-1.49 ng/ml) and low P levels (≤ 0.5 ng/ml). As patients in the high P level group were generally younger with a higher number of oocytes, analysis for LBR and CLBR was performed according to the number of oocytes retrieved. Although a higher number of oocytes was generally associated with a higher CLBR, the fresh LBR as well as the CLBR in the high P group was lower, irrespective of the number of oocytes (Racca et al., 2018; figure I). These data show and confirm previous findings that high P adversely affects implantation by impairing endometrial receptivity. Considering an additional negative effect on embryo quality, a freeze-all strategy does not fully compensate in cases of high late-follicular P level.

Figure I: Sensitivity analysis of LBR and CLBR according to P level and number of oocytes retrieved (Racca et al., 2018)



(b) Clinical treatment procedures

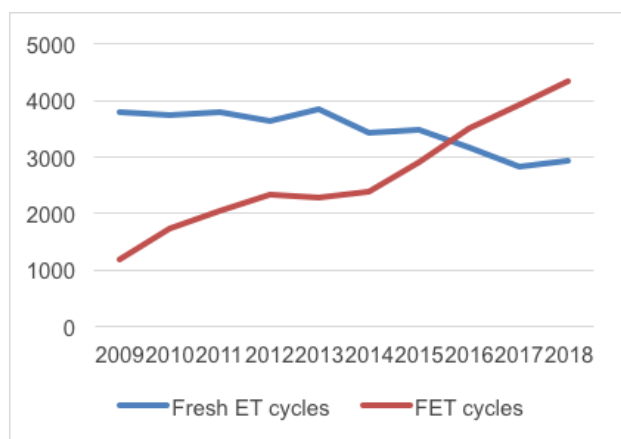
After the introduction of pre-implantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A) in the mid-nineties, the application increased substantially in the following decade. However, a systematic review and meta-analysis in 2011 showed no benefit of PGT-A in terms of LBR in different patient populations with the procedures applied in that time period (Mastenbroek et al., 2011). More recently, new and more reliable approaches regarding the timing of embryo biopsy and the methods of analysis have revitalized the application of PGT-A, but data on CLBR are scarce. A randomized, controlled study by Rubio et al. (2017) on 205 patients showed a superior clinical outcome in the PGT-A group (day 3 biopsy and a-CGH) after the first ET, but no difference in CLBR between the PGT-A and the non-PGT-A group. However, of relevance were the shorter time-to-pregnancy and the lower miscarriage rate in the PGT-A group. These results have been confirmed by Lee et al. (2017) in a retrospective cohort study on 110 PGT-A and 1983 control patients. Although the per cycle live birth rate was higher in the PGT-A group, the CLBR was comparable in the two groups after three complete ART cycles.

In recent years, the freeze-all strategy where all embryos are frozen for future transfer in subsequent cycles is increasingly applied. While the most common indication for freezing all embryos was initially to avoid OHSS, this approach is also used in PGT cycles with blastocyst biopsy, and to improve IVF outcome by counteracting the adverse effects of ovarian stimulation on endometrial receptivity. Between 2004 and 2013, the proportion of freeze-all cycles in the USA increased from 7.9% to 40.7%. In UZ Brussel, more frozen ET cycles (FET) than

SESIÓN DE CALIDAD

fresh ET cycles are performed nowadays due to an increasing proportion of freeze-all cycles for different indications (37.4% in 2018) (Figure II).

Figure II: Total number of fresh and frozen embryo transfer cycles in UZ Brussel between 2009 and 2018 (unpublished results)



Several studies report higher live birth rates per cycle after elective FET (eFET) than after fresh ET. In two retrospective cohort studies (Acharya et al., 2018; Li et al. 2019), cycles from official registries have been subdivided based on the number of oocytes retrieved. In high responders, the first FET cycle resulted in a higher clinical pregnancy rate and LBR than the first fresh ET. However, in intermediate and low responders, the opposite was observed (Acharya et al., 2018). Li et al. (2019) found that the high responder group (>15 oocytes) showed a similar CLBR in the freeze-all (56.8%) and the fresh-ET group (56.2%), but a higher CLBR in the fresh-ET group than the freeze-all group in normal (46.3% vs 33.2%) and suboptimal responders (28.0% vs 14.6%). The authors, however, accentuated the potential impact of high treatment discontinuation among normal and suboptimal responders. According to Zaca et al. (2018), CLBR was higher for the freeze-all strategy only in cycles with blastocyst culture, but not in cycles with culture till the cleavage stage. A recent systematic review and meta-analysis found comparable LBR and CLBR between the two groups, clinical data not supporting the indiscriminate use of the freeze-all strategy (Roque et al., 2019). Current evidence suggests to implement the strategy only in patients with OHSS risk or in patients undergoing PGT at the blastocyst stage. All other indications as repeated implantation failure and high progesterone levels still need to be explored in well-designed studies. It should be considered that freeze-all increases the work load for the lab, due to additional embryo vitrification and an additional warming cycle, and increases the time to pregnancy for some patients.

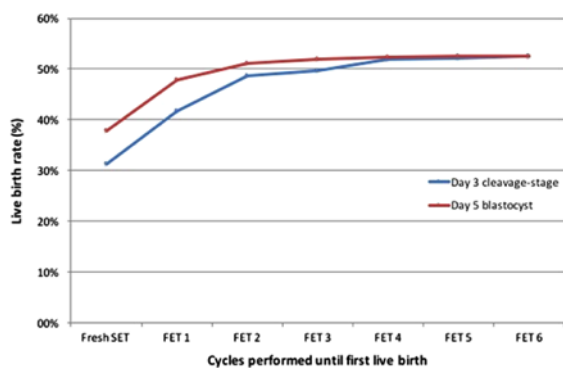
(c) Laboratory procedures

Although ICSI has been developed for male-factor infertility, there has been an increase in the use of ICSI for all causes of infertility, which has led to an overconsumption of this more invasive treatment than IVF. The question has been raised whether ICSI scores better than IVF in terms of CLBR for couples with non-male infertility. A randomized controlled trial on IVF versus ICSI for non-male indications revealed a higher implantation rate and pregnancy rate per cycle for IVF (Bhattacharya et al., 2001). A Cochrane review in 2004, however, found no difference between IVF and ICSI for non-male factor in the two studies reporting LBR (Van Rumste et al., 2004). More recently, Li et al. (2018) performed a retrospective single-center population-based cohort study on the success rate of IVF versus ICSI. In the non-male factor subpopulation, no difference in CLBR was observed between IVF (39.2%, n=1792) and ICSI (36.2%, n=1626). In a European multicenter study, including UZ Brussel in Belgium and 14 centers in Spain, the 4891 patients who underwent either IVF (n=664) or ICSI (n=4227) for non-male infertility in their first cycle were categorized according to their ovarian response, being either poor (1-3 COC), suboptimal (4-9 COC), normal (10-15 COC) or high (>15 COC). There was no advantage of ICSI over IVF, irrespective of the ovarian response, in terms of fertilization rate, embryo utilization rate, fresh LBR and CLBR (Drakopoulos et al, 2019).

Previous evidence has shown that the probability of a live birth following IVF with a fresh embryo transfer is significantly higher after extended culture to the blastocyst stage, and more and more IVF laboratories switched from day 2/3 to day 5 transfer and cryopreservation. However, because of the introduction of vitrification has enhanced the survival of cryopreserved embryos and improved pregnancy rates after warming, the optimal outcome measure to compare the success rates after cleavage-stage and blastocyst transfer is the cumulative live birth rate, including the contribution of vitrified day 2/3 embryos or blastocysts. A retrospective study was performed in UZ Brussel including first IVF/ICSI cycles in the period 2010-2013 (De Vos et al., 2016). Following fresh day 3 (n=377) or day 5 ET (n=623), FET cycles were included until the birth of the first child or until all embryos were used. Although the live birth rate after the first fresh ET was higher with blastocysts, the CLBR was comparable between cleavage-stage (52.6%) and blastocyst transfers (52.5%) (Figure III). However, the number of embryos needed to obtain a live birth was lower with blastocysts and time-to-pregnancy was shorter.

SESIÓN DE CALIDAD

Figure III: Cumulative live birth rate in relation to the transfer day (De Vos et al., 2016)



Yin et al. (2017) described a higher CLBR, although not statistically significant, in the day 5/6 group compared to the day 2/3 group. They confirmed our findings of a lower number of cycles and a lower number of days to live birth and therefore considered day 5/6 ET a more cost-effective, time-efficient policy for selecting viable embryos. Absence of a difference in CLBR (69.1% vs 71.1%) has been supported by Zhu et al. (2019) in a large retrospective study (11,801 patients with cleavage-stage transfer and 1009 patients with blastocyst transfer) between 2007 and 2016, even after accounting for potentially confounding factors. A systematic review and meta-analysis on the reproductive outcome of cleavage-stage versus blastocyst transfer included only 12 eligible studies, only three of them judged to be at low risk of bias (Martins et al., 2017). Most studies evaluating cumulative pregnancy rate (not CLBR) did not follow up women until a pregnancy was achieved or all embryos were used. Although no difference was found between the two groups, the data were considered unreliable based on the lack of well-designed RCTs.

When looking at trials comparing the use of a single-step or a sequential embryo culture approach, the results are conflicting. A large prospective single-center study compared the two approaches in 972 cycles with single culture and 514 cycles with sequential culture (Cimadomo et al., 2018). Although a higher blastocyst rate after continuous culture has been observed, the cumulative delivery rate until a delivery was achieved or all embryos were used did not differ between the two groups. It was, however, hypothesized that the higher blastocyst rate should translate in a higher CLBR per started cycle for the continuous culture group if all embryos are used.

Time-lapse imaging has provided a huge amount of previously unavailable information regarding embryo development.

Many efforts have been made to develop embryo selection algorithms to predict implantation, and several papers have been published on this topic. Barrie et al. (2017) tested the efficacy of six published embryo selection algorithms on known-implantation embryos. They demonstrated that algorithms are not clinically applicable in any IVF center and lose their diagnostic value when externally applied, with an AUC ranging from 0.543-0.629. The algorithm can only be applied under the conditions under which they are developed and need in-house validation before clinically introduced. Goodman et al. (2016) performed the first well-designed randomized controlled trial comparing the outcome of fresh blastocyst transfer after selection based on conventional morphological criteria or on conventional criteria in conjunction with morphokinetic criteria. A total of 300 patients were eligible for inclusion. The strength of the study was that all embryos (control and study arm) were cultured in the time-lapse incubator (Embryoscope). The observed increase in clinical pregnancy rate and implantation rate when kinetic events were included did not reach statistical significance, despite a clinically relevant tendency. Larger studies are needed in order to reach the power needed. Based on the meta-analysis by Chen et al. (2017), it was concluded that no evidence was provided that far for better clinical outcomes after using time-lapse. A recent retrospective single-center cohort study of 1882 ART cycles reported a clinical benefit of the time-lapse technology, with a higher CLBR in the subgroup analysis of women ≤ 37 years (Mascarenhas et al., 2019). The huge amount of data gained from time-lapse systems allowed to establish models based on information of implanted and non-implanted embryos, which proved to better predict implantation and live birth than standard morphology (KIDscore, Adolphsson et al., 2018). Several deep learning models have been reported. The model by Tran et al. (2018) predicted the embryo implantation with fetal heart beat with a high degree of probability and reproducibility (AUC of 0.93), and showed to be better than other published deep learning models. Artificial intelligence and deep learning from time-lapse systems are very promising, but more evidence is needed from more and larger studies.

In order to select the 'single' embryo with the highest viability or implantation potential, different non-invasive embryo selection tools have been developed and tested. They all aim to shorten time-to-pregnancy and to offer patients the highest chance to obtain a pregnancy after the first single embryo transfer. Examples are: measurement of granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) in follicular fluid, cumulus-cell gene expression, embryo metabolites in spent culture medium, miRNAs in spent culture medium, soluble human leucocyte

SESIÓN DE CALIDAD

antigen-G (sHLA-G) in spent culture medium,... Although some seem more promising than others, none of these markers has so far proven its superiority over the others. They all need further validation in large multicenter RCTs.

DISCUSSION AND CONCLUSIONS

Live birth rate (LBR) per ET has become a less valuable outcome parameter with the introduction of different clinical and laboratory approaches, and therefore has become inadequate to compare data between centers and between published data. Cumulative live birth rate (CLBR) is more appropriate provided that the same definition is applied among studies and centers. In general, however, CLBR is poorly reported.

The question was raised whether different aspects and approaches in ART affected the CLBR. The CLBR increased with a higher the number of retrieved oocytes, while medium and low responders performed less well. Patients with elevated late-follicular P showed a lower CLBR, which was correlated with a poorer embryo quality. Although aneuploidy testing by PGT-A resulted in higher LBR after the first ET, it did not improve CLBR compared to non-PGT-A cycles. Based on literature data, the freeze-all strategy showed no benefit over the fresh-ET strategy in terms of CLBR, and implementation is currently recommended only for patients with risk for OHSS. In cases of non-male factor infertility, ICSI did not perform better than IVF when considering CLBR. Although extended culture to the blastocyst stage may be a tool to better select the more viable embryo, there is no evidence of a difference in CLBR after ET of cleavage-stage embryos or blastocysts. The single study comparing the use of single-step or sequential media did not reveal a difference in CLBR. Although time-lapse imaging provides a huge amount of data regarding embryo developmental, there is low evidence from the literature for improved CLBR compared to conventional morphology.

Whatever ART approaches are applied to improve the outcome, the effect on the CLBR seems poor or non-existent. Several treatments, however, do have an effect on time to pregnancy or time to delivery. Less treatment time to deliver a baby and less embryos used to deliver a baby are of utmost importance from a patient's perspective, and should not be neglected.

BIBLIOGRAPHY

Acharya KS, Acharya CR, Bishop K, Harris B, Raburn D and Muasher SJ. Freezing of all embryos in in vitro fertilization is beneficial in high responders, but not intermediate and low responders: an analysis of 82,935 cycles from the Society for Assisted Reproductive Technology registry. *Fertil. Steril.* 2018;110:880-887.

Adolfsson E, Porath S and Andershed AN. Morphology vs morphokinetics: a retrospective comparison of inter-observer and intra-observer agreement between embryologists on blastocysts with known implantation outcome. *JBRA Assist. Reprod.* 2018; 22: 205-214.

Barrie A, Homburg R, McDowell G, Brown J, Kingsland C and Troup S. Examining the efficacy of six published time-lapse imaging embryo selection algorithms to predict implantation demonstrate the need for the development of specific in-house morphokinetic selection algorithms. *Fertil. Steril.* 2017; 107: 613-621.

Bhattacharya S, Hamilton MPR, Shaaban M, Khalaf Y, Seddler M, Ghobara T, Kennedy R, Rutherford A, Harthorne G and Templeton A. Conventional in vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection for the treatment of non-male factor infertility: a randomized controlled trial. *The Lancet* 2001; 357: 2075-2079.

Chen M, Wei S, Hu J, Yuan J and Liu F. Does time-lapse imaging have favorable results for embryo incubation and selection compared with conventional methods in clinical in vitro fertilization? A meta-analysis and systematic review of randomized controlled trials. *PLoS One* 2017; 12.

Cimadomo D, Scarica C, Maggiulli R, Orlando G, Soscia D, Albricci L, Romano S, Sanges F, Ubalsi FM and Rienzi L. Continuous embryo culture elicits higher blastulation but similar cumulative delivery rates than sequential: a large prospective study. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2018; 35: 1329-1338.

De Vos A, Van Landuyt L, Santos-Ribeiro S, Camus M, Van de Velde H, Tournaye H and Verheyen G. Cumulative live birth rates after fresh and vitrified cleavage-stage and blastocyst-stage transfer in the first treatment cycle. *Hum. Reprod.* 2016; 33: 2442-2449.

Drakopoulos P, Blockeel C, Stoop D, Camus M, De Vos M, Tournaye H and Polyzos NP. Conventional ovarian stimulation and single embryo transfer for IVF/ICSI. How many oocytes do we need to maximize cumulative live birth rates after utilization of all fresh and frozen embryos? *Hum. Reprod.* 2016; 31: 370-376.

Drakopoulos P, Garcia-Velasco J, Bosch E, Blockeel C, De Vos M, Santos-Ribeiro S, Makrigiannakis A, Tournaye H and Polyzos NP. ICSI does not offer any benefit over conventional IVF across different ovarian response categories in non-male factor infertility: A European multicenter analysis. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2019.

SESIÓN DE CALIDAD

Goodman LR, Goldberg J, Falcone T, Austin C and Desai N. Does the addition of time-lapse morphokinetics in the selection of embryos for transfer improve pregnancy rates? A randomized controlled trial. *Fertil. Steril.* 2016; 105: 275-285.

Lee E, Chambers GM, Hale L, Illingworth P and Wilton L. Assisted reproductive technology (ART) cumulative live birth rates following preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy (PGD-A) or morphological assessment of embryos: a cohort analysis. *Aust. NZJ Obstet. Gynaecol.* 2017; 58: 525-532.

Li Z, Wang AY, Bowman M, Hammarberg K, Farquhar C, Johnson L, Safi N and Sullivan EA. ICSI does not increase the cumulative birth rate in non-male factor infertility. *Hum. Reprod.* 2018; 33: 1322-1330.

Li Z, Wang AY, Bowman M, Hammarberg K, Farquhar C, Johnson L, Safi N, Sullivan EA. Cumulative live birth rates following a 'freeze-all' strategy: a population-based study. *Hum. Reprod. Open* 2019, 1-9.

Maheshwari A, McLernon D and Bhattacharya S. Cumulative live birth rate: time for a consensus? *Hum. Reprod.* 2015; 30: 2703-2707.

Martins WP, Nastri CO, Rienzi L, Van der Poel SZ, Gracia C and Racowski C. Blastocyst versus cleavage-stage embryo transfer: systematic review and meta-analysis of reproductive outcomes. *Ultrasound Obstet. Gynecol* 2017; 49:583-591.

Mascarenhas M, Fox SJ, Thompson K and Balen AH. Cumulative live birth rates and perinatal outcomes with the use of time-lapse imaging incubators for embryo culture: a retrospective cohort study of 1882 ART cycles. *Int. J. Obstet Gynecol.* 2018; 126: 280-286.

Mastenbroek S, Twisk M, van der Veen F and Repping S. Preimplantation genetic screening: a systematic review and meta-analysis of RCTs. *Hum. Reprod. Update* 17; 4:454-466.

Polyzos NP, Drakopoulos P, Para J, Pellicer A, Santos-Ribeiro S, Tournaye H, Bosch E and Garcia-Velasco J. Cumulative live birth rates according to the number of oocytes retrieved after the first ovarian stimulation for in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection: a multicenter multinational analysis including ~15,000 women. *Fertil. Steril.* 2018; 110: 661-670.

Racca A, Santos-Ribeiro S, De Munck N, Mackens S, Drakopoulos P, Camus M, Verheyen G, Tournaye H and Blockeel C. Impact of late-follicular phase serum progesterone on cumulative live birth rates: is there a deleterious effect on embryo quality? *Hum. Reprod.* 2018;33:860-868.

Roque M, Haahr T, Geber S, Esteves S and Humaidan P. Fresh versus elective frozen embryo transfer in IVF/ICSI cycles: a systematic review and meta-analysis of reproductive outcomes. *Hum. Reprod. Update* 2019; 25: 2-14.

Rubio C, Bellver J, Rodrigo L, Castillon G, Guillen A, Vidal C, Giles J, Ferrando M, Cabanillas S, Remohi J, Pellicer A and Simon C. In vitro fertilization with preimplantation genetic diagnosis for aneuploidies in advanced maternal age: a randomized, controlled study. *Fertil. Steril.* 2017; 107: 1122-1129.

Tran D, Cooke S, Illingworth PJ and Gardner DK. Deep learning as a predictive tool for fetal health pregnancy following time-lapse incubation and blastocyst transfer. *Hum. Reprod.* 2018; 34: 1011-1018.

Van Rumste MM, Evers JL and Farquhar CM. ICSI versus conventional techniques for oocyte insemination during IVF in patients with non-male factor subfertility: A Cochrane review. *Hum. Reprod.* 2004; 19: 223-227.

Yin Y, Chen G, Li K, Liao Q, Zhang S, Ma N, Chen J, Zhang Y and Ai J. Propensity score-matched study and meta-analysis of cumulative outcomes of day 2/3 versus day 5/6 embryo transfers. *Front. Med.* 2017; 11: 563-569.

Zaca C, Bazzocchi A, Pennatta F, Bonu MA, Coticchio G and Borini A. Cumulative live birth rate in freeze-all cycles is comparable to that of a conventional embryo transfer policy at the cleavage stage but superior at the blastocyst stage. *Fertil. Steril.* 2018; 110: 903-709.

Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Dyer S, Racowski C, de Mouzon J, Sokol R, Rienzi L, Sunde A, Schmidt L, Cooke ID, Simpson JL and van der Poel S. The international glossary on infertility and fertility care, 2017. *Hum. Reprod.* 2017; 32:1786-1801.

Zhu Q, Zhu J, Wang Y, Wang B, Wang N, Yin M, Zhang S, Lyu Q and Kunag Y. Live birth rate and neonatal outcome following cleavage-stage embryo transfer versus blastocyst transfer using the freeze-all strategy. *RBMO* 2019; 38: 892-900.



A solution as unique as your business

At CooperSurgical, we partner with you to drive clinical efficiency



ORIGIO · SAGE · Humagen · TPC · K-Systems · RI · Wallace · LifeGlobal · CooperGenomics

SESIÓN DE EMBRIOLOGÍA

TRANSFERENCIA DE HUSO MEIÓTICO | MEIOTIC SPINDLE TRANSFER

Nuno Costa-Borges^{1*}, Katharina Spath^{2,3}, Irene Miguel-Escalada⁴, Enric Mestres¹, Rosa Balmaseda⁵, Maria Garcia¹, Ivette Vanrell¹, Jesús Gonzalez⁵, Klaus Rink¹, Dagan Wells^{2,3}, Eros Nikitos⁶, Kostantinos Kostaras⁶, Pagnagiotis Psathas⁶, Gloria Calderón¹

¹Embryotools, Barcelona, Spain

²Nuffield Department of Women's and Reproductive Health, University of Oxford, Oxford, UK

³IVI-RMA, Magdalen Centre, Oxford, UK

⁴Genomics and Bioinformatics, Centre for Genomic Regulation, Barcelona, Spain

⁵Animal's Alliance Facility, Barcelona, Spain

⁶Institute of Life, IASO Maternity Hospital, Marousi, Athens, Greece

Despite the advances in assisted reproductive technologies (ARTs) (Niederberger et al. 2018), conventional IVF treatments are still inefficient in a significant percentage of infertile women, with many ultimately ending-up being enrolled in egg donation programs (Trounson et al., 1983; Lutjen et al., 1984; Sauer et al., 1990). Although the use of donated oocytes is usually an effective approach in IVF treatments, the resultant children are not genetically related to the intended mothers. Therefore, it is desirable to develop new reproductive strategies that can give these patients higher chances of having a child genetically related to them.

Oocyte quality is usually defined as the ability of an oocyte to develop after fertilization into a chromosomally normal blastocyst with potential to sustain a pregnancy up to a healthy live birth.

Frequently, the oocytes of patients of advanced aged or with other fertility disorders (e.g, PCOs, endometriosis) either fail to fertilize, produce embryos that arrest during the first stages of development or develop into chromosomally abnormal blastocysts (Pellicer et al., 1995; Hardy et al., 2001; Meskhi and Seif, 2006; Munne et al., 2002). Evidence exist that aberrant meiosis or early developmental failure can be caused due to deficiencies in the oocyte cytoplasmic machinery (Eppig et al., 1996; Liu et al., 1999; Liu et al., 2000; Liu et al., 2003; Liu and Keefe, 2007 and 2004; Hoffman et al., 2012; Reader et al., 2017; Conti and Franciosi, 2018), which is composed by a vast diversity of organelles, metabolic intermediates, mRNAs, proteins, ribosomes and other factors (Sathananthan 1994 and 1997; Bianchi et al., 2015).

In particular, cytoplasmic dysfunctions (essentially in mitochondrial, but not limited to) have in fact been identified as a major cause of poor oocyte quality and high aneuploidy rates (Van Blerkom et al., 1995, Liu et al., 2002; May-Panloup et al.,

2006; Van Blerkom 2011; Chappel 2013; Fragouli et al., 2015). Techniques like cytoplasmic transfer (Cohen et al., 1998; Lanzendorf et al., 1999) or the injection of autologous mitochondria (Fakih et al., 2015; Kristensen et al., 2017) have been proposed to restore the viability of compromised oocytes in IVF patients with a history of repeated implantation failures with conventional treatments (Cohen et al., 1998; Huang et al., 1999; Lanzendorf et al., 1999; Fakih et al., 2015). Importantly, studies reported babies born following the application of these techniques.

However, the safety or benefits of these methods to treat infertility have been questioned either due to concerns related to heteroplasmy, i.e., the co-existence of two mtDNA genomes after cytoplasmic transfer (Isasi et al., 2016; Darbandi et al., 2017; Kristensen et al., 2017) or because injecting autologous mitochondria did not show improvements in clinical outcomes (Labarta et al, 2019).

An alternative approach that could offer a greater promise in terms of its capacity to address infertility problems of maternal (oocyte) origin is the transfer of the nuclear genome from an affected oocyte into a new healthy cytoplasm from a young donor. These techniques, known globally as mitochondrial replacement therapies (MRTs) were originally proposed to prevent the transmission of mitochondrial diseases (Tashibana et al., 2009; Craven et al., 2010; Paull et al., 2013). Recently, the maternal spindle transfer (MST) technique was used to prevent the transmission of a Leigh Syndrome and resulted in a live birth (Zhang et al., 2017). However, the potential of these strategies to overcome infertility, remains elusive, as most studies using nuclear transfer procedures were mainly focused on investigating nuclear-cytoplasmic interactions in oocytes and zygotes (Liu and Keefe, 2004; 2007; Palermo et al., 2002) or limited to the analysis of heteroplasmy in embryos or ESCs resultant from these procedures (Paull et al., 2013; Hylsop et al., 2016).

SESIÓN DE EMBRIOLOGÍA

In the last years, our group has been studying the safety and potential of the MST technique, to overcome infertility problems related to poor oocyte quality. In proof of concept experiments carried out in a mouse model with poor reproductive competence, we have shown that this technique can overcome developmental arrest of poorly developing oocytes and that the resultant embryos can give rise to healthy and fertile animals with very low heteroplasmy levels (Paper Prize Award ASRM 2017; Costa-Borges et al., under revision).

Furthermore, pre-clinical validations using human donor oocytes donated for research have also corroborated that the technique does not compromise aneuploidy rates and highlighted the importance of having a competent cytoplasmic machinery for a correct embryo development (Costa-Borges et al., 2018).

At present, we are exploring the effectiveness of MST technique as part of a pilot clinical trial (SRCTN ref # 34844) that includes patients under 40 y/o with a history of several previous unsuccessful IVF attempts. A total of 9 MST cycles were performed so far in patients with an average age of 37.2 y/o and a mean number of previous failed IVF attempts of 4.9. The mean number of MII oocytes used for MST per patient was 4.9 (range 1-10). MST was applied successfully in 39 out of the 44 oocytes (88.6%). Of these, 76.9% (30/39) fertilized and 20 developed into good quality blastocysts (66.7%), which were biopsied and vitrified. Genetic analysis revealed 35% (7/20) of the embryos to be euploid and mtDNA carryover levels <1%. Two MST blastocysts were already warmed and transferred, resulting in two pregnancies. The first patient (aged 32 and with 4 previous failed IVF attempts) delivered a healthy boy at 39 weeks (51 cm and 2.960 kg). Analysis of DNA fingerprints from biopsied cells, amniotic fluid and samples collected after birth (blood, urine, saliva, cord blood, placenta) confirmed the parentage of the child and the origin of the donated mtDNA. The second pregnancy is currently at 17 weeks of gestation. These preliminary results indicate that MST-derived embryos are able to implant and sustain a healthy pregnancy to term.

Given the difficult reproductive history of the patients, this initial data is encouraging. However, carefully controlled trials will be required to determine whether MST is truly beneficial in the context of assisted reproductive treatment.

REFERENCES:

Niederberger C, Pellicer A, Cohen J, Gardner DK, Palermo GD, O'Neill CL, Chow S, Rosenwaks Z, Cobo A, Swain JE, Schoolcraft WB, Frydman R, Bishop LA, Aharon D, Gordon C, New E, Decherney A, Tan SL, Paulson RJ,

Goldfarb JM, Brännström M, Donnez J, Silber S, Dolmans MM, Simpson JL, Handyside AH, Munné S, Eguizabal C, Montserrat N, Izpisua Belmonte JC, Trounson A, Simon C, Tulandi T, Giudice LC, Norman RJ, Hsueh AJ, Sun Y, Laufer N, Kochman R, Eldar-Geva T, Lunenfeld B, Ezcurra D, D'Hooghe T, Fauser BCJM, Tarlatzis BC, Meldrum DR, Casper RF, Fatemi HM, Devroey P, Galliano D, Wikland M, Sigman M, Schoor RA, Goldstein M, Lipshultz LI, Schlegel PN, Hussein A, Oates RD, Brannigan RE, Ross HE, Pennings G, Klock SC, Brown S, Van Steirteghem A, Rebar RW, LaBarbera AR. Forty years of IVF. *Fertil Steril*. 2018 Jul 15;110(2):185-324.e5.

Trounson A, Leeton J, Besanko M, Wood C, Conti A. Pregnancy established in an infertile patient after transfer of a donated embryo fertilised in vitro. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1983 Mar 12;286(6368):835-838.

Lutjen P, Trounson A, Leeton J, Findlay J, Wood C, Renou P. The establishment and maintenance of pregnancy using in vitro fertilization and embryo donation in a patient with primary ovarian failure. *Nature* 1984;307:174.

Sauer MV, Paulson RJ, Lobo RA. A preliminary report on oocyte donation extending reproductive potential to women over 40. *N Engl J Med*. 1990 Oct 25;323(17):1157-60.

Munne S, Cohen J, Sable D. Preimplantation genetic diagnosis for advanced maternal age and other indications. *Fertil Steril* 2002; 78:234-6.

Pellicer A, Oliveira N, Ruiz A, Remohí J, Simón C. Exploring the mechanism(s) of endometriosis-related infertility: an analysis of embryo development and implantation in assisted reproduction. *Hum Reprod*. 1995 Dec;10 Suppl 2:91-7.

Hardy, K., Spanos, S., Becker, D., Iannelli, P., Winston, R.M., Stark, J., 2001. From cell death to embryo arrest: mathematical models of human preimplantation embryo development. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98, 1655-1660.

Meskhi A and Seif MW. Premature ovarian failure. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2006; 18: 418-426.

Eppig JJ. Coordination of nuclear and cytoplasmic oocyte maturation in eutherian mammals. *Reprod Fertil Dev* 1996;8:485-489.

Liu, L., Keefe, D.L., Nuclear origin of aging-associated meiotic defects in senescence accelerated mice. *Biol. Reprod*. 2004 71, 1724-1729.

Conti M, Franciosi F. Acquisition of oocyte competence to develop as an embryo: integrated nuclear and cytoplasmic events. *Hum Reprod Update*. 2018 May 1;24(3):245-266.

Almeida PA, Bolton VN. Cytogenetic analysis of human preimplantation embryos following developmental arrest in vitro. *Reprod Fertil Dev*. 1998;10(6):505-13.

Benkhalifa, M., Kahraman, S., Caserta, D., Domez, E., Qumsiyeh, M.B., 2003. Morphological and cytogenetic analysis of intact oocytes and blocked zygotes. *Prenat. Diagn.* 23, 397-404.

Liu H, Wang CW, Grifo JA, Krey LC, Zhang J. Reconstruction of mouse oocytes by germinal vesicle transfer: maturity of host oocyte cytoplasm determines meiosis. *Hum Reprod*. 1999 Sep;14(9):2357-61.

Liu H, Zhang J, Krey LC, Grifo JA. In-vitro development of mouse zygotes following reconstruction by sequential transfer of germinal vesicles and haploid pronuclei. *Hum Reprod*. 2000 Sep;15(9):1997-2002.

SESIÓN DE EMBRIOLOGÍA

- Liu H, Chang HC, Zhang J, Grifo J, Krey LC. Metaphase II nuclei generated by germinal vesicle transfer in mouse oocytes support embryonic development to term. *Hum Reprod*. 2003 Sep;18(9):1903-7.
- Liu L, Keefe DL. Nuclear transfer methods to study aging. *Methods Mol Biol*. 2007;371:191-207.
- Hoffmann S, Król M, Polanski Z. Spindle assembly checkpoint-related meiotic defect in oocytes from LT/Sv mice has cytoplasmic origin and diminishes in older females. *Reproduction*. 2012 Sep;144(3):331-8.
- Karen L. Reader, Jo-Ann L. Stanton, Jennifer L. Juengel. The Role of Oocyte Organelles in Determining Developmental Competence. *Biology (Basel)* 2017 Sep; 6(3): 35.
- Sathananthan AH. Ultrastructure changes during meiotic maturation in mammalian oocytes: unique aspects of the human oocyte. *Microsc Res Tech* 1994; 27:145-64.
- Sathananthan AH. Ultrastructure of the human egg. *Human Cell* 1997; 10:21-38.
- Bianchi S, Macchiarelli G, Micara G, Linari A, Boninsegna C, Aragona C et al. Ultrastructural markers of quality are impaired in human metaphase II aged oocytes: a comparison between reproductive and in vitro aging. *J Assisted Reprod Genet* 2015; 32:1343-58.
- Chappel S. The role of mitochondria from mature oocyte to viable blastocyst. *Obstet Gynecol Int* 2013;2013:183024.
- May-Panloup P, Chretien MF, Malthiery Y, Reynier P. Mitochondrial DNA in the oocyte and the developing embryo. *Curr Top Dev Biol*. 2007;77:51-83.
- Van Blerkom J, Davis PW, Lee J. ATP content of human oocytes and developmental potential and outcome after in-vitro fertilization and embryo transfer. *Hum Reprod*. 1995 Feb;10(2):415-24.
- Liu L, Trimarchi JR, Smith PJ, Keefe DL. Mitochondrial dysfunction leads to telomere attrition and genomic instability. *Aging Cell*. 2002 Oct;1(1):40-6.
- Van Blerkom J. Mitochondrial function in the human oocyte and embryo and their role in developmental competence. *Mitochondrion*. 2011 Sep;11(5):797-813. Review.
- Eichenlaub-Ritter U. Female meiosis and beyond: more questions than answers? *Reprod Biomed Online*. 2012 Jun;24(6):589-90.
- Igarashi H, Takahashi T, Abe H, Nakano H, Nakajima O, Nagase S. Poor embryo development in postovulatory in vivo-aged mouse oocytes is associated with mitochondrial dysfunction, but mitochondrial transfer from somatic cells is not sufficient for rejuvenation. *Hum Reprod*. 2016 Oct;31(10):2331-8.
- Babayev E, Seli E. Oocyte mitochondrial function and reproduction. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2015;27:175-181.
- Fragouli E, Spath K, Alfarawati S, Kaper 3, Craig A, Michel C, Kokocinski F, Cohen J, Munne S, Wells D. Altered levels of mitochondrial DNA are associated with female age, aneuploidy, and provide an independent measure of embryonic implantation potential. *PLoS Genet*. 2015 Jun 3;11(6):e1005241.
- Wells D. Mitochondrial DNA quantity as a biomarker for blastocyst implantation potential. *Fertil Steril*. 2017 Nov;108(5):742-747.
- Cohen J, Scott R, Alikani M, Schimmel T, Munne S, Levron J, Wu L, Brenner C, Warner C, Willadsen S. Ooplasmic transfer in mature human oocytes. *Mol Hum Reprod* 1998;4:269-280.
- Lanzendorf, S.E., Mayer, J.F., Toner, J., Oehninger, S., Saffan, D.S., Muasher, S., 1999. Pregnancy following transfer of ooplasm from cryopreserved-thawed donor oocytes into recipient oocytes. *Fertil. Steril*. 71, 575-577.
- Huang, C.C., Cheng, T.C., Chang, H.H., Chang, C.C., Chen, C.I., Liu, J., Lee, M.S.. Birth after the injection of sperm and the cytoplasm of tripronucleate zygotes into metaphase II oocytes in patients with repeated implantation failure after assisted fertilization procedures. *Fertil. Steril*. 1999 72, 702- 706.
- Fakih MHSM, Szeptycki J, dela Cruz DB, Lux C, Verjee S, Burgess CM, Cohn GM, Casper RF. The AUGMENT treatment: physician reported outcomes of the initial global patient experience. *JFIV Reprod Med Genet* 2015;3:154.
- Kristensen SG, Pors SE, Andersen CY. Improving oocyte quality by transfer of autologous mitochondria from fully grown oocytes. *Hum Reprod*. 2017 Apr 1;32(4):725-732.
- Labarta E, de Los Santos MJ, Herraiz S, Escibá MJ, Marzal A, Buigues A, Pellicer A. Autologous mitochondrial transfer as a complementary technique to intracytoplasmic sperm injection to improve embryo quality in patients undergoing in vitro fertilization-a randomized pilot study. *Fertil Steril*. 2019 Jan;111(1):86-96.
- Isasi R, Kleiderman E, Knoppers BM. Genetic technology regulation. Editing policy to fit the genome? *Science* 2016;351:337-339.
- Darbandi S, Darbandi M, Khorram Khorshid HR, Sadeghi MR, Agarwal A, Sengupta P, Al-Hasani S, Akhondi MM. Ooplasmic transfer in human oocytes: efficacy and concerns in assisted reproduction. *Reprod Biol Endocrinol*. 2017 Oct 2;15(1):77.
- Tachibana M, Sparman M, Sritanaudomchai H, Ma H, Clepper L, Woodward J, Li Y, Ramsey C, Kolotushkina O, Mitalipov S. Mitochondrial gene replacement in primate offspring and embryonic stem cells. *Nature*. 2009 Sep 17;461(7262):367-72.
- Tachibana M, Amato P, Sparman M, Woodward J, Sanchis DM, Ma H, Gutierrez NM, Tippner-Hedges R, Kang E, Lee HS, Ramsey C, Masterson K, Battaglia D, Lee D, Wu D, Jensen J, Patton P, Gokhale S, Stouffer R, Mitalipov S. Towards germline gene therapy of inherited mitochondrial diseases. *Nature*. 2013 Jan 31;493(7434):627-31.
- Craven L, Tuppen HA, Greggains GD, Harbottle SJ, Murphy JL, Cree LM, et al. Pronuclear transfer in human embryos to prevent transmission of mitochondrial DNA disease. *Nature* 2010;465:82-5.
- Paull D, Emmanuele V, Weiss KA, Treff N, Stewart L, Hua H, et al. Nuclear genome transfer in human oocytes eliminates mitochondrial DNA variants. *Nature* 2013;493:632-7.
- Hyslop LA, Blakeley P, Craven L, Richardson J, Fogarty NM, Fragouli E, et al. Towards clinical application of pronuclear transfer to prevent mitochondrial DNA disease. *Nature* 2016;534:383-6.
- Wang T, Sha H, Ji D, Zhang HL, Chen D, Cao Y, et al. Polar body genome transfer for preventing the transmission of inherited mitochondrial diseases. *Cell* 2014;157:1591-604.
- Kang E, Wu J, Gutierrez NM, Koski A, Tippner-Hedges R, Agaronyan K, Platero-Luengo A, Martinez-Redondo P, Ma H, Lee Y, Hayama T, Van Dyken C, Wang X, Luo S, Ahmed R, Li Y, Ji D, Kayali R, Cinnioglu C, Olson S, Jensen J, Battaglia D, Lee D, Wu D, Huang T, Wolf DP, Temiakov D, Belmonte JC, Amato P, Mitalipov S. Mitochondrial replacement in human oocytes carrying pathogenic mitochondrial DNA mutations. *Nature*. 2016 Dec 8;540(7632):270-275.

SESIÓN DE EMBRIOLOGÍA

Zhang, J. et al. Live birth derived from oocyte spindle transfer to prevent mitochondrial disease. *Reprod. Biomed. Online* 34, 361–368 (2017).

Palermo GD, Takeuchi T, Rosenwaks Z. Technical approaches to correction of oocyte aneuploidy. *Hum Reprod.* 2002 Aug;17(8):2165-73.

Franasiak JM, Forman EJ, Hong KH, Werner MD, Upahm KM, Treff NR et al. The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: a review of 15.169 consecutive trophectoderm biopsied evaluated with comprehensive chromosomal screening. *Fertil Steril* 2014; 101:656-63. e1.

Costa-Borges, N, Mestres, E, Miguel-Escalada, I, Balmaseda R, Garcia, M, Vanrell I, Gonzalez J, Calderon, G. 2017. Meiotic Spindle transfer overcomes embryo developmental arrest in compromised oocyte: proof of concept in the mouse. *Fertility and Sterility*, Vol 108, Issue 3, Supplement, Page e41.

Costa-Borges N. et al. Spindle transfer can enhance the potential of developmentally compromised human oocytes to reach the blastocyst stage: proof of concept with donor oocytes. *Human reproduction*, 2018; 33, 237 – 238.

Zhang J, Wang CW, Krey L, Liu H, Meng L, Blaszczyk A et al. In vitro maturation of human preovulatory oocytes reconstructed by germinal vesicle transfer. *Fertil Steril* 1999;71:726-31.

Zhang J, Liu H. Cytoplasm replacement following germinal vesicle transfer restores meiotic maturation and spindle assembly in meiotically arrested oocytes. *Reprod Biomed Online* 2015;31:71-8.

Takeuchi T, Gong J, Veeck LL, Rosenwaks Z, Palermo GD. Preliminary 504 findings in germinal vesicle transplantation of immature human oocytes. *Hum Reprod* 2001;16:730-6.

DERIVACIÓN DE GAMETOS A PARTIR DE CÉLULAS MADRE

José Vicente Medrano Plaza.

Instituto de Investigación Sanitaria la Fe, Valencia, España

RESUMEN

Hasta el 15% de las personas el mundo en edad reproductiva pueden verse afectadas por la infertilidad, lo que representa un impacto significativo en la calidad de vida de los pacientes. A pesar del gran progreso de los tratamientos de FIV, la falta de gametos funcionales es un obstáculo importante para su éxito y, por lo general, termina con la necesidad de la donación de gametos. En la búsqueda para ofrecer a los pacientes la posibilidad de ser los padres genéticos de sus hijos, los enfoques básicos de Medicina Regenerativa que permiten la creación de gametos funcionales han ganado atención en los últimos años. Se han producido importantes avances en este campo desde los primeros informes que describen la capacidad de las células madre embrionarias de ratón para dar lugar a estructuras similares a ovocitos hace catorce años, a las últimas, que describen el proceso completo de generación de ovocitos *in vitro* a partir de iPSCs de ratón. Es importante destacar que todos estos hallazgos en modelos animales han ayudado a avanzar en el estudio de la línea germinal humana y, hoy en día, existen modelos *in vitro* robustos para diferenciar las iPSC humanas en células germinales inmaduras, e incluso transdiferenciar células somáticas en un fenotipo similar a células germinales mediante modificación genética. Por lo tanto, podemos decir que hoy estamos más cerca que nunca de trasladar la tecnología de generación de gametos *in vitro* para futuras aplicaciones clínicas. En base a todo esto, en esta ponencia, intentaré actualizar y discutir los avances más recientes que la investigación en Medicina Regenerativa ha logrado en respuesta al desafío que ofrece la Medicina Reproductiva.

ABSTRACT

Up to 15% of people worldwide at reproductive age are affected by infertility, thus representing a significant impact to patients' quality of life. Despite the great progress of IVF treatments, the lack of functional gametes is a major handicap for their success, and usually end up with the need of gamete donation. In the search to offer patients the possibility of being the genetic parents of their children, basic approaches from Regenerative Medicine that allow the creation of functional gametes have gained attention in the last years. Important advances in this field have occurred from the first reports describing the ability of mouse embryonic stem cells to spontaneously give rise to oocyte-like structures fourteen years ago, to the latest ones, describing the complete process of *in vitro* oocyte generation starting from mouse iPSCs. Importantly, all these findings in animal models have helped to move forward the study of human germ line and nowadays we have evidence for robust *in vitro* models to differentiate human iPSCs into immature germ cells, and even transdifferentiate somatic cells into a germ cell-like phenotype by genetic modification. Thus, we can say that today we are closer than ever to translate the *in vitro* gamete generation technology for future clinical applications. Here, I will try to update and discuss the most recent breakthroughs that research in Regenerative Medicine has achieved in response to the challenge offered from Reproductive Medicine.

SESIÓN DE EMBRIOLOGÍA

CULTURE OF HUMAN EMBRYOS THROUGH IMPLANTATION STAGES *IN VITRO*

Matteo A. Molè, Marta N. Shahbazi, Magdalena Zernicka-Goetz

University of Cambridge, Cambridge, UK

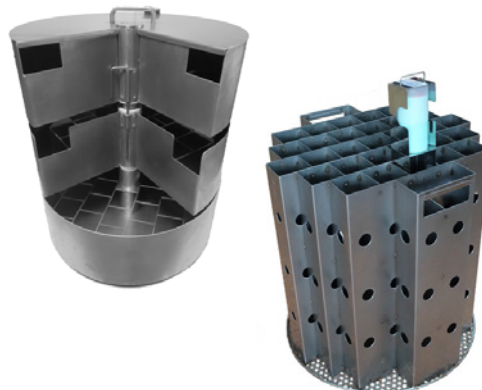
Implantation is a key milestone of human embryogenesis whereby the free-floating blastocyst establishes primary contacts with the maternal endometrium in concert with major morphogenetic changes that establish the future body plan of the embryo. Recent improvements of culture conditions enabled direct observation of embryo development beyond implantation deepening our knowledge on the key events of early human embryogenesis previously inaccessible to observation. Despite the absence of any maternal tissue, the *in vitro* cultured human embryo exhibits remarkable self-organising properties and recapitulates not only the formation of the amniotic cavity but also the segregation of different extraembryonic lineages.

Here, we will present the critical events underlying morphogenesis of the epiblast during which the disorganised group of pluripotent embryonic stem cells of the blastocyst gives rise to a highly structured epithelium, with a defined apico-basal polarity surrounding a central cavity, the future amnion. We will describe our recent results on the mechanics of epithelisation, on the pluripotency transition which occurs at this stage and finally on the key transcriptomic changes which take place in the human post-implantation embryo.

CONTROL EN SALAS DE CRIOBIOLOGIA



MONITORES DE OXÍGENO
Y CO2



BANDEJAS GIRATORIAS Y GUIAS DE RACKS
PARA CONTENEDORES CRIOGENICOS



CONTROL DE NIVEL Y
TEMPERATURA "INALÁMBRICO"

 **CryoGas**
Equipos y servicios criogénicos

SESIÓN DE EMBRIOLOGÍA

EMBRYO METABOLISM AND INTERACTION WITH CULTURE MEDIA

Roger Sturmeý

Centre for Atherothrombosis and Metabolic Disease, Hull York Medical School, University of Hull, Hull, UK

For more than 50 years there has been a great interest in the biochemical processes that the maturing oocyte and preimplantation embryo use to generate metabolic energy to support development. Through landmark studies in the 1970s and 1980s, we have a mature understanding the profiles of substrate depletion and accumulation by early embryos as they complete development *in vitro*, with the discovery of some patterns of metabolism that appear conserved across mammalian embryos. In summary, early embryos have a preference for pyruvate consumption during the cleavage stages, with glucose depletion increasing markedly as the blastocyst is formed. Importantly, it appears as though the majority of cellular energy in the form of ATP is produced through mitochondrial oxidative metabolism, which rises to satisfy energy demand. However, embryo metabolism can be influenced by a great many factors, including maternal physiology, paternal factors and the composition of the environment in which they are cultured.

Much of the interest in embryo metabolism has stemmed from the view that it may be possible to select viable embryos for transfer on the basis of metabolic activity. Indeed, many researchers have been able to demonstrate convincing links between metabolic function and a range of embryo outcomes. Using a range of methods, data exists to indicate that heterogeneous patterns of metabolism of glucose, pyruvate and amino acids relate to embryo viability. However, to date, translation of a biomarker of embryo viability on the basis of metabolism for use in clinical practice has not occurred. During this presentation, we will review on the strengths and opportunities for studying embryo metabolism and reflect on the barriers to translation. Furthermore, contemporary research is now uncovering ways in which the metabolic biochemistry influences a range of cellular and molecular events in the developing embryo. Such recent discoveries will be reviewed and the interface between metabolism cellular development in the embryos will be considered.

CULTURE SYSTEMS. IS EVERYTHING SAID?

Roger Sturmeý, Centre for Atherothrombosis and Metabolic Disease, Hull York Medical School, University of Hull, Hull, UK E: roger.sturmeý@hyms.ac.uk

There is now significant and rising interest in how the culture environment in which early embryos are created *in vitro* might impact on the health and development of the resulting offspring. A growing literature suggests that the *in vitro* environment can impact the physiology of the early embryo, in terms of gene expression profile, epigenetic status, metabolic regulation and developmental competence. Somewhat more worryingly, there are now data to suggest that the choice of embryo culture medium can affect the birthweight and possibly onward health of offspring, in both human and animal-based studies.

One of the greatest areas of discussion is the composition of embryo culture medium. Almost all embryo culture media in routine clinical use share many features of their composition with cell culture media designed initially to support the maintenance of somatic cells in culture. However, through a combination of empirical trial and error and targeted design these compositions have undergone modification and become increasingly complex. In general, the precise composition of culture medium is not declared by manufacturers. This makes direct comparisons between the variety of products challenging. Added to this is the development of two culture modalities; so-called single step culture systems in which embryos are cultured in droplets of medium and remain undisturbed until day of transfer/cryopreservation and; sequential systems, which replenish the medium at a fixed day of *in vitro* culture. Moreover, culture medium is just one of a multitude of factors that can influence outcome of an assisted reproduction cycle. Thus, attempts to generate conclusive data on the effects of culture system on clinical outcome remain challenging.

This presentation will review the history of embryo culture medium development and consider the underlying rationale for the culture modalities. In addition, it will reflect on the available data that indicates the similarities and differences in culture media composition. Finally, the presentation will offer a critical review of some of the important studies that have attempted to unpick the impact of culture medium on early embryo development.

SESIÓN DE CRIOBIOLOGÍA

“PRINCIPLES OF CRYOBIOLOGY: THE EFFECT OF CRYOPRESERVATION ON THE GENOME OF GAMETES AND EMBRYOS”

Julia Kopeika MD, MRCOG, PhD

Consultant Gynaecologist, Subspecialist in Reproductive Medicine. Assisted Conception Unit, Guy's and St Thomas NHS Trust

Advances in cryobiology over the last 60 years made one of the most important contributions in the improvement of overall success in assisted reproduction. Recently, the popularity of freeze all cycles due to some clinical advantages became so strong that clinicians start considering it as a default option. However, surprisingly, very little attention still has been paid to the effect of cryopreservation on genetic integrity and functionality. This paper describes in detail the physical and biochemical factors of cryopreservation that could potentially affect genomic integrity. Drawing on published literature and our own data this paper aims to summarise the evidence on genetic stability after cryopreservation of oocyte, sperm and embryos.

Cryopreservation is a process during which a number of physical and chemical factors, such as osmotic and hydrostatic pressure, ionic intracellular content, pH and temperature, fluctuate over a wide non-physiological range which may have consequence for cellular physiology. With the remit of reproduction, the effect of cryopreservation on

sperm, oocytes and embryos was studied. Some evidence suggests an increase in DNA single strand-breaks, degree of DNA condensation or fragmentation in sperm after cryopreservation. The individual and technical variables that could potentially improve the unwanted effect are described in this talk. Limited numbers of studies on human oocytes also suggest that cryopreservation may increase the rate of polyploidy, Sister Chromatid Exchange and DNA fragmentation. Different freezing regimes and type of cryoprotectants are assessed. Some animal studies show increases in DNA fragmentation rate or mitochondrial DNA variants in embryos after cryopreservation. The limited numbers of long-term follow up studies in human are reassuring but are mostly retrospective with some methodological weaknesses. Conclusions: To date there are no prospective randomised controlled trials, which assess the effect of different cryoprotectants, freezing and thawing regimes on DNA integrity in sperm, oocyte or embryos with a paucity of basic research in human embryos in this area. New perspectives for future research are proposed.



Especialistas en su mercancía...

- Única red en exclusiva de muestras biológicas en España.
- Cumplimiento total de la normativa y legislaciones vigentes.
- Trazabilidad absoluta.
- Geo posición visible por el cliente en tiempo real.
- Certificación por ISO, IATA, ADR y Consejero De Seguridad.

En las principales ciudades:

- Alicante • Baleares • Barcelona • Bilbao
- Canarias & Tenerife • Madrid • Sevilla • Valencia • Zaragoza

Próximamente...

96 182 66 42 - info@lab-courier.com

EFFECTO DE LA VITRIFICACIÓN DE OVOCITOS EN LA CALIDAD EMBRIONARIA: ANÁLISIS DE TIME-LAPSE Y EVALUACIÓN MORFOCINÉTICA

Ana Cobo Cabal

Clínica IVI Valencia, Valencia, España

INTRODUCCIÓN

Hoy en día podemos decir que la vitrificación del gameto femenino es uno de los hitos más notables en medicina reproductiva ya que permite almacenar ovocitos a temperaturas criogénicas proporcionando altas tasas de éxito (Cobo et al., 2015; Argyle et al., 2016). Los programas de donación de óvulos están entre los principales beneficiarios de esta técnica, ya que la disponibilidad de bancos de ovocitos ha permitido superar los inconvenientes más comunes relacionados con las donaciones en fresco, como son la sincronización entre donantes y receptoras, y las largas listas de espera. Además, la disponibilidad de bancos de ovocitos permite la posibilidad de salvar el período de cuarentena. Recientemente, la existencia de reservas de ovocitos de donante almacenados, ha abierto la posibilidad transportar muestras entre centros, haciendo mucho más flexible el proceso de encontrar la donante idónea. En la última década, la utilización de ovocitos vitrificados de donante ha aumentado gradualmente, hasta convertirse en una estrategia comúnmente utilizada por la gran mayoría de centros de reproducción asistida. Así mismo, la utilización de ovocitos vitrificados se ha extendido a otras aplicaciones clínicas especialmente a la preservación de la fertilidad ya sea electiva, oncológica o por razones médicas distintas al cáncer (Cobo et al., 2016; Cobo et al., 2018).

La validación de la vitrificación de ovocitos se ha realizado principalmente mediante la evaluación de las tasas de supervivencia, los parámetros de desarrollo embrionario, y el resultado clínico de los ciclos realizados con ovocitos vitrificados incluyendo el análisis de las tasas de implantación, gestación y de nacidos vivos. Estos resultados se han comparado típicamente entre ovocitos frescos y vitrificados, o entre congelación lenta y vitrificación. Un estudio publicado en el 2008 mostró un desarrollo embrionario similar a partir de ovocitos frescos frente a ovocitos vitrificados (Cobo et al., 2008), mientras que la validación clínica del uso de ovocitos vitrificados para la donación de óvulos se demostró más adelante en un ensayo clínico controlado aleatorizado (Cobo et al., 2010a). Clásicamente, las evaluaciones de la calidad del embrión se han basado en criterios morfológicos, que involucran obser-

vaciones estáticas convencionales, que ciertamente están vinculadas a puntos temporales específicos y variaciones inter-observador. El desarrollo embrionario es un proceso dinámico, y varias etapas críticas pueden pasar desapercibidas en la evaluación morfológica tradicional. Como se ha demostrado ampliamente, el análisis morfocinético de la división celular ofrece un análisis mucho más preciso del desarrollo del embrión y proporciona información detallada de la morfología en cada paso de la división celular (Meseguer et al., 2011; Basile et al., 2015). Parámetros relevantes como la multinucleación y la fragmentación, o los patrones de división anormal y otras mediciones morfocinéticas, solo pueden evaluarse adecuadamente mediante la tecnología de time-lapse (Meseguer et al., 2012; Freour et al., 2013; Rubio et al., 2014; Kovacs, 2014; Siristatidis et al., 2015; Castello et al., 2016).

La vitrificación consiste en la solidificación de una solución acuosa en ausencia de cristales de hielo. Durante el proceso, las células se someten a un alto estrés osmótico y la mayoría del contenido de agua intracelular se reemplaza con los crioprotectores permeables. Al desvitrificar (calentamiento), las células se rehidratan y se eliminan los crioprotectores. Dada la naturaleza del proceso, cabría la hipótesis de que todos estos cambios fisicoquímicos podrían causar alguna alteración en la morfocinética en el embrión. Hasta la publicación de los primeros estudios de time-lapse de ovocitos vitrificados (Chamayou et al., 2015), se sabía muy poco acerca de la morfocinética de los embriones generados a partir de ovocitos vitrificados. Este estudio mostró una rápida desaparición pronuclear en ovocitos vitrificados, así como diferente duración de la etapa de cigoto y la actividad de los nucleolos que se observaron en mayor número y con un diámetro menor en esta etapa. En contraste, la cinética del embrión durante la división celular fue similar a la observada para ovocitos frescos de la misma cohorte.

Con el fin de evaluar los posibles efectos de la vitrificación en el desarrollo embrionario, diseñamos un estudio cuyo propósito fue evaluar el efecto de la vitrificación de ovocitos en los parámetros morfocinéticos de los embriones generados tras la vitrificación comparados con valores que presentan los em-

SESIÓN DE CRIOBIOLOGÍA

briones desarrollados a partir de ovocitos frescos abarcando el desarrollo embrionario completo hasta el estadio de blastocisto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño del estudio y población.

Estudio observacional (IRB Ref: 1511-VLC-062-AC, 111/11/2015) que incluyó 1359 ciclos de donación de óvulos (OD) (N = 9936 embriones) realizados con ovocitos frescos y 631 ciclos de OD (N = 3794 embriones) realizados con ovocitos vitrificados (figura 1). Todas las donantes cumplieron con nuestros criterios de inclusión. Los protocolos de estimulación ovárica utilizados, así como la preparación endometrial en la receptora, se realizaron como se ha descrito previamente (Cobo et al., 2015).

Protocolo de vitrificación de ovocitos

Los ovocitos para vitrificar se denudaron 2 horas tras la punción ovárica. Los ovocitos MII se vitrificaron inmediatamente después de la evaluación de la madurez nuclear, verificando la presencia del primer cuerpo polar. Los ovocitos frescos fueron denudados y microinyectados 4 horas después de la punción. El dispositivo empleado para la vitrificación fue el Cryotop (Kitazato, Dibimed) siguiendo el protocolo como ya se ha descrito previamente (Kuwayama et al., 2005; Cobo et al., 2015; Coello et al., 2016). En breve, tras 12 minutos de equilibrio gradual en una mezcla de 15% (v / v) de etilenglicol y dimetilsulfóxido en medio de tampón suplementado con hidroxipropilcelulosa (Coello et al., 2016), los ovocitos se expusieron a una solución de vitrificación manteniendo la misma mezcla de crioprotectores, pero doblemente concentrado (30% v / v), durante 50-60 segundos. La carga se realizó en los siguientes 10 segundos colocando ovocitos en el dispositivo contenidos en mínimo volumen. La vitrificación se indujo por inmersión inmediata en nitrógeno líquido. Se cargaron cuatro ovocitos (máximo) por Cryotop. Los ovocitos se almacenaron en tanques de vapor (congelador isotérmico V1500-AB, CBS) durante un tiempo variable (Cobo et al., 2010b).

Durante el calentamiento, los crioprotectores se diluyeron sometiéndolos a una solución hiperosmolar que contenía trehalosa 1,0 M a 37°C (Coello et al., 2016). La dilución continuó durante 3 minutos a temperatura ambiente en una solución que contenía el mismo azúcar diluido a la mitad. El procedimiento de desvitrificación (calentamiento) se completó con dos lavados (5 minutos y 1 minuto respectivamente) en solución tampón a temperatura ambiente.

Condiciones de Cultivo

Después de la desvitrificación, los ovocitos se colocaron en condiciones de cultivo estándar al 5% de CO₂ y O₂ atmosférico a 37°C durante 2 h antes de la inyección intracitoplasmática de espermatozoides. Una vez inyectados, los ovocitos se colocaron en los pocillos individuales de un EmbryoSlide pre-equilibrado (EmbryoSlide®, Vitrolife, Aarhus, Dinamarca). Los pocillos se llenaron con 20 µl de nuestros medios de cultivo regulares (Cook®, Dublín, Irlanda). Los medios se cambiaron el día 3 cuando los embriones se cultivaron al día 5-6 (CCM, Vitrolife, Goteborg, Suecia). El sistema de time-lapse (TMS) utilizado para monitorizar los parámetros morfofocinéticos fue EmbryoScope™ (ES; Vitrolife). Las imágenes se obtuvieron cada 20 minutos en siete planos focales diferentes durante 72 h, 120 h o 144 h de cultivo.

Parámetros morfofocinéticos y variables analizadas

Las imágenes de cada embrión fueron analizadas retrospectivamente con el software Embryoviewer. Todas las características tanto cinéticas como dinámicas del desarrollo embrionario fueron anotadas junto con los tiempos exactos en los que acontecían (Cruz et al., 2013). El tiempo exacto para cada división embrionaria fue calculado como horas después del ICSI. Se consideró que una división se había completado cuando las nuevas blastómeras se separaron completamente por membranas claramente definidas. El registro de la cinética embrionaria se realizó desde la primera división celular hasta el estadio de blastocisto (Figura 2). Los parámetros morfofocinéticos analizados incluyeron:

- t2: tiempo de la división a dos células
- t3: tiempo de la división a tres células
- t4: tiempo de la división a cuatro células
- t5: tiempo de la división a cinco células
- tM: tiempo de compactación o formación de mórula
- tB: tiempo para la formación de un blastocisto con cavidad blastocélica.
- tEB: tiempo para la formación de un blastocisto expandido.
- tHB: tiempo para la formación de un blastocisto eclosionado.

A partir de estos resultados se obtuvieron otros parámetros indirectos relacionados con la duración de los ciclos celulares:

- cc2 (t3-t2): duración del segundo ciclo celular.
- S2 (t4-t3): sincronía del segundo ciclo celular, es decir, en la transición desde un embrión de 3 células a un embrión de 4 células.

Se calculó el porcentaje de embriones incluidos en los rangos de tiempo óptimos definidos previamente por Meseguer

SESIÓN DE CRIOBIOLOGÍA

(Meseguer et al., 2011) para los parámetros incluidos en el modelo. Estos intervalos se definieron de la siguiente manera: t5, 48,8–56,6 h; s2 (t4 t3), <0,76 h, y cc2, <11,9 h. También se identificaron los embriones que cumplían alguno de los siguientes criterios de exclusión propuestos por el modelo: tamaño desigual de blastómeras en el estadio de 2 células, multinucleación en el estadio de 4 células, y división abrupta del cigoto, de 1 a 3 células (cc2 <5 h).

Categorías morfocinéticas

Todos los embriones se clasificaron de acuerdo al modelo de selección jerárquico publicado por Meseguer, basado en las correlaciones entre los parámetros morfocinéticos y la implantación embrionaria (Figura 3). Este modelo consideró el parámetro t5 como el más predictivo, seguido de s2. De este modo, los embriones se asignaron a 4 categorías con decreciente potencial de implantación, desde A hasta D.

De esta forma, si el valor t5 de un embrión estaba dentro del rango óptimo, el embrión era clasificado como A o B, según si el valor s2 estaba dentro o no del rango óptimo, respectivamente. Si el valor t5 estaba fuera del rango óptimo, el embrión se clasificó como C o D, según si el valor de s2 estaba dentro o fuera del rango óptimo, respectivamente. Cuando se consideró el parámetro cc2, el tercero más predictivo, los embriones se clasificaron en 9 categorías, desde A+ hasta D.

Los embriones que cumplieron alguno de los siguientes criterios se clasificaron como E: tamaño desigual en estadio de 2 células, multinucleación en el estadio de 4 células, y división abrupta del cigoto, de 1 a 3 células.

Las variables clínicas analizadas fueron la tasa de implantación; definida como el número de sacos gestacionales detectados mediante ecografía transvaginal dividido por el número de embriones transferidos; la tasa de gestación clínica; confirmada por la detección de un saco embrionario durante exploración transvaginal más allá de las 5 semanas; la tasa de gestación evolutiva; definida como la presencia de un saco gestacional con latido cardíaco fetal observado en exploración transvaginal a las 12 semanas de gestación y la tasa de recién nacido vivo; definida como feto nacido vivo más allá de las 22 semanas de embarazo.

Análisis estadístico

Para el análisis de resultados, en primer lugar, se exportaron todos los datos procedentes del EmbryoScope® (análisis morfocinético de los embriones) de aquellos ciclos seleccionados para el estudio, y se enlazaron con una base de datos del IVI que incluía los resultados clínicos de cada uno de los ciclos y la evaluación morfológica de los embriones realizada diariamente.

Los parámetros morfocinéticos presentaron una distribución normal y para comparar los valores medios de los mismos entre los ovocitos frescos y vitrificados, se utilizó un análisis de varianza que incluyó los cálculos de los intervalos de confianza al 95%, considerando la presencia de significación estadística cuando el valor de $p < 0.05$. Para la comparación de proporciones y sus diferencias entre los embriones procedentes de ovocitos frescos y vitrificados se usó la prueba chi cuadrado, incluyéndose los intervalos de confianza al 95%. El mismo tipo de pruebas estadísticas se realizaron para analizar los valores clínicos y sus diferencias entre los ciclos donde se utilizaron ovocitos frescos o vitrificados.

Estos análisis se realizaron con el uso del paquete estadístico SPSS (SPSS inc., Chicago IL; Statistical Package for the Social Sciences) versión 22.0.

RESULTADOS

Los parámetros basales de las donantes y las receptoras se muestran en la Tabla 1. No se observaron diferencias significativas en ninguno de estos parámetros. En total, 9936 cigotos originados a partir de ovocitos frescos y 3794 cigotos originados a partir de ovocitos vitrificados, que se cultivaron y monitorizaron en TMS. Los resultados clínicos para las donaciones en fresco y vitrificado según el día de transferencia (día 3 y blastocistos) se observan en la tabla 2.

Los tiempos de división desde el estadio de dos células hasta la formación de blastocisto eclosionado se muestran en la tabla 3. En general, se observa que los embriones que se originaron a partir de ovocitos vitrificados muestran un retraso de una hora desde la primera división en dos células (t2) hasta el momento de blastulación (tB). Sin embargo, no se observan diferencias significativas en el tiempo necesario para alcanzar estadios del desarrollo más avanzados como blastocisto expandido o eclosionado. Respecto a los valores de la duración del segundo ciclo celular (cc2), los datos muestran que no existen diferencias significativas entre ambos grupos de ovocitos. Sin embargo, si hay diferencias en la sincronía del segundo ciclo celular (s2), donde el grupo de ovocitos vitrificados presenta una mayor asincronía. La Figura 4 representa los valores de los parámetros analizados para cada uno de los grupos. Se comparó la proporción de embriones cuyos tiempos de división embrionaria se encontraban dentro de los considerados como tiempos óptimos de división y que, por tanto, están relacionados con un mayor potencial de implantación. Los valores para t5 fueron 36,4% vs. 33,7% para el grupo de ovocitos frescos y para el de vitrificados respectivamente; los valores para s2 fueron 50,9% vs. 47,5% y para cc2 fueron 46,4% vs. 35,7% para cada uno de los grupos ($P < 0,05$).

SESIÓN DE CRIOBIOLOGÍA

La clasificación embrionaria según el modelo de árbol jerárquico, mostró que la proporción de embriones asignados a cada categoría morfofocinética (A-E) era similar entre el grupo de ovocitos frescos y el de vitrificados, no presentándose diferencias significativas entre ambos (Tabla 4). En resumen, la proporción de embriones para cada categoría sería: categoría A, 16,0% vs. 15,9%; categoría B, 12,7% vs. 11,0%; categoría C, 23,3% vs. 22,7%; categoría D, 16,7% vs. 19,6%; y categoría E, 31,4% vs. 30,9% para el grupo de ovocitos frescos y vitrificados respectivamente.

Cuando los embriones se clasificaron utilizando el parámetro cc2 como tercera variable más predictiva, tampoco se encontraron diferencias significativas en la distribución de embriones entre las 9 categorías resultantes. Se calculó la tasa de implantación según la distribución embrionaria en cada una de las categorías morfofocinéticas propuestas por el modelo predictivo de selección (Meseguer et al., 2011), tanto en el grupo de ovocitos frescos como en el de vitrificados. No se observaron diferencias significativas para ninguna de las categorías en relación al origen de los ovocitos (Figura 5).

DISCUSIÓN

En los últimos años, la eficiencia, consistencia y reproducibilidad de la vitrificación de ovocitos ha quedado demostrada a través de numerosas publicaciones (Rienzi et al., 2017). La clave de su éxito radica en la capacidad de evitar la formación de hielo, pero también en su simplicidad, rapidez y bajo precio. Las tasas de éxito que ofrece la técnica, han hecho que numerosas clínicas la utilicen como técnica de elección para la criopreservación del gameto femenino.

La vitrificación de ovocitos ha tenido un impacto positivo especialmente en los programas de donación de ovocitos al proporcionar resultados clínicos eficientes a la vez de facilitar su logística y funcionamiento. La validación clínica del uso de ovocitos vitrificados en éstos programas se demostró en un estudio clínico controlado y aleatorizado, en el que se comparó la tasa de gestación evolutiva entre ovocitos frescos y vitrificados (Cobo et al., 2010a). Posteriormente, el rendimiento del banco de ovocitos fue confirmado en otro estudio donde se incluyeron más de 3000 ciclos de ovo-donación con más de 40000 ovocitos vitrificados (Cobo et al., 2015). Por otra parte, el resultado obstétrico y perinatal de las gestaciones y los recién nacidos vivos gestados a partir de ovocitos vitrificados es comparable al resultado obtenido con ovocitos frescos (Cobo et al., 2014), lo que indudablemente también ha contribuido a la validación de la técnica. Gracias a los resultados obtenidos con ovocitos vitrificados para ovodonación, su uso se ha extendido a otras indicaciones utilizando ovocitos propios, principalmente en la

preservación de la fertilidad (Cobo et al., 2012; Cobo et al., 2016; Doyle et al., 2016).

La vitrificación se puede lograr en el laboratorio como resultado de un equilibrio alcanzado entre varios factores, incluida la concentración y el tipo de crioprotectores, las tasas de enfriamiento y calentamiento y el volumen que contiene las muestras (Saragusty and Arav, 2011). Durante el proceso, las células se deshidratan osmóticamente cuando entran en contacto con la mezcla crioprotectora, y el contenido de agua intracelular se reemplaza con el crioprotector permeable (Vajta and Nagy, 2006). Estos agentes alcanzan el estado vítreo cuando la temperatura desciende a una velocidad muy alta. Al calentarse, el proceso se revierte y las células se rehidratan, mientras que los crioprotectores se diluyen. Se desconoce si estos cambios temporales drásticos en la composición del citosol pueden causar alguna alteración en los patrones morfofocinéticos de los embriones generados tras el proceso. Por lo tanto, la vitrificación de ovocitos puede actuar como un factor externo que puede modificar la sincronización del progreso del embrión. Hasta la aparición de la tecnología de time-lapse, el análisis de los embriones desarrollados a partir de ovocitos vitrificados, se basó en el criterio morfológico. Aunque la morfología es un parámetro reconocido de evaluación de la calidad del embrión, la morfofocinética ha demostrado ser una herramienta muy poderosa, ya que se pueden detectar diferencias sutiles entre embriones individuales y proporciona una medida mucho más objetiva del desarrollo del embrión (Castello et al., 2016). La sincronización exacta de cada división celular y los rangos óptimos para los parámetros cinéticos más discriminativos (t5, s2 y cc2), que se correlacionaron de manera significativa con una mayor probabilidad de implantación, han sido detectados anteriormente (Meseguer et al., 2011) y validados a continuación mediante estudios clínicos, tanto retrospectivos como prospectivos (Meseguer et al., 2012; Rubio et al., 2014). En el presente estudio, encontramos diferencias en la cinética de los embriones cuando se originaron a partir de ovocitos vitrificados al compararlos con los ovocitos frescos. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas y revelaron un retraso de alrededor de 1 h en cada división celular hasta la etapa temprana de blastocisto. Sin embargo, un hallazgo muy interesante fue que la duración del segundo ciclo celular (cc2) fue exactamente la misma en los dos grupos. Cabe destacar, que esta medida es uno de los parámetros de calidad más predictivos de calidad embrionaria (Meseguer et al., 2011). Un estudio concluyó que los embriones con valores de cc2 fuera de un rango óptimo, presentaban patrones anormales de ARN para la citocinesis, biogénesis de micro ARN y reservas de ARNm materno, sugiriendo que el destino del embrión podía ser predeterminado y heredado muy tempranamente en el desarrollo (Wong et al., 2010). Éste es sin

SESIÓN DE CRIOBIOLOGÍA

duda un hecho relevante, ya que la replicación del ADN ocurre durante este período, y su duración no se altera en los embriones que provienen de ovocitos vitrificados, por lo tanto, cabría la hipótesis de que los embriones en el grupo de vitrificación en realidad no son más lentos que los de origen fresco, sino que comienzan las divisiones celulares más tarde y, lo que es más importante, tardan el mismo tiempo en la replicación del ADN. Esto podría explicar por qué estudios previos han mostrado tasas de implantación y resultados clínicos comparables en ovocitos vitrificados versus frescos (Cobo et al., 2010a; Rienzi et al., 2010; Doyle et al., 2016). Según la literatura, las razones que explican las alteraciones en el tiempo de las divisiones celulares dependen principalmente de las alteraciones cromosómicas, que pueden retrasar las replicaciones del ADN (Jones et al., 1998; Lechniak et al., 2008). Las alteraciones en el metabolismo embrionario debido a condiciones de cultivo subóptimas también causan cambios significativos en los perfiles de expresión de los genes importantes para el desarrollo de las respuestas hipóxicas (Bean et al., 2002; Mullen et al., 2002). Además, los tiempos división celular alterados también pueden ser causados por algunos factores intrínsecos dentro del ovocito, el espermatozoide o ambos (Lechniak et al., 2008). La sincronización diferencial en las divisiones celulares observadas en el grupo de vitrificación no parecía obedecer a ninguna de estas razones, ya que las condiciones de cultivo estaban estrictamente controladas en el sistema TMS para embriones frescos y vitrificados. Además, algunas pruebas indican que la vitrificación de ovocitos no aumenta las tasas de aneuploidía en los embriones generados posteriormente (Forman et al., 2012). Por otra parte, los perfiles metabólicos comparables entre embriones logrados provenientes de ovocitos frescos o vitrificados sugiere que el metabolismo de los mismos no se haya alterado tras el proceso (Dominguez et al., 2013). Otra posible explicación de la diferencia en los parámetros morfocinéticos en las primeras divisiones celulares después de la vitrificación podría ser bastante simple, ya que, después de detener todos los procesos celulares y las reacciones metabólicas, la reactivación de la maquinaria puede llevar mucho tiempo y puede implicar esfuerzos adicionales para las células, lo que podría implicar un mayor coste energético. Las mitocondrias son esenciales para producir la energía requerida para realizar todos los procesos celulares coordinados, por ejemplo, la muerte celular programada o la formación de huso (Dumollard et al., 2007). Además se ha mostrado que disfunciones mitocondriales también se han relacionado con el bloqueo embrionario *in vitro* (Thouas et al., 2004). Las alteraciones en la polaridad mitocondrial después de la congelación lenta de los ovocitos se han asociado con defectos en la señalización de Ca_2+ después de la inseminación, mientras que no se han detectado cambios en los niveles de ATP en los ovocitos post-descongelados (Jones et al., 2004). Aunque se obser-

van cambios en la polaridad mitocondrial (Chen et al., 2012) y alteraciones en los niveles de ATP (Manipalviratn et al., 2011) después de la vitrificación de ovocitos, parecen temporales, y son seguidos por una recuperación espontánea a los niveles observados en ovocitos frescos 3-4 después del cultivo. Además, un estudio muy reciente ha demostrado que la vitrificación afecta el estado redox hacia la oxidación, incluso aunque la distribución mitocondrial y la polaridad no se vean afectadas por la vitrificación (Nohales-Corcoles et al., 2016). Vale la pena mencionar que la mayoría de estos estudios se realizaron con ovocitos madurados *in vitro* o fallos de fecundación, y es difícil extrapolar los resultados a ovocitos MII frescos, es decir, no envejecidos (Nohales-Corcoles et al., 2016). Estos autores han sugerido que incluir agentes antioxidantes en las soluciones de vitrificación, para evaluar más adelante el estado redox podría ayudar a aclarar estas dudas. Podríamos suponer que la disminución de la actividad mitocondrial después de la vitrificación de ovocitos podría ser responsable del retraso en los tiempos de división celular observado en este estudio. La reversibilidad observada anteriormente en estas alteraciones (Manipalviratn et al., 2011) respalda la teoría de que los ovocitos vitrificados necesitan más tiempo para superar los cambios que se producen durante el proceso. También podríamos especular que retrasar el ICSI en 1 hora en el grupo de vitrificación podría mitigar el retraso en las divisiones embrionarias. Sin embargo, el proceso se desarrolla normalmente una vez que la maquinaria responsable de la división celular se pone en marcha, como lo muestra la duración similar del ciclo celular y la tasa de implantación similar observadas.

Además, la distribución similar observada de todas las categorías morfocinéticas en el árbol jerárquico, y el potencial de implantación en cada categoría no difirió entre los embriones de ovocitos vitrificados y frescos. Esto puede sugerir que, a pesar del retraso en el inicio de las divisiones celulares, el potencial de los ovocitos vitrificados no se ve alterado en gran medida. Por otra parte, aunque la proporción de embriones en el grupo de vitrificación que cayó dentro de los rangos óptimos de división celular (t5, s2, cc2) fue menor, estas diferencias no se reflejaron cuando los embriones se clasificaron de acuerdo en el árbol jerárquico.

En conclusión, aunque observamos un retraso en el inicio de las divisiones celulares en el grupo de ovocitos vitrificados, la duración del ciclo celular cuando ocurre la replicación del ADN, fue similar. Por lo tanto, no queda claro si estas alteraciones tienen consecuencias para el potencial de los ovocitos vitrificados, ya que no se observaron impactos en la implantación ni en el resultado clínico.

SESIÓN DE CRIOBIOLOGÍA

REFERENCIAS

- Argyle C.E., Harper J.C., Davies M.C. Oocyte cryopreservation: where are we now? *Hum Reprod Update* 2016; 22: 440-449.
- Basile N., Caiazza M., Meseguer M. What does morphokinetics add to embryo selection and in-vitro fertilization outcomes? *Curr Opin Obstet Gynecol* 2015; 27: 193-200.
- Bean C.J., Hassold T.J., Judis L., Hunt P.A. Fertilization in vitro increases non-disjunction during early cleavage divisions in a mouse model system. *Hum Reprod* 2002; 17: 2362-2367.
- Castello D., Motato Y., Basile N., Remohi J., Espejo-Catena M., Meseguer M. How much have we learned from time-lapse in clinical IVF? *Mol Hum Reprod* 2016; 22: 719-727.
- Cobo A., Garcia-Velasco J., Domingo J., Pellicer A., Remohi J. Elective and Onco-fertility preservation: factors related to IVF outcomes. *Hum Reprod* 2018; 33: 2222-2231.
- Cobo A., Garcia-Velasco J.A., Coello A., Domingo J., Pellicer A., Remohi J. Oocyte vitrification as an efficient option for elective fertility preservation. *Fertil Steril* 2016; 105: 755-764 e758.
- Cobo A., Garrido N., Crespo J., Jose R., Pellicer A. Accumulation of oocytes: a new strategy for managing low-responder patients. *Reproductive biomedicine online* 2012; 24: 424-432.
- Cobo A., Garrido N., Pellicer A., Remohi J. Six years' experience in ovum donation using vitrified oocytes: report of cumulative outcomes, impact of storage time, and development of a predictive model for oocyte survival rate. *Fertil Steril* 2015; 104: 1426-1434 e1428.
- Cobo A., Kuwayama M., Perez S., Ruiz A., Pellicer A., Remohi J. Comparison of concomitant outcome achieved with fresh and cryopreserved donor oocytes vitrified by the Cryotop method. *Fertil Steril* 2008; 89: 1657-1664.
- Cobo A., Meseguer M., Remohi J., Pellicer A. Use of cryo-banked oocytes in an ovum donation programme: a prospective, randomized, controlled, clinical trial. *Hum Reprod* 2010a; 25: 2239-2246.
- Cobo A., Romero J.L., Perez S., de los Santos M.J., Meseguer M., Remohi J. Storage of human oocytes in the vapor phase of nitrogen. *Fertility and sterility* 2010b; 94: 1903-1907.
- Cobo A., Serra V., Garrido N., Olmo I., Pellicer A., Remohi J. Obstetric and perinatal outcome of babies born from vitrified oocytes. *Fertility and sterility* 2014; 102: 1006-1015 e1004.
- Coello A., Campos P., Remohi J., Meseguer M., Cobo A. A combination of hydroxypropyl cellulose and trehalose as supplementation for vitrification of human oocytes: a retrospective cohort study. *J Assist Reprod Genet* 2016.
- Cruz M., Garrido N., Gadea B., Munoz M., Perez-Cano I., Meseguer M. Oocyte insemination techniques are related to alterations of embryo developmental timing in an oocyte donation model. *Reprod Biomed Online* 2013; 27: 367-375.
- Chamayou S., Romano S., Alecci C., Storaci G., Ragolia C., Palagiano A., Guglielmino A. Oocyte vitrification modifies nucleolar remodeling and zygote kinetics—a sibling study. *J Assist Reprod Genet* 2015; 32: 581-586.
- Chen C., Han S., Liu W., Wang Y., Huang G. Effect of vitrification on mitochondrial membrane potential in human metaphase II oocytes. *Journal of assisted reproduction and genetics* 2012; 29: 1045-1050.
- Dominguez F., Castello D., Remohi J., Simon C., Cobo A. Effect of vitrification on human oocytes: a metabolic profiling study. *Fertility and sterility* 2013; 99: 565-572 e563.
- Doyle J.O., Richter K.S., Lim J., Stillman R.J., Graham J.R., Tucker M.J. Successful elective and medically indicated oocyte vitrification and warming for autologous in vitro fertilization, with predicted birth probabilities for fertility preservation according to number of cryopreserved oocytes and age at retrieval. *Fertil Steril* 2016; 105: 459-466 e452.
- Dumollard R., Duchen M., Carroll J. The role of mitochondrial function in the oocyte and embryo. *Curr Top Dev Biol* 2007; 77: 21-49.
- Forman E.J., Li X., Ferry K.M., Scott K., Treff N.R., Scott R.T., Jr. Oocyte vitrification does not increase the risk of embryonic aneuploidy or diminish the implantation potential of blastocysts created after intracytoplasmic sperm injection: a novel, paired randomized controlled trial using DNA fingerprinting. *Fertility and sterility* 2012; 98: 644-649.
- Freour T., Dessolle L., Lammers J., Lattes S., Barriere P. Comparison of embryo morphokinetics after in vitro fertilization-intracytoplasmic sperm injection in smoking and nonsmoking women. *Fertil Steril* 2013; 99: 1944-1950.
- Jones A., Van Blerkom J., Davis P., Toledo A.A. Cryopreservation of metaphase II human oocytes effects mitochondrial membrane potential: implications for developmental competence. *Hum Reprod* 2004; 19: 1861-1866.
- Jones G.M., Trounson A.O., Lolatgis N., Wood C. Factors affecting the success of human blastocyst development and pregnancy following in vitro fertilization and embryo transfer. *Fertil Steril* 1998; 70: 1022-1029.
- Kovacs P. Embryo selection: the role of time-lapse monitoring. *Reprod Biol Endocrinol* 2014; 12: 124.
- Kuwayama M., Vajta G., Kato O., Leibo S.P. Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. *Reprod Biomed Online* 2005; 11: 300-308.
- Lechniak D., Pers-Kamczyc E., Pawlak P. Timing of the first zygotic cleavage as a marker of developmental potential of mammalian embryos. *Reprod Biol* 2008; 8: 23-42.
- Manipalviratn S., Tong Z.B., Stegmann B., Widra E., Carter J., DeCherney A. Effect of vitrification and thawing on human oocyte ATP concentration. *Fertil Steril* 2011; 95: 1839-1841.

SESIÓN DE CRIOBIOLOGÍA

Meseguer M., Herrero J., Tejera A., Hilligsoe K.M., Ramsing N.B., Remohi J. The use of morphokinetics as a predictor of embryo implantation. *Human reproduction* 2011; 26: 2658-2671.

Meseguer M., Rubio I., Cruz M., Basile N., Marcos J., Requena A. Embryo incubation and selection in a time-lapse monitoring system improves pregnancy outcome compared with a standard incubator: a retrospective cohort study. *Fertility and sterility* 2012; 98: 1481-1489 e1410.

Mullen S., Broermann D., Jenkins C., Johnson C., Crister J. The effect of anisotomic conditions on the morphology of the metaphase II spindle of human oocytes, and its relevance to cryopreservation. *Fertil. Steril.* 2002; 78: Suppl. 1. September.

Nohales-Corcoles M., Sevillano-Almerich G., Di Emidio G., Tatone C., Cobo A.C., Dumollard R., De Los Santos Molina M.J. Impact of vitrification on the mitochondrial activity and redox homeostasis of human oocyte. *Hum Reprod* 2016; 31: 1850-1858.

Rienzi L., Gracia C., Maggiulli R., LaBarbera A.R., Kaser D.J., Ubaldi F.M., Vanderpoel S., Racowsky C. Oocyte, embryo and blastocyst cryopreservation in ART: systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance. *Hum Reprod Update* 2017; 23: 139-155.

Rienzi L., Romano S., Albricci L., Maggiulli R., Capalbo A., Baroni E., Colamaria S., Sapienza F., Ubaldi F. Embryo development of fresh 'versus' vitrified metaphase II oocytes after ICSI: a prospective randomized sibling-oocyte study. *Human reproduction* 2010; 25: 66-73.

Rubio I., Galan A., Larreategui Z., Ayerdi F., Bellver J., Herrero J., Meseguer M. Clinical validation of embryo culture and selection by morphokinetic analysis: a randomized, controlled trial of the EmbryoScope. *Fertility and sterility* 2014; 102: 1287-1294 e1285.

Saragusty J., Arav A. Current progress in oocyte and embryo cryopreservation by slow freezing and vitrification. *Reproduction* 2011; 141: 1-19.

Siristatidis C., Komitopoulou M.A., Makris A., Sialakouma A., Botzaki M., Mastorakos G., Salamalekis G., Bettocchi S., Palmer G.A. Morphokinetic parameters of early embryo development via time lapse monitoring and their effect on embryo selection and ICSI outcomes: a prospective cohort study. *J Assist Reprod Genet* 2015; 32: 563-570.

Thouas G.A., Trounson A.O., Wolvetang E.J., Jones G.M. Mitochondrial dysfunction in mouse oocytes results in preimplantation embryo arrest in vitro. *Biol Reprod* 2004; 71: 1936-1942.

Vajta G., Nagy Z.P. Are programmable freezers still needed in the embryo laboratory? Review on vitrification. *Reproductive biomedicine online* 2006; 12: 779-796.

Wong C.C., Loewke K.E., Bossert N.L., Behr B., De Jonge C.J., Baer T.M., Reijo Pera R.A. Non-invasive imaging of human embryos before embryonic genome activation predicts development to the blastocyst stage. *Nature biotechnology* 2010; 28: 1115-1121.

Tabla 1. Características demográficas de donantes y receptoras

Donantes	Ovocitos frescos	Ovocitos vitrificados
Nº de ciclos de donación	1359	631
Edad (años)	26,2 (25,9 - 26,5)	26,4 (26,2 - 26,8)
Tasa de supervivencia (%)		94,5 (93,8 - 95,2)
Receptoras	Ovocitos frescos	Ovocitos vitrificados
Nº de receptoras	1359	631
Edad (años)	40,4 (40,1 - 40,6)	40,5 (40,3 - 40,7)
IMC (Kg/m2)	25,0 (24,7 - 25,3)	21,0 (20,8 - 21,2)
Días de preparación endometrial	18,4 (18,0 - 18,8)	17,0 (16,5 - 17,5)
MII inseminados por paciente	10,5 (10,4 - 10,7)	10,1 (9,9 - 10,3)
Concentración espermática (%)	47,4 (46,6 - 48,2)	46,9 (45,2 - 48,6)
Movilidad espermática (%)	31,7 (30,6 - 32,8)	31,4 (30,2 - 32,5)
Tasa de fecundación (%)	78,0 (77,3 - 78,6)	77,1 (76,1 - 78,1)
Tasa de llegada a blastocisto en d5 (%)	73,8 (72,7 - 74,9)	70,2 (68,2 - 72,2)
Tasa de llegada a blastocisto en d6 (%)	79,8 (78,8 - 80,8)	80,9 (79,1 - 82,6)

Tabla 2. Resultado clínico según día de transferencia embrionaria (TE)

	Ovocitos frescos		Ovocitos Vitrificados	
	Día 3	Blastocisto	Día 3	Blastocisto
Número de ciclos	862	497	443	188
Número de TE	1638	840	833	323
Media de embriones transferidos	1.90	1.69	1.88	1.72
Tasa de implantación	36.2 (33.8-38.7)	51.6 (48.1-55.1)	36.1 (32.3-39.9)	49.4 (43.2-55.5)
Gestación clínica	51.8 (48.6-54.9)	66.3 (62.3-70.2)	50.7 (45.9-55.4)	63.9 (56.9-60.9)
Gestación evolutiva	43.8 (40.7-46.9)	58.9 (54.7-62.9)	43.2 (38.5-47.9)	56.3 (49.0-63.5)
Tasa de recién nacido vivo	37.8 (34.6-41.0)	53.4 (49.0-57.8)	35.9 (31.4-40.9)	52.0 (44.9-59.1)

Los números en paréntesis representan los intervalos de confianza al 95%

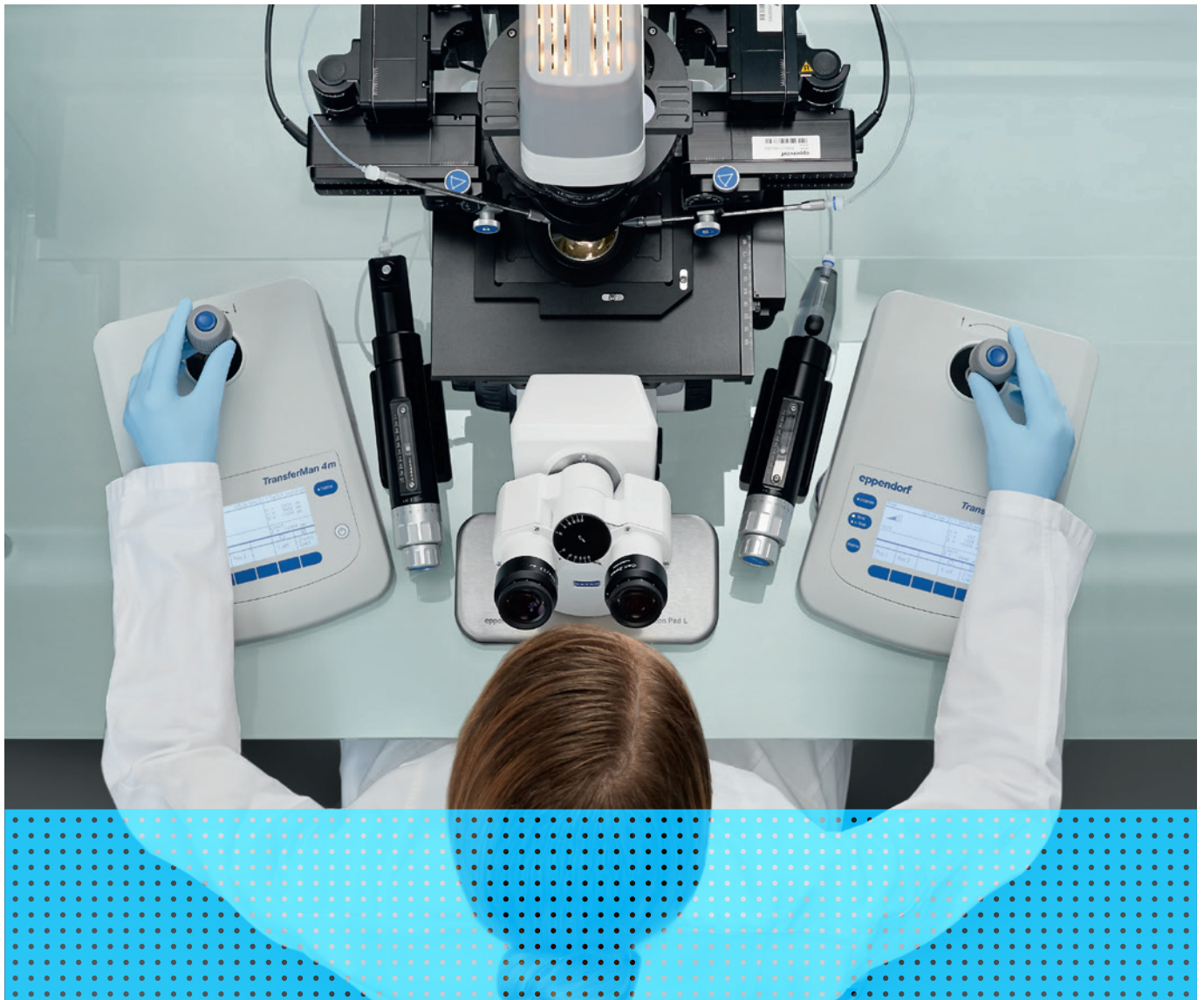
SESIÓN DE CRIOBIOLOGÍA

Tabla 3. Valores de cada uno de los parámetros morfocinéticos según el origen ovocitario

Parámetro	Grupo	N	Media (h)	IC 95%	P valor
t2	Frescos	9935	27,7	27,6 - 27,8	<0,05
	Vitrificados	3793	28,7	28,5 - 28,9	
t3	Frescos	9746	37,8	37,6 - 37,9	<0,05
	Vitrificados	3697	38,9	38,5 - 38,9	
t4	Frescos	9546	40,2	40,1 - 40,3	<0,05
	Vitrificados	3585	41,4	41,2 - 41,7	
t5	Frescos	8789	50,5	50,3 - 50,7	<0,05
	Vitrificados	3141	51,7	51,4 - 52,1	
tM	Frescos	2594	86,6	86,1 - 87,1	<0,05
	Vitrificados	779	88,5	87,5 - 89,4	
tB	Frescos	1938	103,4	103,0 - 103,9	0,016
	Vitrificados	580	104,5	103,7 - 105,4	
tEB	Frescos	1045	114,4	113,8 - 114,9	0,466
	Vitrificados	325	114,8	113,7 - 115,9	
tHB	Frescos	164	114,9	113,4 - 116,4	0,196
	Vitrificados	59	116,9	113,8 - 120,0	
cc2	Frescos	9746	10,2	10,1 - 10,3	0,901
	Vitrificados	3697	10,2	10,0 - 10,4	
S2	Frescos	9546	2,6	2,5 - 2,6	<0,05
	Vitrificados	3585	2,9	2,7 - 3,1	

Tabla 4. Clasificación embrionaria según el modelo de árbol jerárquico

	CATEGORÍA MORFOCINÉTICA									
	A	B	C	D	E					
Frescos	1404 (16,0%)	1120 (12,7%)	2038 (23,2%)	1471 (16,7%)	2756 (31,4%)					
Vitrificados	498 (15,9%)	344 (11,0%)	712 (22,7%)	615 (19,6 %)	972 (30,9%)					
	A+	A-	B+	B-	C+	C-	D+	D-	E	
Frescos	929 (10,6%)	475 (5,4%)	739 (8,4%)	381 (4,3%)	1255 (14,3%)	783 (8,9%)	773 (8,8%)	698 (7,9%)	2756 (31,4%)	
Vitrificados	297 (9,5%)	201 (6,4%)	222 (7,1%)	122 (3,9%)	315 (10,0%)	397 (12,6%)	145 (7,8%)	370 (11,8%)	972 (30,9 %)	



Air Craft

Nuevos Eppendorf CellTram® 4m Air y CellTram® 4m Oil para el control óptimo de sus muestras

El trabajo con la nueva generación de CellTrams es como un soplo de aire fresco. Nuestros nuevos microinyectores han sido diseñados con especial énfasis en una ergonomía de excelencia, facilidad de uso y la más alta precisión.

El CellTram 4m Air es ideal para sujeción de células, mientras que el CellTram 4m Oil proporciona una máxima capacidad de respuesta. Ambos modelos se adecúan a todas las técnicas de trabajo y están optimizados para el uso fiable y seguro en reproducción asistida.



www.eppendorf.com/cellmanipulation

Eppendorf®, the Eppendorf Brand Design and CellTram® are registered trademarks of Eppendorf AG, Germany. All rights reserved, including graphics and images. Copyright© 2019 by Eppendorf AG.

*El CellTram 4m ha sido diseñado y manufacturado para la inyección y aspiración de células o partes de células en el contexto de micromanipulaciones ex-vivo en combinación con microcapilares adecuados en el área de la medicina de reproducción humana. Por consiguiente, el CellTram 4m es un producto médico que cumple la directiva 93/42/CEE de la Unión Europea. Solamente se debe utilizar en interiores y solamente por especialistas suficientemente capacitados.

VALIDACIÓN DE UN NUEVO PROTOCOLO BASADO EN SECUENCIACIÓN MASIVA PARA EL DGP DE REORDENAMIENTOS CROMOSÓMICOS ESTRUCTURALES Y SEGMENTOS INTRACROMOSÓMICOS: EL DGP DE ALTA RESOLUCIÓN

Xavier Vendrell^a, Victoria Fernández-Pedrosa^b, Juan Carlos Triviño^c, Rosa Bautista-Llácer^a, Carmen Collado^b, Oscar Rodríguez^c, Elena García-Mengual^a, Marina Benavent^d, Jessica Pons^e, M Carmen Cañadas^f

^aUnidad de Genética Reproductiva. ^bDepartamento de Nuevas Tecnologías. ^cDepartamento de Bioinformática. Sistemas Genómicos. Parc Tecnològic de València. Paterna, València. ^dLaboratorio de embriología. Equipo Juana Crespo. València. ^eLaboratorio de embriología. Quironsalud Vigo. Pontevedra. ^fLaboratorio de embriología. Ginefiv.

INTRODUCCIÓN

La aparición de las técnicas de secuenciación masiva (NGS: Next Generation Sequencing) ha significado un cambio radical en cuanto al enfoque técnico del diagnóstico y cribado genéticos. En el campo de la Genética Reproductiva, este avance ha tenido un impacto especial en el ámbito del PGT-A (Preimplantation Genetic Testing for Aneuploidy) (revisado por Vendrell, 2014). En este contexto, en el momento actual la NGS se ha convertido en la técnica de primera elección. Uno de los principales hitos tras la aplicación de esta tecnología ha sido la detección de mosaicismo cromosómico y segmentos intracromosómicos (Munné et al., 2017, Munné y Wells, 2017). En el presente trabajo nos centraremos en el estudio de la detección de estos segmentos en muestras procedentes de embriones humanos en estadios preimplantación.

La aneuploidía segmental se genera cuando una pequeña porción de un cromosoma se gana o se pierde durante el proceso de división celular, generándose un segmento de tamaño subcromosómico (Treff y Franasiak, 2017). La identificación de estas ganancias o pérdidas en muestras procedentes de los embriones humanos depende de la resolución (poder de detección) de la técnica utilizada para el estudio cromosómico. En este sentido, en el momento actual existe una variedad de tecnologías organizadas en distintas plataformas de análisis (Brezina et al., 2016). Cada uno de estos métodos presenta una capacidad de medida distinta. De forma general podemos distinguir métodos de "baja resolución" y de "alta resolución". Entre los primeros podemos destacar la hibridación *in situ* fluorescente (FISH: fluorescent *in situ* hybridization), las BOBs (BACs-on-Beads: Bacterial Artificial Chromosomes on Beads) o la PCR cuantitativa en tiempo real (qRT-PCR: quan-

titative real time PCR). Estos métodos se han aplicado, y en algún caso se sigue aplicando, para inferir la euploidía/aneuploidía relacionada con cromosomas enteros, pero no permiten identificar de forma precisa variaciones en el número de copia de segmentos intracromosómicos. Por otro lado, existen otros métodos con mayor resolución como la hibridación genómica comparada (CGH: Comparative Genome Hybridization), los microchips de ADN basados en SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) (revisado por Vanneste et al., 2012) y las técnicas basadas en la NGS. Estas tecnologías de alta resolución se han utilizado a nivel clínico para detectar aneuploidía cromosómica y segmental. Los microchips de SNPs son capaces de detectar aneuploidías segmentales de un tamaño máximo de 13.8 Mb (Treff et al., 2011). Los microchips basados en CGH se emplearon durante unos años de forma extensiva en el campo del PGT-A. No obstante, presentaban la limitación de la deficiente detección de las condiciones en mosaico y la aneuploidía segmental en muestras de trofotodermo. El límite de resolución de estos microchips de ADN basados en BACs era de aproximadamente 20 Mb. No obstante, algunos autores publicaron la detección de aneuploidía segmental de un tamaño cercano a las 5 Mb (Colls et al., 2012).

En el momento actual varios grupos en el mundo han validado y/o verificado diferentes plataformas y protocolos basados en la NGS para su aplicación en muestras procedentes de embriones humanos en estadio preimplantación (Tabla 1). Estos protocolos se han empleado para identificar aneuploidía completa y, en algunos casos, segmental. Algunos autores han descrito un tamaño mínimo cercano a las 15 Mb (Fiorentino et al., 2014; Yin et al., 2013), otros autores recogen tamaños mínimos de 10 Mb (Vera-Rodríguez et al., 2016), e incluso mucho menores, cercanos a las 2 Mb (Zheng et al., 2015).

EXPOSICIÓN PREMIO EMB-ASEBIR

Es importante destacar que los métodos mencionados requieren un pretratamiento de las muestras que implican la amplificación del genoma completo. Este paso previo puede introducir artefactos que podrían ser malinterpretados como desequilibrios segmentales. Hasta el momento actual, todos los métodos de preamplificación exhiben diferentes grados de sesgo en relación con el genoma original. Estos sesgos pueden dar lugar a efectos como la pérdida alélica (ADO: allele drop-out), amplificación preferencial, anomalías estructurales del ADN o errores en el número de copias de un determinado nucleótido (Sabina y Leamon, 2015). En cuanto a la incidencia de la aneuploidía segmental, se estima que está presente en cerca de un 6% de los embarazos clínicos (Martínez et al., 2010) y cerca del 0.05% de los recién nacidos (Wellesley et al., 2012), lo que está en línea con la frecuencia de aneuploidía segmental detectada en ovocitos, embriones preimplantación (Babariya et al., 2017) y blastocistos (Johnson et al., 2010; Fragouli et al., 2013).

Por otro lado, una de las indicaciones más habituales en el campo del PGT es el PGT-SR (PGT for Structural Rearrangements). Brevemente, consiste en estudiar los embriones procedentes de parejas en las que uno de los miembros es portador de un reordenamiento cromosómico equilibrado, esto es, una translocación (recíproca o robertsoniana) o una inversión (paracéntrica o pericéntrica). En estos casos, los embriones procedentes de estos progenitores pueden heredar una fórmula cromosómica desequilibrada que se traduce en monosomías o trisomías parciales en los embriones generados (Wang et al., 2019). Estas aneuploidías parciales se manifiestan en forma de segmentos intracromosómicos. En este escenario, resulta necesario establecer el grado de detección de estos segmentos.

El objetivo del presente trabajo consiste en validar un método basado en técnicas de NGS para la detección de los fragmentos cromosómicos derivados de la aneuploidía segmental, así como de los subproductos generados por la segregación cromosómica en casos de parejas portadoras de reordenamientos cromosómicos equilibrados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una comparativa con muestras embrionarias procedentes de casos clínicos de PGT-SR estudiados mediante la técnica de aCGH de BACs. En concreto, se incluyeron muestras de embriones desequilibrados procedentes de progenitores portadores de reordenamientos equilibrados con las siguientes fórmulas cromosómicas: 46,XY,t(2;8)(q13;p11.2)

(n=4); 46,XY,t(1;14)(q25;q23) (n=3) y líneas celulares linfocitos desequilibradas procedentes de pacientes afectados: 46,XX,ins(6;3)(p11.1;q27q25) (n=1); 46,XX,t(9;22)(q21.3;p12.1) (n=1); y por último blastómeros únicos (n=19) y muestras de trofocodermo (n=18) que presentaban ganancias/pérdidas de segmentos intracromosómicos. El protocolo de estudio mediante aCGH se aplicó sobre el ADN amplificado, lavado e hibridado con el kit 24Sure Microarrays kit (Illumina, San Diego, CA, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante. Los microchips fueron escaneados con el escáner G2565CA (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) a 10µm de resolución y analizados con el software BlueFuse Multi de Illumina. El detalle del protocolo de estudio de las muestras por NGS, así como el algoritmo de análisis, las métricas y la visual gráfica se pueden ver en (Vendrell et al., 2017). De forma resumida, el flujo de las muestras incluye: obtención mediante biopsia embrionaria, aplicación de la técnica de amplificación genómica, preparación de librerías de fragmentos, purificación, cuantificación, control de calidad, secuenciación genómica y análisis secundario de los datos de secuenciación. En todos los casos, el ADN o el producto de la amplificación genómica completa (dependiendo del caso) se alicuotaron en dos submuestras: una para aCGH y otra para el estudio por NGS. Finalmente, se comparó la constitución cromosómica obtenida mediante ambas tecnologías.

RESULTADOS

En la Tabla 2 se muestran los resultados comparados de la aneuploidía parcial mediante las dos técnicas. En todos los casos se obtuvo una concordancia completa. La técnica de NGS permite acotar mejor los puntos de corte del segmento cromosómico ganado o perdido. Es importante destacar la forma en la que se muestran los resultados de las parcialidades. La Figura 1 muestra un ejemplo de una muestra embrionaria en la que se detecta una aneuploidía segmental en el cromosoma 3. Los resultados referentes a la euploidía/aneuploidía de los cromosomas enteros para la muestra en cuestión se muestran en la Tabla 3. El riesgo de aneuploidía completa se muestra para cada cromosoma (Tabla 3A). En cuanto a la aneuploidía segmental se muestra en la parte inferior (Tabla 3B), de forma que podemos detectar el tipo de aneuploidía segmental (pérdida o ganancia), el cromosoma implicado, la coordenada genómica de inicio y fin del segmento (expresada en nucleótidos), la nomenclatura en términos de citobandas implicadas y el tamaño en Mb. Asimismo, la Figura 2 muestra gráficamente una representación de la posición del segmento en el cromosoma. En la Tabla 4, se muestran los resultados de la concordancia encontrada en 30 muestras

EXPOSICIÓN PREMIO EMB-ASEBIR

reanalizadas de casos clínicos. Las técnicas de NGS muestran una mayor resolución y, por tanto, una mayor capacidad de detección. En este sentido se destacan hallazgos adicionales como segmentos y mosaicismo en los casos de ADN procedentes de trofotodermo.

El uso de esta tecnología es especialmente relevante en el caso de reordenamientos cromosómicos equilibrados. En estos casos es posible identificar las fórmulas desequilibradas en las muestras embrionarias. En la Figura 3 se muestran algunos ejemplos de las fórmulas desequilibradas correspondientes a blastómeros procedentes de embriones patológicos.

DISCUSIÓN

La aplicación de las técnicas de PGT-A ha revelado un grado variable de inestabilidad cromosómica en los embriones humanos en estadio preimplantación. El concepto de "inestabilidad cromosómica" fue acuñado por Geigl y sus colaboradores (Geigl et al., 2008) y lo definieron como la "tasa de ganancia o pérdida de cromosomas enteros o fracciones cromosómicas", lo cual implica a la aneuploidía, tanto completa como segmental. Esta inestabilidad ha sido utilizada para explicar constituciones cromosómicas anormales durante estadios muy tempranos de la embriogénesis humana. Siguiendo esta línea argumental, la detección de segmentos intracromosómicos es enormemente importante. Actualmente, es necesario ampliar el conocimiento de la frecuencia, tipo, tamaño y distribución cromosómica de estos cambios. De acuerdo con la literatura su prevalencia varía entre el 4% y el 58% (Treff y Franasiak, 2017).

Los resultados obtenidos nos permiten confirmar la capacidad de detección y evidenciar la existencia de estos segmentos intracromosómicos en dos escenarios distintos. En primer lugar, la capacidad de detección de estos segmentos es importante en el contexto del PGT-A. Pero, por otro lado, es una herramienta muy útil para su uso en la detección de fórmulas cromosómicas desequilibradas en los embriones procedentes de progenitores portadores de reordenamientos cromosómicos estructurales equilibrados, es decir el PGT-SR. Desde el punto de vista biológico, ambos escenarios son completamente distintos.

En lo relativo a la aneuploidía segmental en el contexto del PGT-A, la literatura que recoge la génesis de este tipo de eventos es limitada, y su análisis excede al objetivo del presente trabajo. No obstante, diferentes autores han discutido acerca de las evidencias que sugieren mecanismos implicados en la generación de estos segmentos. Los mecanismos parecen

distintos a los que explican las anomalías de cromosomas enteros o el mosaicismo cromosómico. En sentido general, la aneuploidía segmental parece estar relacionada con alteraciones ocurridas durante la mitosis y es independiente de la edad materna (Rabinowitz et al., 2012). Algunos grupos han propuesto un posible origen en la rotura cromosómica, la fusión céntrica combinada con la mala segregación de fragmentos telocéntricos y la formación de cromosomas en anillo, así como la formación de isocromosomas i(p) o i(q) (Perry et al., 2004). Asimismo, también se ha sugerido que los desequilibrios de segmentos terminales son el resultado probable de roturas de doble cadena en el ADN y la no disyunción de los fragmentos acéntricos generados, que resultan en una duplicación del segmento cromosómico remanente (Vanneste et al., 2009). Los cromosomas truncados podrían ser rescatados por fusión de las cromátides hermanas replicadas, que producirían isocromosomas dicéntricos los cuales podrían ser separados por segregación monopolar o bipolar, generando a su vez desequilibrios terminales puros y deleciones con duplicaciones invertidas por mecanismos conocidos como "rotura-fusión-puente" (breakage-fusion-bridge) (Vanneste et al., 2009).

En otro orden de cosas, el grado de inestabilidad cromosómica en embriones humanos en estadio preimplantación se ha comparado con mecanismos propios de los procesos neoplásicos. Existen ciertos rasgos biológicos comunes entre ambos escenarios como la cinética acelerada (sobre todo en el trofotodermo), la corta duración de los ciclos celulares, la "relajación" de los puntos de control de la mitosis y la presencia de mecanismos apoptóticos desregulados. Estas características impactan sobre la dosis cromosómica correcta. Tales procesos son cruciales para la adquisición de un tamaño y morfología normales en estos estadios (Ajduk et al., 2013; Bolton et al., 2016). En este sentido, nuevos fenómenos como la cromotripsis (ampliamente estudiada en el campo oncológico) se han postulado como una causa potencial de la segmentación cromosómica en embriones preimplantación (Pellestor, 2014; Pellestor et al., 2014). Sucintamente, la cromotripsis se ha propuesto como un mecanismo explicativo consistente en un acontecimiento único mediante el cual tienen lugar roturas de doble cadena en uno, o unos pocos cromosomas. Estas roturas generan fragmentos cromosómicos que pueden ser reensamblados durante la interfase subsiguiente, generando cromosomas derivativos y pequeños fragmentos acéntricos o dicéntricos (Kloosterman et al., 2011; Stephens et al., 2011) los cuales, en un escenario de cinética celular acelerada, podrían dar lugar a fragmentos que serían reensamblados mediante un mecanismo de reparación imprecisa del ADN (recombinación homóloga o unión no homóloga de extremos). Final-

EXPOSICIÓN PREMIO EMB-ASEBIR

mente, las fuerzas del huso y las proteínas motoras dirigirán la segregación cromosómica durante la diacinesis. No obstante, los fragmentos acéntricos (que habrían perdido los cinetocoros) serían incapaces de segregarse correctamente y serían reintegrados en el núcleo durante la telofase. Eventualmente, los fragmentos cromosómicos serían aleatoriamente transmitidos, en las consecuentes divisiones celulares, a las células hijas tanto en embriones en división, como en los blastocistos (Ly et al., 2017). Este mecanismo, no del todo entendido todavía, se ha relacionado con la formación de micronúcleos (Chavez et al., 2012; Carbone y Chavez et al., 2015), que han sido identificados en los embriones humanos en estadio preimplantación por las nuevas plataformas de medición morfocinética (time-lapse) (Carbone y Chavez et al., 2015; Vázquez-Díez et al., 2016). En este sentido, se ha documentado que los cromosomas individuales, o fragmentos de éstos, son frecuentemente capturados dentro de estas pequeñas estructuras micronucleares. Este material cromosómico pierde los cinetocoros y es, por tanto, incapaz de segregarse correctamente, siendo transmitido al azar durante las divisiones celulares. De acuerdo con Babariya y sus colaboradores (Babariya et al., 2017) la elevada tasa de inestabilidad cromosómica en embriones en división, respecto a los blastocistos, es compatible con un proceso de selección en contra de los embriones no euploides. No obstante, la distribución errática de los segmentos cromosómicos no acaba de detener el crecimiento embrionario. En este sentido, parece que existe cierta "permissividad mitótica" hacia una segregación cromosómica incorrecta en los estadios tempranos del desarrollo preimplantación, y su significado patológico podría depender del contenido cromosómico del fragmento ganado o perdido.

Por otro lado, la aneuploidía segmental podría ser interpretada como un diagnóstico erróneo ("sobrediagnóstico") o un falso positivo, relacionado con el estadio del ciclo celular de las células biopsiadas. Es bien conocido que la duplicación del ADN antes de la división celular es crítica para asegurar la estabilidad genómica. La replicación del ADN se inicia en localizaciones del genoma conocidas como "orígenes de replicación" (OR), que tienden a agruparse a lo largo del cromosoma, y cuya activación tiene lugar estocásticamente en la temprana fase S. La competencia, eficiencia y cronología de los OR son parámetros clave que regulan el proceso completo de replicación (Musialek y Rybaczek, 2015; Marks et al., 2016). En este sentido, un ADN sintetizado *de novo* en la fase S blastomérica se ha sugerido como una fuente de error en los casos de PGT-A (Pujol et al., 2004; Van der Aa et al., 2013). Si abundamos en esta idea, un blastómero único podría ser sobrediagnosticado ya que los dominios de replicación podrían generar segmentos que se asemejarían a la aneuploidía

segmental. Esta situación, no es fácil de recrear en la biopsia del trofocotodermo, ya que en este tejido es poco probable que las células estén completamente sincronizadas en la misma fase del ciclo celular y mucho menos en la misma fase de replicación del ADN. Por el contrario, es probable que las muestras de trofocotodermo estén formadas por poblaciones mixtas de células, en las que las células G0/G1 son la clase predominante (Vera-Rodríguez et al., 2016). Sin embargo, se ha demostrado en un modelo de células mixtas que la presencia de unas pocas células en fase S no interfiere con la detección del número de copias cromosómicas (Van der Aa et al., 2013). Independientemente de todo lo dicho, la manipulación del blastocisto es relevante. Una biopsia inadecuada podría transformar la obtención de varias células del trofocotodermo en una muestra similar al estadio unicelular (un exceso de pulsos de láser, rotura de la hernia trofoectodérmica, insuficiente número de células aspiradas, etc). Esto podría sesgar el diagnóstico, incluyendo errores o artefactos simulando la aneuploidía segmental (Dimitriadou et al., 2014). Por último, la aneuploidía segmental compleja ha sido relacionada recientemente con un mal pronóstico embrionario. Este hecho ha sido atribuido a un hipotético efecto iatrogénico en los laboratorios de FIV (Babariya et al., 2017). De hecho, las tasas de euploidía y las variaciones en la tasa de aneuploidía segmental se ha vinculado claramente a centros concretos (Wells et al., 2017). En línea con estas evidencias, basadas en datos propios no publicados, y de acuerdo con otros autores (Munné y Wells, 2017) sospechamos que la incidencia y el tipo de aneuploidía segmental podrían ser consideradas como indicadores internos de la calidad de los ciclos de FIV. Esta hipótesis debe ser validada mediante programas comparativos interlaboratorio. Por otro lado, desde el punto de vista del PGT-SR, el presente trabajo permite confirmar la detección de las monosomías y trisomías parciales fruto de la segregación de los reordenamientos cromosómicos equilibrados parentales. La revisión del mecanismo de segregación de estos reordenamientos escapa claramente al objetivo del presente estudio. En relación con la capacidad de detección de los segmentos generados, los resultados del presente trabajo ponen claramente de manifiesto la idoneidad de las técnicas de NGS, en línea con otros autores (Chow et al., 2018; Wang et al., 2019).

En conclusión, la aplicación de las técnicas de NGS en el campo del estudio cromosómico en muestras procedentes de embriones humanos permite la detección de alteraciones subcromosómicas. El estudio de estos segmentos está cobrando cada vez más interés, en particular en el caso de la aneuploidía segmental. En este caso, las bases biológicas de estos eventos todavía no están bien entendidas. Se ha investigado sobre el papel de la desregulación de la maquinaria

EXPOSICIÓN PREMIO EMB-ASEBIR

de división celular, la relajación de los puntos de control de la mitosis, el propio proceso de la manipulación de las muestras durante la realización de la biopsia, así como la existencia de eventuales efectos iatrogénicos asociados a la fecundación *in vitro* en su conjunto (estimulación, manipulación, cultivo, etc). Las implicaciones clínicas de estas pérdidas/ganancias parciales es desconocida ya que los datos epidemiológicos son extremadamente escasos y fragmentarios. La prevalencia de estas anomalías subcromosómicas en la población general está infraregistrada y la mayoría de los análisis citogenéticos de los fetos o recién nacidos se realiza todavía, de forma generalizada, mediante técnicas de baja resolución (como el cariotipo, o los protocolos específicos de NGS utilizados en el diagnóstico genético prenatal no invasivo). En el momento actual, y en el futuro próximo, serán necesarios más trabajos basados en la tecnología NGS para establecer claramente los límites de detección de esta tecnología y la implicación clínica de estos hallazgos.

REFERENCIAS

- Ajduk A., Zernicka-Goetz M. Quality control of embryo development. *Mol. Aspects Med.* 2013; 34: 903-18.
- Babariya D., Fragouli E., Alfarawati S., Spath K., Wells D. The incidence and origin of segmental aneuploidy in human oocytes and preimplantation embryos. *Hum. Reprod.* 2017; 32: 2549-60.
- Bolton H, Graham SJ, Van der Aa N, Kumar P, Theunis K, Fernandez E, Voet T, Zernicka-Goetz M. Mouse model of chromosome mosaicism reveals lineage-specific depletion of aneuploid cells and normal developmental potential. *Nat. Commun.* 2016; 7: 11165.
- Bono A., Biricik L., Spizzichino A., Nuccitelli M. G., Minasi E., Greco F., Spinella F., Fiorentino F. Validation of a semiconductor next-generation sequencing-based protocol for preimplantation genetic diagnosis of reciprocal translocations. *Prenatal Diagnosis.* 2015; 35: 938-44.
- Brezina P., Anchan R., Kearns W. Preimplantation genetic testing for aneuploidy: what technology should you use and what are the differences? *J. Assist. Reprod. Genet.* 2016; 33: 823-32.
- Carbone L., Chavez S. Mammalian preimplantation chromosomal instability: species comparison, evolutionary considerations, and pathological correlations. *Systems Biology in Reproductive Medicine.* 2015; 61: 321-35.
- Chavez S., Loewke K., Han J., Moussavi F., Colls P., Munne S., Behr B., Reijo R.A. Dynamic blastomere behaviour reflects human embryo ploidy by the four-cell stage. *Nat. Commun.* 2012; 3: 1251.
- Chow JFC, Yeung WSB, Lee VCY, Lau EYL, Ng EHY. Evaluation of preimplantation genetic testing for chromosomal structural rearrangement by a commonly used next generation sequencing workflow. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2018;224:66-73.
- Colls P., Escudero T., Fischer J., Cekleniak N., Ben-Ozer S., Meyer B., Damien M., Grifo J., Hershlag A., Munné S. Validation of array comparative genome hybridization for diagnosis of translocations in preimplantation human embryos. *Reprod. Biomed. Online.* 2012; 24: 621-9.
- Dimitriadou E., Van der Aa N., Cheng J., Voet T., Vermeesch J.R. Single cell segmental aneuploidy detection is compromised by S phase. *Mol. Cytogenet.* 2014; 7, 46.
- Fan J., Wang L., Wang H., Ma M., Wang S., Liu Z., Xu G., Zhang J., Cram D.S., Yao Y. The clinical utility of next-generation sequencing for identifying chromosome disease syndromes in human embryos. *Reprod. Biomed. Online.* 2015; 31: 62-70.
- Fiorentino F., Biricik A., Bono S., Spizzichino L., Cotroneo E., Cotto G., Kokocinski F., Michel C.E. Development and validation of a next-generation sequencing-based protocol for 24-chromosome aneuploidy screening of embryos. *Fertil. Steril.* 2014; 101: 1375-82.
- Fragouli E., Alfarawati S., Spath K., Jaroudi S., Sarasa J., Enciso M., Wells D. The origin and impact of embryonic aneuploidy. *Hum. Genet.* 2013; 132: 1001-13.
- Geigl J., Obenauf A., Schwarzbraun T., Speicher M. Defining 'chromosomal instability'. *Trends Genet.* 2008; 24: 64-99.
- Huang J., Yan L., Lu S., Zhao N., Xie X.S., Qiao J. Validation of a next-generation sequencing-based protocol for 24-chromosome aneuploidy screening of blastocysts. *Fertil. Steril.* 2016; 105: 1532-6.
- Johnson D., Gemelos G., Baner J., Ryan A., Cinnioğlu C., Banjevic M., Ross R., Alper M., Barrett B., Frederick J., et al. Preclinical validation of a microarray method for full molecular karyotyping of blastomeres in a 24-h protocol. *Hum. Reprod.* 2010; 25: 1066-75.
- Kloosterman W., Guryev V., van Roosmalen M., Duran K.J., de Bruijn E., Bakker S.C., Letteboer T., van Nesselrooij B., Hochstenbach R., Poot M., et al. Chromothripsis as a mechanism driving complex de novo structural rearrangements in the germline. *Hum. Mol. Genet.* 2011; 20: 1916-24.
- Kung A., Munné S., Bankowski B., Coates A., Wells D. Validation of next-generation sequencing for comprehensive chromosome screening of embryos. *Reprod. Biomed. Online.* 2015; 31: 760-69.
- Ly P., Cleveland D. Rebuilding chromosomes after catastrophe: emerging mechanisms of chromothripsis. *Trends Cell. Biol.* 2017; 27: 917-30.
- Marks A., Smith O., Aladjem M. Replication origins: determinants or consequences of nuclear organization?. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2016; 37: 67-75.
- Martínez M.C., Mendez C., Ferro J., Nicolas M., Serra V., Landeras J. Cytogenetic analysis of early nonviable pregnancies after assisted reproduction treatment. *Fertil. Steril.* 2010; 93: 289-92.
- Munné S., Blazek J., Large M., Martínez-Ortiz P.A., Nisson H., Liu E., Tarozzi N., Borini A., Becker A., Zhang J., et al. Detailed investigation into the cytogenetic constitution and pregnancy outcome of replacing mosaic blastocysts detected with the use of high-reso-

EXPOSICIÓN PREMIO EMB-ASEBIR

- lution next-generation sequencing. *Fertil. Steril.* 2017; 108: 62-71.
- Munné S., Wells D. Detection of mosaicism at blastocyst stage with the use of high-resolution next-generation sequencing. *Fertil. Steril.* 2017; 107: 1085-91.
- Musialek M., Rybaczek D. Behavior of replication origins in Eukaryota – spatio-temporal dynamics of licensing and firing. *Cell Cycle.* 2015; 14: 2251-64.
- Pellestor F. Chromothripsis: how does such a catastrophic event impact human reproduction?. *Hum. Reprod.* 2014; 29: 388-93.
- Pellestor F., Gatinois V., Puechberty J., Geneviève D., Lefort G. Chromothripsis: potential origin in gametogenesis and preimplantation cell divisions. A review. *Fertil. Steril.* 2014; 102: 1785-96.
- Perry J., Slater H., Choo K. Centric fission-simple and complex mechanisms. *Chromosome Res.* 2004; 12: 627-40.
- Pujol A., Benet J., Campillo M., Codina-Pascual M., Egozcue J., Navarro J. The use of a cell-cycle phase-marker may decrease the percentage of errors when using FISH in PGD. *Cytogenet. Genome Res.* 2004; 105: 29-35.
- Rabinowitz M., Ryan A., Gemelos G., Hill M., Baner J., Cinnioglu C., Banjevic M., Potter D., Petrov D., Demko Z. Origins and rates of aneuploidy. *Fertil. Steril.* 2012; 97: 395-401.
- Sabina J., Leamon J. Whole Genome Amplification: Causes and Considerations Methods. *Mol. Biol.* 2015; 1347: 15-41.
- Stephens P., Greenman C., Fu B., Yang F., Bignell G., Mudie L., Pleasance E., Lau K., Beare D., Stebbings L., et al. Massive genomic rearrangement acquired in a single catastrophic event during cancer development. *Cell.* 2011; 144: 27-40.
- Treff N., Franasiak J. Detection of segmental aneuploidy and mosaicism in the human preimplantation embryo: technical considerations and limitations. *Fertil. Steril.* 2017; 107: 27-31.
- Treff N., Northrop L., Kasabwala K., Su J., Levy B., Scott R.T. Jr. Single nucleotide polymorphism microarray-based concurrent screening of 24-chromosome aneuploidy and unbalanced translocations in preimplantation human embryos. *Fertil. Steril.* 2011; 95: 1606-12.
- Van der Aa N., Cheng J., Mateiu L., Zamani Esteki M., Kumar P., Dimitriadou E., Vanneste E., Moreau Y., Vermeesch J.R., Voet T. Genome-wide copy number profiling of single cells in S-phase reveals DNA-replication domains. *Nucleic Acids Res.* 2013; 41: e66.
- Vanneste E., Bittman L., Van der Aa N., Voet T., Vermeesch J.R. New array approaches to explore single cells genomes. *Front. Genet.* 2012; 3: 44.
- Vanneste E., Voet T., Le Caignec C., Ampe M., Konings P., Melotte C., Debrock S., Amyere M., Vikkula M., Schuit F., et al. Chromosome instability is common in human cleavage-stage embryos. *Nat. Med.* 2009; 15: 577-83.
- Vázquez-Diez C., Yamagata K., Trivedic S., Haverfield J., FitzHarris G. Micronucleus formation causes perpetual unilateral chromosome inheritance in mouse embryos. *PNAS.* 2016; 113: 626-31.
- Vendrell X. Diagnóstico genético preimplantación de aneuploidías: de la FISH a la secuenciación masiva. *RIF.* 2014; 31(4):3-11.
- Vendrell X., Fernández-Pedrosa V., Triviño J.C., Bautista-Llácer R., Collado C., Rodríguez O., García-Mengual E., Ferrer E., Calatayud C., Ruiz-Jorro M. New protocol based on massive parallel sequencing for aneuploidy screening of preimplantation human embryos. *Syst. Biol. Reprod. Med.* 2017; 63: 162-78.
- Vera-Rodríguez M, Michel CE, Mercader A, Bladon AJ, Rodrigo L, Kokocinski F, Mateu E, Al-Asmar N, Blesa D, Simón C, Rubio C. Distribution patterns of segmental aneuploidies in human blastocysts identified by next-generation sequencing. *Fertil Steril.* 2016; 105(4):1047-1055
- Wang J, Li D, Xu Z, Diao Z, Zhou J, Lin F, Zhang N. Analysis of meiotic segregation modes in biopsied blastocysts from preimplantation genetic testing cycles of reciprocal translocations. *Mol Cytogenet.* 2019; 26; 12:11.
- Wang J, Li D, Xu Z, Diao Z, Zhou J, Lin F, Zhang N. Analysis of meiotic segregation modes in biopsied blastocysts from preimplantation genetic testing cycles of reciprocal translocations. *Mol Cytogenet.* 2019 26; 12:11.
- Wang L, Cram DS, Shen J, Wang X, Zhang J, Song Z, Xu G, Li N, Fan J, Wang S, Luo Y, Wang J, Yu L, Liu J, Yao Y. Validation of copy number variation sequencing for detecting chromosome imbalances in human preimplantation embryos. *Biol Reprod.* 2014 Aug; 91(2):37.
- Wellesley D., Dolk H., Boyd P., Greenlees R., Haeusler M., Nelen V., Garne E., Khoshnood B., Doray B., Rissmann A., et al. Rare chromosome abnormalities, prevalence and prenatal diagnosis rates from population-based congenital anomaly registers in Europe. *Eur. J. Hum. Genet.* 2012; 20: 521-6.
- Wells D., Babariya eWells D., Babariya D., Alfarawati S., Spath K., Kubikova N., Munne S., Fragouli E. Frequency and clinical relevance of mosaic segmental aneuploidy in blastocyst stage human embryos. *Hum. Reprod.* 2017; 2: i50.
- Wells D., Kaur K., Grifo J., Glassner M., Taylor J.C., Fragouli E., Munne S. Clinical utilisation of a rapid low-pass whole genome sequencing technique for the diagnosis of aneuploidy in human embryos prior to implantation. *J. Med. Genet.* 2014; 51: 553-62.
- Yang, Tan, Vajta, Jiang, Tan, Zhang, Chen, Chen, Zhang, Pan, Gong, Li, Lin, Gao, Liang, Yi, Mu, Zhao, Peng, Xiong, Zhang, Cheng, Lu, Zhang, Lin, y Wang. Massively Parallel Sequencing for Chromosomal Abnormality Testing in Trophectoderm Cells of Human Blastocysts. *Biol Repro.* 2013; 88(3):69, 1-6.
- Yin X., Tan K., Vajta G., Jiang H., Tan Y., Zhang C., Chen F., Chen S., Zhang C., Pan X., et al. Massively parallel sequencing for chromosomal abnormality testing in trophectoderm cells of human blastocysts. *Biol. Reprod.* 2013; 88: 69.
- Zheng H., Jin H., Liu L., Liu J., Wang W. Application of next-generation sequencing for 24-chromosome aneuploidy screening of human preimplantation embryos. *Mol. Cytogenet.* 2015; 8: 38.

EXPOSICIÓN PREMIO EMB-ASEBIR

TABLAS Y GRÁFICAS

Tabla 1. Relación de trabajos de validación/verificación de tecnologías basadas en NGS para su aplicación en PGT-A.

AÑO	PLATAFORMA SECUENCIACIÓN	TIPO ENSAYO	ALCANCE	REFERENCIA
2013	MiSeq (Illumina)	Desarrollo propio	Nº Cromosoma + aneuploidía segmental	Yin et al., Biol Reprod. 2013;88(3): 69,1-6.
2014	MiSeq (Illumina)	Kit VeriSeq (Illumina)	Nº Cromosomas	Fiorentino et al., Fertil Steril, 2014;101(5): 1375-82
2014	MiSeq (Illumina)	Desarrollo propio	Nº Cromosoma + aneuploidía segmental	Wang et al., Biol Reprod. 2014;91(2):37.
2014	Ion PMG (Thermo Fisher Sc)	Desarrollo propio	Nº Cromosomas	Wells et al., J. Med. Genet. 2014; 51: 553-62.

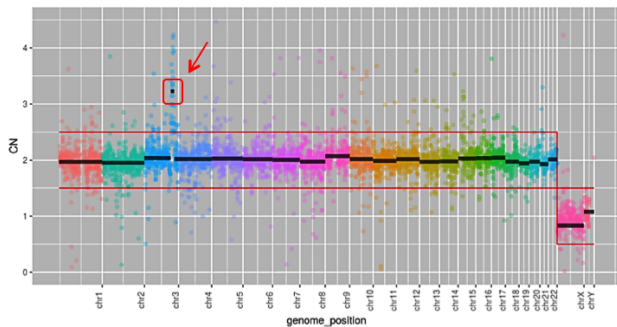
2015	MiSeq (Illumina)	Desarrollo propio	Nº Cromosoma + aneuploidía segmental	Fan et al., Biomed. Online. 2015; 31: 62-70.
2015	Ion PMG (Thermo Fisher Sc)	Ion PGM sequencing 200 kit v2 (Thermo Fisher Sc.)	Nº Cromosoma + aneuploidía segmental	Bono et al., Prenatal Diagnosis. 2015; 35: 938-44.
2015	Ion PMG (Thermo Fisher Sc)	Ion PGM sequencing 200 kit v2 (Thermo Fisher Sc.)	Nº Cromosomas	Kung et al., RBM Online. 2015;31, 760-769.
2015	MiSeq (Illumina)	Kit VeriSeq (Illumina)	Nº Cromosomas	Zheng et al., Mol Cyto. 2015;8:38
2016	MiSeq (Illumina)	Kit VeriSeq (Illumina)	Nº Cromosomas + aneuploidía segmental	Vera-Rodríguez, et al., Fertil Steril 2016;105:1047-55.
2016	MiSeq (Illumina)	Desarrollo propio	Nº Cromosomas + aneuploidía segmental	Huang et al., Fertil. Steril. 2016; 105: 1532-6.
2017	MiSeq (Illumina)	Desarrollo propio	Nº Cromosomas + aneuploidía segmental	Vendrell et al., 2017. Syst Biol Reprod Med, 63:3, 162-178.

Tabla 2. Concordancia de los resultados obtenidos mediante dos técnicas (aCGH vs NGS), relativos a la constitución cromosómica y segmentos subcromosómicos en blastómeros patológicos procedentes de progenitores portadores de reordenamientos cromosómicos equilibrados y líneas celulares mutadas.

Formula cromosómica	Resultados aCGH	Resultados NGS	Tamaño (Mb)	Concor
46,XY,t(2;8)(q13;p11.2)	46,XY,-2(q13>qter),+8(pter>p11.22)	46,XY,-2 (q13-q37.3),+8 (p23.2-p11.21)	132,8/40,06	100%
	46,XX,+2 (q14.1>qter),-8(pter>p11.21)	46,XX,+2 (q13-q37.3),-8 (p23.2-p11.21)	128,32/40	100%
	46, XY,-2(q13>qter), +8(pter>p11.22)	46,XY,-2 (q13-q36.1),+8 (p23.2-p11.21)	132,8/40,06	100%
	46, XX,+1(q21.2>q43),+8(p23.2>p23.1)?	45,XX,-14,-2 (q21.2-q37.1),+8 (p23.2-p11.21)	102,32/10,97	100%
46,XX,ins(6;3)(p11.1;q27q25)	46,XY,+3q25.1q26.31	46,XY,+3 (q25.2-q26.31)	27	100%
46,XX,t(9;22)(q21.3;p12.1)	46,XX,+9p24.3q21.2	46,XX, 9 (p24.2-q21.2)	28	100%
46,XY,t(1;14)(q25;q23)	46,XY,+1(q25.2>qter),-14(q23.1>qter)	45,XY,+1 (q25.2-q44),-14 (q23.1-q32.33)	73,13 y 49	100%
	46,XX,+1(q25.2>qter),-14(q23.1>qter)	45,XX,+1 (q25.1-q44),-14 (q23.1-q32.33)	73,13 y 49	100%
	46,XX,-1(q25.2>qter),+14(q23.2>qter)	47,XX,-1 (25.1-q44),+14 (q23.1-q32.33)	73,13 y 49	100%

EXPOSICIÓN PREMIO EMB-ASEBIR

Figura 1. Representación gráfica del número de copias de cada cromosoma.



La figura muestra los cromosomas en el eje de las x, y el número de copias de cada cromosoma en el eje de las y. Las nubes de puntos representan las lecturas distribuidas por cromosoma. Las líneas rojas paralelas delimitan los umbrales de normalidad. Las líneas gruesas negras representan los valores

medios de los datos segmentados correspondientes a copias diploides normales. Los cromosomas sexuales se representan en el flanco derecho, en este ejemplo se corresponde con una fórmula cromosómica de varón (46,XY), en la que se identifica una aneuploidía segmental en el cromosoma 3, indicada por un recuadro y una flecha roja.

Tabla 3. Ejemplo de la información relativa al riesgo de aneuploidía por cromosoma y datos de la aneuploidía segmental detectada.

La **tabla A** muestra el riesgo de aneuploidía por cromosoma expresado en forma de alto/bajo riesgo en función de la significatividad estadística y del grado de confianza. La **tabla B** muestra los datos de la aneuploidía segmental detectada en el cromosoma 3, la localización cromosómica de la ganancia se expresa en la posición del nucleótido de inicio y final del segmento, así como el tipo de aneuploidía segmental y el tamaño en Mb.

Tabla 3-A

Chromosome aneuploidy risk (continued below)

	chr1	chr2	chr3	chr4	chr5	chr6	chr7	chr8	chr9
conf. HEALTHY	0.941	0.896	0.919	0.973	0.898	0.962	0.983	0.943	0.841
conf. AFFECTED	0.032	0.037	0.034	0.029	0.036	0.03	0.028	0.032	0.043
aneuploidy risk	low	low	low	low	low	low	low	low	low

Table continues below

	chr10	chr11	chr12	chr13	chr14	chr15	chr16	chr17
conf. HEALTHY	0.971	0.981	0.969	0.934	0.948	0.977	0.991	0.889
conf. AFFECTED	0.029	0.028	0.029	0.032	0.031	0.028	0.027	0.037
aneuploidy risk	low	low	low	low	low	low	low	low

	chr18	chr19	chr20	chr21	chr22	chrX	chrY
conf. HEALTHY	0.951	0.883	0.957	0.836	0.982	0.892	0.895
conf. AFFECTED	0.031	0.038	0.03	0.044	0.028	0.017	0.115
aneuploidy risk	low	low	low	low	low	low	low

Tabla 3-B

names	type	sex	chrY_present	affection	aneuploidy_list	CNVs_list
UR05280-1	case	male	TRUE	46, XY, CNVs		3

Chromosomes	Start	End	Cytoband	Copy-Number	Mb
chr3	153482697	174480508	3q25.2-3q26.31	gain	21

EXPOSICIÓN PREMIO EMB-ASEBIR

Figura 2. Representación de la posición del segmento en el cromosoma.

La figura muestra una representación de la región cromosómica implicada en la ganancia de material en el cromosoma 3. Los puntos representan la distribución de las lecturas a lo largo del cromosoma. La zona sombreada en rojo resalta la región ganada. En la parte inferior aparece el idiograma del cromosoma con un recuadro (en rojo) de las citobandas implicadas en la ganancia.

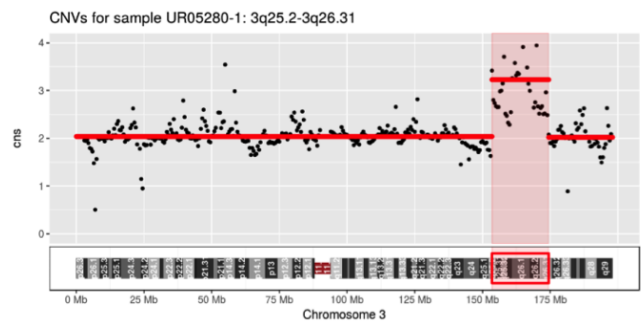


Tabla 4. Comparación de los resultados obtenidos mediante aCGH y su reanálisis por NGS.

Embrión (ADN)	Parcialidades por aCGH	Parcialidades por NGS
1	-4(q28.1-qter)	-4q24.4q35.2, +9p parcialidad adicional
2	+X(pter-p11.4)	+X(pter-p11.4)
3	-1(q25.2-qter), -19	1q21.3q44, -19
4	-3(q23-qter), +11	-11, -3q11.2q29, -18, +5p15.3q13.2
5	+4(q27-qter)	+4q12q35.2
6	+3q22.1q29, +16	+3q11.2q29, +16, -13q31.1q34, +7q31.2q36.3
7	-13q31.3q34, -16	-2q11.2q31.), +5p15.32p12, -13q31.1q34, +14q11.2q22.1, -16
8	+3q13.31q29	+3q13.31q29 posible mosaico
9	-5q14.1q35.3	-5q14.1q35.3 posible mosaico
10	-2, -11p15.4p11.2	-2, -11p15.4p11.2
11	-14q11.2q12, +14q13.1q32.33	-14q11.2q13.1, +14q13.1q32.33
	-11, -14, -17, -18, -1q31.q44, -4p16.1p15.1, +4q35.2, -8p23.2q24.3, -10q11.21q26.3, -12p13.33q11.1, +12q21.32q23.1	-1q21.3q44, -10q11.21q26.3, -11, -12p13.33p11.23, -12q21.32q24.32, -14q12q32.33, -17, -18, -4p16.3p15.1, -8q12.3q24.3
12		
13	+Xp22.33p11.21, +10, +18	+10, +18, +Xq21.31q24, -4q12q22.3, -13q11q21.31), -14q12q31.1
14	-6q16.1q27, -12q21.1q24.33	-6q15-6q27, -12q21.1q24.32
15	+2q23.2q37.1, -14	+2q23.2q37.3, -14
16	+13q21.33q34, -22	+13q21.1q34, -22
17	+1q31.1q44, +22	+1q31.1q44, -2q23.1q35, +5q33.2q35.2, +22 parcialidad adicional
18	-3p26.3p22.2	+2q21.3q35, -3p26.2p22.1, -8p23.2q22.3, +15q13.3q25.3, -18q11.1q23 parcial add
19	+12q23.1q23.3	+12q23.1q23.3 posible mosaico
20	+3p12.3q29	+3
21	-3, +5p11.2q35.3, -6	-3, +5p13.2q35.3, -6
22	-11p15.4p14.2	-11p15.4p12
23	+4p16.3q31.3, -4q31.3q35.1, +13, +14	+4p16.3q31.3, -4q31.3q35.2, +13, +14
24	-9p24.2p13.1, +9q21.11q34.3	-9p24.2p11.2, +9q21.11q34.3
25	-12q13.33q11.1, +12q13.11q24.33, +16	-12p13.33p11.23, +12q14.3q24.31, +16
26	-8q21.2q24.3	-8q21.2q24.3
27	-5q23.2q35.3	5q23.2q35.3 posible mosaico
28	+10p15.3q11.23, -10q11.1q26.3, +13	+10p15.3q21.1, -10q21.1q26.3, +13,
29	-1p36.32p32.1, -4,	-1p36.32p32.1, -4
30	-8q21.3q24.3, ++21	-8, ++21, +5q34q35.3 parcialidad adicional
31	+4q13.2q35.2, -12	+4q13.2q35.2, -12 posible mosaico
32	+3q13.2q29	+12q21.31q23.3, -7p22.3p21.1 parcialidad adicional
33	-4q22.3q35.2	-4q22.3q35.2 posible mosaico

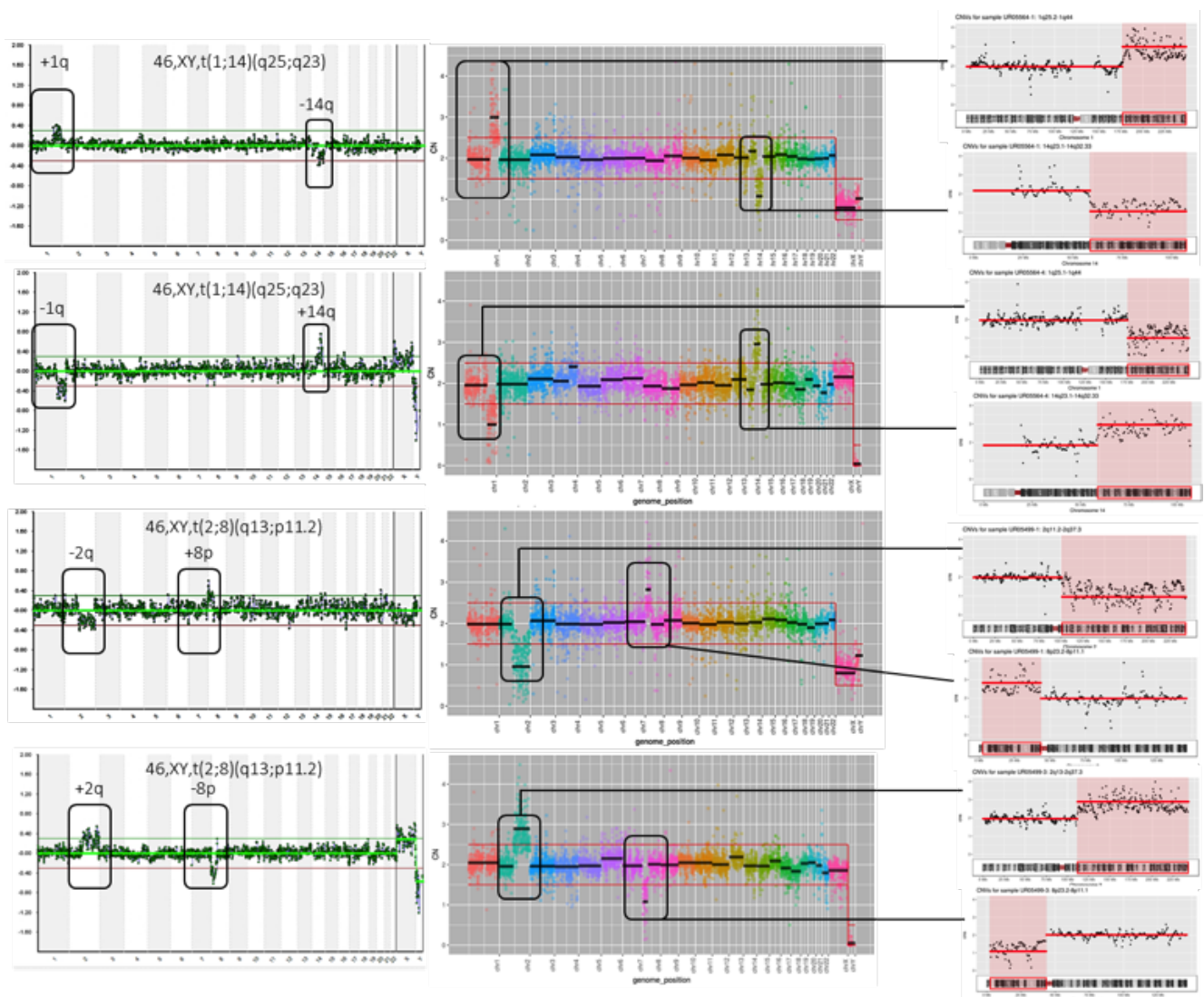
EXPOSICIÓN PREMIO EMB-ASEBIR

Figura 3. Ejemplo del estudio comparativo de blastómeros desequilibrados realizados mediante las técnicas de NGS.

Las imágenes muestran algunos ejemplos de las fórmulas desequilibradas correspondientes a blastómeros procedentes de embriones patológicos en el contexto del PGT-SR. La primera

columna recoge las imágenes correspondientes a los blastómeros desequilibrados y sus fórmulas cromosómicas analizadas mediante aCGH. La segunda columna muestra los resultados del reestudio mediante la técnica de NGS. En la tercera columna se muestra el detalle de los segmentos correspondientes a las monosomías y trisomías parciales resultantes.

Figura 3



TIME - LAPSE



La solución más fiable para mejorar el cultivo y la evaluación embrionaria aumentando las tasas de éxito en FIV.

Vitrolife

OCTAX NAVILASE



Para un perfecto control de la biopsia embrionaria con una mayor facilidad y eficacia.
Un nuevo láser con tecnología específica para PGS y DGP.

Vitrolife

CABINA FLUJO LAMINAR VERTICAL TERMOSTATIZADA



Con fuentes de iluminación OCC (tipo Hoffman).

LABOX s.p.a.

DEFEND 1050

Novaerus - DEFEND 1050

Elimina Patógenos y COV's del aire

Un filtro Camfil® HEPA H 13 atrapa residuos bacterianos y partículas finas de 2.5 micras o menos.

Con un potente ventilador de 5 velocidades, el aire pasa por el panel frontal, donde el prefiltro Camfil® captura partículas grandes para proteger las bobinas de plasma internas y prolongar la vida útil de los filtros HEPA y de carbón activo.



Un filtro Camfil® de carbón activo neutraliza COV restantes, olores e impurezas.

6 bobinas de plasma de consumo de energía ultra baja que destruyen rápidamente los patógenos a nivel de ADN.

NOVAERUS

G - TL



El primer medio diseñado específicamente para TIME-LAPSE.

Vitrolife 

AGUJAS ASPIRACIÓN FOLICULAR VITROLIFE



Diseñadas para la recuperación ovocitaria. Optimizando el tiempo, el control en la aspiración y mejorando el confort de la paciente.

Vitrolife 

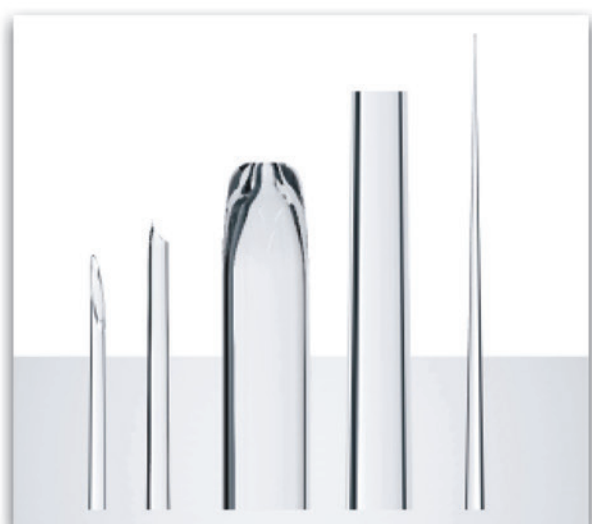
VITROLIFE LABWARE



Para mejorar las condiciones de cultivo de los embriones. Con marcaje CE para IVF.

Vitrolife 

MICROPIPETAS VITROLIFE



Micropipetas de alta precisión. Toda gama de tipos y angulaciones.

Vitrolife 

SESIÓN DE GENÉTICA

UPDATE ON GENETIC FACTORS ASSOCIATED WITH MALE INFERTILITY

Csilla Gabriella Krausz

Department of Experimental, Clinical and Biomedical Sciences Mario Serio, University of Florence, Italy

Male infertility affects about 7% of the general male population, and it is a multifactorial, polygenic pathological condition. Known genetic factors, accounting for about 20–25% of male factor infertility, are present in each etiological category: i) hypothalamic-pituitary axis dysfunction; ii) quantitative and qualitative alterations of spermatogenesis; iii) ductal obstruction/dysfunction (1). The major breakthrough in the discovery of genetic factors involved in male infertility has occurred more than 30 years ago with the identification of the Y chromosome-linked AZF region deletions (2). The routine screening for the relatively frequent AZF deletions significantly improved our clinical practice since it has not only diagnostic value but also predictive value for testicular sperm retrieval. Indication for testing for chromosomal anomalies and Y chromosome microdeletions is based on sperm count (severe oligozoospermia/azoospermia). Mutation screening in candidate genes is indicated in specific semen/testis phenotypes i.e. in congenital hypogonadotropic hypogonadism, congenital absence of vas deferens, monomorphic forms of teratozoospermia, asthenozoospermia and partial or mild androgen insensitivity syndrome.

Genetic testing for known genetic factors is essential for its relevance in clinical decision-making. For instance, it helps to avoid unnecessary surgical or medical treatments and it may provide prediction for testicular sperm retrieval. The highest frequency of genetic anomalies is observed in severe spermatogenic impairment, which can be treated with *in vitro* fertilization (IVF). Genetic counselling of the couple is an absolute requirement prior to IVF and in some instances include testing of the female partner and recommendation for PGD.

In about 40% of infertile patients, the aetiology remains unknown ('idiopathic cases') and the discovery of hidden genetic factors has been approached by different techniques. With the advent of high throughput analyses (SNP arrays and array-CGH), we learned that common or low frequency polymorphisms have a limited, if any, role in impaired spermatogenesis (3). Only high-resolution X chromosome-specific a-CGH studies were able to identify two clinically relevant deletions, such as the TEX11 intragenic deletion and CNV67 (4). Results of studies on copy number variations (CNVs) demonstrate a considerably higher CNV load in infertile patients in respect to normozoospermic men, suggesting genomic instability in infertile men. Next generation sequencing allowing the simultaneous analysis of several

thousands of genes or the entire exome has contributed to major advances in the genetic diagnosis of monomorphic teratozoospermia and in familial cases of idiopathic azoospermia (5). Rare, patient-specific genetic defects are more likely to be discovered in the near future than recurrent genetic factors if currently available data that have been derived from candidate gene resequencing, CGH arrays, and exome studies are used as markers of the molecular landscape of male infertility.

An emerging issue is the link between infertility and a higher cancer predisposition. As approximately 10% of the human genome is involved in male reproduction, it is plausible that defects in any of these genes may also be tied to the development of cancers of the reproductive system as well as other organ systems. In favor of a genetic link are: i) the observation of an elevated risks of cancer seen in the family members of infertile men; ii) database searches identified candidate genes and gene classes shared between cancer and reproductive function impairment; iii) mutations in mismatch repair genes (for instance the FANCA gene links SCOS with Fanconi Anemia, a cancer prone disease); FANCM mutations cause both infertility and solid cancers (breast cancer); iv) significant higher deletion load (genomic instability) in infertile men in respect to normozoospermic men.

In conclusion, the diagnosis of known and the discovery of novel genetic factors in idiopathic infertility is of utmost clinical importance not only for the patient itself but also for his family members and his descendants.

REFERENCES (REVIEW ARTICLES WITH USEFUL REFERENCES):

- 1) Tournaye H, Krausz C, Oates RD. Novel concepts in the aetiology of male reproductive impairment. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2017;5:544–553.
- 2) Krausz C, Hoefsloot L, Simoni M, et al. EAAEMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013. *Andrology.* 2014;2:5–19.
- 3) Krausz C, Escamilla AR, Chianese C. Genetics of male infertility: from research to clinic. *Reproduction.* 2015;150:R159–R174.
- 4) Krausz and Riera-Escamilla *Nat Rev Urol.* 2018 15(6):369–384.
- 5) Krausz C, Cioppi F, Riera-Escamilla A. Testing for genetic contributions to infertility: potential clinical impact. *Expert Rev Mol Diagn.* 2018;18(4):331–346.

SESIÓN DE GENÉTICA

ESTUDIOS CROMOSÓMICOS DE EMBRIONES HUMANOS GENERADOS *IN VIVO*

Munné, S^{1,2,3}; Najmabadi, S⁴; Nakajima, S⁵; Sauer, MV⁶; Sawarkar, SS^{1,7}; Seth-Smith M³, Buster, JE⁸

¹Cooper Genomics, Livingston, New Jersey, Estados Unidos. ²Departamento de Obstetricia y Ginecología, Yale University, New Heaven, Connecticut, Estados Unidos. ³Overture Life, Madrid, España. ⁴Centro de Salud Reproductiva y Ginecología, Punta Mita, México. ⁵Departamento de Obstetricia y Ginecología, Stanford University School of Medicine, Stanford, California, Estados Unidos. ⁶Departamento de Obstetricia, Ginecología y Ciencias Reproductivas, Robert Wood Johnson Medical School, New Brunswick, New Jersey, Estados Unidos. ⁷MedAnswers, California, Estados Unidos. ⁸Departamento de Obstetricia y Ginecología, Warren Alpert Medical School of Brown University, Providence, Rhode Island, Estados Unidos.

INTRODUCCIÓN

Los embriones de modelos animales desarrollados *in-vivo*, poseen diferentes atributos (por ejemplo: tasas de anomalías cromosómicas, mayores tasas de formación de blastocistos, diferencias en desarrollo del neonato, menores aberraciones genéticas), comparadas con los embriones desarrollados *in vitro*. Estos estudios comparativos entre los embriones generados *in vivo* e *in vitro* son escasos debido, principalmente, a la falta de métodos fiables para recuperar embriones generados *in vivo*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio de viabilización unicéntrico con 81 mujeres para evaluar la eficacia y seguridad del dispositivo de lavado uterino PreVivo. Todos los lavados fueron realizados en un centro de reproducción asistida en Punta Mita, México por un único investigador. Las pacientes fueron evaluadas durante 30 días post-lavado para un seguimiento de posibles complicaciones. Las estimulaciones ováricas y la inseminación intrauterina (IIU) fueron realizadas seguidas del lavado uterino usando el dispositivo PreVivo para recoger los blastocistos concebidos *in vivo*. Los embriones recogidos fueron evaluados morfológicamente usando la escala de Gardner y, posteriormente, se les practicó la biopsia del trofocitodermo, seguido de vitrificación y almacenamiento en nitrógeno líquido. Las biopsias fueron analizadas por secuenciación masiva (NGS) por Cooper Genomics. El protocolo del estudio está disponible en ClinicalTrials.gov (número NCT034260007, Registration and Results System (PRS) Trial Registration Number and Name: Punta Mita Study TD-2104).

RESULTADOS

Este es el primer estudio donde se muestra la metodología para recuperar de forma fiable un número significativo de

blastocistos humanos *in vivo* después de la estimulación ovárica. Este dispositivo de lavado uterino fue capaz de recuperar desde cigotos hasta embriones en estado de blastocisto. Se pudieron recuperar 96 blastocistos para analizarlos por DGP, de los cuales 3 no tuvieron resultados y los 93 restantes resultaron en un diagnóstico. Cincuenta dieron un resultado euploide, 8 fueron mosaicos de bajo grado (<40% anormal), 10 mosaicos de alto grado (>40% anormal), 18 aneuploides, y 7 aneuploidías complejas (>2 aneuploidías cromosómicas en todas las células). Los mosaicos de bajo grado tienen una tasa de implantación similar a los embriones euploides, por lo tanto, combinando los embriones euploides y los mosaicos de bajo grado, la tasa de anomalías cromosómicas de blastocistos originados *in vivo*, fue de un 63%, muy similar a las tasas de blastocistos originados de FIV (64%) de una cohorte histórica de >10.000 embriones analizados por Cooper Genomics. Las tasas de aneuploidías fueron de 19% vs 17%, mosaicismos de alto grado de 11% vs 9%, y mosaicismos complejos de 8% vs 10% muy similares en ambos casos.

CONCLUSIONES

En este estudio, se demuestra que el lavado uterino es una metodología viable para recuperar embriones concebidos *in vivo* en pacientes selectos que eligen DGP y que desean congelar embriones euploides. El lavado uterino ofrece una metodología sin cirugía, mínimamente invasiva para obtener embriones que son diferentes de los que se generan durante la FIV convencional. Desde el punto de vista de la investigación, esta técnica ofrece la posibilidad de un control *in vivo* que podrá usarse como referencia en futuros y presentes estudios clínicos en reproducción asistida. Curiosamente, los embriones concebidos *in vivo* tienen las mismas tasas de anomalías cromosómicas que los concebidos *in vitro*.

SESIÓN DE ANDROLOGÍA

NUEVAS TÉCNICAS Y DISPOSITIVOS DE SELECCIÓN ESPERMÁTICA

Serafín Pérez Cerezales¹, Sara Ruiz Díaz² y Iván Oseguera López³

¹Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), Departamento de Reproducción Animal, Madrid, España. ²Mistral Fertility Clinics S.L., Clínica Tambre, Madrid, España. ³Universidad Autónoma Metropolitana, Ciudad de México, México.

INTRODUCCIÓN

En condiciones *in vivo* el espermatozoide ha de atravesar la mayor parte del tracto reproductor femenino hasta llegar al útero en la trompa de Falopio donde se produce la fecundación. A lo largo de este viaje el espermatozoide sufre una serie de cambios fisiológicos que lo habilitan para tal fin, proceso que se conoce como capacitación (Aitken and Nixon, 2013). Además, recientes investigaciones sugieren que tanto las exigentes condiciones del tracto reproductor femenino como diversas señales presentes en sus diversas estructuras configuran un mecanismo de selección espermática que asegura que solo una pequeña subpoblación de espermatozoides llega hasta el ovocito (Pérez-Cerezales et al., 2017). Esta subpoblación se supone una élite con las características adecuadas para la fecundación que además porta el material genético y epigenético intacto y adecuado para el correcto desarrollo posterior del embrión (Pérez-Cerezales et al., 2017). A pesar de que existen métodos de selección espermática *in vitro*, todavía no se ha conseguido emular para ello las condiciones que operan *in vivo*, por lo que estas metodologías siguen siendo subóptimas (Sakkas et al., 2015). Esto se ha sugerido que está en parte detrás de las bajas eficiencias reportadas en técnicas de reproducción asistida (TRAs) como la fecundación *in vitro* (FIV) y la inyección intracitoplasmática del espermatozoide (ICSI). Los últimos informes de las sociedades americanas y europeas de reproducción y fertilidad (C.D.C., 2018; De Geyter et al., 2018) reportaron que las ratios de embarazo por transferencia tanto para FIV como ICSI rondaron el 37% llegando a término solo en torno al 25%. Estos porcentajes se aumentaron al 54% y 38% respectivamente cuando se utilizaron ovocitos frescos de donantes. En muchos casos en los que las TRAs fracasan desconocemos qué porcentaje de este se debe directamente al factor femenino o al masculino, pero es muy posible que la mejora de las técnicas de selección espermática sea especialmente relevante cuando es el factor masculino el que está presente (Simon et al., 2017). Por ello, la preparación del semen y su selección es un campo intenso de investigación en el que actualmente se están desarrollando diversas metodologías. En los últimos años, gracias a un mejor

conocimiento de la bioquímica y fisiología del espermatozoide, nuevas técnicas de selección espermática se han puesto a disposición de las clínicas prometiendo mejorar las tasas de fertilidad. Sin embargo, en muchos casos, los resultados publicados son contradictorios y no se han visto reforzados por resultados clínicos que los validen. En este documento que acompaña a la ponencia que presentamos en Cáceres en el X congreso de ASEBIR (noviembre de 2019) se resume el estado actual de las técnicas de selección espermática más empleadas y las más novedosas que han mostrado resultados prometedores.

PREPARACIÓN RUTINARIA DE MUESTRAS SEMINALES

De manera rutinaria en la práctica clínica se aplican métodos de selección *in vitro* de los espermatozoides principalmente por tres motivos: i) eliminación del plasma seminal, ii) eliminación de restos de tejido epitelial y células sanguíneas y iii) enriquecimiento en espermatozoides motiles y con alta integridad genética (Henkel and Schill, 2003). Debido a su bajo coste, rapidez y eficacia las dos técnicas más empleadas para la preparación del semen son el "swim-up" (SU) y la centrifugación en gradiente (CG). En términos generales el SU consiste en la recuperación de los espermatozoides motiles mediante su migración hacia un medio libre de espermatozoides típicamente localizado encima de la muestra seminal, mientras que la CG consiste en la capacidad de los espermatozoides motiles de progresar a través de un gradiente de densidad (constituido por partículas coloidales) durante una centrifugación (Henkel and Schill, 2003).

Gran número de estudios han intentado clarificar cuál de estos dos métodos es más eficiente, sin embargo, los resultados disponibles en la literatura son múltiples y contradictorios. Hay consenso en que ambas técnicas enriquecen la muestra en espermatozoides motiles y con capacidad de fusionar su membrana con la del ovocito. Incluso se ha observado que ambas técnicas seleccionan aquellos espermatozoides con los telómeros más largos (Zhao et al., 2016), siendo este un indicador de espermatogénesis

SESIÓN DE ANDROLOGÍA

correcta (Rocca et al., 2016). No obstante, varios estudios han mostrado que el SU es menos eficiente que la CG para la separación de espermatozoides con anomalías nucleares (Sakkas et al., 2000; Zini et al., 2000). Amiri et al. (2012) reportaron que en donantes con normozoospermia los espermatozoides seleccionados mediante la CG mostraron menor fragmentación en el ADN que con el SU (24% vs 32% respectivamente) y se recuperaron un mayor porcentaje de espermatozoides con morfología normal (28% vs 14% respectivamente) y motiles (76% vs 52%). Apoyando estos resultados, Wang et al. (2014) demostraron que la CG reduce la fragmentación del ADN en pacientes con oligozoospermia y astenozoospermia. En este mismo sentido, en otro estudio, en el que participaron pacientes subfértiles sometidos a inseminación intrauterina, la CG mejoró significativamente la tasa de embarazo frente al SU (18% vs 7%) (Karamahmutoglu et al., 2014). En contraposición, Oguz et al. (2018) reportaron que el SU enriqueció la muestra en espermatozoides con menor fragmentación en el ADN en pacientes con factor masculino leve o idiopático mientras que en esos mismos pacientes la CG no permitió dicho enriquecimiento. Los resultados de una variante del SU, el micro SU directo (MSU), han mostrado resultados equiparables a los de la CG en ICSI en los porcentajes de fecundación pero superiores en cuanto a desarrollo embrionario *in vitro* hasta blástula y en tasas de embarazo (42% vs 26% respectivamente), reduciéndose también la tasa de abortos (13% vs 29% respectivamente) (Palini et al., 2017).

Ambas técnicas son las utilizadas en los laboratorios de todo el mundo previo FIV e ICSI pero, como se ha argumentado en la introducción, las tasas de éxito de ambas técnicas deberían ser mejorables. Ambas metodologías se fundamentan exclusivamente en la capacidad motil de los espermatozoides, lo que no significa que todos los espermatozoides motiles sean de la máxima calidad. Las nuevas técnicas que se están desarrollando tratan de ir un paso más allá y basarse en la discriminación de otros parámetros más selectivos que permitan enriquecer la muestra seminal en aquellos espermatozoides cuya calidad sea la máxima posible.

SELECCIÓN ESPERMÁTICA BASADA EN LA INTEGRIDAD DE MEMBRANA

La membrana del espermatozoide es un orgánulo determinante para su funcionalidad participando activamente en el metabolismo, capacitación, reacción acrosómica, unión y fusión con el ovocito, etc. Es por ello que se han desarrollado técnicas de selección espermática basadas en su integridad.

Selección celular activada por magnetismo (MACS)

La pérdida de integridad de membrana es un marcador temprano de apoptosis y lleva a la externalización de la fosfatidilserina (Elmore, 2007). Así, esta técnica utiliza anexinaV, que tiene una gran afinidad por la fosfatidilserina, conjugada a partículas magnéticas para separar las células apoptóticas con la membrana dañada (Grunewald et al., 2001). El uso de MACS para la selección espermática fue por primera vez reportado por Grunewald et al. (2001) demostrando su utilidad para la selección y eliminación de la muestra seminal de espermatozoides apoptóticos y con la membrana dañada. Lee et al. (2010) we attempted to identify spermatozoa with apoptotic markers in couples with UI and unsuccessful intrauterine insemination (IUI) and Degheidy et al. (2015) reactive oxygen species (ROS) emplearon MACS en pacientes con infertilidad idiopática y pacientes infértiles con varicocele respectivamente, reportando en ambos casos una reducción en la fragmentación en el ADN de los espermatozoides manteniéndose la mayoría de los parámetros de motilidad intacta. Sin embargo, estudios realizados contrastando MACS con el SU y la CG ponen en duda la utilidad de esta técnica de manera rutinaria. Así, Nadalini et al. (2014) and to compare the results with the conventional swim-up method. Methods: Twenty five male patients attending the andrology laboratory for sperm DNA fragmentation analysis. The sperm were prepared by density gradient centrifugation (DGC) enfrentaron MACS con la combinación de la CG y SU obteniendo mejores resultados con estos últimos en la calidad seminal en términos de motilidad, morfología y fragmentación del ADN. Por el contrario, Bertelli et al. (2017) estudiaron la calidad del semen de donantes con normozoospermia tras la selección con la CG, MACS y las combinaciones CG seguida de MACS (CG-MACS) y MACS seguida de CG (MACS-CG) encontrándose significativamente una mejor calidad en MACS-CG que en los otros casos en cuanto a motilidad, fragmentación del ADN y morfología. En el mismo sentido Zhang et al. (2018) with lower levels of DNA fragmentation, from an immotile population. Analysis involved sixteen patients, each with a sperm count $\geq 10^7$ /mL. All samples were immotile despite exhibiting a live population >40%. Spermatozoa were prepared using DGC-MACS and selected spermatozoa evaluated for membrane and DNA integrity using the hypo-osmotic swelling (HOS) comprobaron que utilizando CG-MACS consiguieron seleccionar espermatozoides de muestras inmóviles con una menor fragmentación en el ADN comparado con la CG solo (3% vs. 5% respectivamente). En un estudio con 237 parejas infértiles tratadas mediante ICSI con ovocitos donados no se encontraron diferencias en cuanto a fecundación, calidad embrionaria, implantación, embarazo y tasas de nacimiento entre

SESIÓN DE ANDROLOGÍA

semen seleccionado por SU y seleccionado por SU seguido de MACS (Romany et al., 2014). Fang et al. (2018) tampoco encontraron diferencia entre el uso de CG y la combinación de la CG seguida de MACS cuando el semen se utilizó para la FIV, sin embargo en ICSI la combinación CG-MACS resultó en mayores porcentajes de embriones de alta calidad, tasas de embarazo, implantación y nacimiento. En este sentido, otro estudio demostró que, en comparación con la CG, la combinación CG-MACS para la selección de semen de pacientes con teratozoospermia mejoró significativamente la calidad de blastocistos producidos por ICSI en mujeres por encima de 30 años (de 33% a 75% respectivamente) (Stimpfel et al., 2018) and the other half were microinjected with non-apoptotic, MACS-selected spermatozoa. To assess the influence of MACS selection of spermatozoa on the outcomes of the ICSI cycles, the fertilization, embryo quality, pregnancy, and delivery rates were evaluated and compared between the sibling oocyte groups. RESULTS When subpopulations of couples according to female age were analyzed, a significant difference in quality of blastocyst was observed. More precisely, in a group that was treated with MACS-ICSI, a higher percentage of good quality blastocysts was found among women older than 30 years (75.0 vs. 33.3%; $P=0.028$. Por lo tanto el tipo de donante o paciente puede que sea determinante para la utilidad de la técnica así como su combinación con otra técnica de preparación seminal como SU o CG. Es por ello que son necesarios más estudios para revelar en qué casos y bajo qué condiciones las MACS pueden ser aplicables para la mejora de las TRAs.

Selección basada en el ácido hialurónico

El ácido hialurónico (AH) es uno de los componentes principales de la matriz extracelular que rodea al complejo cumulo-ovocito (Dandekar et al., 1992) y los espermatozoides que han seguido una espermatogénesis adecuada exhiben sitios de unión a AH. Es por ello que esta propiedad se ha utilizado como fundamento para la selección espermática. Existen dos sistemas comerciales disponibles con este fin: i) PICSI® (Origio, Denmark) en el que se utilizan los espermatozoides que se pegan a una superficie recubierta con AH y ii) Sperm SlowTM (Origio, Denmark) por el que se seleccionan los espermatozoides que se mueven más lentos como debido a la interacción con la AH (Henkel, 2012; Said and Land, 2011). Numerosos estudios han comprobado la eficacia de estas técnicas en cuanto a la recuperación de espermatozoides con una fragmentación del ADN menor que en la muestra inicial, aunque su eficacia para mejorar las TRAs sigue estando en entredicho. Parmegiani et al. (2010a) emplearon 232 pacientes con oligozoospermia para confrontar el AH-ICSI con la ICSI con-

vencional sin encontrar diferencias significativas en tasas de fecundación, embarazo o implantación a pesar de que la calidad embrionaria fue mayor con AH-ICSI. En una revisión sistemática de 2918 estudios e informes publicados en los que se habían empleado pacientes en los que el factor masculino estaba presente y que la FIV no había tenido éxito no se encontraron diferencias significativas entre la PICSI y la ICSI en estos mismos parámetros (Avalos-Durán et al., 2018). Sin embargo, en esta revisión solo pudieron incluirse 2 estudios completos debido a la falta de información detallada en el resto. Por ello estos autores apuntan a la necesidad de realizar más estudios que sigan las directrices de CONSORT para reducir el riesgo de sesgo. En un reciente estudio con 2772 parejas en 16 unidades de fertilidad del Reino Unido no se encontraron diferencias entre la PICSI y la ICSI en las tasas de nacimiento siendo el estudio más robusto hasta la fecha y desaconsejando el uso generalizado de PICSI (Miller et al., 2019).

SELECCIÓN ESPERMÁTICA BASADA EN LA MORFOLOGÍA ESPERMÁTICA

Una correcta morfología de los espermatozoides eyaculados reflejan una correcta espermatogénesis y maduración y por lo tanto es indicadora de buena calidad seminal (Yániz et al., 2015). Es por ello que durante la ICSI convencional se selecciona bajo el microscopio aquellos espermatozoides con una morfología considerada normal. En años recientes se ha desarrollado una metodología más precisa utilizando un alto número de aumentos ópticos para poder discernir detalles microscópicos en los espermatozoides relacionados con su calidad.

Inyección intracitoplasmática de espermatozoides morfológicamente seleccionados (IMSI)

Esta técnica consiste en la selección y captura directa de aquellos espermatozoides con bajo número de vacuolas y núcleo de morfología normal bajo un microscopio equipado con un sistema de micromanipulación y una óptica que permite una magnificación de 6300x (Bartoov et al., 2002) and if so, to identify those that are relevant. For this purpose, we developed a new method, the motile sperm organelle morphology examination (MSOME). Los beneficios de esta técnica se encuentran actualmente en debate. Así, Gatimel et al. (2016) no encontraron diferencias entre el uso de la IMSI vs. ICSI en cuanto a tasa de implantación, embarazo y nacimiento, e incluso reportaron una menor tasa de fecundación con IMSI. En la misma dirección un meta-análisis reciente de 280 artículos demostró una pobre asociación del uso de IMSI para aumen-

SESIÓN DE ANDROLOGÍA

tar las tasas de embarazo y nacimientos (He et al., 2018). Por el contrario, Goswami et al. (2018) en un estudio retrospectivo encontraron una mayor calidad embrionaria, implantación y embarazo con la IMSI. También, en otro estudio retrospectivo con 170 pacientes los resultados sugieren que la IMSI puede mejorar las tasas de embarazo cuando el semen muestra determinados parámetros morfológicos anómalos incluyendo la presencia de vacuolas (Schachter- Safrai et al., 2019) of them 56 (32.9%. Por lo tanto serán necesarios más estudios para determinar en qué casos es aplicable esta técnica.

SELECCIÓN ESPERMÁTICA BASADA EN MECANISMOS DE NAVEGACIÓN DEL ESPERMATOZOIDE

Como se ha indicado en la introducción existe una selección espermática a lo largo del tracto genital femenino. De los millones de espermatozoides depositados en la vagina solo unos cientos llegan al útero donde se produce el encuentro y fecundación del ovocito (Pérez-Cerezales et al., 2017). El mecanismo detrás de esta selección se desconoce, sin embargo, se sabe que existen diversos mecanismos que utiliza el espermatozoide para navegar en el tracto reproductor femenino que pudieran estar detrás de la propia selección (Pérez-Cerezales et al., 2017). Por ello en los últimos años se han estado desarrollando nuevas metodologías basadas en estas propiedades con el objetivo de la selección *in vitro* de espermatozoides para su uso en TRAs.

Selección basada en la reotaxis

Miki y Clapham (2013) demostraron por primera vez que tanto espermatozoides humanos como de ratones orientan la dirección de su movimiento en contra de un flujo dado, lo que se conoce como reotaxis. Además, comprobaron la existencia de un flujo de fluido oviductal en las trompas de Falopio hacia el útero intensificado tras la cópula, lo que apoya la hipótesis de que la reotaxis es un mecanismo que opera en esta estructura para que los espermatozoides asciendan hacia el útero. De Martin et al. (2017) llevaron a cabo un primer ensayo piloto con donantes con normozoospermia reportando que los espermatozoides seleccionados por reotaxis mostraron una mayor compactación de la cromatina (99%) que la muestra antes de la selección (71%) y que los espermatozoides seleccionados por CG (83%). A parte de este trabajo, solo Zaferani et al. (2018) han planteado la reotaxis para la selección de espermatozoides motiles humanos reportando el diseño de un dispositivo microfluídico para tal fin pero sin comprobar en dicho trabajo la calidad de los espermatozoi-

des seleccionados. Nagata et al. (2018) reportaron el diseño de otro dispositivo microfluídico para seleccionar por reotaxis semen de toro congelado con el que los espermatozoides seleccionados mostraron menor fragmentación en el ADN (0,37%) que el semen sin seleccionar (7%). El empleo de este semen seleccionado en inseminación artificial arrojó resultados de preñez similares a los de semen sin seleccionar, pero utilizando una dosis 20 veces menor (1 millón de espermatozoides/inseminación vs. 20 millones de espermatozoides/inseminación respectivamente). Por lo tanto, los resultados reportados hasta la fecha son prometedores, pero tendremos que esperar todavía unos años hasta que se demuestre la eficacia de la reotaxis en la selección espermática en humanos y se desarrollen dispositivos adecuados para su inclusión en los protocolos de las clínicas de fertilidad.

Selección basada en quimiotaxis

La quimiotaxis es el mecanismo de navegación que emplea el espermatozoide en la proximidad del ovocito para dirigirse a él orientando su movimiento en un gradiente de sustancias químicas liberadas por el complejo cumulo ovocito donde la progesterona (P4) parece ser el quimioatrayente principal (Oren-Benaroya et al., 2008). Cabe resaltar que solo los espermatozoides capacitados responden mediante quimiotaxis por lo que esta propiedad permitiría seleccionar esta subpoblación específica (Oren-Benaroya et al., 2008). Así, utilizando un simple dispositivo, denominado "Sperm Selection Assay" (SSA), en el que se estableció un gradiente de P4 se consiguió seleccionar espermatozoides tanto de donantes con normozoospermia como pacientes subfértiles. En este trabajo se comprobó que en ambos casos los espermatozoides seleccionados estaban tres veces más capacitados, presentaban menor fragmentación en el ADN y menor estrés oxidativo que el semen antes de la selección (Gatica et al., 2013). Empleando otro dispositivo compuesto por un sistema de canales microfluídicos también se ha reportado una mejora de la calidad del semen seleccionado de donantes con normozoospermia en cuanto a un incremento de la morfología normal, reducción de la fragmentación de ADN y del porcentaje de espermatozoides apoptóticos (Li et al., 2018). Domínguez et al. (2018) demostraron que el empleo del dispositivo SSA permite seleccionar espermatozoides de toro de mayor calidad mejorando las tasas de división de la FIV utilizando tanto semen sexado como sin sexar. Sin embargo, hasta la fecha no se ha comprobado la eficacia de la selección espermática por quimiotaxis en la mejora de las TRAs en la práctica clínica, pero seguramente en los próximos años esta información estará disponible.

SESIÓN DE ANDROLOGÍA

Selección basada en la termotaxis

La termotaxis espermática consiste en la orientación del movimiento de los espermatozoides en un gradiente de temperatura hacia la temperatura más alta (Bahat et al., 2003). Las evidencias indican que es un mecanismo que permite a los espermatozoides orientarse en las trompas de Falopio y ascender hacia el útero (Pérez-Cereales et al., 2018). Al igual que con la quimiotaxis, se sabe que solo los espermatozoides capacitados muestran esta propiedad por lo que basándose en ella esta subpoblación podría ser seleccionada (Bahat et al., 2003). En un trabajo que publicamos en 2018 demostramos que tanto espermatozoides de ratón como de pacientes con normozoospermia seleccionados por termotaxis mostraron una mayor integridad en el ADN en comparación tanto a la muestra seminal previa a la selección como tras someterla a SU (Pérez-Cereales et al., 2018). Además, la utilización de estos espermatozoides seleccionados por termotaxis en la ICSI de ratón permitió aumentar las tasas de división, de embriones desarrollados *in vitro* hasta blastocito, de implantaciones y de nacimientos en contraposición a la utilización de espermatozoides seleccionados por SU. Si bien este es el único trabajo referente a la utilización de espermatozoides seleccionados por termotaxis en TRAs, un trabajo reciente llevado a cabo en toro, ha demostrado que muestras seminales con altos ratios de preñez en inseminación artificial muestran una mayor respuesta a la termotaxis (Mondal et al., 2016). Como en el caso de la reotaxis y quimiotaxis, carecemos de datos de utilización de esta técnica para la mejora de las TRAs en la clínica humana, sin embargo, los resultados previos en especies animales son prometedores.

SELECCIÓN ESPERMÁTICA UTILIZANDO SISTEMAS MICROFLUIDICOS

Como hemos visto en algunos de las metodologías anteriores los sistemas microfluidicos se están convirtiendo en dispositivos transversales para la utilización de diversos fundamentos en los que basas la selección espermática. Así se han probado sistemas microfluidicos tanto para la selección por reotaxis (Zaferani et al., 2018), quimiotaxis (Ko et al., 2018; Nagata et al., 2018) y termotaxis (Ko et al., 2018), como por otras propiedades físicas operando a pequeñas escalas que permiten la selección de espermatozoides motiles. Shirota et al. (2016) reportaron que utilizando uno de estos microchips basados en la creación de flujos laminares dirigidos por gravedad consiguieron recuperar espermatozoides con menor fragmentación en el ADN (1%) comparado con el SU (10%) en donantes sanos. Debido a la novedad de estas metodologías no se dis-

ponen aún de suficientes estudios que demuestren su utilidad para la mejora de las TRAs. Sin embargo, en una reciente publicación en la que se seleccionó espermatozoides de 61 pacientes con infertilidad de etiología desconocida con un dispositivo microfluídico comercial (Fertile Chip®, KOEK Biotechnology, Turquía) no se encontraron diferencias en cuanto a tasas de fecundación, embarazo y nacimiento durante la FIV con respecto al SU (Yetkinel et al., 2018). No obstante, estos autores observaron una mejor calidad embrionaria de aquellos producidos con espermatozoides seleccionados con Fertile Chip®. Son pues necesarios más estudios para determinar bajo qué condiciones estos dispositivos permiten la mejora de las TRAs.

CONCLUSIONES

La eficiencia de las técnicas de reproducción asistida tiene margen de mejora. La selección espermática puede ser un factor importante para alcanzar mayores tasas de nacimiento en las TRAs, sin embargo las metodologías desarrolladas hasta la fecha no han demostrado su utilidad a este respecto. Amplios estudios basados en nuevas técnicas de selección espermática siguen siendo necesarios teniendo en cuenta que cada técnica podría ser aplicable solo a casos específicos donde la fertilidad masculina está involucrada. Quizá incluso sea necesaria la combinación de varias metodologías de selección espermática para conseguir aumentar la eficiencia de las TRAs.

AGRADECIMIENTOS

Sara Ruíz Díaz es estudiante de doctorado con una beca del programa de "doctorados industriales 2018" de la Comunidad de Madrid (IND2018/BIO-9610). Iván Oseguera López es estudiante de doctorado con beca del CONACYT del gobierno de México (283833). Serafín Pérez Cereales es investigador Ramón y Cajal con financiación de dicho programa en su convocatoria del 2016 (RYC-2016-20147).

SESIÓN DE ANDROLOGÍA

BIBLIOGRAFÍA

1. Aitken RJ, Nixon B. Sperm capacitation: A distant landscape glimpsed but unexplored. *Mol Hum Reprod.* 2013;19(12):785-793. doi:10.1093/molehr/gat067.
2. Pérez-Cerezales S, Ramos-Ibeas P, Acuña OS, et al. The oviduct: from sperm selection to the epigenetic landscape of the embryo. *Biol Reprod.* 2017. doi:10.1093/biolre/iox173.
3. Sakkas D, Ramalingam M, Garrido N, Barratt CLR. Sperm selection in natural conception: what can we learn from Mother Nature to improve assisted reproduction outcomes? *Hum Reprod Update.* 2015;21(6):711-726. doi:10.1093/humupd/dmv042.
4. Centers for Disease Control and Prevention, American Society for Reproductive Medicine, Society for Assisted Reproductive Technology. 2016 - National Summary Report - Assisted Reproductive Technology. *Assist Reprod Technol Natl Summ Report.* Atlanta US Dept Heal Hum Serv. 2018.
5. De Geyter C, Calhaz-Jorge C, Kupka MS, et al. ART in Europe, 2014: Results generated from European registries by ESHRE. *Hum Reprod.* 2018;33(9):1586-1601. doi:10.1093/humrep/dey242.
6. Simon L, Zini A, Dyachenko A, Ciampi A, Carrell D. A systematic review and meta-analysis to determine the effect of sperm DNA damage on in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection outcome. *Asian J Androl.* 2017;19(1):80-90. doi:10.4103/1008-682X.182822.
7. Henkel R, Schill W-B. Sperm preparation for ART. *Reprod Biol Endocrinol.* 2003;1:108. doi:10.1186/1477-7827-1-108.
8. Zhao F, Yang Q, Shi S, Luo X, Sun Y. Semen preparation methods and sperm telomere length: density gradient centrifugation versus the swim up procedure. *Sci Rep.* 2016;6:39051. doi:10.1038/srep39051.
9. Rocca MS, Speltra E, Menegazzo M, Garolla A, Foresta C, Ferlin A. Sperm telomere length as a parameter of sperm quality in normozoospermic men. *Hum Reprod.* 2016;31(6):1158-1163. doi:10.1093/humrep/dew061.
10. Sakkas D, Manicardi GC, Tomlinson M, et al. The use of two density gradient centrifugation techniques and the swim-up method to separate spermatozoa with chromatin and nuclear DNA anomalies. *Hum Reprod.* 2000;15(5):1112-1116. doi:10.1093/humrep/15.5.1112.
11. Zini A, Finelli A, Phang D, Jarvi K. Influence of semen processing technique on human sperm DNA integrity. *Urology.* 2000;56(6):1081-1084. doi:10.1016/S0090-4295(00)00770-6.
12. Amiri I, Ghorbani M, Heshmati S. Comparison of the DNA fragmentation and the sperm parameters after processing by the density gradient and the swim up methods. *J Clin Diagnostic Res.* 2012;6(9):1451-1453. doi:10.7860/JCDR/2012/4198.2530.
13. Wang M, Sun J, Wang L, et al. Assessment of density gradient centrifugation (DGC) and sperm chromatin dispersion (SCD) measurements in couples with male factor infertility undergoing ICSI. *J Assist Reprod Genet.* 2014;31:1655-1663. doi:10.1007/s10815-014-0339-4.
14. Karamahmutoglu H, Erdem A, Erdem M, et al. The gradient technique improves success rates in intrauterine insemination cycles of unexplained subfertile couples when compared to swim up technique; a prospective randomized study. *J Assist Reprod Genet.* 2014;31:1139-1145. doi:10.1007/s10815-014-0274-4.
15. Oguz Y, Guler I, Erdem A, et al. The effect of swim-up and gradient sperm preparation techniques on deoxyribonucleic acid (DNA) fragmentation in subfertile patients. *J Assist Reprod Genet.* 2018;35:1083-1089. doi:10.1007/s10815-018-1163-z.
16. Palini S, De Stefani S, Primiterra M, et al. Comparison of in vitro fertilization outcomes in ICSI cycles after human sperm preparation by density gradient centrifugation and direct micro swim-up without centrifugation. *J Bras Reprod Assist.* 2017;21(2):89-93. doi:10.5935/1518-0557.20170022.
17. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol.* 2007;35(4):495-516. doi:10.1080/01926230701320337.
18. Grunewald S, Paasch U, Glander HJ. Enrichment of non-apoptotic human spermatozoa after cryopreservation by immunomagnetic cell sorting. *Cell Tissue Bank.* 2001;2(3):127-133. doi:10.1023/A:1020188913551.
19. Lee TH, Liu CH, Shih YT, et al. Magnetic-activated cell sorting for sperm preparation reduces spermatozoa with apoptotic markers and improves the acrosome reaction in couples with unexplained infertility. *Hum Reprod.* 2010;25(4):839-846. doi:10.1093/humrep/deq009.
20. Degheidy T, Abdelfattah H, Seif A, Albus FK, Gazi S, Abbas S. Magnetic activated cell sorting: An effective method for reduction of sperm DNA fragmentation in varicocele men prior to assisted reproductive techniques. *Andrologia.* 2015;47(8):892-896. doi:10.1111/and.12343.
21. Nadalini M, Tarozzi N, Di Santo M, Borini A. Annexin V magnetic-activated cell sorting versus swim-up for the selection of human sperm in ART: Is the new approach better than the traditional one? *J Assist Reprod Genet.* 2014;31(8):1045-1051.

SESIÓN DE ANDROLOGÍA

doi:10.1007/s10815-014-0267-3.

22. Berteli TS, Da Broi MG, Martins WP, Ferriani RA, Navarro PA. Magnetic-activated cell sorting before density gradient centrifugation improves recovery of high-quality spermatozoa. *Andrology*. 2017;5(4):776-782. doi:10.1111/andr.12372.

23. Zhang H, Xuan X, Yang S, Li X, Xu C, Gao X. Selection of viable human spermatozoa with low levels of DNA fragmentation from an immotile population using density gradient centrifugation and magnetic-activated cell sorting. *Andrologia*. 2018;50(1):e12821. doi:10.1111/and.12821.

24. Romany L, Garrido N, Motato Y, Aparicio B, Remohí J, Meseguer M. Removal of annexin V-positive sperm cells for intracytoplasmic sperm injection in ovum donation cycles does not improve reproductive outcome: A controlled and randomized trial in unselected males. *Fertil Steril*. 2014;102(6):1567-1575. doi:10.1016/j.fertnstert.2014.09.001.

25. Fang L, Ye YH, Li ES, Feng GF. [Magnetic-activated cell sorting (MACS) versus density gradient centrifugation (DGC) for the selection of human sperm in assisted reproductive techniques]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2018;98(40):3263-3267. doi:10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2018.40.010.

26. Stimpfel M, Verdenik I, Zorn B, Virant-Klun I. Magnetic-activated cell sorting of non-apoptotic spermatozoa improves the quality of embryos according to female age: a prospective sibling oocyte study. *J Assist Reprod Genet*. 2018;35(9):1665-1674. doi:10.1007/s10815-018-1242-1.

27. Dandekar P, Aggeler J, Talbot P. Structure, distribution and composition of the extracellular matrix of human oocytes and cumulus masses. *Hum Reprod*. 1992;7(3):391-398. doi:10.1093/oxfordjournals.humrep.a137656.

28. Said TM, Land JA. Effects of advanced selection methods on sperm quality and ART outcome: A systematic review. *Hum Reprod Update*. 2011;17(6):719-733. doi:10.1093/humupd/dmr032.

29. Henkel R. Sperm preparation: State-of-the-art physiological aspects and application of advanced sperm preparation methods. *Asian J Androl*. 2012;14(2):260-269. doi:10.1038/aja.2011.133.

30. Parmegiani L, Cognigni GE, Bernardi S, Troilo E, Ciampaglia W, Filicori M. "Physiologic ICSI": Hyaluronic acid (HA) favors selection of spermatozoa without DNA fragmentation and with normal nucleus, resulting in improvement of embryo quality. *Fertil Steril*. 2010;93(2):598-604. doi:10.1016/j.fertnstert.2009.03.033.

31. Avalos-Durán G, Ángel AMEC Del, Rivero-Murillo J, Zambrano-Guerrero JE, Carballo-Mondragón E, Checa-Vizcaíno MÁ. Physiological ICSI (PICSI) vs. conventional ICSI in couples with male factor: A systematic review. *J Bras Reprod Assist*.

2018;22(2):139-147. doi:10.5935/1518-0557.20180027.

32. Miller D, Pavitt S, Sharma V, et al. Physiological, hyaluronan-selected intracytoplasmic sperm injection for infertility treatment (HABSelect): a parallel, two-group, randomised trial. *Lancet*. 2019;393(10170):416-422. doi:10.1016/S0140-6736(18)32989-1.

33. Yániz JL, Soler C, Santolaria P. Computer assisted sperm morphometry in mammals: A review. *Anim Reprod Sci*. 2015;156:1-12. doi:10.1016/j.anireprosci.2015.03.002.

34. Bartoov B, Berkovitz A, Eltes F, Kogosowski A, Menezes Y, Barak Y. Real-time fine morphology of motile human sperm cells is associated with IVF-ICSI outcome. *J Androl*. 2002;23(1):1-8. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11780915>. Accessed May 16, 2019.

35. Gatimel N, Parinaud J, Leandri RD. Intracytoplasmic morphologically selected sperm injection (IMSI) does not improve outcome in patients with two successive IVF-ICSI failures. *J Assist Reprod Genet*. 2016;33(3):349-355. doi:10.1007/s10815-015-0645-5.

36. He F, Wang M-J, Li S-L, Zhang C-Y, Hu L-N. [IMSI versus ICSI for male factor infertility: A meta-analysis]. *Zhonghua Nan Ke Xue*. 2018;24(3):254-262. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30161313>.

37. Goswami G, Sharma M, Jugga D, Gouri D. Can intracytoplasmic morphologically selected spermatozoa injection be used as first choice of treatment for severe male factor infertility patients? *J Hum Reprod Sci*. 2018;11(1):40-44. doi:10.4103/jhrs.jhrs_74_17.

38. Schachter- Safrai N, Karavani G, Reuveni-Salzman A, Gil M, Ben-Meir A. Which semen analysis correlates with favorable Intracytoplasmic morphologically selected sperm injection (IMSI) outcomes? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2019;234:85-88. doi:10.1016/J.EJOGRB.2019.01.006.

39. Miki K, Clapham DE. Rheotaxis guides mammalian sperm. *Curr Biol*. 2013;23(6):443-452. doi:10.1016/j.cub.2013.02.007.

40. De Martin H, Cocuzza MS, Tiseo BC, et al. Positive rheotaxis extended drop: a one-step procedure to select and recover sperm with mature chromatin for intracytoplasmic sperm injection. *J Assist Reprod Genet*. 2017;34:1699-1708. doi:10.1007/s10815-017-1024-1.

41. Zaferani M, Cheong SH, Abbaspourrad A. Rheotaxis-based separation of sperm with progressive motility using a microfluidic corral system. *Proc Natl Acad Sci*. 2018;115(33):8272-8277. doi:10.1073/pnas.1800819115.

42. Nagata MPB, Endo K, Ogata K, et al. Live births from artificial insemination of microfluidic-sorted bovine spermatozoa characterized by trajectories correlated with fertility. *Proc Natl Acad*

SESIÓN DE ANDROLOGÍA

Sci. 2018;115(14):E3087-E3096. doi:10.1073/pnas.1717974115.

43. Oren-Benaroya R, Orvieto R, Gakamsky A, Pinchasov M, Eisenbach M. The sperm chemoattractant secreted from human cumulus cells is progesterone. *Hum Reprod.* 2008;23(10):2339-2345. <http://dx.doi.org/10.1093/humrep/den265>.

44. Gatica L V, Guidobaldi HA, Montesinos MM, et al. Picomolar gradients of progesterone select functional human sperm even in subfertile samples. *Mol Hum Reprod.* 2013;19(9):559-569. doi:10.1093/molehr/gat037.

45. Li K, Li R, Ni Y, et al. Novel distance-progesterone-combined selection approach improves human sperm quality. *J Transl Med.* 2018;16:203. doi:10.1186/s12967-018-1575-7.

46. Dominguez EM, Moreno-Irusta A, Guidobaldi HA, Tribulo H, Giojalas LC. Improved bovine in vitro embryo production with sexed and unsexed sperm selected by chemotaxis. *Theriogenology.* 2018;122:1-8. doi:10.1016/j.theriogenology.2018.08.023.

47. Bahat A, Tur-Kaspa I, Gakamsky A, Giojalas LC, Breitbart H, Eisenbach M. Thermotaxis of mammalian sperm cells: a potential navigation mechanism in the female genital tract. *Nat Med.*

2003;9(2):149-150. doi:10.1038/nm0203-149.

48. Pérez-Cerezales S, Laguna-Barraza R, De Castro ACAC, et al. Sperm selection by thermotaxis improves ICSI outcome in mice. *Sci Rep.* 2018;8(1). doi:10.1038/s41598-018-21335-8.

49. Mondal MA, Takagi Y, Baba SA, Hamano K. Involvement of calcium channels and intracellular calcium in bull sperm thermotaxis. *J Reprod Dev.* 2016;63(2):143-148. doi:10.1262/jrd.2016-107.

50. Ko YJ, Maeng JH, Hwang SY, Ahn Y. Design, Fabrication, and Testing of a Microfluidic Device for Thermotaxis and Chemotaxis Assays of Sperm. *SLAS Technol.* 2018;23(6):507-515. doi:10.1177/2472630318783948.

51. Shirota K, Yotsumoto F, Itoh H, et al. Separation efficiency of a microfluidic sperm sorter to minimize sperm DNA damage. *Fertil Steril.* 2016;105(2):315-321. doi:10.1016/j.fertnstert.2015.10.023.

52. Yetkinel S, Kilicdag EB, Aytac PC, Haydardedeoglu B, Simsek E, Cok T. Effects of the microfluidic chip technique in sperm selection for intracytoplasmic sperm injection for unexplained infertility: a prospective, randomized controlled trial. *J Assist Reprod Genet.* 2019;36(3):403-409.



OXX bank
Europe egg bank

Tu banco de óvulos

El único banco que forma parte de tu equipo



TENDENCIAS TEMPORALES EN RECUENTOS ESPERMÁTICOS Y DIFERENCIAS GEOGRÁFICAS INTERNACIONALES

Jaime Mendiola Olivares.

Universidad de Murcia. Dpto. de Ciencias Sociosanitarias. Facultad de Medicina. Campus Universitario de Espinardo. Murcia, España

INTRODUCCIÓN

Se ha informado de un descenso de los recuentos espermáticos en humanos, pero todavía es un tema controvertido y no se conocen las tendencias recientes. Un meta-análisis robusto sería fundamental dado el valor predictivo que el recuento espermático tiene para la fertilidad, morbilidad y mortalidad en humanos.

OBJETIVO

Realizar una revisión sistemática y análisis de meta-regresión de tendencias recientes en recuentos espermáticos medidos mediante la concentración espermática (CE) y el recuento espermático total (RET), y su modificación por estatus fértil y agrupación geográfica.

METODOLOGÍA

Se realizó una búsqueda en PubMed/MEDLINE y EMBASE para estudios en inglés sobre CE en humanos publicados entre 1981 y 2013. Siguiendo un protocolo predefinido se valoraron 7518 resúmenes y se revisaron 2510 artículos completos informando sobre datos primarios de CE. Un total de 244 estimaciones de CE y RET de 185 estudios con 42935 varones que proporcionaron muestras seminales entre 1973 y 2011 fueron extraídos para el análisis de meta-regresión, así como información sobre los años de recolección de las muestras y covariables importantes [estatus fértil ('No seleccionado por fertilidad' versus 'Fértiles'), agrupación geográfica ('Occidental', incluyendo América del Norte, Europa, Australia y Nueva Zelanda versus 'Otros', incluyendo América del Sur, Asia y África), edad, tiempo de abstinencia sexual, método de medida de la CE y volumen seminal, criterios de exclusión e indicadores de cumplimentación sobre los datos de las covariables]. Las pendientes de CE y RET se estimaron en función del año de recolección de las muestras seminales usando modelos de regresión lineal simple y meta-regresión ponderado, y éste último también fue ajustado por covariables predeterminadas y modificación por estatus fértil y agrupación geográfica. También se realizaron múltiples análisis de sensibilidad y modelos no lineales.

RESULTADOS

La CE decreció significativamente entre 1973 y 2011 (modelo bruto de regresión $b = -0.70$ millones/ml/año; IC95%: -0.72; -0.69, $P < 0.001$; modelo ajustado de meta-regresión $b = -0.64$; -1.06; -0.22, $P = 0.003$). Las pendientes en el modelo de meta-regresión se modificaron por estatus fértil (P de interacción = 0.064) y agrupación geográfica (P de interacción = 0.027). También hubo un decrecimiento significativo de la CE entre 1973 y 2011 entre varones occidentales no seleccionados (-1.38; -2.02; -0.74, $P < 0.001$) y occidentales fértiles (-0.68; -1.31; -0.05, $P = 0.033$), mientras que no se observaron tendencias significativas entre otros varones no seleccionados u otros fértiles. En los estudios de varones occidentales no seleccionados, la CE media disminuyó, en promedio, 1.4% al año con un descenso global del 52.4% entre 1973 y 2011. Las tendencias para CE y RET fueron similares, con un mayor descenso pronunciado entre varones occidentales no seleccionados (-5.33 millones/año, -7.56; -3.11, $P < 0.001$), correspondiente a un promedio de disminución en la media de RET del 1.6% anual y un descenso global del 59.3%. Los resultados cambiaron mínimamente en los múltiples análisis de sensibilidad realizados, y no se observaron relaciones no lineales. En un modelo restringido a datos posteriores a 1995, la pendiente de CE y RET entre varones occidentales no seleccionados fue similar a la de todo el periodo estudiado (-2.06 millones/ml, -3.38; -0.74, $P = 0.004$ y -8.12 millones, -13.73; -2.51, $P = 0.006$, respectivamente).

CONCLUSIONES

Este exhaustivo análisis de meta-regresión muestra un descenso significativo en recuentos espermáticos (medidos mediante CE y RET) entre 1973 y 2011, debido principalmente a una disminución del 50-60% entre varones no seleccionados por su fertilidad de América del Norte, Europa, Australia y Nueva Zelanda.



llama ahora al
944 354 600
e infórmate

Teléfono exclusivo para
Asociados comercializado
por Segurmec

Con el **Seguro de Responsabilidad Civil Profesional** de Segurmec

Puedes contratar un **capital asegurado** de hasta **1.200.000 €**
Incluye **coberturas específicas** para nuestro colectivo tales
como la **Garantía de Gametos y Preembriones** y la posibilidad
de asegurar a las **Sociedades Profesionales** sin coste añadido

ASEBIR Asociación para el Estudio
de la Biología de la Reproducción



LLAMADA A TODOS LOS PASAJEROS DE ASEBIR PARA MEJORAR SUS SEGUROS

> Más Información



Llámanos:
913 278 992

✓ Si nosotros ya tenemos un precio más bajo, te llevas hasta **100 €** al contratar*

✓ Si tienes un precio mejor que el nuestro, te lo mejoramos*



Hola,

Por estar asociado a **ASEBIR**, te garantizamos un precio mejor para tus seguros de **coche**, **moto**, **hogar** y **comercios** y **comercios + hogar**.



Coche



Moto



Hogar



Comercios

Contrata ahora y paga menos por tu seguro. Aprovecha esta oferta exclusiva para ti y tus familiares directos.

*La mejora de precio será de, al menos, un 5% respecto al precio de renovación presentado a Zurich. En caso de que no sea necesaria la aplicación de la mejora de precio, bien por la no existencia de un seguro anterior, bien porque el precio de Zurich sea más bajo, el nuevo cliente recibirá al contratar hasta 100 € según el producto y modalidad contratada. El pago de esta promoción se realizará a través de una transferencia bancaria al cliente pasados 45 días desde la contratación. Promoción válida para nuevas contrataciones realizadas entre el 1 de febrero y el 31 de diciembre de 2019 para pólizas de: 1) Coche (turismos o furgonetas de uso particular) en la modalidad de Terceros completo con y sin Pérdida Total o Todo Riesgo con franquicia con pago anual y con tomador, conductor y/o propietario con al menos 5 años de carné. 2) Hogar con las coberturas de contenido y continente. 3) Negocios (Despachos). Para ampliar el conocimiento sobre la mecánica, condiciones y promociones para otras modalidades/productos, consulta las bases en <http://colectivos.zurich.es/promocion2019>. No acumulable a otras promociones. Producto intermediado por SegurMec Correduría de Seguros, S.L. DGSFP J1281. El corredor recomienda estos productos sobre la base del análisis objetivo previsto en la Ley de Mediación de seguros y reaseguros privados. Estos productos pertenecen a Zurich Insurance plc, Sucursal en España.



**COMUNICACIONES
ORALES**

¿EXISTE CORRELACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE ELEMENTOS TRAZA MEDIDOS EN SUERO Y LÍQUIDO FOLICULAR DE MUJERES SOMETIDAS A TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA?

V. Castañón Bernardo, C. Barneo Caragol, L. Sánchez Castro, P. Antuña González, B. Ramos Balbona, C. Fernández Blanco, C. González González, M. Méndez López, E. Fernández Fernández, P. Llaneza Coto.
Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo (Asturias).

INTRODUCCIÓN:

Estudios previos muestran la importancia de los niveles de elementos traza en el suero de mujeres para el correcto funcionamiento del eje reproductivo, pero su papel en las técnicas de reproducción asistida (TRA) permanece aún sin esclarecer. Una posible explicación de la influencia de los elementos traza en la fisiología humana y, más concretamente, en la reproductiva, es su relación con el estatus oxidativo al actuar como cofactores de determinadas enzimas importantes en las rutas oxidativas.

La búsqueda de marcadores séricos que reflejen el funcionamiento ovárico sigue centrando muchos esfuerzos.

OBJETIVOS:

Explorar las diferencias entre los niveles de elementos traza en suero y líquido folicular (LF), con el fin de validar el suero como reflejo del ambiente ovárico.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Estudio prospectivo piloto con 20 pacientes que llevaron a cabo 2 ciclos FIV/ICSI entre abril 2017 y marzo 2018. El análisis de las mismas pacientes en dos momentos diferentes buscaba aumentar la fortaleza de los resultados.

Las pacientes eran estimuladas de acuerdo a un protocolo con antagonistas y la hCG se administraba una vez los folículos alcanzaban el tamaño adecuado. Se recogieron muestras de suero y LF en ambos ciclos de las 20 mujeres.

Las muestras de suero se recogieron 24 horas antes de la inyección de hCG y los LF fueron recogidos el día de la punción del folículo de mayor tamaño. Ambos especímenes fueron centrifugados y congelados a -80°C hasta el momento del análisis.

Se analizaron Cobre (Cu), Selenio (Se), Zinc (Zn), Cobalto (Co) y Estroncio (Sr) en un ICP-MS 7700x (Agilent). Se utilizaron los test t de Student y los coeficientes de correlación de Spearman y Pearson.

RESULTADOS:

La edad media fue de 35.56 (SD 2.83) años, el IMC 23.92 (SD 5.04) kg/m² y el período transcurrido entre los dos ciclos fue de 7.28 (SD 1.5) meses.

Media (SD) suero vs LF se muestran en la **tabla I**:

Primer ciclo			
	Media (SD) suero	Media (SD) LF	p
Co (µg/dl)	0.73 (0.61-1.01)	0.20 (0.16-0.25)	0.004
Cu (µg/dl)	139.61 (126.75-157.20)	108.62 (102.09-127.57)	<0.001
Zn (µg/dl)	101.82 (93.99 - 111.24)	41.35 (34.58-45.6)	<0.001
Se (µg/dl)	90.67 (86.44-93.21)	58.34 (49.22-59.48)	<0.001
Sr (µg/dl)	28.57 (24.18-35.38)	24.19 (20.94-26.99)	<0.001
Segundo ciclo			
Co (µg/dl)	0.59 (0.73-0.99)	0.20 (0.14-0.26)	<0.001
Cu (µg/dl)	140.28 (13.76)	109.21 (16.63)	<0.001
Zn (µg/dl)	104.19 (12.91)	36.45 (6.48)	<0.001
Se (µg/dl)	88.67 (9.35)	52.01 (7.33)	<0.001
Sr (µg/dl)	29.96 (24.33-31.64)	23.57 (18-25.71)	<0.001

COMUNICACIONES ORALES

Para predecir la situación ovárica en función de la sérica, se diseñaron modelos de regresión lineal cuando la relación lineal era estadísticamente significativa. En los casos en los que fue posible se obtuvieron los coeficientes de correlación que se muestran en la tabla II:

Elemento	Nº ciclo	Coefficiente	p
Sr	1º	0.24	<0.001
Co	2º	0.24	0.024
Cu	2º	0.73	0.002
Se	2º	0.59	<0.001
Sr	2º	0.73	<0.001

Tabla II. A la vista de los resultados y teniendo en cuenta los dos momentos de realización del ciclo, solo el estroncio correlaciona en ambos ciclos.

CONCLUSIONES:

- Se observa un descenso significativo de los niveles en LF respecto al suero en ambos ciclos.
- El estroncio muestra una fuerte correlación en los dos ciclos, que permitiría diseñar modelos predictivos en suero.
- El resto de los elementos traza séricos no son un reflejo del ambiente ovárico, ya que muestran correlación con los niveles foliculares solo en uno de los dos ciclos.

Este estudio ha sido apoyado parcialmente por la Fundación José Luis Castaño y la Sociedad Española de Química Clínica (FJLC-SEQC).

CO-002 ▶

EFECTO DEL CULTIVO EN AMBIENTE HÚMEDO EN EL DESARROLLO EMBRIONARIO Y EL PERFIL OXIDATIVO DEL MEDIO DE CULTIVO

C. Albert Rodríguez, R. Del Gallego Bonilla, L. Alegre Ferri, Z. Larreategui Laiseca, J. Marcos Alises, B. Aparicio Ruiz, P. Gámiz Izquierdo, JM. De los Santos Molina, M. Meseguer Escrivá

IIRMA - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

Las condiciones del cultivo pueden afectar al desarrollo de los embriones. El uso de aceite mineral es muy útil para el cultivo embrionario en seco, ya que nos permite evitar los cambios de osmolaridad, pH y temperatura. Sin embargo, el medio de cultivo puede sufrir cambios de osmolaridad por la evaporación del mismo.

OBJETIVO:

Los objetivos de este estudio fueron evaluar si el cultivo en saturación de humedad o en condiciones atmosféricas afecta al desarrollo embrionario y ver su relación con el perfil de estrés oxidativo.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo y multicéntrico que incluye un total de 7544 embriones de 1034 pacientes, procedentes de donación de ovocitos y de ovocitos propios.

Los embriones se cultivaron en un incubador con tecnología time-lapse Geri® (Genea Biomedx, Australia). Este incubador dispone 6 cámaras individuales, 3 de ellas en condiciones de cultivo en seco (CS) y las otras 3 en cultivo húmedo (CH). Evaluamos la tasa de blastocistos general y de buena calidad morfológica.

Para el perfil oxidativo se recuperaron un total de 125 medios de cultivo de los embriones de los pocillos de la placa de Geri® y se analizaron utilizando un TCL (Thermochemiluminescence) Analyzer™ (Carmel Diagnostics, Kiryat-Tivon, Israel). Consiste

COMUNICACIONES ORALES

en la oxidación inducida por calor de fluidos biológicos, midiendo la luz emitida como fotones emitidos por segundos (CPS). Comparamos el cultivo secuencial y el cultivo de medio único dependiendo del cultivo en condiciones secas o de humedad.

RESULTADOS:

No encontramos diferencias significativas en el desarrollo embrionario. Se obtuvieron una tasa muy similar de blastocistos cuando los embriones se cultivaron es CH: 71.3% vs CS: 71.0%. De igual forma la tasa de blastocistos de buena calidad (A o B según criterio de ASEBIR) fue muy similar 38.1 % en CH vs 37.7% en CS.

Con respecto al perfil de estrés oxidativo, tampoco encontramos diferencias significativas al comparar el cultivo húmedo con el seco utilizando medio único. Sin embargo, observamos una tendencia, en la que hay un mayor estrés oxidativo en los medios con CS: 127.8 ± 40.6 CPS vs CH: 106.9 ± 44.1 cps.

Por otro lado, cuando se cultivaron los embriones en cultivo secuencial observamos una mayor oxidación en el medio recogido en D5/6 (105.8 ± 39.2) vs el recogido en D3 (75.5 ± 20.4) y esta diferencia es significativa.

Además, no encontramos diferencias significativas al comparar el medio de D5/6 con el medio del cultivo de medio único. Estos resultados nos llevan a pensar que el metabolismo de oxidación incrementa a partir de día 3, en el momento de transición del desarrollo del embrión.

CONCLUSIONES:

En estudios previos, nuestros resultados mostraron que el cultivo en condiciones de humedad mejora el desarrollo embrionario. Sin embargo, en un intento de incrementar la muestra para confirmar los hallazgos, no encontramos diferencias significativas. En cuanto al perfil de estrés oxidativo, el cultivo en condiciones secas aumenta la oxidación del medio.

DESARROLLO DEL PROCEDIMIENTO DE VALIDACIÓN DE LA BIOPSIA DE TROFOECTODERMO EN EL SISTEMA DE CALIDAD DEL LABORATORIO DE EMBRIOLOGÍA

E. Ferrer Robles, P. Muñoz Soriano, V. Antequera Durán, M. Ferrer Buitrago, C. Calatayud Lliso, M. Ruiz Jorro
CREA. Centro Médico de Reproducción Asistida - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

La implantación de una nueva técnica en el laboratorio debe ir acompañada de un programa exhaustivo de calidad, que evalúe y verifique la eficacia y seguridad de ésta. Los resultados obtenidos deben ser comparables con aquellos publicados y recomendados en las guidelines, para así poder realizar su validación.

OBJETIVO:

Análisis de la influencia de todos los factores que intervienen en el proceso de biopsia de trofoectodermo (TE) en estadio de blastocisto, para estimar qué variables tienen mayor impacto en los resultados de diagnóstico e implantación.

MATERIAL Y MÉTODO:

De 72 ciclos de PGT, se biopsiaron 211 blastocistos con el sistema Láser Saturn 3 (RI), con perforación de la zona en D+4,

tras la biopsia fueron vitrificados y las muestras de TE fueron analizadas por NGS.

Las variables registradas fueron:

1. Morfológicas: Día de la biopsia (D+5, D+6) y calidad del blastocisto (A, B, C, D. ASEBIR). Porcentaje de TE eclosionado (0-25%; 26-50%, 51-99%, hatched). Localización de la MCI (dentro de la ZP, en hatching, fuera).
2. Técnica de biopsia: Persona que biopsia (1-3). Persona que dispara (1-3). Responsable del tubing (1-3). Número de disparos realizados (3-4; 5-6; >6). Número de células biopsiadas (0-5; 6-10, >10). Si se rebiopsia. Tipo de biopsia (pulling-flicking).
3. Criopreservación: Responsable vitrificación (1-3). Tiempo hasta momento de la vitrificación (<1h, >1h). Responsable desvitrificación (1-3). Supervivencia post-vitrificación.

Se calcularon las tasas de embriones con diagnóstico, porcentajes de ploidia e implantación de estas variables.

COMUNICACIONES ORALES

RESULTADOS:

En total, un 96 % de los embriones tuvieron diagnóstico, de los cuales el 47,5% fueron aneuploides, 16,3% mosaicos y el 36,1% euploides. En todos los ciclos de criotransferencia de los embriones euploides (con supervivencia a la desvitrificación del 100%) se realizó SET, obteniéndose una tasa de implantación del 65,6%.

Los resultados según las variables morfológicas y técnicas se presentan en las tablas I y II respectivamente. En ellas podemos observar un ligero aumento de mosaicismo, en aquellos blastocistos con mayor porcentaje de TE eclosionado, cuando hay un mayor número de disparos y un mayor número de células biopsiadas.

Se encontraron diferencias en la tasa de implantación, en cuanto a la variable tiempo hasta el momento de vitrificación: <1 h 81,2% (13/16) vs >1h 50% (8/16), respectivamente.

CONCLUSIONES:

La biopsia de blastocisto es una técnica compleja en la que intervienen múltiples factores que pueden afectar a la eficacia y seguridad de la misma. Obtener un diagnóstico correcto, minimizar el daño al embrión, asegurar su supervivencia y no afectar su potencial implantatorio deben ser objetivos fundamentales en este procedimiento.

Los resultados de este estudio preliminar resaltan variables técnicas aparentemente influirían con una mayor incidencia de mosaicismo. Disponer de indicadores específicos de todos los aspectos relacionados con la biopsia de trofoectodermo, permitirá detectar, de forma más rápida y sencilla, aquellas variables relacionadas con un incremento de embriones sin diagnóstico, mayor incidencia de mosaicismo o peor tasa de implantación.

Es fundamental y responsabilidad de cada centro, el realizar un seguimiento detallado desde el inicio de la implantación de una nueva técnica en el laboratorio.

Tabla I	N total	% Sin diagnóstico	% Aneuploides	% Mosaicos	% Euploides	% Implantación (impl/trans)
Día de biopsia						
D+5	140	4	46	14	40	70 (16/23)
D+6	65	5	52	18	31	56 (5/9)
Calidad ASEBIR						
A	41	0	44	15	42	80 (8/10)
B	108	5	41	19	40	71 (12/17)
C	60	7	64	11	25	25 (1/4)
D	2	0	0	50	50	0 (0/1)
% TE eclosionado						
0-25	84	6	57	10	33	70 (7/10)
26-50	88	3	46	15	39	66 (10/15)
51-99	21	0	38	33	29	75 (3/4)
Hatched	15	7	29	36	36	50 (1/2)
Localización MCI						
Dentro ZP	113	5	47	15	38	69 (11/16)
En hatching	61	3	56	14	31	60 (6/10)
Fuera ZP	20	0	45	20	35	100 (3/3)
Hatched	15	7	29	36	36	50 (1/2)

COMUNICACIONES ORALES

Tabla II	N total	% Sin diagnóstico	% Aneuploides	% Mosaicos	% Euploidies	% Implantación (impl/trans)
Responsable biopsia						
1	50	8	44	11	46	80 (4/5)
2	95	4	54	15	31	50 (7/14)
3	66	2	42	22	36	77 (10/13)
Responsable disparos						
1	30	0	53	7	40	67 (4/6)
2	66	2	44	23	32	70 (7/10)
3	114	7	48	13	35	60 (9/15)
Responsable Tubing						
1	36	3	47	11	46	NA
2	103	5	50	16	34	NA
3	70	4	45	19	36	NA
Número disparos						
3-4	58	3	50	14	36	63 (5/8)
5-6	97	5	46	14	40	62 (8/13)
>6	56	4	48	22	30	72 (8/11)
Número células biopsiadas						
0-5	98	6	53	16	30	80 (8/10)
6-10	99	2	43	15	41	47 (9/19)
>10	14	7	39	23	39	100 (4/4)
Técnica biopsia						
Pulling	151	3	49	14	37	63 (17/27)
Fliking	60	7	45	21	34	57 (4/7)
Rebiopsia						
No	195	4	49	16	35	63 (17/27)
Si	16	6	27	20	47	80 (4/5)

¿SON LOS RECURSOS HUMANOS EN EL LABORATORIO DE EMBRIOLOGÍA SUFICIENTES?: UNA REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

C. Olmedo Illueca (1), E. Veiga Álvarez (2), E. Ferrer Robles (3), L. Sánchez Castro (4), M. Fernández Díaz (5), A. Mauri López (6), ML. López Regalado (7), I. Molina González (8), M. Borrallo Fernández (9), JA. Castilla Alcalá (10)

(1) Hospital General Universitario de Valencia - Valencia (Valencia), (2) Hospital Clínico Universitario de Santiago - Santiago de Compostela (La Coruña), (3) CREA- Centro Médico de Reproducción - Valencia (Valencia), (4) Hospital Universitario Central de Asturias - Oviedo (Asturias), (5) Clínica Ergo (Ergo Biotech s.l) - Gijón (Asturias), (6) Centro Procrear - Reus (Tarragona), (7) Clínica IFEM - Córdoba (Córdoba), (8) Hospital Universitario Río Hortega - Valladolid (Valladolid), (9) MiniFiv - Madrid (Madrid), (10) U. Reproducción, UGC Obstetricia y Ginecología. H.U Virgen de las Nieves. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs y Grupo de Interés de Calidad de ASEBIR - Granada (Granada)

INTRODUCCIÓN:

La dotación de recursos humanos en un laboratorio de embriología es fundamental para el adecuado funcionamiento de un centro de reproducción. Las técnicas de reproducción asistida han ido adquiriendo complejidad desde que se realizaron los primeros ciclos de FIV hace más de 40 años. Nada queda de aquellos incubadores donde se desarrollaron los embriones que vieron nacer a Louise Brown. Tanto los procesos como los tiempos requeridos para desarrollar un ciclo de FIV han evolucionado en complejidad exponencialmente para dar lugar a laboratorios de alta tecnología donde se requiere personal cada vez más cualificado y sometido a mayor carga de trabajo.

Cada día en el laboratorio se manipulan decenas de gametos y embriones procedentes de distintas parejas. El mantenimiento de la trazabilidad podría verse afectado de no tener la plantilla adecuada con consecuencias fatales para la pareja, la clínica y el personal del laboratorio.

Es por ello que resulta imprescindible garantizar la seguridad y eficiencia de cada procedimiento, por lo que vemos necesario abordar los recursos humanos de forma precisa y ajustada a la realidad que se vive hoy en día en los laboratorios donde se aplican técnicas de reproducción asistida.

OBJETIVO:

Hacer una revisión exhaustiva de la bibliografía disponible donde se analice el número de embriólogos necesarios para cada laboratorio en base a su carga asistencial y las especificaciones de las técnicas realizadas.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se ha realizado una revisión de alcance en PubMed, ISI web of knowledge, Scopus y Google entre marzo-abril de 2019. Además, se revisó la lista de referencias de los artículos identificados con el objeto de no perder citas relevantes. La revisión bibliográfica identificó un total de 10 guías de sociedades científicas u organizaciones nacionales e internacionales y 6 artículos y libros científicos relacionados desde el año 2001 a la actualidad.

RESULTADOS:

Del total de guías consultadas, en 6 de ellas no se hace mención alguna al número de embriólogos recomendado por ciclos realizados en los laboratorios. Tan solo recomiendan que el personal sea el adecuado para la carga de trabajo. Tal y como puede verse en la Tabla I existen 4 guías donde establecen de forma unánime que debería haber un embriólogo cada 150 ciclos de FIV realizados al año y se recomienda un mínimo de 2 embriólogos.

De los 6 artículos y libros científicos consultados, en 4 de ellos se da información sobre el personal necesario (Tabla II). Se observa que la mayoría de autores y sociedades establecen mínimo dos embriólogos y 150 ciclos/embriólogo. Sin embargo, hay una tendencia a disminuir esta cifra con el tiempo, estableciendo las últimas publicaciones 100 ciclos por embriólogo (Gráfica 1).

COMUNICACIONES ORALES

CONCLUSIONES:

Con las evidencias actuales, y en base a la revisión realizada y la tendencia observada, creemos que son necesarios más estudios sobre los recursos humanos en embriología. En dichos estudios, más que un número de ciclos asumible por persona, debería estimarse dicho cálculo de forma individualizada

para cada laboratorio en base al número de ciclos realizados, procedimientos, tipo de técnica, guardias, tareas asumidas y periodos vacacionales y de descanso entre otros factores a analizar. Sólo así se podrá asegurar el correcto funcionamiento y la continuidad del programa en una unidad de reproducción asistida.

Tabla I. Guías de Sociedades Científicas y Organizaciones nacionales e internacionales.

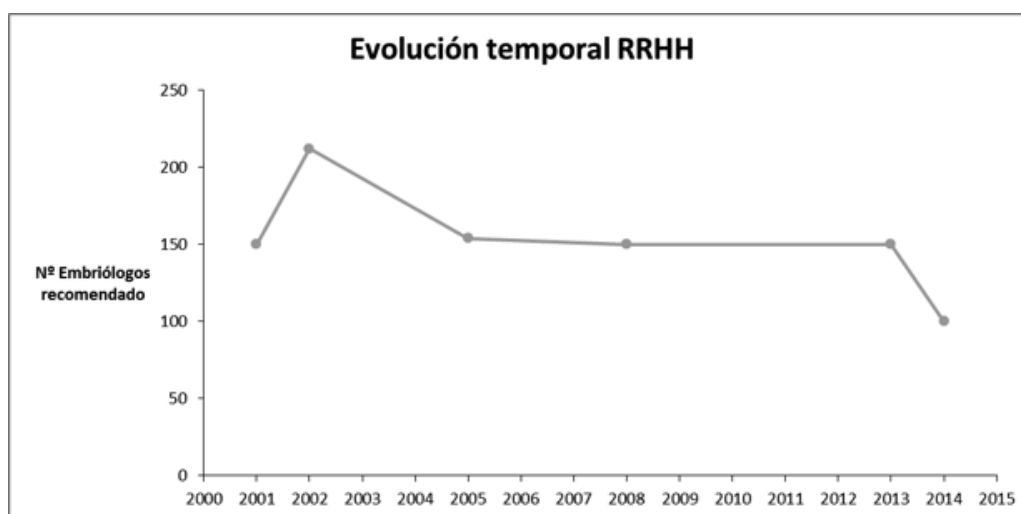
	Sociedad científica	Año Publicación	Ultima revisión	Nº Embriólogos recomendado
Accreditation standards and guidelines for IVF laboratories.	UK	1991	-	Sin datos
Manual de procedimientos Laboratorio de Reproducción Asistida.	RedLara	1998	-	Sin datos
College of American pathologist's reproductive laboratory accreditation program.	College of American pathologists	2001	-	Sin datos
Revised guideline for human embryology and andrology laboratories.	ASRM	2008	-	Min. 2 cada 150 ciclos. Aumentar 1 cada 150 ciclos
Cuaderno Recursos Humanos y Físicos	ASEBIR	2005	2008	150 ciclos/ embriólogo y 80 muestras semen. Min. 2
Association of Clinical Embryologists – Guidelines on Good Practice in Clinical Embryology Laboratories	Human Fertilization and Embryology Authority UK	2012	2012	Sin datos
Norma UNE 179007:2013	AENOR	2013	-	150 ciclos/ embriólogo
Revised guidelines for good practice in IVF laboratories	ESHRE	2008	2015	Min 2. si hay más de 150 ciclos/año
Code of practice for assisted reproductive technology units.	Fertility Society of Australia Reproductive Technology Accreditation Committee	1987	2017	Sin datos
Code of Practice edition 9.0	Human Fertilisation and Embryology Authority UK	2019		Sin datos

COMUNICACIONES ORALES

Tabla II. Artículos y libros científicos incluidos en el estudio.

Autores	Título	Revista	Año	Nº Embriólogos recomendado
Keel AB, Schalue KT.	Accreditation of the ART laboratory: The North American perspective.	Textbook of Assisted Reproductive. Techniques. 1st Edition. Gardner DK, Weissman A, Howles CM, Shoham Z, eds. Taylor & Francis	2001	90-150 ciclos/ embriólogo
Nuñez AI	Organización y recursos humanos de los laboratorios de FIV de los centros de SNS.	ASEBIR	2002	212 ciclos 500 seminogramas 250 IA/embriólogo concluye no más de 180 ciclos/ embriólogo
Aguilar J	Recursos humanos en el laboratorio de reproducción asistida. Análisis comparativo de guidelines de sociedades científicas.	ASEBIR	2004	Sin datos
Expósito A	Recursos humanos en el SNS	Rev. Iberoam Fertil	2005	154 ciclos- 204 IA/ embriólogo
Navarro Espígares JL	Costes de las técnicas de reproducción asistida en un hospital público.	Gaceta Sanitaria	2006	Sin datos
Alikani. M	Comprehensive evaluation of contemporary assisted reproduction technology laboratory operations to determine staffing levels that promote patient safety and quality care.	Fertility and Sterility	2014	100 ciclos/ embriólogo

Gráfica 1. Evolución temporal RRHH.



EVALUACIÓN DEL TAMPÓN HEPES EN RELACIÓN AL COMPORTAMIENTO DEL OVOCITO DURANTE LA MICROINYECCIÓN Y SU EVOLUCIÓN EMBRIONARIA

E. Santos Gares (1), I. Peinado Casas (1), P. Torres Gómez (1), M. de la Orden Rodríguez (1), MJ. Gómez Torres (2)

(1) Hospital Universitari i Politènic La Fe - Valencia (Valencia), (2) Universidad de Alicante - Sant Vicent del Raspeig (Alicante)

INTRODUCCIÓN:

La inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) es la técnica de fecundación *in vitro* que se emplea con mayor frecuencia en reproducción asistida. Aunque el protocolo está bien establecido y los resultados que proporciona son buenos, hay que seguir investigando con objeto de optimizarla y conseguir mejorar las tasas de nacidos vivos. En este trabajo se analizó el efecto del tampón HEPES en el medio donde se encuentran los ovocitos durante la ICSI. Los medios con HEPES se utilizan habitualmente en los procedimientos que se realizan a temperatura ambiente porque estabilizan el pH proporcionando mayor tiempo de manipulación de los gametos fuera del incubador. Sin embargo, está descrito que el ambiente es más estresante para ellos.

OBJETIVO:

El principal objetivo fue testar la competencia de dos medios durante el ICSI, uno de ellos con HEPES y el otro sin él para analizar los patrones de respuesta a la microinyección y posterior desarrollo embrionario.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio prospectivo de 31 pacientes que incluyó 368 ovocitos maduros distribuidos de forma aleatoria en dos grupos durante la ICSI: G1 (medio con HEPES, Flushing Medium (FM)) y G2 (medio sin HEPES, G-IVF Plus (G-IVF+)). Durante el ICSI se analizaron los patrones de respuesta a la microinyección: (1) rotura del oolema con o sin salto del espermatozoide por la aspiración del ooplasma y persistencia o no (2) del embudo y (3) del surco tras retirar la pipeta de ICSI (Figura 1). Se valoró el desarrollo embrionario posterior a la microinyección.

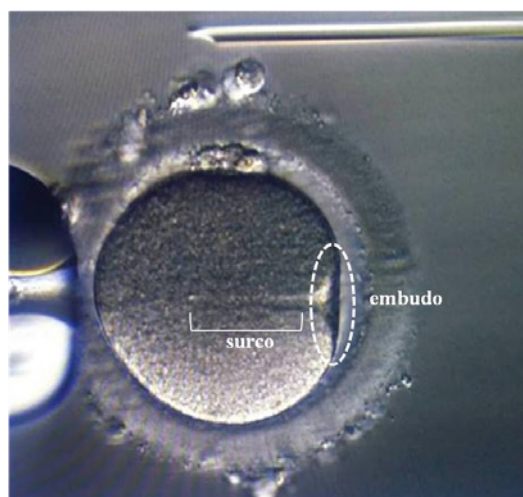


Figura 1. Ovocito con embudo y surco persistentes después de la microinyección (Propiedad intelectual de la autora).

RESULTADOS:

Romper membrana y la persistencia del surco en comparación con el G2 ($p=0,021$ y $p=0,019$ respectivamente) (Tabla I). También se obtuvo un mayor número de ovocitos con los tres patrones de comportamiento a la microinyección simultáneamente ($p = 0,002$) con el medio sin HEPES.

COMUNICACIONES ORALES

No hubo relación entre el desarrollo embrionario respecto de los dos medios de ICSI. Sin embargo, se consiguió una tasa de gestación más elevada, sin ser significativa, cuando los ovocitos procedían de la microinyección con G1 en comparación con G2 (50,0% vs. 37,5%).

Con independencia del medio utilizado, los resultados mostraron un aumento significativo en el porcentaje de ovocitos fecundados con embudo resistente, persistencia del surco y co-existencia de los 3 patrones ($p = 0,026$; $p = 0,006$ y $p = 0,036$, respectivamente). También se observó una disminución significativa de ovocitos degenerados en el caso de la persistencia del surco post-microinyección ($p = 0,028$). Además, los ovocitos que presentaron los 3 patrones de comportamiento a la vez, degeneraban significativamente menos que los que sufrieron una, dos o ninguna de ellos ($p = 0,044$).

De las 14 transferencias embrionarias (27 embriones totales, 16 procedentes del G1 y 11 del G2) gestaron 5 mujeres. La tasa de implantación por medio fue del 16 % en FM y del 23% en G-IVF+, siendo la tasa de gestación del 36%. Finalmente hubo 4 recién nacidos vivos (29% del total de transferencias embrionarias).

CONCLUSIONES:

El uso del G-IVF+ en la ICSI aumenta de manera significativa el número de ovocitos cuya membrana se rompe con salto y cuyo surco persiste después de la microinyección. A su vez, estos evolucionaron consiguiendo mayor tasa de fecundación, menor degeneración y aumentó de la tasa de gestación. Sin embargo, ninguno de los dos medios tuvo repercusión de manera significativa en los patrones de evolución embrionaria analizados.

Con nuestros resultados se podría considerar no utilizar medio con HEPES para el cultivo de los ovocitos durante la ICSI, siempre y cuando el tiempo del procedimiento no se exceda.

Tabla I. Respuestas del oolema a la microinyección en presencia de FM o G-IVF⁺.
R. ICSI: respuesta de los ovocitos a la microinyección.

R. ICSI		% (nº/total)			P
		ICSI	FM	G-IVF ⁺	
Rotura de membrana	Con salto	80,8 (253/313)	75,3 (116/154)	86,2 (137/159)	0,021
	Sin salto	19,2 (60/313)	24,7 (38/154)	13,8 (22/159)	
Embudo	Sí	66,5 (208/313)	63,0 (97/154)	69,8 (111/159)	0,231
	No	33,5 (105/313)	57,0 (37/154)	30,2 (48/159)	
Surco	Sí	78,9 (247/313)	73,4 (113/154)	84,3 (134/159)	0,019
	No	21,1 (66/313)	26,6 (41/154)	15,7 (25/159)	
Todo	Sí	54,3 (170/313)	45,5 (70/154)	62,9 (100/159)	0,002
	No	45,7 (143/313)	54,5 (84/154)	37,1 (59/159)	
Nada	Sí	5,4 (17/313)	7,1 (11/154)	3,8 (6/159)	0,219
	No	94,6 (296/313)	92,9 (143/313)	96,2 (153/159)	

COMUNICACIONES ORALES

Tabla II. Parámetros de evolución embrionaria en función del comportamiento de los ovocitos a la microinyección. TCa: tasa de cavitación; TCo: tasa de compactación; TE: tasa de eclosión.

	% (nº/total)					
	Rotura de membrana		Embudo		Surco	
	Con salto	Sin salto	Sí	No	Sí	No
ICSI	80,8 (253/313)	19,2 (60/313)	66,5 (208/313)	33,5 (105/313)	78,9 (247/313)	21,1 (66/313)
Fecundación	70,4 (178/253)	70,0 (42/60)	74,5* (155/208)	61,9* (65/105)	74,1** (183/247)	56,1** (37/66)
Degeneración	5,9 (15/235)	11,7 (7/60)	6,3 (13/208)	8,6 (9/105)	5,3*** (13/247)	13,6*** (9/66)
Embriones	98,9 (175/177)	100,0 (42/42)	98,7 (152/154)	100,0 (65/65)	98,9 (181/183)	100,0 (36/36)
TCo	51,3 (61/119)	53,8 (14/26)	48,0 (48/100)	60,0 (27/45)	50,4 (61/121)	58,3 (14/24)
TCa	33,6 (40/119)	38,5 (10/26)	32,0 (32/100)	40,0 (18/45)	32,2 (39/121)	45,8 (11/24)
TE	10,1 (12/119)	11,5 (3/26)	10,0 (10/100)	11,1 (5/45)	9,1 (11/121)	16,7 (4/24)

*: P = 0,026; **: P = 0,006; ***: P = 0,028.

CO-006 ▶

¿PUEDEN VARIAR LAS TASAS DE ÉXITO REPRODUCTIVO SEGÚN LA CAUSA DE INFERTILIDAD?

E. Güell Penas, J. Cura Ruiz, L. Felip Roca, E. Morono Sobral, O. González Barreda, J. Ibarz Batet, R. Ibarz Serrat, J. Ruiz Romero, M. López Rodríguez.

Conceptum - Reus (Tarragona)

INTRODUCCIÓN:

Las tasas de éxito reproductivo y de calidad del laboratorio de FIV están bien descritas en los indicadores de calidad publicados por ASEBIR y ESHRE. Estos indicadores principalmente discriminan rangos distintos según la procedencia de los oocitos (propios o de donante) y el tipo de embrión (fresco o congelado). Sin embargo, no hay ninguna mención especial a ciertos perfiles de pacientes o factores de infertilidad que podrían generar posibles dificultades añadidas. Pero si no disponemos de rangos específicos para determinados grupos según causa de esterilidad, ¿sería correcto informar a los pacientes de la probabilidad de éxito reproductivo sólo con las tasas de población general? ¿Qué tasas deberíamos tomar de referencia para asesorar a los pacientes y para el control de calidad del laboratorio?

OBJETIVO:

Analizar los distintos perfiles de pacientes (según causa, edad y procedencia de los gametos) y parametrizar las principales tasas indicativas del éxito reproductivo.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo en el que se incluyó 596 ciclos de FIV-ICSI, de 440 pacientes, comprendidos entre enero de 2014 y enero de 2019. Se descartaron las punciones blancas (0 recuperados) y los ciclos de preservación de la fertilidad. Se contempló la causa de infertilidad, la edad de los pacientes al día de la punción, la procedencia y tipo de semen (fresco, congelado, biopsia testicular, donante...) y de los oocitos (propios y do-

COMUNICACIONES ORALES

nante frescos), y la información propia del ciclo de FIV-ICSI (nº oocitos recuperados, nº oocitos maduros microinyectados, nº fecundados, nº embriones transferidos, nº embriones congelados, y tasas de fecundación y de embriones evolutivos). También se consideró la información relativa a la transferencia en fresco en caso de haberla (365 transferencias) y su resultado (embriones transferidos, nº sacos gestacionales). No se contemplaron las criotransferencias asociadas de cada ciclo.

Se elaboraron hasta 60 grupos en función de la combinación de los parámetros edad-paciente (<35 años vs ≥35 años), procedencia y tipo de los oocitos (propios vs donante, frescos o vitrificados), edad-pareja (<40 años vs ≥40 años), tipo de semen (fresco, congelado, biopsia testicular, donante) y causa de infertilidad. Se trabajó con 5 grupos de pacientes: "G18"= Grupo control, doble donación de gametos; "G50"=Ovodonación y semen eyaculado propio; "G60"=Biopsia Testicular; "G53" causa anovulación y <35 años; y "G55" causa anovulación y >35 años. Análisis estadístico: R-Software, Prueba U de Mann-Whitney para comparación de medias una vez comprobada la distribución no paramétrica de las variables, y Chi cuadrado para comparación de variables categóricas.

RESULTADOS:

No se observaron diferencias en ningún parámetro entre los grupos G18 y G50. Se observaron diferencias significativas entre G60 y G18 en la tasa de fecundación (69.6% vs 80.23%) y en el porcentaje de embriones evolutivos (60.6% vs 73.9%). También se registraron diferencias significativas entre los grupos G53 y G55 respecto al G18 en la media de oocitos recuperados, maduros y fecundados, así como en el nº de embriones criopreservados (TABLA I). G60 además registró diferencias en la tasa de embriones evolutivos (66.1% vs 73,9%).

CONCLUSIONES:

Se han detectado tres grupos (pacientes azoospermicos que recurren a biopsia testicular, pacientes con baja reserva ovárica de >35 y <35 años) que han manifestado distintas tasas de éxito reproductivo. Esto pueden condicionar el número final de embriones evolutivos, por lo tanto, modificar el pronóstico según el tipo de causa de infertilidad. Además, se ha comprobado que el factor edad >35 años en pacientes con anovulación empeora el pronóstico reproductivo respecto <35 años. Aunque es cierto que la incidencia de estos perfiles es baja, animamos a considerar la opción de ofrecer rangos para indicadores de calidad tomando en cuenta estos factores.

Tabla I

Indicador	G18 Control OVDS	G50 control OV+SemenFresco	G60 BT	G53 <35 propios, anovulación	G55 >35 propios, anovulación
nº ciclos	29	154	28	22	37
Media oocitos recuperados	13,14	14,9	11,68	7,23 * (53 VS 18)	5,62 * (55 VS 18)
Media oocitos MII	8,9	9,21	8,21	5,32 * (53 VS 18)	4,14 * (55 VS 18)
Media fecundados	7,14	7,47	5,71	4 * (53 VS 18)	3,11 * (55 VS 18)
Tasa fecundación	80,23% (207/258)	81,04% (1150/1419)	69,57% * (160/230) (60 VS 18)	75,21% (88/117)	75,16% (115/153)
Nº medio embriones transferidos	1,69	1,74	1,53	1,72	1,71
Nº medio embriones criopreservados	4,52	4,54	2,54	1,64 * (53VS18)	0,95 * (55VS18)
Embriones evolutivos (respecto MII)	59,30% (153/258)	57,36% (814/1419)	42,17% (90/230)* (60 vs 18)	57,26% (67/117)	49,67% (76/153) * (55 VS 18)
Embriones evolutivos (respecto fecundados)	73,91% (153/207)	70,78% (814/1150)	60,63% * (90/160) (60 vs 18)	76,14% (67/88)	66,09% (76/115) * (55 VS 18)
Tasa gestación	62% (8/13)	43% (21/49)	39% (7/18)	47,37% (9/19)	22,22% (6/27)
Tasa implantación	41% (9/22)	28% (24/85)	25% (7/28)	23,53% (8/34)	12,77% (6/47)

Diferencias estadísticamente significativas P<0.05 indicadas con asterisco * y **

APLICACIÓN DE LA RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR EN LA PREDICCIÓN DE IMPLANTACIÓN EMBRIONARIA

A C. Ralha de Abreu (1), C. González Navas (2), A. Gómez García (3), I. Fernández De las Nieves (4), M A. Vilches Ferrón (1)

(1) Hospital Universitario Torrecárdenas - Almería (Almería), (2) FIV Marbella - Marbella (Málaga), (3) Hospital Universitari Vall d'Hebron - Barcelona (Barcelona), (4) Universidad de Almería - Almería (Almería)

INTRODUCCIÓN:

La Resonancia Magnética Nuclear (RMN) es una técnica de tremendo poder estructural e innumerables ventajas desde un punto de vista analítico. Quizás su mayor desventaja es su baja sensibilidad cuando se compara con técnicas como la espectroscopía de masas, capaces de detectar analitos en rango de concentración: parte por billón e incluso parte por trillón. Para suplir esta cierta desventaja, la tecnología ha puesto en el mercado las denominadas criosondas, que permiten a la RMN introducirse en el mundo analítico clínico. El presente estudio se centra en la aplicación de esta potente técnica al estudio de medios de cultivo embrionario D+2, D+3 y D+5, con el objetivo de predecir la selección embrionaria, en el momento de la transferencia, que directamente supondrá una mejora en la tasa de implantación, embarazo y tasa de RNV.

OBJETIVO:

Construir una nueva herramienta metodológica e instrumental que combine la espectroscopía de RMN y técnicas quimiométricas de análisis multivariante para su aplicación en predicción de la implantación embrionaria.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio multicéntrico/multidisciplinar con elevada componente analítica, con una selección y asignación aleatoria de los medios de cultivo. La aportación de los casos/muestra es realizada por clínicas RAH (privados y públicos) geográficamente equidistantes, aportando un tamaño muestral superior a 500 casos/muestra, así como amplio abanico de edades y razas, que genera una alta variabilidad muestral. Los medios utilizados para el desarrollo embrionario son los habituales utilizados en la práctica clínica, tanto para cultivo o desarrollo embrionario en medios secuenciales como con en medios one-step. La calidad del preembrión se determina por visua-

lización_microscópica de las características morfológicas. El medio de cultivo solo, tras periodo de incubación embrionaria (D+2: 43-45 horas posinseminación; D+3: 67-69 horas posinseminación; D+5: 114-118 horas posinseminación y/o D+6: 136-140 horas posinseminación), se recoge minuciosamente (20uL) y se transfiere a crioviales a -80 °C. Para las medidas de RMN, se añade a cada criovial la cantidad de 400 uL de solución de NaCl (0.09%) en D₂O. Las medidas se realizan en un espectrómetro Bruker Avance III 600 equipado con criosonda cuádruple y utilizando la secuencia 1H CPMG. La caracterización del medio de cultivo ha sido posible tras la adquisición de experimentos mono y bidimensionales tipo TOCSY, COSY, HMQC y HMBC. Los espectros obtenidos se procesaron a través del software TOPSPIN 3.2 (Bruker BioSpin GmbH) y luego se someten a análisis estadístico utilizando el software SIMCA-P (v. 14.0, Umetrics). Finalmente, diversas técnicas de análisis multivariante de datos no supervisadas y supervisadas tales como PCA, PLS, OPLS fueron aplicadas sobre los datos de RMN para la identificación de los metabolitos discriminantes de desarrollo_calidad embrionaria y de embarazo.

RESULTADOS:

Tras aplicación de un modelo OPLS-DA (Orthogonal Projections to Latent Structures Discriminant Analysis) a los datos de RMN (Figura 1) se observa discriminación entre cultivos de embriones que han generado embarazo positivo (azul) y embarazo negativo (verde). El gráfico de loadings permite observar las zonas espectrales que contienen metabolitos que existen en mayor concentración en las muestras de cultivos de embriones que han generado embarazo positivo (azul) o negativo (verde). Los puntos verdes y azules del gráfico de loadings mostrado en la Figura 1b, muestra regiones espectrales causantes de la diferenciación y de cuya identificación estructural se obtendrán los biomarcadores o metabolitos discriminantes.

COMUNICACIONES ORALES

CONCLUSIONES:

El estudio preliminar arroja una buena clasificación de medios de cultivo de desarrollo de D+2 a D+5/D+6 (e_blastocisto) que permite ser optimista en cuanto a poder obtener un modelo de predicción preimplantacional sólido y de eficacia verificada. En el futuro se prevé la adición de nuevos casos al estudio, que permitirán la obtención de un modelo más robusto y de una clasificación más exacta de los biomarcadores metabólicos asociados a un embarazo positivo que mejorará la tasa de eficiencia de las técnicas de FIV y en especial el número y calidad de los blastocistos obtenidos.

BIBLIOGRAFÍA:

Caballero JN, Gervasi MG, Veiga MF, Dalvit GC, Pérez-Martínez S, Cetica PD, Vázquez-Levin MH (2014) Epithelial cadherin is present in bovine oviduct epithelial cells and gametes, and is involved in fertilization-related events. *Theriogenology*. 2014 Jun;81(9):1189-206.

Dokras A, Sargent IL, Barlow DH (1993) Human blastocyst grading: an indicator of developmental potential? *Hum Reprod*. Dec;8(12):2119-27.

Hentemann M, Bertheussen K (2009) New media for culture to blastocyst. *Fertil Steril*. 2009 Mar;91(3):878-83. doi: 10.1016/j.fertnstert.2007.12.011.

Hyslop L, Prathalingam N, Nowak L, Fenwick J, Harbottle S, Byerley S, et al. (2012) A novel isolator-based system promotes viability of human embryos during laboratory processing. *PLoS One*. 2012;7(2):e31010.

Gardner DK, Vella P, Lane M, Wagley L, Schlenker T, Schoolcraft WB (1998) Culture and transfer of human blastocysts increases implantation rates and reduces the need for multiple embryo transfers. *Fertil Steril*. Jan;69(1):84-8.

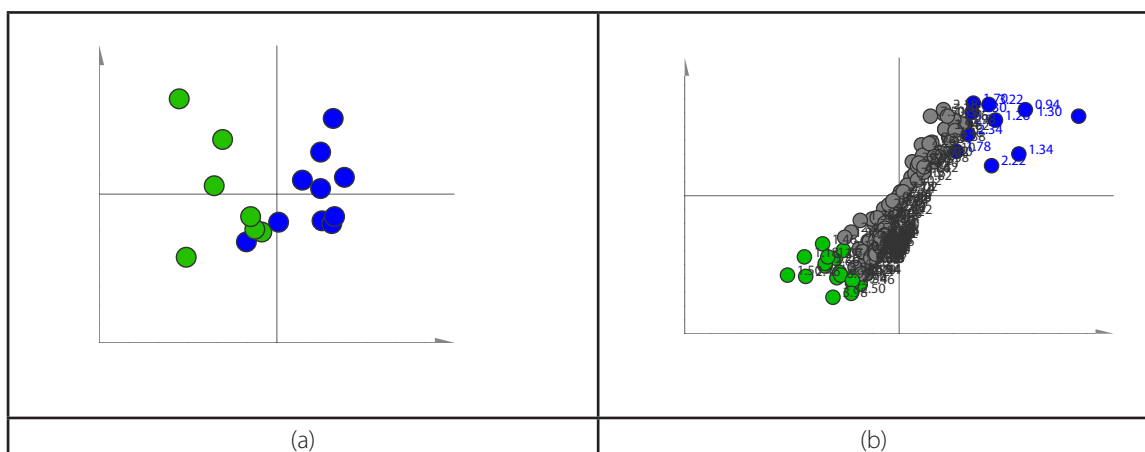
Kirkegaard K, Svane ASP, Nielsen JS, Hindkjaer JJ, Nielsen NC, Ingerslev HJ (2014) Nuclear magnetic resonance metabolomic profiling of Day 3 and 5 embryo culture medium does not predict pregnancy outcome in good prognosis patients: a prospective cohort study on single transferred embryos. *Hum. Reprod* 2014;29:2413-2420.

Nadal-Desbarats L, Veau S, Blasco H, Emond P, Royere D, Andres CR, Guerif F (2013) Is NMR metabolic profiling of spent embryo culture media useful to assist in vitro human embryo selection? *Magma* (New York, NY) 2013;26:193-202.

Perduzzi P, Concato J, Kemper E, Holford TR, Feinstein AR. (1996) A simulation study of the number of events per variable in logistic regression analysis. *J Clin Epidemiol* 1996; 49: 1373-9.

Pregosin PS, Kumar, PGA, Fernández, I (2005) Pulsed Gradient Spin-Echo (PGSE) Diffusion and ¹H, ¹⁹F Heteronuclear Overhauser Spectroscopy (HOESY) NMR Methods in Inorganic and Organometallic Chemistry: Something Old and Something New. *Chem. Rev*. 2005;105: 2977-2998.

Pudakalakatti SM, Uppangala S, D'Souza F, Kalthur G, Kumar P, Adiga SK, Atreya HS (2013) NMR studies of preimplantation embryo metabolism in human assisted reproductive techniques: a new biomarker for assessment of embryo implantation potential. *NMR Biomed*. 2013; 26:20-27.



APLICACIÓN DE LA INTELIGENCIA ARTIFICIAL PARA LA SELECCIÓN EMBRIONARIA COMBINANDO EL ANÁLISIS PROTEICO DEL MEDIO DEL CULTIVO EN CONTACTO CON EL BLASTOCISTO, LA MORFOCINÉTICA Y LA MORFOLOGÍA EN D5 DE DESARROLLO

M. Meseguer Escriva (1), L. Bori (1), M. Toschi (1), R. Del Gallego (1), L. Alegre (1), C. Hickman (2), C. Rocha (3)

(1) IVI Valencia, Valencia (2) Imperial College, London (3) UNESP, Sao Paolo

INTRODUCCIÓN:

La aplicación de la tecnología de la inteligencia artificial (IA) sobre imágenes de embriones obtenidas mediante Time-Lapse, sus respectivos valores morfocinéticos y las proteínas secretadas en el medio de cultivo de los embriones mediante la aplicación de proteoarrays para predecir niño recién nacido.

OBJETIVO:

Los valores morfocinéticos (n=131) y los valores de secreción proteica (n=44) procedentes de transferencias de blastocisto único, y 131+44 imágenes de time-lapse procedentes de embriones a las 111.5 horas post ICSI fueron utilizadas para entrenar (70%), Validar (15%) y un test ciego (15%) para predecir el nacimiento de niño sano mediante la extracción de la información por la IA. Los criterios de inclusión incluyeron receptoras de nuestro programa de donación de ovocitos, con transferencia única de embrión y sin DGP.

MATERIAL Y MÉTODO:

Los tiempos absolutos e intervalos entre divisiones (t2 a t8) fueron utilizados, junto con 33 variables numéricas independientes extraídas de imágenes estandarizadas procedentes de time-lapse. Adicionalmente y mediante la tecnología de Proximidad por Extensión analizamos 25 proteínas diferentes secretadas en el medio de cultivo del embrión y que incluyen IL-6, IL-8, VEGFA, MCP-1, IL-1, CSF-1, SCF entre otras. La arquitectura de redes neuronales artificiales (ANN) asociado a un algoritmo genético se utilizó para producir un algoritmo predictivo de recién nacido. La eficacia en la predicción del recién nacido se cuantificó utilizando curvas ROC y matrices de confusión que nos proporcionaron los verdaderos positivos -VP, Verdaderos Negativos -VN, Falsos Positivos -FP y Falsos Negativos -FN).

RESULTADOS:

La capacidad predictiva general para recién nacido mediante la IA utilizando solo la morfocinética fue del 96.2% (126/131; VP= 37, VN= 69, FP= 1, FN= 4, ROC= 0.946). La capacidad predictiva general para recién nacido mediante la IA utilizando sólo la imagen del blastocisto fue del 90.1% (100/111, VP=39, VN= 61, FP= 7, FN= 4, ROC= 0.91). La capacidad predictiva general para recién nacido mediante la IA utilizando la imagen del blastocisto combinada con el análisis de proteómica fue del 100% (30/30, VP=15, VN= 15, FP= 0, FN= 0, ROC= 1). Los resultados fueron presentados para cada uno de los estudios en las fases de aprendizaje, test y validación, existiendo consistencia entre todos ellos.

CONCLUSIONES:

Por primera vez presentamos la utilización del inteligencia artificial para evaluar la calidad del blastocisto combinando morfología, morfocinética y proteómica sobre una casuística de transferencia de embrión único de nuestro programa de donación de ovocitos y con la información del recién nacido. Nuestros datos sugieren que la IA puede ser utilizada para mejorar la selección embrionaria realizada con la morfología convencional o los algoritmos actuales utilizados para la selección por morfocinética. Los niveles de precisión presentados por esta técnica son muy altos y su confirmación prospectiva puede significar uno de los mayores avances en el campo de la embriología.

PULLING VS FLICKING. IMPACTO EN LA VIABILIDAD EMBRIONARIA DE LA TÉCNICA DE MICROMANIPULACIÓN UTILIZADA PARA LA BIOPSIA

V. Montalvo Pallès, S. Novo Bruña, C. Castelló Zupanc, M. López-Teijón Pérez

Institut Marquès - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

La biopsia de trofoectodermo se ha convertido en la técnica más habitual para realizar el test genético preimplantacional (PGT). Sin embargo, se trata de una metodología técnicamente compleja y puede llevarse a cabo de distintas formas. Generalmente, la práctica de la biopsia de trofoectodermo implica el uso de un láser para debilitar las uniones celulares y adicionalmente se requiere de una fuerza mecánica para separar las células biopsiadas del embrión. Principalmente existen dos maneras de ejercer esta fuerza mecánica: manteniendo una elevada tensión durante la ejecución de los disparos de láser entre las uniones celulares (Pulling), o por la fricción generada entre la pipeta de biopsia y la holding para conseguir desprender una porción de trofoectodermo del blastocisto (Flicking).

OBJETIVO:

Analizar los efectos en la viabilidad y potencial reproductivo de los embriones biopsiados mediante Pulling o Flicking

MATERIAL Y MÉTODO:

Este es un estudio prospectivo observacional que incluye ciclos de PGT realizados entre noviembre de 2018 y abril de 2019. Hasta el momento, en este trabajo se incluyen un total de 52 blastocistos biopsiados, vitrificados, diagnosticados como euploides y desvitrificados para su eventual transferencia. Todos los embriones fueron cultivados bajo las mismas condiciones utilizando medio de cultivo único e incubador time-lapse. La eclosión asistida se realizó en día 3 y la biopsia en día 5 o 6 de cultivo. Finalmente las biopsias embrionarias se analizaron mediante Next Generation Sequencing (NGS).

Se valoró la tasa de supervivencia a la desvitrificación, la tasa de embarazo, de implantación y de aborto de los embriones biopsiados transferidos

Se utilizó el test de homogeneidad Chi-cuadrado para determinar la homogeneidad de ambos grupos y al compararlos se consideró un p-valor <0,05 como estadísticamente significativo.

Pulling vs Flicking. Impacto en la viabilidad embrionaria de la técnica de micromanipulación utilizada para la biopsia.

	N	Supervivencia a vitrificación	Prueba Embarazo +	Implantación	Aborto
Pulling	29	29 (100,0%) ^a	24 (85,7%) ^a	20 (74,1%) ^a	3 (10,3%) ^a
Flicking	23	19 (82,6%) ^a	10 (52,6%) ^b	6 (35,3%) ^b	2 (10,5%) ^a

Tabla 1. Resultado de las transferencias embrionarias según técnica de biopsia realizada. Diferentes superíndices indican diferencias estadísticamente significativas en la misma columna (p<0,05).

COMUNICACIONES ORALES

RESULTADOS:

De los 52 embriones desvitrificados 29 provenían de embriones biopsiados mediante Pulling y 23 mediante Flicking.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las variables comparadas en ambos grupos tales como: el número de disparos utilizados con el láser y su intensidad, los operarios que realizaban la biopsia, la calidad morfológica de los embriones y el número de embriones biopsiados en día 5 o 6. Los embriones biopsiados mediante Pulling lograron una supervivencia a la vitrificación mayor aunque no estadísticamente significativa a los embriones biopsiados por Flicking (Tabla I). Una vez transferidos, los embriones biopsiados por Pulling presentaron una tasa de embarazo e implantación estadísticamente superior a los embriones biopsiados por Flicking. No se observaron diferencias en las tasas de aborto.

CONCLUSIONES:

Estos resultados, aunque preliminares, parecen indicar que la técnica de Pulling produce un menor daño a los embriones, favoreciendo una mayor supervivencia a la vitrificación y mejores tasa de implantación. Esto podría ser debido a que utilizando esta técnica se dispara a las uniones celulares de manera precisa evitando dañar directamente las células del trofoectodermo. Opuestamente, el Flicking parece ser una técnica más agresiva que dañaría las células del trofoectodermo reduciendo su potencial reproductivo.

A falta de incrementar la muestra del estudio, se observa una tendencia que nos indica que la técnica de Pulling debería ser la primera opción para realizar la biopsia, siempre que sea factible, para reducir el daño al embrión y optimizar los resultados clínicos del PGT.

TRANSFERENCIA ELECTIVA DIFERIDA DE UN EMBRIÓN: RESULTADOS PRELIMINARES DE UN ENSAYO CLÍNICO BASADO EN TASAS DE GESTACIÓN DE LA PRIMERA TRANSFERENCIA Y CICLO ACUMULADO

A. Clavero Gilabert, MC. Gonzalvo López, B. Romero Guadix, R. Sánchez Ruiz, N. Morales Rincón, A. Castro Rodríguez, M. Muñoz Sánchez, T. Ortega Martín, S. Rodríguez Guirado, JA. Castilla Alcalá
H. U. Virgen de las Nieves - Granada (Granada)

INTRODUCCIÓN:

La transferencia embrionaria única (eSET) disminuye la tasa de gestación múltiple y sus complicaciones. Sin embargo, son necesarios estudios que ayuden a elevar la eficacia de esta técnica para aumentar su implantación, la cual mejora indudablemente la seguridad de nuestras pacientes. Por otro lado, la transferencia diferida o protocolo freeze-all mejora las tasas de éxito en ciclos de FIV/ICSI e incluso disminuye la morbilidad materna y perinatal. El uso conjunto de ambas técnicas podría mejorar su rentabilidad.

OBJETIVO:

Evaluar la eficacia de la transferencia diferida en un programa de eSET en términos de tasa de gestación y nacido vivo. Secundariamente se analizarán los resultados perinatales.

MATERIAL Y MÉTODO:

Ensayo clínico aleatorizado prospectivo a dos brazos en paralelo no ciego. Criterios de inclusión: parejas de buen pronóstico reproductivo candidatas a FIV/ICSI. Las pacientes siguen un tratamiento de estimulación de la ovulación mediante protocolo con agonistas o antagonistas de la GnRH. Hasta la fecha se han aleatorizado 49 parejas (excluyendo 8 por diversas causas como no fecundación, no disponibilidad de embrión para criopreservación, etc.) en dos grupos en el día de la punción ovárica:

-Grupo I (experimental): 23 parejas. No se realiza transferencia en fresco, el embrión de mejor calidad se criopreserva. Criotransferencia electiva en un ciclo posterior.

-Grupo II (control): 18 parejas. Transferencia en fresco del embrión de mejor calidad.

COMUNICACIONES ORALES

Se evaluaron variables clínicas (edad, IMC, años de esterilidad...) y de laboratorio como número de ovocitos, ovocitos fecundados, calidad de la transferencia, etc., además de las tasas de gestación de la primera TE y del ciclo completo y tasa de aborto. Para comparar estas variables entre los grupos de estudio se utilizan los test Chi cuadrado o t de Student.

RESULTADOS:

No se observan diferencias significativas en las variables clínicas entre los grupos. Tampoco se observan diferencias significativas en la media de ovocitos obtenidos entre el grupo experimental y control ($12,6 \pm 7,6$ vs $9,1 \pm 3,7$ respectivamente), en el número de MII ($11,1 \pm 7,1$ vs $7,4 \pm 4,9$), en la tasa de fecundación (71,2% vs 76,7%) ni en la media de embriones de buena calidad ($1,7 \pm 1,2$ vs $1,4 \pm 0,9$). La media de embriones criopreservados fue significativamente mayor en el grupo de estudio ($3,4 \pm 2,4$ vs $1,7 \pm 1,6$).

La tasa de gestación clínica en la primera transferencia embrionaria (TE) en el grupo de estudio fue del 17.4% (4 gesta-

ciones/23 TE) mientras que en el grupo control fue del 11.1% (2/18), pero estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (OR=1.68; IC 95% 0.27-10.43). En la tasa de gestación acumulada no se encontraron diferencias entre el grupo de estudio (28.2%; 11 gestaciones/39 TE) y el grupo control (29.6%; 8/27) (OR=0.93; IC 95% 0.32-2.75). La tasa de aborto acumulada fue mayor en el grupo control (0% vs 25.0%; OR=0.15; IC 95% 0.01-3.50).

CONCLUSIONES:

Los resultados preliminares del estudio no indican un aumento de la tasa de éxito con la utilización de la TE diferida, aunque el porcentaje de gestación en la primera TE fue mayor (no significativo). Los resultados del ciclo acumulado igualan las tasas de gestación, lo que era esperable, dado que todas las transferencias subsiguientes fueron de embriones criopreservados en ambos grupos. El estudio debe seguir realizándose para aumentar el tamaño de muestra y analizar si el aumento de gestaciones en el grupo de TE diferida es relevante.

CO-011 ▶

SHOULD WE REALLY DISCARD OOCYTES WITH SMOOTH ENDOPLASMIC RETICULUM CLUSTERS (SERC+)?

S. Marín Real, C. Olmedo Illueca, I. Chapa Chordá, A. Muijsenberg Alcalá, M. Palma Rodríguez, L. Abad Velasco, S. Royo Bolea, M. Barea Gómez, I. Cuevas Sáiz

Hospital General Universitario de Valencia - Valencia (Valencia)

INTRODUCTION:

Current literature shows contradictory data regarding the use of SERC + oocytes. Several studies suggest that SERC + oocytes have lower fertilization, embryo implantation and pregnancy rates. Moreover, several studies have reported an increased number of unhealthy newborns from SERC + oocytes, consequently, some groups do not recommend their use for in vitro fertilization treatments. However, there are some studies reporting that IVF treatments using SERC + oocytes have given rise to healthy newborns, hence supporting their use.

OBJECTIVES:

The aim of this study is to determine whether the potential of SERC+ oocytes is compromised for in vitro fertilization use by comparing fertilization, embryo development, implantation and healthy newborn rates between SERC+ and SERC- oocytes.

MATERIAL AND METHODS:

We retrospectively analyzed data of 208 oocytes from 85 patients who underwent in vitro fertilization treatment from

COMUNICACIONES ORALES

January of 2011 to July of 2018. Out of these, 100 oocytes were SERC- and 108 SERC+. Fertilization and embryo development were compared. For the treatment outcome data, only transferred embryos were included in the analysis, 15 of them from SERC+ group. Fetal heartbeat was confirmed by ultrasound scan in positive pregnancies and abortions, and newborn results were recorded. All data was processed and analyzed with SPSS v 22.0 (IBM Statistics) using Chi-square Test.

RESULTS:

Fertilization rate was 67% in the SERC + group and 70% in SERC -. On day 2, no statistically significant differences were found in embryo quality; however, an increased number of low-quality embryos were observed in SERC + group when compared to SERC-. On day 3, embryo quality was significantly different, with a higher percentage of top-quality embryos found in SERC- group (25% vs. 10%). Blastocyst formation rate was significantly lower in SERC + group (38% vs. 63%). Blastocyst quality was lower in SERC + group, but our data did not

show statistically significant differences. Regarding embryo fate, the highest number of unusable embryos was found in SERC+ group (58%) compared to SERC - (36%). Positive pregnancy test and newborn rates were not significantly different amongst both groups, but lower rates were found in SERC + group. Transferred embryos from SERC + resulted in a newborn in 26,6% of cases.

CONCLUSIONS:

Although embryo development and implantation rates from SERC + oocytes are lower than SERC -, healthy newborns from SERC + have been reported. For this reason and according to our data we should consider the option of microinjecting these oocytes and use them as last alternative for embryo transfer, hence avoiding disposal of oocytes/embryos that could give rise to healthy newborns. Limitations of this study include the need to increase sample size, especially that of embryos derived from SERC + oocytes. Further studies would help confirm our results and determine whether unhealthy newborns are a result of SERC's presence.

CO-012 ▶

PROBABILIDAD DE LLEGAR A BLASTOCISTO

F. Graña Zanón, L. Rodríguez Menes, P. Nieto Olmedo, V. Sánchez Blasco, J. Quintana Paunette, P. De la Fuente Ciruelas, A. Francos Pérez, D. Bigotes Álvarez, L. Fernández Juárez, M. Gabia Rabano
Centro de Fertilización In Vitro De Asturias CEFIVA - Oviedo (Asturias)

INTRODUCCIÓN:

A la hora de decidir un cultivo largo, en ocasiones, podemos temer que ningún embrión llegue a blastocisto debido a su número o calidad. Por ello, cualquier modelo predictivo con variables tempranas puede ser útil.

OBJETIVO:

Evaluar la capacidad de las variables morfocinéticas tempranas a la hora de predecir la capacidad de un embrión para llegar a blastocisto.

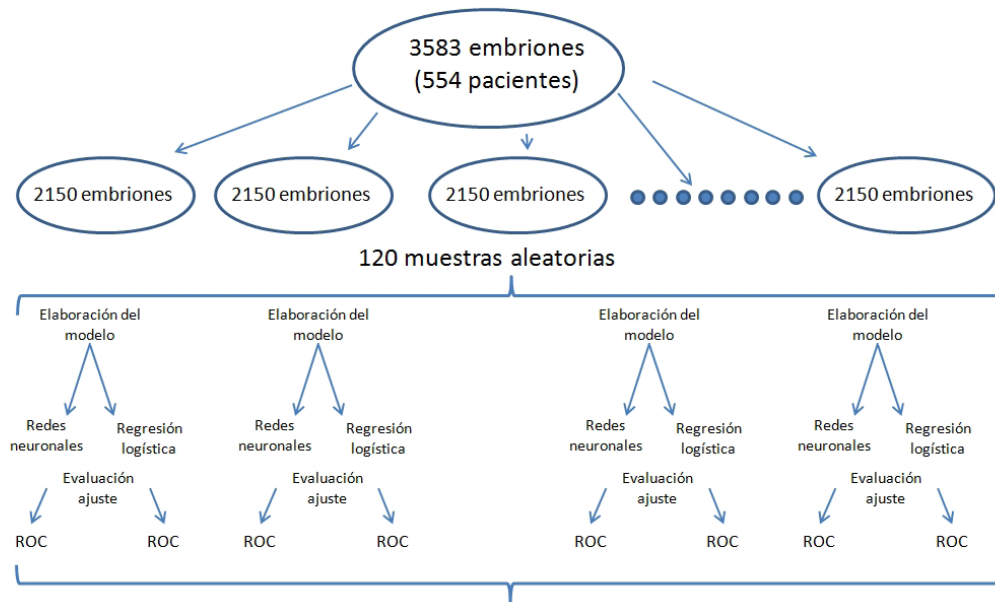
MATERIAL Y MÉTODO:

Se han utilizado 3583 embriones procedentes de 554 ciclos (pacientes y donantes 2012-2018). No se ha distinguido entre tipos de cultivo. El estudio se ha dividido en tres partes:

Selección de las variables (gráficos 1 y 2). Para ello se han utilizado todas las pacientes. Se realizaron 120 submuestras del 60% de los embriones y para cada muestra se han calculado la probabilidad de llegar a blastocisto de cada embrión mediante la regresión logística binaria y con un sistema de redes neuronales (por validarlo con una metodología avalada matemáticamente para este tipo de datos). Con ellas calculamos el ajuste de la predicción mediante curvas ROC (120 valores de área bajo la curva con la regresión y otras tantas

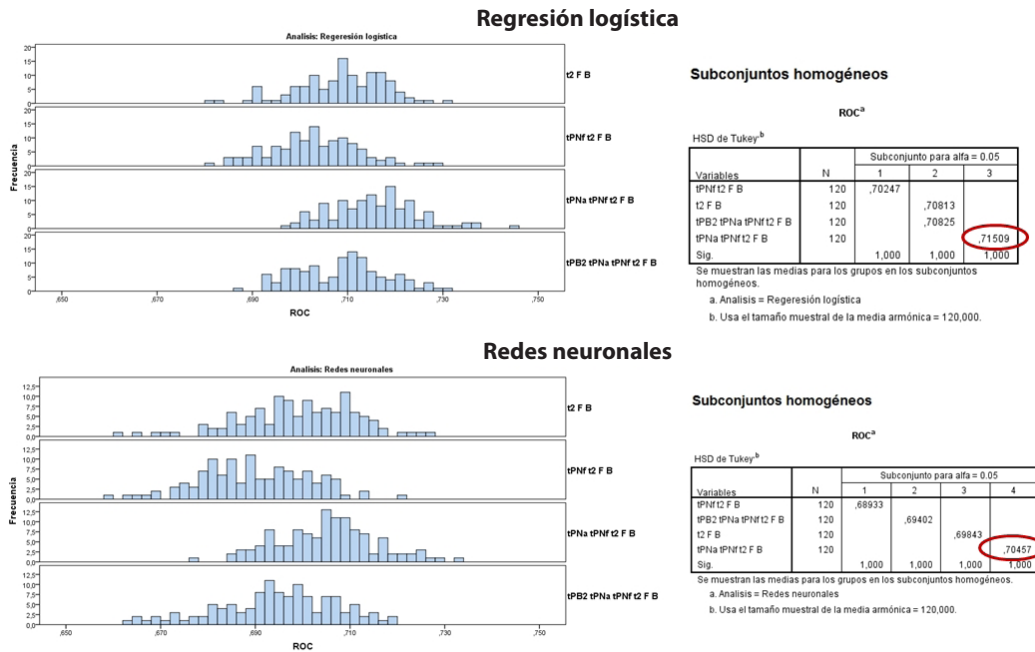
COMUNICACIONES ORALES

Gráfico 1. Proceso de evaluación de la información de las variables. El proceso se realiza para cada grupo de variables.



240 valores de área bajo la curva ROC. 120 de Regresión Logística y 120 de Redes Neuronales.

Gráfico 2. Selección de las variables para el modelo. Análisis de las áreas bajo la curva ROC.



En ambos análisis las variables que mejor predicen la llegada a blastocisto son aparición y desaparición de los pronúcleos, tiempo de división a dos células, igualdad de blastómeras y fragmentación. Este grupo de variables se diferencia significativamente del resto.

COMUNICACIONES ORALES

para las redes neuronales). Esto se ha realizado para distintos conjuntos de variables (tPB2 tPNa, tPNf, t2, fragmentación (F) e igualdad de blastómeras (B), y se han elegido aquellas con las que se obtenía mejor ajuste. Para la comparación se ha utilizado un ANOVA.

Elaboración del modelo (gráfico 3). Para ello se han creado 2 grupos de pacientes de manera aleatoria (277 pacientes en cada grupo). Un grupo se ha utilizado para la elaboración del modelo, y el segundo para comprobación de la validez externa. El grupo del modelo contenía 1833 embriones. Una vez elaborado, se calculan las probabilidades de llegar a blastocisto de cada embrión, y para la evaluar su validez interna se dividen los embriones en 5 grupos de probabilidad creciente a partir de los percentiles. Se calcula su probabilidad media

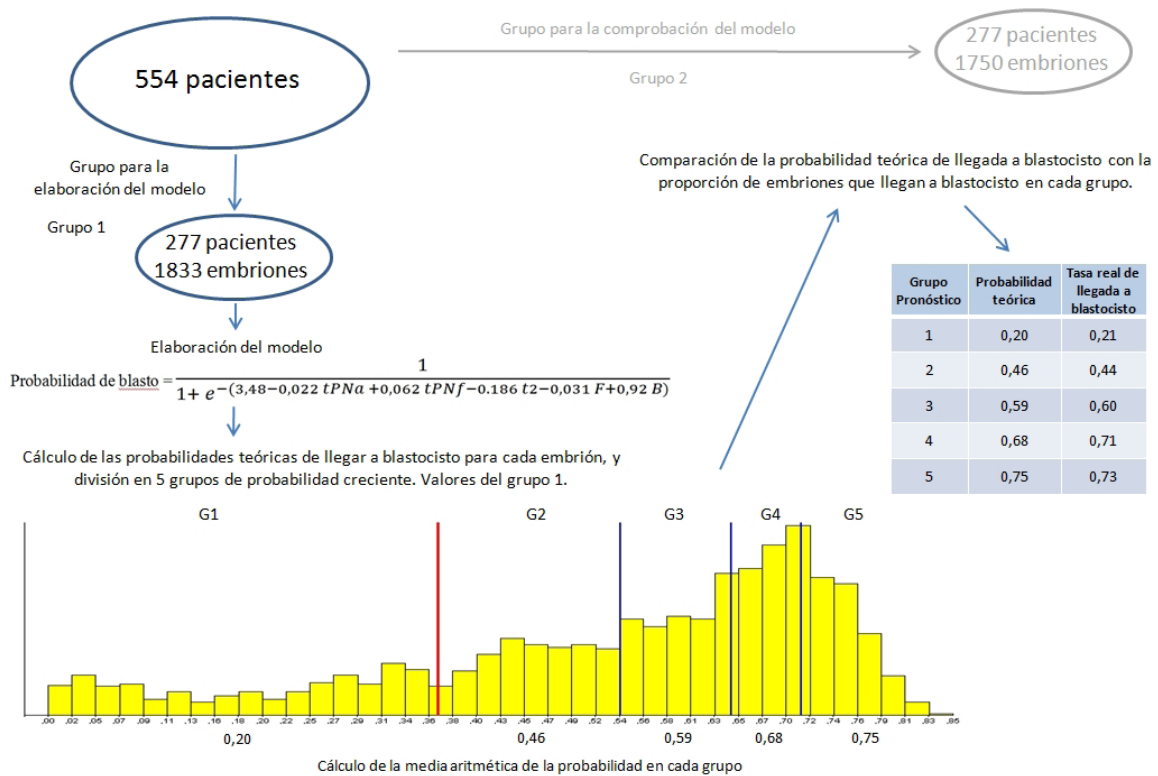
(teórica) y se compara con la tasa real de llegada a blastocisto.

Comprobación (gráfico 4). Se utiliza el grupo de pacientes que no participo en el modelo (1750 embriones). Se calculan las probabilidades teóricas para cada embrión y se procede a comprobar su ajuste con el mismo método anterior.

RESULTADOS:

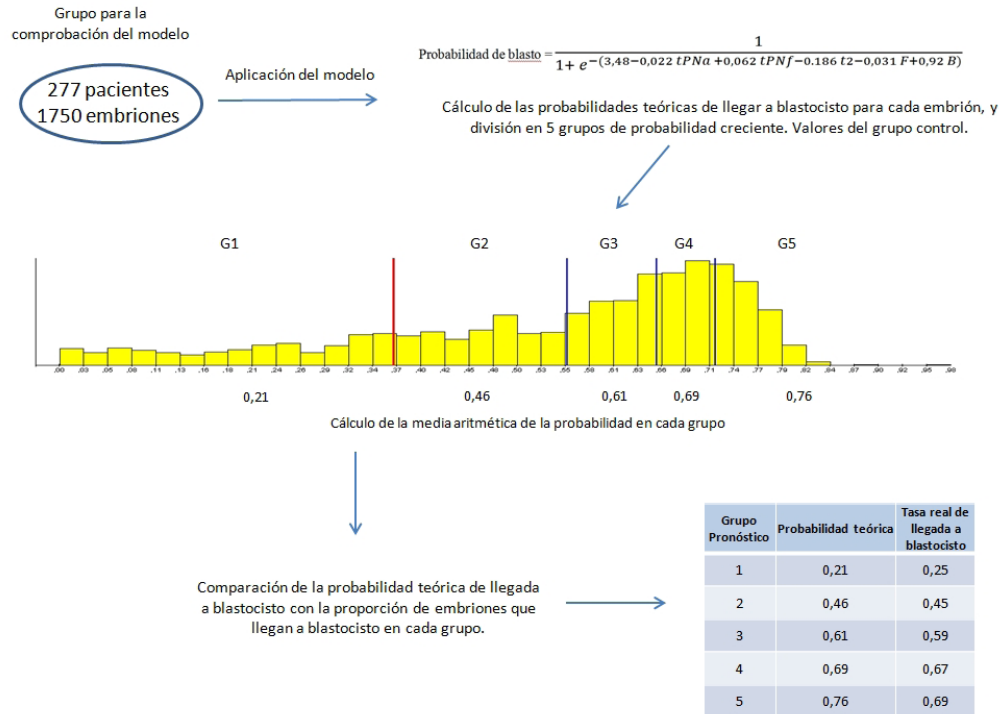
El mejor conjunto de variables predictoras para la llegada a blastocisto ha sido tPnA, tPNf, t2, fragmentación (F) e igualdad de blastómeras (B). Los histogramas de los valores ROC se pueden ver en las **gráficas 5 y 6** y el análisis de varianza correspondiente en las **tablas I y II.**

Gráfico 3. Proceso para la elaboración del modelo y comprobación de su validez interna.



COMUNICACIONES ORALES

Gráfico 4. Proceso para la comprobación del modelo en el grupo control, validez extetra.



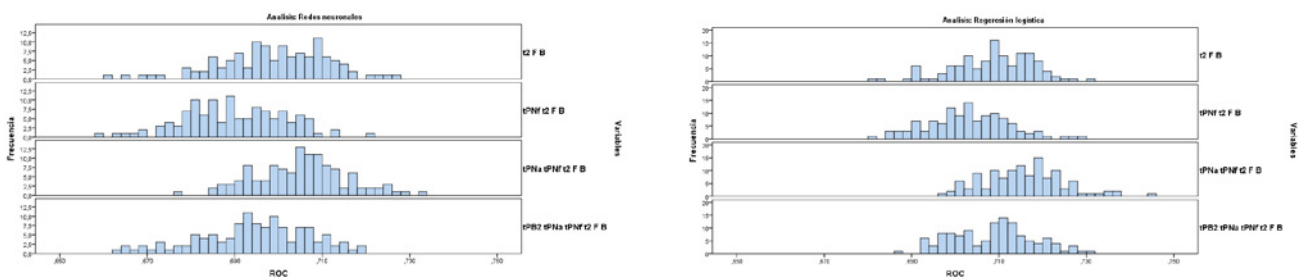
La ecuación para el cálculo de las probabilidades de llegada a blastocisto se puede ver en el **gráfico 7**.

El ajuste a los datos del modelo se puede ver en el **gráfico 8** y el ajuste con el grupo control en el **gráfico 9**.

Una vez obtenidas las probabilidades de llegada a blastocisto, es trivial el cálculo de dos parámetros interesantes: el número de blastocistos esperados para la paciente y la probabilidad

de obtener al menos un blastocisto. Para comprobar la fiabilidad de esto último, se ha utilizado el grupo control y se han seleccionado aquellas pacientes cuya probabilidad de tener al menos un blastocisto era superior al 95%. Resultaron ser 209. El número de blastocistos que obtuvieron se puede ver en la gráfico 10. Como se observa sólo 9 de ellas no tuvieron ninguno, es decir, hemos fallado en menos de un 5% (4,3%) como era de esperar (gráfico 11)

Gráfico 5



COMUNICACIONES ORALES

Tablas I y II

Subconjuntos homogéneos.

ROC^a

HSD de Tukey^b

Variables	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
tPNf t2 F B	120	,70247		
t2 F B	120		,70813	
tPB2 tPNa tPNf t2 F B	120		,70825	
tPNa tPNf t2 F B	120			,71509
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Analisis = Regresión logística

b. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 120,000.

Subconjuntos homogéneos.

ROC^a

HSD de Tukey^b

Variables	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
tPNf t2 F B	120	,68933			
tPB2 tPNa tPNf t2 F B	120		,69402		
t2 F B	120			,69843	
tPNa tPNf t2 F B	120				,70457
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Analisis = Redes neuronales

b. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 120,000.

Gráfico 7

$$\text{Probabilidad de blasto} = \frac{1}{1 + e^{-(3,48 - 0,022 tPNa + 0,062 tPNf - 0,186 t2 - 0,031 F + 0,92 B)}}$$

Gráfico 8

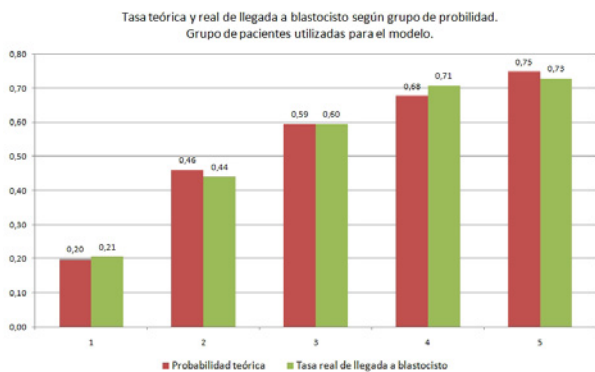
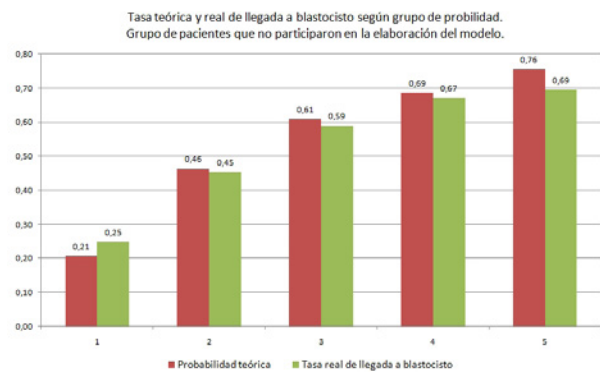


Gráfico 9



COMUNICACIONES ORALES

Gráfico 10

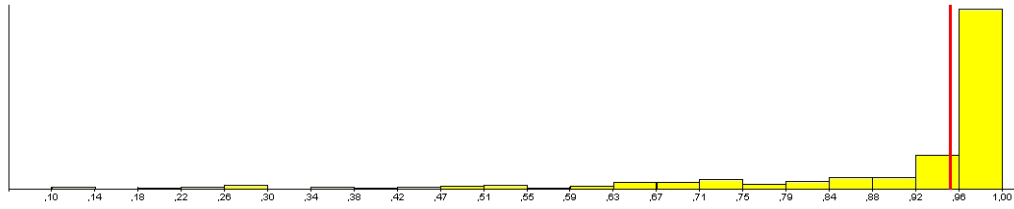


Gráfico 11. Proceso para la decisión de transferir en células o blastocisto.

Distribución de probabilidades de llegar a blastocisto para una paciente

Embrión	Probabilidad teórica de llegar a blastocisto
1	P1
2	P2
3	P3
...	...
n	Pn

Paciente X

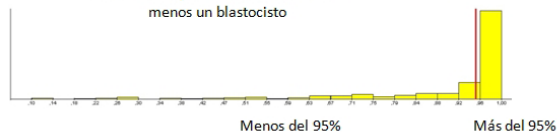
$$\text{Número de blastocistos esperados} = \sum_1^n P_i * X_i = P_1 + P_2 + \dots + P_n$$

$$\text{Probabilidad de tener al menos un blastocisto para transferir} = 1 - \prod_1^n (1 - P_i) = 1 - [(1 - P_1) * (1 - P_2) * \dots * (1 - P_n)]$$

Comprobación

277 pacientes
Grupo control

Cálculo de la probabilidad de tener al menos un blastocisto



Selección de las pacientes cuya probabilidad de tener al menos un blastocisto es mayor del 95% (209) y comprobación de cuántos blastocistos obtuvieron

Número de blastocistos	Número de pacientes
0	9
1	14
2	36
3	44
4	32
5	30
6	21
7	11
8	7
9	4
10	1
	209

No han tenido ningún blastocisto 9 pacientes de 209 (4,3%) menos de un 5% como predecía el modelo.

CONCLUSIONES:

Las variables cinéticas y morfológicas tempranas nos ofrecen una buena predicción de la llegada a blastocisto.

EL ENDOMETRIO COMO BIOSENSOR: ANÁLISIS RETROSPECTIVO DE RESULTADOS EN SET Y DET EN FUNCIÓN DE LA CALIDAD EMBRIONARIA

C. Márquez Bersabé (1), M. Dorado Silva (1), L. Montero Venegas (1), F. Sánchez Martín (2), P. Sánchez Martín (2)

(1) Ginemed Huelva (Huelva), (2) Ginemed Sevilla (Sevilla)

INTRODUCCIÓN:

La reproducción humana está lejos de ser perfectamente eficiente. Un elevado porcentaje de fracasos se asocian a una inadecuada receptividad endometrial o defectos en el diálogo embrión-endometrio. En los tratamientos de reproducción asistida, los grandes avances han permitido obtener embriones en la mayoría de los casos, pero gran parte de estos embriones no consiguen implantarse tras la transferencia. Esto se debe en gran medida a la alta prevalencia de aneuploidías que presentan los embriones humanos que impiden el desarrollo normal, y esto suele tener relación con la calidad morfológica que presentan. Recientes investigaciones han propuesto un nuevo concepto de endometrio como "biosensor" de la calidad embrionaria, según el cual las estrategias maternas han evolucionado para prevenir inversiones inapropiadas en embriones invasivos, pero poco viables.

De ser esto cierto, la adición de un blastocisto de mala calidad a la transferencia de un blastocisto de buena calidad podría tener consecuencias negativas en la implantación del blastocisto de buena calidad y conocerlo sería beneficioso a la hora de elegir tratamiento y valorar si compensa aumentar el riesgo de embarazo múltiple añadiendo un segundo blastocisto a la transferencia.

OBJETIVO:

El objetivo de nuestro estudio fue evaluar si la transferencia de dos blastos, uno de buena y otro de mala calidad, podía afectar a la tasa de obtención de embarazo y así observar si existía alguna relación significativa entre el concepto "endometrio como biosensor de calidad embrionaria" y los resultados obtenidos en la práctica.

MATERIAL Y MÉTODO:

Analizamos de manera retrospectiva los ciclos realizados en nuestros centros de trabajo desde enero de 2017 a diciembre de 2018 con transferencia en día +5. En total se analizaron 5499 parejas, que fueron clasificadas en función de si habían

tenido una transferencia de un embrión (SET) o de dos embriones (DET) y de la calidad que presentaban los blastocistos transferidos.

RESULTADOS:

Los resultados obtenidos se observan en la **gráfica 1:**

Se muestran los porcentajes de Beta-HCG positivo, eco positiva, y embarazo múltiple obtenidos en función del número de blastocistos transferidos (SET o DET) y la calidad que presentaban (Buena o Mala).

Observamos que cuando transferimos un embrión de buena calidad (tipo A o B según la clasificación ASEBIR), la tasa de embarazo y de gestación evolutiva es significativamente mayor que cuando el embrión es de mala calidad (tipo C o D). En cambio, cuando transferimos dos embriones con al menos uno de ellos bueno, estas diferencias se reducen, no observándose una disminución de las tasas cuando transferimos embriones de buena y mala calidad juntos.

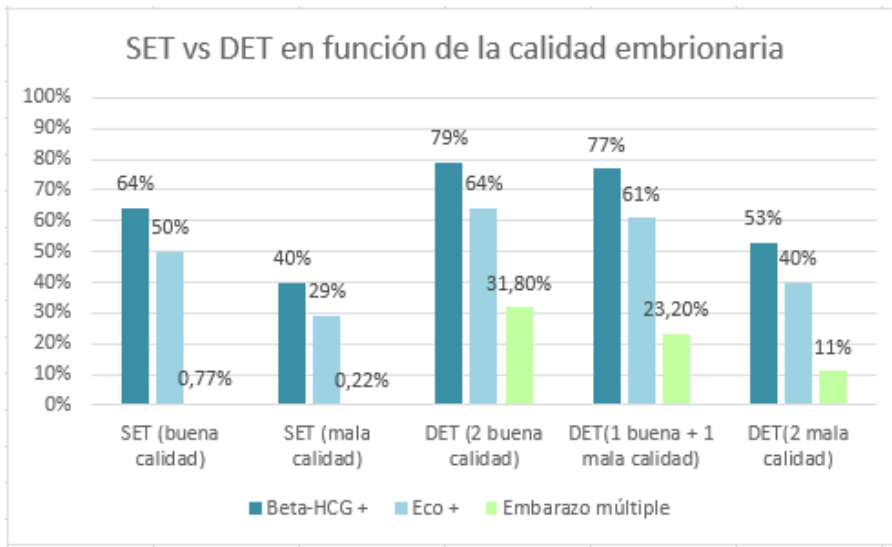
En resumen, se observaron diferencias significativas $p > 0,01$ entre los distintos casos, siendo siempre mejores los resultados transfiriendo al menos 1 embrión de buena calidad y aún mejores siendo DET.

Los resultados, si separamos en función del tratamiento realizado pueden verse en la tabla I, obteniéndose los mismos resultados que el gráfico anterior.

CONCLUSIONES:

En conclusión, resulta evidente que existe un conflicto entre los resultados obtenidos en las distintas investigaciones. A este conflicto se suman los resultados obtenidos en nuestro estudio, los cuales indican que la transferencia de un blastocisto de buena y otro de mala calidad no tiene consecuencias negativas en la tasa de implantación, por lo que *a priori* podríamos pensar que el blastocisto de mala calidad no tiene influencia negativa sobre la implantación del blastocisto de buena calidad. Realizar nuevos estudios con una muestra mayor y más detallada posiblemente arrojaría más luz a este concepto.

COMUNICACIONES ORALES



Gráfica 1: porcentajes de Beta-HCG positivo, eco positiva, y embarazo múltiple obtenidos en función del número de blastocistos transferidos (SET o DET) y la calidad que presentaban (Buena o Mala)

TRATAMIENTO	Nº Blastos	Calidad Blasto	N	Beta-HCG +	Desviación estándar	valor p
FIV/ICSI						
	1	Malo	261	28%	0,452	p < 0,01
	1	Bueno	85	64%	0,484	
	2	buenos	42	74%	0,445	p < 0,01
	2	1 bueno + 1 malo	29	79%	0,412	
	2	malos	492	50%	0,601	
OVODÓN						
	1	Malo	107	57%	0,497	p=0,023
	1	Bueno	467	69%	0,463	
	2	buenos	169	88%	0,324	p < 0,01
	2	1 bueno + 1 malo	110	80%	0,402	
	2	malos	330	63%	0,483	
VITRIFICADOS						
	1	Malo	496	41%	0,493	p < 0,01
	1	Bueno	665	61%	0,489	
	2	buenos	426	75%	0,434	p < 0,01
	2	1 bueno + 1 malo	293	77%	0,423	
	2	malos	951	51%	0,5	

Tabla I: porcentajes de Beta-HCG positivo en función del tipo de tratamiento

¿T0 (HORA DE INICIO TIME-LAPSE): PUEDE MODIFICAR LA VALORACIÓN MORFOCINÉTICA DE LOS EMBRIONES?

E. Güell Penas, J. Cura Ruiz, L. Felip Roca, E. Morono Sobral, O. González Barreda, J. Ibarz Batet, R. Ibarz Serrat, J. Ruiz Romero, M. López Rodríguez

Conceptum - Reus (Tarragona)

INTRODUCCIÓN:

El análisis de la morfofocinética embrionaria se hace en base a los tiempos de división celular (t-times). Esto permite la elaboración de algoritmos que sirven para predecir el potencial evolutivo de los embriones analizados. Se debe tener en cuenta que los t-times están intrínsecamente relacionados con la hora en que se inicia el proyecto. La hora de inicio de proyecto (t0) suele considerarse como la hora media de la microinyección. Aunque hay centros que sitúan este parámetro en la hora de iniciar o finalizar la ICSI. En nuestra unidad de FIV, en cambio, t0 se relativiza para cada oocito. Relativizar t0 se consigue iniciando el proyecto al comienzo de la ICSI y anotando t0 oocito a oocito según la ronda en la que se microinyecta cada uno. El tiempo de duración de la microinyección espermática puede variar principalmente en función del nº de oocitos, la calidad del semen y la destreza del embriólogo. Se desconoce si seleccionar un t0 u otro implica alguna distorsión de medias y/o mala asignación en los rangos óptimos de los algoritmos de otros centros.

OBJETIVO:

Determinar si existe variación sobre el análisis morfofocinético de los embriones al escoger dos configuraciones de t0 distintas.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo de 102 embriones (58 de los cuales dieron lugar a implantaciones completas y nacidos vivos sanos, KID embryos en inglés) obtenidos entre mayo de 2014 y abril de 2019. Fueron cultivados con sistema time-lapse Primo Vision (37°C, 6%CO2). Se anotó t0 individualizada y también en paralelo t0 standard (hora media de la ICSI) para cada oocito. Se registraron también los t-times t2, t3, t4, t5, t6, t7, t8 (h, en horas) (no se tuvo en cuenta ningún dato de morfofocinética ni de algoritmos para la toma de decisiones sobre la transferencia embrionaria). Cada embrión (de los 58 KID) fue valorado a posteriori por 3 algoritmos (KIDSCORE, Petersen et al., 2017, algoritmo1=Meseguer et al., 2011; algoritmo2=Basile et al., 2015). Se cuantificó la coincidencia de cada uno de los algoritmos para cada embrión analizado con t0 individualizada y con t0 standard. Test estadístico: U de Mann-Whitney con R-Software para la comparación de medias de t-times.

RESULTADOS:

Se encontró un diferencial constante de 0,17h-0,19h en cada parámetro para cada embrión entre las dos modalidades de configuración de t0. El mismo valor se reflejaba en las medias, aunque la diferencia de estas no era estadísticamente significativa (**TABLA I**).

TABLA I (media en horas ± desviación estándar)

	t0 relativizada	t0 standard	diferencial
t2	25,08 ± 2,94	24,89 ± 2,9	0,19h
t3	35,53 ± 3,81	35,35 ± 3,78	0,18h
t4	36,68 ± 3,89	36,51 ± 3,87	0,17h
t5	48,73 ± 5,58	48,55 ± 5,54	0,18h
t6	50,42 ± 5,9	50,24 ± 5,88	0,18h
t7	53,15 ± 7,39	52,97 ± 7,36	0,18h
t8	55,91 ± 8,91	55,74 ± 8,87	0,17h

COMUNICACIONES ORALES

En cuanto a los algoritmos, se encontró un 100% de coincidencias con el algoritmo KIDSCORE (Petersen et al., 2017). Se hallaron 2 resultados discrepantes (2,9%) para el algoritmo1 (Meseguer et al, 2011) y también 1 discrepante en el algoritmo2 (Basile et al, 2015).

CONCLUSIONES:

La valoración morfofocinética de los embriones no se ve alterada a nivel de medias de t-times a pesar del diferencial constante de 0,17-0,19 horas. Sin embargo, sí que se encuentran ciertas valoraciones discordantes en algunos

algoritmos. Se trata de embriones microinyectados al principio o al final de la ICSI que tienen valores en el algoritmo al límite del rango. El algoritmo KIDSCORE (Petersen et al., 2017) usa intervalos y establece valores de t-times menos restrictivos, por lo que no se observan discordancias. Sugerimos que estas décimas de diferencia podrían implicar, puntualmente, resultados discrepantes como se ha detectado en algunos algoritmos (sobre todo para quien use t0 al inicio o final de la ICSI). Animamos a realizar más estudios para determinar si esto podría ser uno de los factores que impidiesen la exportación de muchos algoritmos a otros centros.

CO-015 ▶

MORFOCINÉTICA DEL DESARROLLO PREIMPLANTACIONAL DE EMBRIONES PROCEDENTES DE ICSI CON Y SIN ACTIVACIÓN OVOCITARIA

M. Martínez García (1), M. Durban (1), J. Santaló (2), A. Rodríguez (1), R. Vassena (1)

(1) Clínica Eugin, Barcelona (Barcelona) (2) Facultat de Biociències UAB, Cerdanyola del Vallès (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

En los ciclos de fecundación *in vitro* (FIV) donde se producen fallos de fecundación recurrentes tras ICSI y diagnóstico molecular, la técnica de activación ovocitaria asistida (AOA) puede permitir restaurar la tasa de fecundación restableciendo la vía bioquímica de movilización de Ca²⁺ intracelular y estimulando la apertura de los depósitos de Ca²⁺ en el retículo endoplasmático del ovocito mediante el uso de ionóforos de Ca²⁺. Sin embargo, esta técnica implica una manipulación mecánica y bioquímica de los ovocitos inseminados que podría provocar una alteración en el patrón morfofocinético de los embriones resultantes. Teniendo en cuenta que algunos parámetros morfofocinéticos están definidos en la bibliografía como puntos determinantes de la viabilidad de un embrión, en este estudio se valoró la morfofocinética embrionaria de los embriones resultantes de ciclos de ICSI-AOA, comparándola con el patrón morfofocinético de los embriones resultantes de ciclos de sólo ICSI.

OBJETIVO:

El objetivo principal del estudio fue determinar si la aplicación de la técnica AOA en los ciclos de ICSI afecta a la morfofocinética del desarrollo preimplantacional de los embriones resultantes.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se realizó un estudio de cohortes retrospectivo en el que se incluyeron en total 141 embriones de ciclos realizados entre 2013 y 2017 de donación de ovocitos inseminados en fresco con semen de pareja; se incluyeron 100 embriones procedentes de 18 ciclos de ICSI en la primera cohorte y 41 embriones procedentes de 7 ciclos de ICSI-AOA en la segunda cohorte. El desarrollo morfofocinético de todos los embriones se analizó utilizando el sistema Time Lapse Primo Vision®. Los parámetros calculados fueron: el tiempo de extrusión del segundo cuerpo polar (tPB2), la aparición y la desaparición de los pronúcleos (tPN y tPNf respectivamente), las divisiones embrio-

COMUNICACIONES ORALES

narias desde 1 a 8 células (t2-t8), el inicio de la cavitación (tSB) y la llegada a blastocisto (tB). Los parámetros anotados se analizaron mediante las curvas de supervivencia de Kaplan Meyer y se compararon entre las dos cohortes del estudio mediante el test Log Rank.

RESULTADOS:

La mediana de los tiempos de desarrollo (punto en el que el 50% de los embriones han alcanzado cada etapa de desarrollo) no se mostró diferente entre los embriones procedentes de ciclos de ICSI y de ciclos ICSI-AOA, exceptuando tPB2 (log-rank test): tPB2 = 3:43 vs 2:17 ($p < 0,001$); tPN = 7:72 vs 8:05 ($p = 0,33$); tPNf = 23:45 vs 23:67 ($p = 0,44$); t2 = 26:88 vs 25:62 ($p = 0,99$); t3 = 37:07 vs 32:60 ($p = 0,04$); t4 = 39:12 vs 34:28 ($p = 0,15$); t5 = 50:28 vs 45:48 ($p = 0,09$), t8 = 53:15 vs 55:63 ($p = 0,83$); tSB = 103:98 vs 102:53 ($p = 0,3$); tB = 110:07 vs 115:57 ($p = 0,88$), para los embriones procedentes de ciclos de ICSI e ICSI-AOA, respectivamente.

CONCLUSIONES:

La aplicación de la técnica AOA no afecta a la morfocinética del desarrollo preimplantacional de los embriones, siendo esto un indicativo de la buena calidad de los embriones derivados de los ciclos ICSI-AOA. tPB2 es el único parámetro morfocinético que se ve adelantado en los embriones procedentes de ICSI-AOA probablemente debido a que *in vitro* la ionomicina produce el pico de Ca^{2+} instantáneamente al entrar en contacto con el ovocito inseminado, mientras que *in vivo* el espermatozoide lo hace minutos después. Después de este desfase en el evento tPB2, los tiempos posteriores que se analizaron no se mostraron diferentes entre los embriones procedentes de ICSI e ICSI-AOA.

CO-016 ▶

RELACION ENTRE LA CALIDAD Y EL RITMO DE EMBRIONES EUPLOIDES CON LA TASA DE IMPLANTACIÓN

O. Gómez Picado, E. Martínez Sanz, M. de las Heras Martínez, G. Barrenetxea Ziarrusta

Reproducción Bilbao - Bilbao (Vizcaya)

INTRODUCCIÓN:

El Screening de aneuploidías (SGP) ha aumentado en los últimos años con el propósito de disminuir el número de transfereencias fallidas o abortos en casos de edad materna avanzada, factor masculino severo, abortos de repetición o fracasos de TRA.

A pesar de que múltiples estudios confirman que la morfología y el ritmo embrionario está directamente relacionados con la euploidía, existen pocos que analicen si existen diferencias en la tasa de implantación de embriones euploides según sus características morfocinéticas.

OBJETIVO:

Analizar sobre nuestros propios resultados la relación existente entre la calidad y el día de blastulación con la euploidia y la tasa de implantación embrionaria.

MATERIAL Y MÉTODO:

749 embriones sometidos a SGP mediante NGS entre enero de 2017 y abril de 2019. Los embriones se cultivaron en timelapse (Embryoscope+), en medio secuencial (G-1PLUS y G-2PLUS), hasta el momento óptimo para la biopsia en trofoectodermo en d+5, 6 o 7. Los blastocistos fueron clasificados en base a la clasificación de ASEBIR.

RESULTADOS:

Analizando en primer lugar el porcentaje de euploidia en función de la calidad embrionaria, encontramos un 48.26% de embriones euploides en la calidad A, 37.36% en B, 19.81% en C y 11.90% en D. Encontrando una diferencia significativa al comparar el porcentaje de euploidia entre AvsC ($p=0.0001$) y BvsC ($p=0.0001$). Dentro de los embriones euploides, encontramos una tasa de implantación de 68.57% en A, 54.55% en B, 32.35% en C y 0% en D. Si bien, sólo se encuentra diferencia

COMUNICACIONES ORALES

significativa al comparar la tasa de implantación entre embriones euploides de calidad A y C ($p=0.038$).

En la segunda parte del estudio, quisimos analizar el porcentaje de euploidia y tasa de implantación de euploides en función del día de llegada a blastocisto. Encontrando un porcentaje de euploidia del 36.96% en d+5, 25.98% en d+6 y 13.33% en d+7. Siendo la diferencia entre d+5 y d+6 estadísticamente significativa ($p=0.0019$). En cuanto a la tasa de implantación de los embriones euploides, observamos un 58.06% en d+5, 33.33% en d+6 y 100% en d+7, encontrando de nuevo diferencia significativa entre d+5 y d+6 ($p=0.0069$).

CONCLUSIONES:

Se observa una tendencia positiva entre la calidad embrionaria y la probabilidad del embrión de ser euploide, aunque ninguno de los porcentajes se considera tan robusto como para poder obviar el análisis genético de los embriones. En cuanto al estudio de la tasa de implantación, concluimos que no hay diferencias significativas al transferir un A o un B euploide

pero sí, respecto a los embriones de calidad C. Esto concuerda con que el trofoectodermo, la parte que tiene mayor peso en la calidad global del blastocisto, es la parte más involucrada en la implantación. Los resultados también indican la nula utilidad de biopsiar embriones de calidad D que, aunque fueran euploides, tienen una tasa de implantación mínima.

Al estudiar los parámetros en función del día de llegada a blastocisto, sí se encuentra una mayor euploidia entre aquellos que alcanzan el estadio de blastocisto expandido en d+5, respecto a los de d+6 y 7, respectivamente. Por lo que, nuestros resultados confirman la creencia de que los embriones que siguen el ritmo de división ideal tienen mayor probabilidad de ser euploides. Dentro de los embriones euploides, encontramos diferencia significativa en la tasa de implantación entre los embriones de d+5 y d+6, esto se puede deber a que, en general, los embriones de d+5 tienen mejor calidad. Aunque la alta tasa de implantación de embriones de d+7 es debido al bajo número de casos, podemos concluir la utilidad de dejar en cultivo aquellos embriones que, siendo evolutivos, no han conseguido llegar al estadio de blastocisto en d+6.

CO-017 ▶

HOW IMPORTANT IS FIRST MITOTIC CLEAVAGE ON EMBRYO DEVELOPMENT?

Á. Muijsenberg Alcalá, C. Olmedo Illueca, S. Marín Rea, I. Chapa Chordá, M. Palma Rodríguez, S. Royo Bolea, L. Abad Velasco, M. Barea Gómez, I. Cuevas Sáiz.

Hospital General Universitario de Valencia - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

Prediction of embryo implantation potential still remains a challenge. Many studies have been conducted in order to find markers that help adequate embryo selection, aiming to improve implantation and clinical pregnancies rates. Time-lapse technology has allowed an accurate control of the early processes occurring in embryo development. These events are of vital importance due to their possible influence in further stages. The symmetry between the two cells resulting from the first mitotic division determines even distribution of the genetic and cytoplasmic content. This process is essential for correct embryo development. The association between symmetry of a two-cell embryo linked to achievement of blastocyst stage could provide a better understanding of this early process so that symmetry could be used as a predictive marker.

OBJECTIVES:

To determine a cut-off point that allows the classification of 2-cell embryos according to their symmetry, in order to use it as a predictive marker of their potential to achieve blastocyst stage.

MATERIAL AND METHODS:

231 embryos from 64 patients were retrospectively analysed in this study. All patients underwent consecutive in vitro fertilization treatment from January 2017 to June 2017. Mean age of patients included was $34,85 \pm 3,66$ years and mean Anti-Müllerian hormone value $2,52 \pm 1,95$. Embryos were cultured in 20 μ L of Continuous Single Culture® Complete (Irvine Scientific) and their development was followed using time-lapse technology (MIRI-TL, ESCO-Medical ©). All embryos were

COMUNICACIONES ORALES

analysed at the 2-cell stage. Measures were taken at the first video frame where both blastomere membranes were completely separated. Diameter of every single blastomere was determined by calculating the mean of two measurements (both longest and shortest diameters) performed with a millimetric tool. Symmetry was defined as the difference between both blastomere means and was related to evolution or not to blastocyst stage. Data were processed with SPSS v22.0 (IBM Statistics). T-student tests were performed in order to find significant differences and receiving operating characteristic (ROC) curve was performed to find a cut-off point that defines asymmetric embryos.

RESULTS:

Out of 231 embryos analysed, 138 (59,74%) reached blastocyst stage and 93 (40,26%) stopped their development. Statistical significant differences were found in symmetry between embryos that develop ($92,97\% \pm 6,16$) or not ($87,18\% \pm 8,52$).

Area under the curve that differentiates positive or negative development was 0,723 (Figure 1). Symmetry cut-off value predictor of the achievement of blastocyst stage was 91,78%.

CONCLUSIONS:

Our results showed that blastomeres asymmetry at the 2-cell stage affects embryo development up to blastocyst stage, probably due to the importance of first mitotic cleavage, can be used as an early predictor of blastocyst formation potential. In addition, our results suggest that 9% is the value that defines an embryo as asymmetric. This value is much lower than the ones proposed in guidelines or morphological criteria by scientific societies like ASEBIR whose cut-off value is 20%. According to this, we propose to reconsider this cut-off value in order to increase its predictability. Further studies including more samples are necessary to confirm a more accurate value of symmetry.

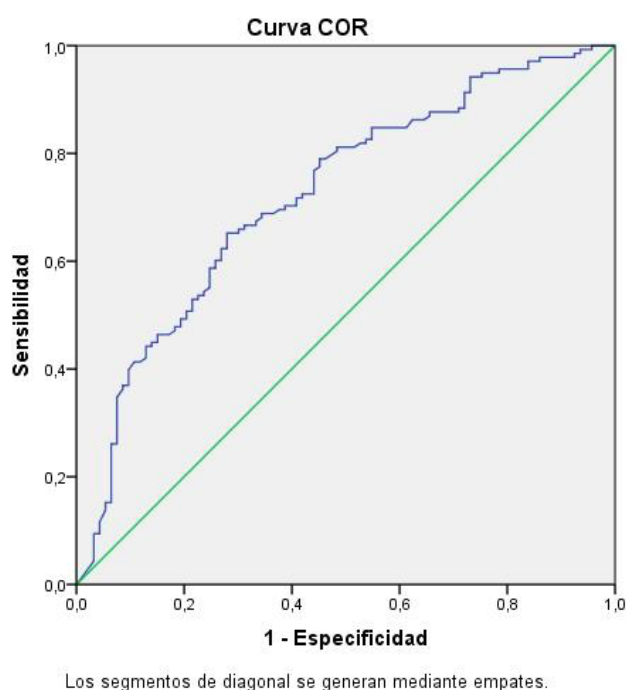


Figure 1. ROC curve of symmetry at the 2-cell stage to predict reaching the blastocyst stage. Area under the curve (95% CI 0,723; 0,33 to 0,67).

ANÁLISIS *IN SILICO* E *IN VITRO* DEL COMPORTAMIENTO OSMÓTICO DE ÓVULOS M-II HUMANOS PARA REDUCIR EL TIEMPO DE EXPOSICIÓN A LAS SOLUCIONES DE CRIOPROTECTORES: PROTOCOLO DE 2 MINUTOS BASADO EN LA DESHIDRATACIÓN

M. Gallardo Molina (1), J. Sáenz Cuesta (2), R. Risco Delgado (3)

(1) Ginemed Lisboa - Lisboa (Lisboa), (2) Escuela Técnica Superior de Ingeniería de Sevilla - Sevilla (Sevilla), (3) Centro Nacional de Aceleradores - Sevilla (Sevilla)

INTRODUCCIÓN:

El citosol de óvulos y blastómeros de embriones, debido a su alto contenido acuoso, no sobrevive a un proceso de vitrificación ultra-rápida cuando es enfriado y calentado a las velocidades que alcanzan los soportes de vitrificación disponibles actualmente. Por ello es necesario modificar su contenido citosólico, para obtener la concentración de solutos crítica necesaria para la vitrificación. Aunque el enfriamiento y recalentamiento es ultrarápido, el tiempo necesario para la preparación de óvulos y embriones para su vitrificación es de 8-15 minutos, en los que son expuestos a una solución de crioprotectores no vitrificante (nVS) con el objetivo de alcanzar el equilibrio osmótico. Una reducción en la duración del protocolo de preparación es deseable para disminuir la exposición a condiciones subóptimas en términos de molaridad, temperatura y presencia de moléculas potencialmente citotóxicas.

OBJETIVO:

Evaluar si es posible reducir la duración de la exposición de óvulos M-II humanos a las soluciones con crioprotectores necesarias para alcanzar el ambiente intracelular adecuado para su criopreservación por vitrificación ultra-rápida.

MATERIAL Y MÉTODO:

En primer lugar fue desarrollado en MatLab, utilizando el formalismo de transporte de 2 parámetros, una simulación del flujo de agua y solutos a través de la membrana plasmática del óvulo. A continuación, estudiamos el comportamiento osmótico *in vivo* de óvulos M-II no fecundados, grabados durante la exposición a soluciones de crioprotectores y fue cal-

culada su excursión volumétrica. Finalmente fueron usados cigotos humanos 3PN para pruebas de viabilidad. El material biológico empleado fue donado para investigación por pacientes de TRA, obteniendo consentimiento informado (C.P. VITCOR - C.I. 1123-M1-17).

RESULTADOS:

Utilizamos 2 soluciones estándar de crioprotectores: nVS (7.5% EG, 7.5% Me2SO) y VS (15%EG, 15% Me2SO, 0,5M sucrosa). Comparamos un protocolo estándar de equilibrado (EP: 10 minutos de exposición a nVS + 1 minuto VS), con un protocolo corto de deshidratación (DP 1 minuto nVS + 1 minuto VS). La molaridad intracelular del ovocito al final de ambos protocolos es similar, con la diferencia de que los ovocitos preparados con DP contienen un menor volumen acuoso y un volumen relativo final menor respecto a su volumen isotónico. Los ovocitos y cigotos 3PN sobrevivieron a la vitrificación con DP y el soporte SafeSpeed (30/30 e 27/27) (SafePreservation, Spain). Los cigotos 3PN, tras 24 horas de cultivo, continuaron la mitosis (24/27) en una proporción similar a la de la población de control en fresco de (25/27).

CONCLUSIONES:

Los resultados muestran que la concentración intracelular de solutos crítica, o el ambiente citosólico crítico necesario para la vitrificación puede ser obtenido tras sólo 2 minutos de exposición a soluciones de crioprotectores estándar. El modelo *In Silico* e *In Vitro* muestra que la deshidratación tras la exposición a soluciones hipertónicas de crioprotectores ocurre muy deprisa; el punto de volumen mínimo de la excursión volumétrica se alcanza en los primeros 60 segundos. En este punto, el contenido acuoso es mínimo y la penetración de

COMUNICACIONES ORALES

crioprotectores permeables alta. Como resultado, la concentración intracelular de solutos es elevada. Por este motivo, prolongar la exposición hacia el equilibrio osmótico no aumenta la tendencia a la vitrificación del citosol. En general, periodos cortos de exposición a soluciones de una concentración creciente puede ser un método más efectivo para preparar los embriones y óvulos humanos para su vitrificación si bien la integridad, viabilidad y competencia de los óvulos y embriones debe ser evaluada en futuros estudios, y los parámetros exactos optimizados.

BIBLIOGRAFÍA:

Kleinhans, F. W. (1998). Membrane permeability modeling: Kedem-Katchalsky vs a two-parameter formalism. *Cryobiology*, 37(4), 271-289.

Jin, B., & Mazur, P. (2015). High survival of mouse oocytes/embryos after vitrification without permeating cryoprotectants followed by ultra-rapid warming with an IR laser pulse. *Scientific reports*, 5, 9271.

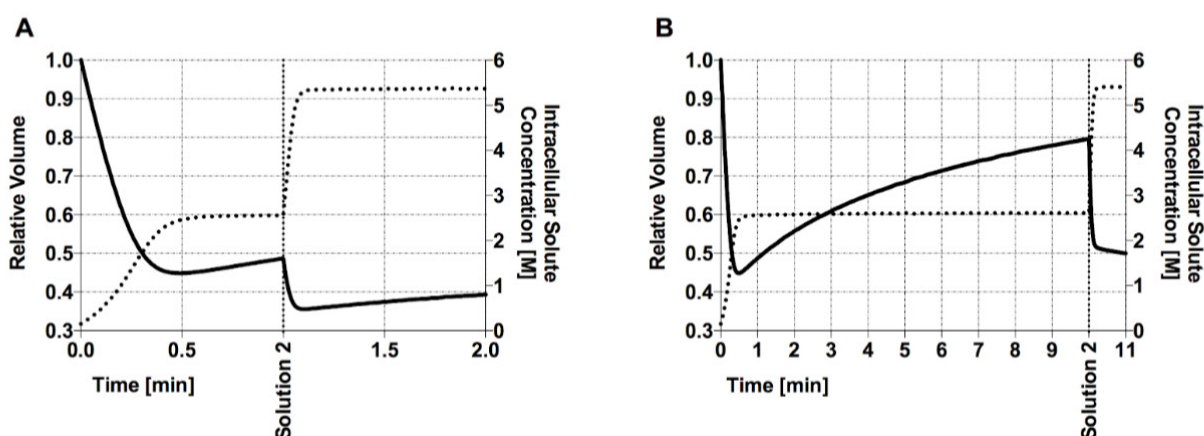


Figura 1. Simulación del volumen relativo intracelular y la concentración de soluto intracelular del ovocito M-II humano con el protocolo de deshidratación (A) y el protocolo de equilibrado (B). La exposición a la solución nVS comienza en $t=0$ y la exposición a VS comienza donde está indicado en el gráfico.

SUPERVIVENCIA OVOCITARIA EN UN PROGRAMA DE DONACIÓN DE OVOCITOS: ¿CUÁLES SON LOS FACTORES DE MAYOR INFLUENCIA?

S. Cortés Gallego (1), A. Guijarro Ponce (2), A. Rodrigo Carbajosa (1), C. Anadrés Santé (1), C. Cordero Rosales (1), R. Pandolfi (1), M. Saladino (1)

(1) Clínica Tambre - Madrid (Madrid), (2) Hospital Virgen de la Luz - Cuenca (Cuenca)

INTRODUCCIÓN:

Existen estudios que demuestran diferencias en la tasa de supervivencia ovocitaria (SOR) según la experiencia del centro en la vitrificación (experiencia del embriólogo), así como en función del origen de los ovocitos (pacientes/donantes). Las SOR procedentes de donantes fueron mejores que las de pacientes.

Sin embargo, no hay estudios que evalúen si dentro del grupo de donantes, normalmente con buenas tasas de supervivencia, hay un subgrupo que sistemáticamente tiene tasas de supervivencia más bajas y cuáles pueden ser los diferentes condicionantes.

OBJETIVO:

El objetivo del presente estudio es comprobar la influencia de diferentes agentes externos (pericia del embriólogo y tiempo de almacenamiento) e internos a la propia donante (número de ovocitos obtenidos y la propia naturaleza de los ovocitos de la donante) sobre la SOR en un programa de vitrificación de ovocitos.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se realizó un estudio retrospectivo sobre 172 ciclos correspondientes a 61 donantes femeninas que vitrificaron/desvitrificaron ovocitos entre 2012 y 2018.

Todos los ovocitos fueron vitrificados/desvitrificados utilizando el protocolo y los medios de Kitazato. Se analizaron ocho embriólogos con variada experiencia en vitrificación/desvitrificación ovocitaria. La SOR fue analizada como variable dependiente. Se analizó el embriólogo que vitrificó y desvitrificó

los ovocitos, considerando como una variable dicotómica diferente. La experiencia personal se consideró como el número de ciclos de vitrificación/descongelación realizados.

Para el estudio de la influencia del tiempo de criopreservación sobre la SOR se analizaron 148 ciclos (la mitad de ellos estuvo criopreservada más de 119 días, con una media de 205 días y un máximo de 1018 días).

La influencia de la naturaleza propia de los ovocitos de la donante sobre la SOR se realizó sobre 39 ciclos correspondientes a 7 donantes.

Se utilizó SPSS V20.0 para el análisis estadístico ANOVA, la comparación de promedios por análisis t-student y el coeficiente de correlación de Pearson. Mientras que, MANOVA se calculó utilizando STATA v15.1.

RESULTADOS:

La tasa de supervivencia ovocitaria por ciclo osciló entre el 12,5% y 100%, con una media de 81,56% (95% IC: 73,71-89,41%).

En ANOVA no se observaron diferencias estadísticas con respecto a los embriólogos que vitrificaron ($p:0,452$) o desvitrificaron los ovocitos ($p:0,439$), ni si el embriólogo era el mismo o no en ambos procesos ($p:0,947$ mediante la T-Student).

No se encontró ninguna correlación significativa entre las tasas de supervivencia y el número de ovocitos maduros mediante la prueba de Pearson ($p:0,568$), ni tampoco con la experiencia del embriólogo ($p:0,408$).

El uso de ANOVA de una vía para comparar las tasas de su-

COMUNICACIONES ORALES

pervivencia ovocitaria entre las diferentes donantes que al menos habían tenido 5 ciclos de desvitrificación, reveló diferencias significativas entre las mismas, siendo la tasa de supervivencia media de 62,65 a 100% (F: 4,46 p:0,002).

El tiempo que permanecen los ovocitos vitrificados hasta el momento de su descongelación sí muestra significancia respecto a la tasa de supervivencia. El test de correlación de Spearman nos ofrece una clara relación entre ambas variables demostrando que los ovocitos que han pasado mayor tiempo vitrificados tienen una menor SOR tras su descongelación (Rho:-0,202 p:0,014).

El análisis de las distintas variables de confusión y la SOR mediante el modelo MANOVA fue significativo (p:0,0193) y, por

lo tanto, la propia donante es el único factor que mostró influencia en las tasas de supervivencia (p:0,0006) independientemente de los otros factores de confusión.

CONCLUSIONES:

La estandarización de los protocolos de vitrificación/desvitrificación son capaces de reducir el impacto de la experiencia de cada embriólogo en las tasas de supervivencia ovocitaria, siendo el principal factor de influencia las propias características biológicas de la donante y no el embriólogo, el número de ovocitos maduros, si bien las causas siguen siendo desconocidas. El tiempo de permanencia en criopreservación también afecta a la tasa de supervivencia de los ovocitos tras su descongelación.

CO-020 ▶

¿LA VITRIFICACIÓN DE OVOCITOS AFECTA LAS TASAS DE ANEUPLOIDÍA Y DE MOSAICISMO EN LOS BLASTOCISTOS?

F. Lozano García, R. Morales Sabater, B. Lledó Bosch, JA. Ortiz Salcedo, L. Cascales Romero, L. Herrero Grassa, J. Llácer Aparicio, R. Bernabéu Pérez

Instituto Bernabéu de Fertilidad y Ginecología - Alicante (Alicante)

INTRODUCCIÓN:

La vitrificación de ovocitos es una práctica común en los tratamientos de FIV tanto en ciclos con ovocitos autólogos como en ciclos con ovocitos donados. Este procedimiento permite aumentar el número de blastocistos para analizar en un ciclo PGT-A mediante la acumulación de ovocitos vitrificados de diferentes estimulaciones ováricas en pacientes bajas respondedoras. Además, en los programas de donación de ovocitos, puede facilitar la coordinación con el paciente receptor. En un programa de criopreservación de ovocitos, los ovocitos vitrificados pueden conducir a una tasa de embarazo similar a la de ovocitos en fresco. Sin embargo, hay una escasez de datos sobre las tasas de aneuploidía y mosaicismos en blastocistos de ovocitos vitrificados.

OBJETIVO:

El objetivo principal de nuestro estudio fue evaluar si los blastocistos procedentes de ovocitos vitrificados/desvitrificados

presentaban una mayor tasa de aneuploidía o mosaicismos que los blastocistos de los ovocitos frescos.

MATERIAL Y MÉTODO:

El diagnóstico genético preimplantacional de aneuploidías (PGT-A) se realizó en 225 ciclos de ovocitos donados en parejas que requirieron un análisis cromosómico de los embriones desde enero de 2017 hasta diciembre de 2018. Se analizaron un total de 797 blastocistos (644 obtenidos a partir de ovocitos frescos y 153 de ovocitos vitrificados/desvitrificados). Las biopsias de trofoectodermo de blastocistos en día 5 y 6 fueron analizadas por NGS. No se incluyeron los ciclos con una tasa de aneuploidía anormal en los espermatozoides. Para el análisis de los embriones se utilizó Veriseq NGS (Illumina), amplificando el genoma previamente (Sureplex, Illumina). El análisis se realizó utilizando el multi-software BlueFuse (Illumina). Las principales medidas analizadas fueron la tasa de aneuploidía (aneuploidía de cromosoma completo y segmentaria) y la tasa de mosaicismos (mosaicismos de cromosoma completo y

COMUNICACIONES ORALES

segmentario) evaluada en los dos grupos de ovocitos. Otras medidas analizadas fueron la tasa de implantación y la de embarazo de blastocisto euploide. Las diferencias entre los grupos fueron evaluadas mediante regresión logística y Chi-cuadrado (SPSSv 20.0).

RESULTADOS:

Se analizaron un total de 797 blastocistos procedentes de ovocitos donados (153 de ovocitos vitrificados y 644 de ovocitos frescos). La edad promedio de las donantes fue de 25,7 años. Las tasas de aneuploidía y mosaicismo obtenidas fueron comparables en embriones procedentes de ovocitos vitrificados/desvitrificados y de ovocitos frescos (30,1% vs. 29,8%, $p = 0,881$ y 20,3% vs. 25,3%, $p = 0,250$, respectivamente). Además, no se observaron diferencias cuando separamos las aneuploidías segmentarias y de cromosoma completo. La incidencia de aneuploidías segmentarias fue del 7,2% en blastocistos de ovocitos vitrificados frente al 5,4% en blastocistos a partir de ovocitos frescos ($p = 0,339$), mientras que la incidencia de

mosaicismo segmentario fue del 6,5% en ovocitos vitrificados y del 7,6% en ovocitos frescos ($p = 0,580$). Para evaluar los resultados clínicos, se analizaron un total de 159 ciclos (94,3% de los cuales fueron transferencia de embriones únicos). No hubo diferencias significativas entre los blastocistos euploides de los ovocitos vitrificados y los ovocitos frescos con respecto a la tasa de implantación (OR 0,521, 95% IC 0,245-1,107), la tasa de embarazo (OR 0,562, 95% IC 0,264-1,194), la tasa de aborto bioquímico (OR 1,194, 95% IC 0,307-4,650) y tasa de embarazo clínico (OR 0,514, 95% IC 0,240-1,102).

CONCLUSIONES:

No hubo diferencias significativas entre las tasas de aneuploidía y mosaicismo de los blastocistos de ovocitos vitrificados/desvitrificados y los blastocistos de ovocitos frescos. Este estudio confirma los trabajos publicados que demuestran que la vitrificación de ovocitos no aumenta la tasa de aneuploidía o mosaicismo en embriones procedentes de ciclos FIV.

CO-021 ▶

¿INFLUYE LA CALIDAD DEL EMBRIÓN EN DÍA 3 SOBRE LA TASA DE GESTACIÓN Y RECIÉN NACIDO VIVO EN CRIOTRANSFERENCIAS DE BLASTOCISTOS?

I. Iniesta Mirón, J. Martínez Sanchís, J. Subirá Nadal, P. Polo Sanchez, J. Ferrer Balaguer, I. Moya Marín, J. Rubio Rubio

Hospital La Fe - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

Esta aceptado que los blastocistos tienen mayor capacidad de implantar que los embriones transferidos en día 3, y que estos blastocistos se clasifican sin tener en cuenta la clasificación ASEBIR del embrión en día 3 (D3).

OBJETIVO:

Estudiar si los blastocistos transferidos en un ciclo de criotransferencia tienen distintas tasas de gestación (TG), tasa de aborto (TA) y tasa recién nacido vivo (TRNV) dependiendo de cómo eran esos embriones en día 3 (según clasificación ASEBIR).

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo y comparativo de 146 ciclos de transferencia de congelados propios con sistema cryotop en estadio de blastocisto entre los años 2016 y 2018. El cultivo embrionario se realizó en incubadores convencionales (no time lapse) y siempre se transfirió un embrión (SET). Se establecieron cuatro grupos de estudio en función de la calidad embrionaria en día 3 y en estadio de blastocisto siguiendo la clasificación ASEBIR.

Grupo 1, blastocistos tipo A o B que provienen de embriones tipo A o B en D3 (N=39)

COMUNICACIONES ORALES

Grupo 2, blastocistos tipo A o B que provienen de embriones tipo C o D en D3 (N=61)

Grupo 3, blastocistos tipo C que provienen de embriones tipo A o B en D3 (N=14)

Grupo 4, blastocistos tipo C que provienen de embriones tipo C o D en D3 (N=32)

La edad media de las pacientes en los distintos grupos fue de 36.4 años en el grupo 1, 37.8 años en el 2, 37.5 años en el grupo 3 y 36.6 años en el grupo 4 no encontrándose diferencias significativas. Tampoco se encontraron diferencias significativas en el índice de masa corporal entre los distintos grupos del estudio.

RESULTADOS:

La TG (%) para los grupos 1, 2, 3 y 4 fueron respectivamente 33.3, 32.8, 21.4 y 34.4. La TA para el grupo 1 fue del 38,5%, para

el grupo 2 del 50%, para el grupo 3 del 33.3% y del 36.6% para el grupo 4. La TRNV por transferencia fue 20.5% en el grupo 1, 14.7% en el grupo 2, 14.3% en el grupo 3 y 21,9% en el grupo 4.

CONCLUSIONES:

La TG es similar en todos los grupos excepto para el grupo 3. La TRNV es casi la misma para los grupo 1 y 4, en teoría los de mejor y peor pronóstico. Esto nos hace pensar que la calidad del blastocisto, si es suficiente para congelarlo, no es importante a la hora de tener un RNV y tampoco es determinante la calidad del embrión en D3, excepto cuando la calidad del blastocisto es inferior a la que tenía en D3, es decir el grupo 3 (hay que tener presente la baja N del grupo 3).

Por todo ello, cuando utilizamos incubadores convencionales, no es necesario evaluar los embriones en D3 cuando se cultiva a blastocisto, confirmando los criterios de clasificación ASEBIR. Para confirmar las conclusiones sería necesario aumentar el tamaño muestral de los grupos estudiados.

CO-022 ▶

RESULTADOS PROGRAMA OVODONACIÓN: AFIANZAMIENTO DEL BANCO PROPIO DE OVOCITOS DE DONANTES

MJ. Figueroa García, M. Valcárcel Andreu, JM. Marín García, A. Valverde Mera, F. Smith Foddai, N. Hernández Torres, LM. García Matín
HC FERTILITY, HC MARBELLA - Marbella (Málaga)

INTRODUCCIÓN:

La puesta a punto de la vitrificación ha permitido a los centros de Reproducción Asistida, entre otras, crear su propio Banco de ovocitos. En nuestro centro, en la mayoría de los casos preparamos una donante para una receptora, la receptora recibe un número variable de ovocitos dependiendo de diferentes factores, por tanto, cuando en una punción de donante obtenemos más ovocitos de los donados, estos son vitrificados, de esta manera hemos creado nuestro propio banco de ovocitos.

Antes de que los ovocitos vitrificados sean utilizados en un ciclo, tenemos información del resultado de estos en el ciclo en fresco.

OBJETIVO:

El objetivo de este estudio es ver si es eficaz la utilización de nuestro banco de óvulos realizando una comparativa entre los resultados obtenidos de los ciclos de ovodonación con ovocitos en fresco y aquellos en los cuales han sido empleados ovocitos vitrificados de donante, sobrantes de ciclos previos de ovodonación.

MATERIAL Y MÉTODO:

En este estudio retrospectivo, comparamos los datos obtenidos en los ciclos de ovodonación, en los últimos dos años, diferenciando donación de ovocitos en fresco (DOF) y donación de ovocitos vitrificados (DOV). En total se realizaron 155 ciclos de DOF y 32 ciclos de DOV.

COMUNICACIONES ORALES

Los criterios de inclusión de las donantes fueron una edad comprendida entre los 18 y 30 años, superar de manera correcta todos los exámenes médicos incluidos en la ley, previo al acceso al programa de ovodonación. En el caso de las receptoras, la edad media fue de 42,72 años en DOF y de 41,94 años en DOV.

En los ciclos de DOF, la microinyección espermática (ICSI) fue realizada entre las 3,5 y 4 horas post-punción.

En los ciclos de DOV, los ovocitos fueron vitrificados y desvitrificados empleando medios de Kitazato®, siguiendo el protocolo estandarizado facilitado por la casa comercial y empleando el dispositivo Cryotop® sistema abierto, colocando un máximo de 3 ovocitos por Cryotop®. El proceso de vitrificación se llevó a cabo a las 2 horas post-punción; y tras el proceso de desvitrificación dejamos pasar entre 1,5 y 2 horas para realizar la ICSI.

RESULTADOS:

En los ciclos de ovodonación en fresco se microinyectan un total de 1408 ovocitos metafase II, con una media de 9,08 ovocitos por ciclo, resultando una tasa de fecundación (sólo fecundados en 2 pronúcleos) de 75,07%. Obtenemos una gestación clínica del 59,94% en el primer transfer de embriones ya sea en fresco o diferido, con una tasa de gestación a término de 47,56%.

En los ciclos con ovocitos vitrificados se desvitrifican 293 ovocitos, con una tasa de supervivencia del 78,50%, esto supone un total de 9,16 ovocitos por ciclo. Se microinyectan una media de 7,19 ovocitos por paciente, con una tasa de fecundación (solo fecundados en 2 pronúcleos) de 70,87%. Obtenemos una gestación clínica del 75 % en el primer transfer de embriones ya sea en fresco o diferido, con una tasa de gestación a término de 65,32%.

CONCLUSIONES:

Con los datos obtenidos podemos comprobar la eficacia de nuestro banco de ovocitos de donantes, con buena tasa de supervivencia en la desvitrificación, con un número similar de ovocitos empleados y una tasa de fecundación equiparable a la obtenida con ovocitos frescos.

En lo referente a las tasas de gestación clínica y embarazo a término tenemos una mayor tasa de resultados positivos con ovocitos vitrificados, sin embargo, estos datos no son concluyentes puesto que deben ser corroborados con un mayor número de ciclos.

En definitiva, tener un banco de ovocitos propio, de donantes ya testadas, nos permite trabajar con una mayor tranquilidad, realizando el ciclo en el momento óptimo, pudiendo ser pospuesto en caso de existir algún problema.

CO-023 ▶

ES EL RITMO DE DESARROLLO HASTA BLASTOCISTO EL MEJOR FACTOR PREDICTIVO DE ÉXITO EN LAS CRIOTRANSFERENCIAS?

M. Solé Inarejos, S. García Monclús, C. González Llagostera, M. Álvarez Almodóvar, M. Boada Palà, PN. Barri Soldevila, A. Veiga Lluch

Dexeus Mujer - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

En los ciclos de criotransferencia de blastocistos, el día de la vitrificación parece ser un factor predictivo independiente de los resultados clínicos. En una revisión reciente, se observa un incremento en la tasa de embarazo clínico y la tasa de niño nacido vivo cuando se compara la transferencia de blastocistos vitrificados en D5 frente a blastocistos que han alcanzado dicho estadio en D6 (Finet et al., ESHRE 2018). De todos modos, se observan resultados muy heterogéneos en los datos reportados hasta ahora.

En cuanto a los embriones que no han alcanzado el estado de blastocisto en D6, no hay un consenso claro sobre si es recomendable prolongar el cultivo un día más para criopreservar los embriones que llegan a blastocisto en D7. Los resultados son, a día de hoy, muy limitados y controvertidos.

Estudiar el efecto del día de formación de blastocisto en los resultados clínicos de las criotransferencias con blastocistos vitrificados (CTB) tanto en ciclos de Fecundación *in vitro* como en el programa de donación de ovocitos (D5, D6 y D7).

COMUNICACIONES ORALES

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo en el que se han incluido 1063 CTB únicas realizadas entre el año 2010 y 2017. Se han incluido 703 ciclos de FIV y 360 procedentes de ciclos de donación de ovocitos.

Se ha comparado la tasa de embarazo clínico y de niño nacido vivo por transferencia entre los tres grupos (D5, D6 y D7). Para la valoración morfológica de los blastocistos se tuvieron en cuenta los criterios establecidos por ASEBIR (A: calidad ; B: calidad ; C:).

Para comparar las tasas de embarazo y de nacido vivo se utilizó la prueba Ji-Cuadrado. Se ajustó un modelo de regresión logística en el grupo FIV, para analizar la influencia de día de la vitrificación de los embriones ajustado por la edad y la calidad del blastocistos, sobre la tasa de embarazo clínico.

RESULTADOS:

La edad media de las pacientes fue de 35.7 ± 3.96 años (FIV) y de 42.7 ± 4.35 años (donación de ovocitos). En las pacientes de FIV, la tasa de embarazo clínico y de niño nacido vivo por transferencia en los embriones de D5 fue del 57.0% (236/414) y del 40.1% (166/414) respectivamente, del 33.9% (76/224) y 19.6% (44/224) en D6 y 15.4% (4/26) y 11.5% (3/26) en D7 ($p < 0.001$). En el grupo de donación de ovocitos, la tasa de embarazo clínico y de niño nacido vivo por transferencia en D5 fue del 48.1% (112/233) y 33.0% (77/233) respectivamente, 38.9% (42/108) y 26.9% (29/108) en D6. No se obtuvo ningún embarazo con los embriones vitrificados en D7 en este grupo. Las diferencias fueron también estadísticamente significativas ($p = 0.017$).

CO-024 ▶

¿EXISTE RELACIÓN ENTRE EL MEDIO DE TRANSPORTE Y LA SUPERVIVENCIA Y LOS RESULTADOS CLÍNICOS EN LOS CICLOS DE FIV REALIZADOS CON OVOCITOS TRASLADADOS?

P. Campos Lozano, E. Sánchez Chiva, A. Coello Perles, B. Vallejo Villanueva, J. Serrano Notario, MJ. De los Santos Molina, A. Cobo Cabal

IVIRMA Valencia - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

Los resultados satisfactorios conseguidos con la vitrificación como técnica de elección para la criopreservación de gametos, han favorecido la proliferación de bancos de ovocitos de donantes. Debido a que en muchas ocasiones los bancos de óvulos y las clínicas receptoras no comparten la misma localización, se hace necesario el traslado de muestras. Por otra parte, y debido a la movilidad geográfica de las pacientes, en ocasiones también se precisa del traslado de muestras entre diferentes sedes de una misma clínica o entre clínicas. Dependiendo de la distancia entre el centro emisor y el receptor, los traslados entre centros pueden llevarse a cabo

tanto por vía terrestre como aérea. En nuestra experiencia, existen variaciones mínimas de temperatura en el contenedor de transporte en los envíos terrestres. Sin embargo, en el transporte aéreo hemos detectado mayores variaciones de temperatura durante el viaje de los contenedores en cabina no presurizada.

OBJETIVO:

Evaluar el efecto del transporte aéreo de ovocitos de donante vitrificados en las tasas de supervivencia, fecundación y gestación clínica en comparación con los resultados obtenidos en el transporte por vía terrestre.

COMUNICACIONES ORALES

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo que incluyó un total de 31 traslados (N=383 ovocitos) por vía terrestre y 19 traslados (N=175 ovocitos) por vía aérea, realizados entre enero 2016 y diciembre 2018. Todas las muestras fueron vitrificadas/desvitrificadas utilizando el método Cryotop. El transporte se realizó conforme a las recomendaciones de la normativa europea vigente (<https://revista.asebir.com/embriones-humanos-criopreservados-traslado-entre-centros-de-reproduccion-asistida/>), empleando contenedores de nitrógeno líquido en fase vapor (MEV vapor dry shipper®) acorde a los estándares IATA e ISTA, fabricados específicamente para el transporte seguro de material biológico a temperaturas criogénicas ($\leq 150^{\circ}\text{C}$) y equipados con un sistema de monitorización continua de la temperatura (Shipslog TM). Una vez finalizado el envío, y al retorno del contenedor al centro emisor, se procedió al volcado del historial completo de las mediciones de temperatura durante todo el viaje, para su posterior análisis. Los resultados de supervivencia, fecundación y gestación se analizaron una vez producida la desvitrificación/microinyección de los ovocitos trasladados. Para el análisis estadístico se emplearon el test de t de student y χ^2 con $p < 0,05$ como significación estadística.

RESULTADOS:

Se ha observado un incremento de temperatura de $61,1 \pm 5,7^{\circ}\text{C}$ de $-188 \pm 7,8$ a $-127 \pm 2,1^{\circ}\text{C}$ en el transporte aéreo. La fluctuación de temperatura en el caso del transporte terrestre fue $37,3 \pm 7,1^{\circ}\text{C}$ de $-194,8 \pm 0,7$ a $-157,5 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$ ($P < 0,0001$). Se observaron diferencias significativas en la tasa de supervivencia de ovocitos en el caso de transporte aéreo (81,1%) vs. el terrestre (88,8%) ($P = 0,017$). No se observaron diferencias significativas en la tasa de fecundación en los trasportes aéreos (74,8%) versus los terrestres (75,2%) (NS). La tasa de implantación fue de 53,3% vs. 61,5% y la de gestación clínica de 53,3% vs. 65,4% para el grupo de transporte aéreo y terrestre respectivamente (NS).

CONCLUSIONES:

La tasa de supervivencia de los ovocitos vitrificados puede verse alterada en el caso de transporte por vía aérea, posiblemente por la inestabilidad de la temperatura observada durante el trayecto, que coincide con el despegue y aterrizaje del avión, probablemente debido a los cambios de presión. Aunque las diferencias no alcanzaron valores de significancia estadística, se observó una tendencia a obtener menor tasa de implantación y gestación clínica en el caso del transporte aéreo. Estas observaciones han de ser tomadas con extrema cautela, dado el escaso tamaño muestral de este estudio.

CO-025 ▶

LA PRODUCCIÓN DE ATP EMBRIONARIO PUEDE SER MODULADA POR EL ADN MITOCONDRIAL MATERNO SECRETADO POR EL ENDOMETRIO HUMANO EN VESÍCULAS EXTRACELULARES

D. Bolumar Recuero (1), A. Amadoz Navarro (2), I. Moreno Gimeno (3), C. Simón Vallés (4), F. Vilella Mitjana (5)

(1) Igenomix Foundation/Universidad de Valencia - Paterna (Valencia), (2) Igenomix S.L. - Paterna (Valencia), (3) Igenomix Foundation - Paterna (Valencia), (4) IVI Valencia, Igenomix Foundation, Universidad de Valencia - Paterna (Valencia), (5) Igenomix Foundation/INCLIVA - Paterna (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

Previas observaciones demostraron la existencia de diferentes poblaciones de vesículas extracelulares (VEs) en el fluido endometrial (LE) humano. Dichas VEs fueron clasificadas como cuerpos apoptóticos (ABs), microvesículas (MVs) o exosomas (EXOs), y se asociaron a tamaños, morfología y marcadores moleculares específicos. Del mismo modo, se observó una tendencia hacia la disminución en los niveles de producción con el avance del ciclo menstrual, al menos para MVs. Final-

mente, se descubrió que dichas poblaciones contenían ADN con un perfil potencialmente específico.

OBJETIVO:

Identificar el contenido en ADN de las vesículas extracelulares obtenidas del fluido endometrial materno, determinar si dicho ADN es internalizado por el embrión y, como consecuencia, afecta a su regulación energética en términos de modulación de ATP.

COMUNICACIONES ORALES

MATERIAL Y MÉTODO:

La identificación del contenido en ADN se realizó mediante secuenciación de las VEs aisladas de muestras de fluido endometrial humano de donantes fértiles (n = 10). Las poblaciones de VEs procedentes de la misma muestra de LE se evaluaron en un diseño pareado. También se investigó el potencial de las VEs para transferir ADN al embrión y modificar la energética embrionaria a través de la modulación de los niveles de ATP.

En primer lugar, las VEs aisladas de las muestras LE se trataron con DNasa para eliminar el ADN externo. Se crearon librerías mediante el kit Nextera XT DNA y se secuenciaron en 300 ciclos con diseño de lecturas paired-end. Por otra parte, se marcaron VEs con 5-etinil-2 -desoxiuridina (marcaje específico para ADN) y se incubaron con embriones murinos en hatching (n = 600) para investigar la transferencia de ADN desde las VEs al embrión. Finalmente, se cocultivaron embriones en hatching (n = 250) con VEs, se cuantificó los niveles de ATP embrionario (kit FLASC, Sigma) y se compararon entre embriones expuestos a las diferentes poblaciones de VEs. Las comparaciones estadísticas se realizaron mediante ANOVA.

RESULTADOS:

Las MVs fueron el único tipo de VE en el que se identificó contenido específico en ADN. El análisis de los datos de secuenciación reveló enriquecimiento en ADN mitocondrial, incluyendo los 13 genes codificantes (fold-change: $11,12 \pm 0,53$). Remarcablemente, también se observó enriquecimiento en

sitios de unión de factores de transcripción (TFBSs) en esta población de VEs en comparación con ABs y EXOs (fold-change: $6,9 \pm 1,5$ y $11 \pm 2,1$, respectivamente), la mayoría de ellos mapeados a lo largo del genoma mitocondrial. Algunos de los factores de transcripción asociados (SRF, GABP, E2F4, TR4, FOXA2, FOXA1, CTCF, GATA2, PAX5) se han visto implicados en desarrollo embrionario, gametogénesis y en la interacción entre célula y matriz extracelular. Además, se observó que las poblaciones de VEs con ADN marcado fueron internalizadas por los embriones murinos, mostrando diferentes patrones de integración del ADN en el citoplasma y núcleo de las células del trofoectodermo. Notablemente, al cultivar los embriones en presencia de ABs, MVs o EXOs, aquellos incubados con MVs mantuvieron sus niveles de producción de ATP en comparación con los incubados con EXOs ($p < 0,001$).

CONCLUSIONES:

Nuestros resultados sugieren que las VEs secretadas al LE humano podrían actuar como moduladores de la energética embrionaria. Específicamente, las MVs transmiten un contenido en ADN enriquecido en ADN mitocondrial codificante y con capacidad modificadora de la expresión génica. Además, dichas VEs apoyarían el mantenimiento de la producción de ATP embrionario. Finalmente, la capacidad de las VEs para transferir ADN al embrión sugiere que este modo de comunicación materno-embriónica podría tener implicaciones en la regulación energética del embrión.

CS & FV contribuyeron en la misma medida.

CO-026 ▶

FACTORES TÉCNICOS DE LA BIOPSIA DE TROFOECTODERMO Y SU RELACIÓN CON EL MOSAICISMO

C. Scarica, V. Montalvo Pallés, S. Novo Bruña, C. Castelló Zupanc, M. López-Teijón Pérez
Institut Marquès - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

Actualmente, la biopsia de trofoectodermo se ha establecido como la técnica más utilizada para realizar el test genético preimplantacional de aneuploidias (PGT-A). La implementación de tecnologías de análisis con mayor sensibilidad como el Next Generation Sequencing (NGS) ha incrementado la posibilidad de detectar embriones mosaicos. A pesar de estas

mejoras técnicas, determinar la verdadera incidencia del mosaicismo está demostrando ser una tarea difícil dada las limitaciones técnicas y biológicas de la biopsia de trofoectodermo. Las tasas de mosaicismo publicadas cubren un rango muy amplio, este hecho se atribuye a las diferencias en el cultivo y/o a diferencias poblacionales entre diferentes centros. Además, diversas publicaciones especulan con que pueden existir factores inherentes a la técnica de biopsia que incrementen la tasa de

COMUNICACIONES ORALES

mosaicismo, como el número de disparos con láser, la técnica utilizada para la separación mecánica de células, o una amplificación poco uniforme del material genético.

OBJETIVO:

Determinar si la tasa de mosaicismo se ve afectada por algún aspecto técnico implicado en la biopsia de trofoectodermo.

MATERIAL Y MÉTODO:

Este es un estudio multicéntrico prospectivo observacional que incluye 128 ciclos de PGT-A (edad=33,2±6,8), con una media de 3,5±2,3 embriones biopsiados por ciclo y en total 449 biopsias de trofoectodermo.

Los embriones se cultivaron en el mismo medio único y en incubadores time-lapse. En todos los embriones se realizó eclosión asistida en día 3 de cultivo. Se registró el día de la biopsia (5 ó 6), el número de pulsos láser utilizados (máximo 10) y su intensidad (μs), el tipo de técnica utilizada para realizada la separación mecánica de células (Flicking o Pulling) y el operario que la realizó (6 experimentados embriólogos utilizando ambas técnicas de separación indistintamente). Para analizar el efecto de la calidad del blastocisto, los embriones se agruparon en cuatro categorías (Excelente, Óptima, Regular, y Pobre) teniendo en cuenta la calidad de la Masa Celular Interna y el Trofoectodermo según el score de Gardner.

Las muestras biopsiadas se analizaron mediante NGS. Para evaluar el impacto de las variables técnicas contempladas en la tasa de mosaicismo se usó el test Chi-cuadrado.

RESULTADOS:

De las 449 biopsias analizadas el 35,4% resultó ser euploide, el 38,5% aneuploide y un 2,6% no concluyente. Se obtuvo una tasa total de mosaicismo del 23,4% considerando tanto los mosaico-euploides (21,2%; embriones con al menos dos líneas celulares, una de estas euploide) como los mosaico-aneuploides (2,2%; embriones con diversas líneas celulares, todas aneuploides).

Después de analizar las tasas de mosaicismo en función de los parámetros técnicos, no se detectó correlación alguna entre la incidencia del mosaicismo y la técnica de biopsia, la intensidad del láser, o el número de disparos (Tabla I). Por otro lado, analizando las características propias de los blastocistos tampoco se encontró ninguna implicación significativa en la probabilidad de diagnóstico mosaico (Tabla I). Tanto el día de cultivo, como la calidad y expansión del blastocisto parecen no afectar a la tasa de mosaicismo.

Finalmente, no se observaron diferencias entre biopsiadores. Es importante destacar que los embriólogos encargados de realizar las biopsias han sido formados bajo el mismo plan y registran una experiencia amplia y equivalente, utilizando una distribución similar respecto a los parámetros contemplados en este estudio.

CONCLUSIONES:

Múltiples artículos sugieren que los aspectos técnicos implicados durante la biopsia embrionaria podrían tener un impacto directo sobre las tasas de mosaicismo.

No obstante, el estudio que se presenta aquí demuestra que, siempre que se realice en un laboratorio con las condiciones optimizadas y por embriólogos experimentados, no hay ningún factor técnico de la biopsia que influya en el resultado del diagnóstico genético del embrión. De este modo el mosaicismo parece estar influenciado únicamente por factores biológicos.

Parámetro	Variante	Mosaicismo total
Técnica de biopsia	Pulling	22,66%
	Flicking	24,85%
Intensidad del laser	300 μs	18,18%
	400 μs	23,91%
	500 μs	23,18%
	600 μs	27,27%
Número de disparos	≤ 3	22,45%
	4-6	22,92%
	7-10	27,87%
Día de cultivo	5	24,12%
	6	24,02%
Grado de expansión	≤ 4	23,66%
	5	25,93%
	6	25,00%
Calidad embrionaria	Excelente	27,78%
	Óptima	25,90%
	Regular	20,73%
	Pobre	28,13%

Tabla I. Relación entre parámetros técnicos de la biopsia y propios del blastocisto y la tasa de mosaicismo total observada.

EMBRIONES MOSAICO: AUMENTO DE LA TASA DE TRANSFERENCIA EMBRIONARIA POR CICLO DE FIV-PGT-A EN PACIENTES DE EDAD MATERNA AVANZADA

M. Sánchez Castro, M. Palahí Bages, E. García Guixé, E. Balius Fort, D. Campos Rodero, C. Giménez Sevilla, M. Sandalinas Alabert

Reprogenetics Spain - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

La técnica de Next Generation Sequencing (NGS), permite la diferenciación entre embriones euploides y mosaico entre el 20-80%.

Se calcula que entre el 20-30% de los embriones procedentes de ciclos de FIV son mosaico, con independencia de la edad materna. Aproximadamente la mitad de estos embriones son diploide-aneuploide, de los cuales se ha descrito que, si bien presentan una tasa de implantación menor y una tasa de aborto mayor respecto a los embriones euploides, pueden dar lugar a embarazos evolutivos con nacimiento de niños sanos (2-4). Los niños nacidos a partir de embriones mosaico descritos hasta la fecha no han manifestado ninguna patología. Las recomendaciones de transferencia de embriones mosaico se contemplan en caso de no disponer de embriones euploides pero no existe consenso entre los centros de FIV respecto a la conveniencia de transferir o no esos embriones.

OBJETIVO:

El objetivo de este estudio fue determinar cuántos ciclos de PGT-A sin embriones euploides a transferir disponían de, al menos, un embrión mosaico simple (con una o dos aneuploidías en mosaico). La intención final fue calcular la proporción de pacientes de PGT-A sin transferir en los que se podría contemplar la transferencia de embriones mosaicos simples (con una viabilidad descrita del 30-40%). No se consideran en este estudio los mosaicos complejos cuya viabilidad se ha descrito de alrededor del 6%.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se analizaron retrospectivamente un total de 3697 biopsias de trofoblasto de embriones correspondientes a 831 ciclos de PGT-A (Veriseq, Illumina) procedentes de diferentes

centros de FIV. Los ciclos de PGT-A se dividieron en dos grupos en función de la edad materna de la paciente (<38 y ≥38) y un tercer grupo de donación de ovocitos. Se compararon las tasas de ciclos con y sin transferencia de embriones euploides entre los diferentes grupos de pacientes y se calculó el porcentaje de ciclos que podrían tener transferencia de embriones mosaicos simples.

RESULTADOS:

La tasa de transferencia de embriones euploides por ciclo en el grupo de donación de ovocitos (91%) y de pacientes con edad materna <38 años (87%) resultó elevada en comparación a la observada en el grupo de edad ≥38 años (56%). En este último grupo de pacientes con edad materna avanzada (AMA) se vio que un 7% de los casos en los que no se había obtenido ningún embrión euploide para transferir disponían de al menos un embrión mosaico simple (Figura 1). Considerando estos embriones mosaicos simples como potencialmente transferibles, un 16% de los ciclos de FIV de pacientes con AMA sin embriones euploides disponibles podrían tener transferencia con un posible embarazo viable.

CONCLUSIONES:

Las pacientes con AMA que se someten a ciclos de FIV-PGT-A suelen obtener un bajo porcentaje de embriones euploides por ciclo. La consideración de embriones mosaicos simples a transferir, previo asesoramiento y aceptación expresa de los pacientes, incrementaría la tasa de transferencia por ciclo en casos sin embriones euploides disponibles en pacientes con AMA.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Munné S, Wells D. Detection of mosaicism at blastocyst stage with the use of high-resolution next-generation sequencing. *Fertil Steril*. 1 de mayo de 2017;107(5):1085-91.

COMUNICACIONES ORALES

2. Greco E, Minasi MG, Fiorentino F. Healthy Babies after Intrauterine Transfer of Mosaic Aneuploid Blastocysts. *N Engl J Med*. 19 de noviembre de 2015;373(21):2089-90.

3. Fragouli E, Alfarawati S, Spath K, Babariya D, Tarozzi N, Borini A, et al. Analysis of implantation and ongoing pregnancy rates following the transfer of mosaic diploid-aneuploid blastocysts. *Hum Genet*. 2017;136(7):805-19.

4. Munné S, Blazek J, Large M, Martinez-Ortiz PA, Nisson H, Liu E, et al. Detailed investigation into the cytogenetic constitution and pregnancy outcome of replacing mosaic blastocysts detected with the use of high-resolution next-generation sequencing. *Fertil Steril*. 2017;108:62-71.e8.

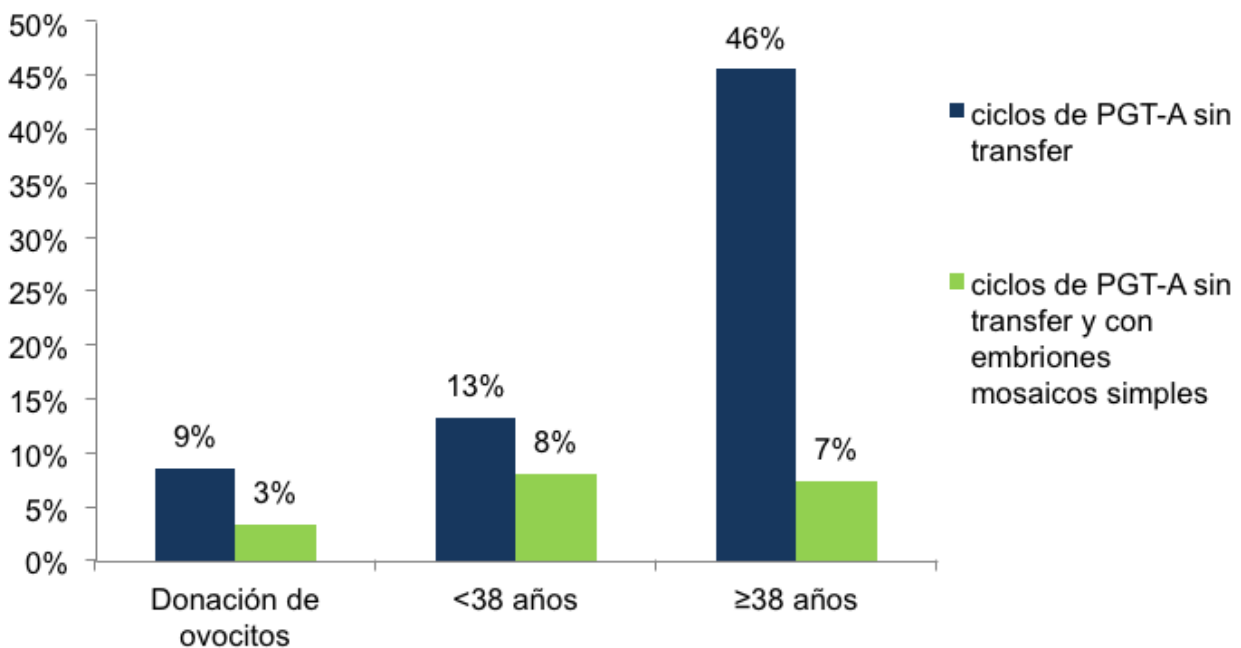


Figura 1. Porcentaje de ciclos de PGT-A sin transferencia embrionaria distribuidos en los grupos siguientes: donación de ovocitos, pacientes <38 años y pacientes ≥38 años. La tasa de no transferencia (en azul) es baja en el grupo de donación de ovocitos (9%) y pacientes <38 años (13%) debido a la elevada proporción de embriones euploides observados en estos grupos. En cambio, la elevada tasa de no transferencia observada en pacientes ≥38 años (46%) se debe a la baja proporción de embriones euploides por ciclo obtenidos en este grupo. Considerando los embriones mosaicos simples disponibles en ciclos sin embriones euploides (7%, en verde) podrían rescatarse un 16% de los casos sin transferencia en el grupo de AMA.

LAS ANEUPLOIDÍAS SEGMENTARIAS EN MOSAICO EN BLASTOCISTOS NO AFECTAN A LOS RESULTADOS DE LOS CICLOS DE PGT-A

B. Lledó Bosch, R. Morales Sabater, JA. Ortiz Salcedo, E. García Hernández, D. Rodríguez Arnedo, J. Llácer Aparicio, A. Bernabéu García, R. Bernabéu Pérez

Instituto Bernabéu - Alicante (Alicante)

INTRODUCCIÓN:

Las alteraciones cromosómicas son comunes en embriones de FIV analizados mediante PGT-A. Si bien la mayoría de las aneuploidías involucran a todo el cromosoma existe un porcentaje de anomalías que afectan sólo a un segmento cromosómico. Este tipo de alteraciones pueden ser detectadas mediante array CGH y NGS (secuenciación masiva). En cuanto al origen de las aneuploidías segmentarias en la mayoría de los casos es mitótico pero la causa es desconocida, por lo que se desconoce si existen factores que se asocien con una mayor incidencia. Así mismo, el efecto de dicho mosaicismo segmentario en la tasa de embarazo todavía no se ha determinado con exactitud.

OBJETIVO:

El objetivo de nuestro estudio fue evaluar si la transferencia de embriones con aneuploidías segmentarias en mosaico afectaba a los resultados de los ciclos de PGT-A y estudiar qué factores podrían estar relacionados con dicho mosaicismo.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se incluyeron un total de 5074 blastocistos biopsiados en día 5 o día 6 procedentes de 1758 ciclos de parejas que se sometieron a tratamientos de PGT-A en nuestro centro. Las biopsias de trofoectodermo fueron analizadas por aCGH (n=2434) y NGS (n=2640) desde febrero 2013 hasta febrero 2019. El análisis se realizó usando Agilent SurePrint G3 8x60K CGH microarrays o Veriseq NGS (Illumina). El límite de detección de aneuploidías segmentarias fue de 10Mb para el aCGH y 1.5Mb para el NGS. Los principales parámetros analizados fueron la tasa de embarazo y la tasa de embarazo evolutivo en el grupo de mosaicos segmentarios. El análisis estadístico se realizó mediante regresión logística incluyendo factores de confusión (edad materna, calidad embrionaria, día de la biopsia y técnica empleada para el PGT-A) con el software SPSSv20.0.

RESULTADOS:

De los 5074 embriones analizados, se obtuvo diagnóstico en el 97% de las biopsias. De forma global, un 42,2% fueron aneuploides y un 57,8% euploides. La tasa de mosaicismo embrionario fue del 16,3%. Entre los embriones euploides-mosaico, el 59,9% presentaron mosaicismo en uno o varios cromosomas completos, el 29,4% tuvieron anomalías segmentarias en mosaico y el 10,6% fueron mosaicos combinados. Analizando los posibles factores asociados al mosaicismo segmentario se observó una correlación inversa entre el porcentaje de embriones con mosaicismo segmentario y la edad materna. Los mosaicos-euploides segmentarios fueron 4,7% en mujeres de hasta 35 años y 3,2% en mujeres mayores de 36 años ($p=0.011$). No se observó asociación entre el mosaicismo segmentario ni con factores paternos (edad, calidad seminal, y aneuploidías espermáticas) ni embrionarios (calidad y día de biopsia). En cuanto a los resultados clínicos, la tasa de embarazo fue superior en el grupo de mosaicos segmentarios comparando con el grupo de mosaicos completos (69,1% vs 50,8%; $p=0,048$). Finalmente, se observó que la tasa de embarazo evolutivo de los embriones con mosaicismo segmentario fue similar al grupo de embriones euploides (35,8% vs 41,4%; $p=0,374$).

CONCLUSIONES:

Según nuestros resultados, el mosaicismo segmentario es más frecuente en embriones de mujeres menores de 35 años. Además, nuestros datos muestran que la tasa de embarazo al transferir embriones con mosaicismo segmentario es superior a la de mosaicos de cromosoma completo y similar a la de embriones euploides puros. Por lo tanto, aunque el porcentaje de embriones mosaico con mosaicismo segmentario obtenido en los ciclos FIV es bajo, debe considerarse su transferencia.

CARACTERIZACIÓN DEL TRANSCRIPTOMA ESPERMÁTICO ASOCIADO A LA FERTILIDAD MASCULINA MEDIANTE SECUENCIACIÓN MASIVA

C. Corral Vázquez, J. Blanco, F. Vidal, E. Antón

Unidad de Biología Celular (Universidad Autónoma de Barcelona) - Bellaterra (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

Numerosos estudios de expresión génica respaldan la idea de que el RNA de los espermatozoides maduros no es un mero residuo de procesos previos de espermatogénesis, sino que supone una fracción cuya importancia biológica trasciende hasta un nivel embrionario. Además, se ha asociado la expresión alterada de diversos transcritos con diferentes tipos de alteraciones seminales y de la fertilidad. Por tanto, la realización de nuevos estudios transcriptómicos mediante técnicas de última generación como la secuenciación masiva resulta de gran importancia para profundizar en las implicaciones biológicas y las posibles aplicaciones clínicas del RNA espermático. Sin embargo, la aplicación de este tipo de técnicas en espermatozoides se ve obstaculizada por diversas limitaciones, como es la escasa cantidad de RNA total contenida en estas células (10-100 femtogramos) y la dificultad que esto supone a la hora de obtener muestras con una calidad suficiente.

OBJETIVO:

Establecer un perfil común de expresión génica asociado a los espermatozoides de hombres fértiles mediante secuenciación masiva de RNA (RNA-seq).

MATERIAL Y MÉTODO:

A partir de 12 muestras seminales de individuos con fertilidad probada, se realizó el aislamiento de los espermatozoides. Con la intención de establecer la metodología más adecuada para el uso de la tecnología RNA-seq, se realizaron extracciones del RNA espermático mediante dos métodos: 1) un kit de separación por columnas (mirVana PARIS, ThermoFisher); y 2) un sistema de extracción automático de ácidos nucleicos (Maxwell RSC simplyRNA Cells, Promega). La pureza y concentración se comprobaron mediante espectroscopía de microvolúmenes

(Nanodrop 2000, Thermo Fisher) y de fluorescencia (Quantus, Promega). Se prepararon las librerías mediante el kit Universal Plus mRNA-Seq with NuQuant (NuGEN) y se realizó una secuenciación con reads paired-end de 125pb (plataforma Illumina HiSeq2500). Los reads obtenidos se alinearon con el genoma humano (ensamblaje GRCh38) mediante el algoritmo STAR. A partir del alineamiento se realizó una selección de los genes más expresados (FPKM>10), así como un análisis de ontología génica de los procesos biológicos enriquecidos asociados a esos genes (agriGO). La calidad de los reads obtenidos con ambos métodos y los resultados de expresión génica fueron comparados y analizados.

RESULTADOS:

El método de extracción por columnas dio lugar a muestras de RNA con menor cantidad media (ng/ μ l) y pureza (ratio 260/280nm). Las librerías obtenidas a partir de este método contenían altos porcentajes de reads con secuencias repetidas (~80.42%), probablemente asociadas a posibles impurezas presentes en las muestras de RNA. Las librerías obtenidas a partir del método de extracción automático contenía reads de más calidad (Phred>30), mayor porcentaje de alineamiento único con el genoma, y menos secuencias intergénicas (<20%). Sin embargo, al realizar un Análisis de Componentes Principales y una clusterización de las muestras según sus perfiles de expresión, todas las muestras, independientemente del método de extracción, se agruparon conjuntamente. Mediante ambos métodos, se identificaron entre los 100 genes más expresados numerosos transcritos codificantes de proteínas, proteínas de transición, proteínas acrosomales y otros elementos esenciales para la funcionalidad espermática. Además, el análisis de ontología génica de dichos genes ofreció un patrón común de enriquecimiento de procesos biológicos estrechamente relacionados con la espermatogénesis, la fecundación y el desarrollo embrionario.

COMUNICACIONES ORALES

CONCLUSIONES:

Aunque el método de extracción automático permitió la obtención de RNA con una calidad superior, no existieron diferencias remarquables en los resultados finales de expresión génica. Ambos protocolos permitieron establecer un perfil transcrip-

tómico similar, caracterizado por una abundante presencia de genes implicados en funciones reproductivas. Este análisis nos permite profundizar en el conocimiento del transcriptoma de los espermatozoides maduros de individuos fértiles y sus funciones biológicas, sirviendo además como base para futuros estudios comparativos con poblaciones infértiles.

CO-030 ▶

SCREENING GENÉTICO DE PORTADORES: ANÁLISIS DE LA COMPATIBILIDAD ENTRE DIFERENTES TESTS

M. Palahí Bages, M. Pardo Rodríguez, A. Feliu Cuberes, D. Cotán Marín, L. Barreiro, M. Sandalinas Alabert
FullGenomics S.L. - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

Se han descrito más de 1300 enfermedades de herencia recesiva autosómica (AR) y ligadas al cromosoma X(XL). Si bien la mayoría de enfermedades son consideradas raras, en conjunto afectan a >1 de cada 300 nacimientos por lo que el 1-2% de las parejas presentan riesgo de hijo afecto. En caso de deseo de embarazo, el screening de portadores expandido (ECS) es una buena herramienta para reducir este riesgo. Y se ha convertido en una práctica clínica habitual en los centros de reproducción asistida principalmente en donación de gametos.

Actualmente existen más de 12 test en nuestro país que analizan entre 170 y 550 genes. La inmensa mayoría se procesan mediante secuenciación masiva (o NGS), pero varía el método de análisis de las variantes, que puede ser mediante evaluación de un número determinado de variantes (genotipado) o bien mediante secuenciación completa y evaluación de todas las posibles variantes de ese gen.

OBJETIVO:

El objetivo de este estudio es evaluar la homogeneidad/heterogeneidad de los test disponibles teniendo en cuenta la frecuencia de portadores descrita para cada enfermedad.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se han evaluado todos los genes incluidos en 9 paneles de ECS así como su frecuencia de portadores en la población general.

Se excluyen los genes con herencia XL, ya que tienen un riesgo directo en la descendencia, siendo el análisis de la pareja reproductiva irrelevante para establecer el riesgo de hijo afecto.

El número total de genes con herencia AR evaluados es de 678 y varía 158 a 503 genes según test. Los genes se dividieron en 4 categorías según la frecuencia de portadores establecida: 1) mayor frecuencia ($\geq 1/100$), 2) frecuencias entre 1/101 y 1/300, 3) frecuencias entre 1/301 y 1/500 y 4) frecuencias $< 1/500$ o no descritas.

RESULTADOS:

La categoría de genes de frecuencia $\geq 1/100$ agrupaba 48 genes, de los cuales 30 (63%) estaban incluidos en al menos la mitad de los paneles. Al revisar los 18 genes restantes se identificaron causas que podrían explicar su baja inclusión:

- 7 no cumplían los criterios de inclusión de enfermedades debiendo evaluarse su exclusión.
- 5 estaban relacionados con enfermedades de herencia multigénica teniendo una frecuencia sobreestimada por los laboratorios.

COMUNICACIONES ORALES

- 4 se asociaban a enfermedades con sintomatología relativamente leve o de aparición tardía.
- 1 estaba asociado únicamente a enfermedades de herencia autosómica dominante.
- 1 debería valorarse mayor inclusión dada su frecuencia y sintomatología.

En caso de excluirse los 7 genes que no cumplían los criterios de inclusión y el asociado a herencia autosómica dominante y se reevaluaran los 5 genes con una frecuencia sobreestimada la tasa de coincidencia se elevaría hasta el 85%.

En el resto de categorías la coincidencia entre paneles era decreciente, siendo del 64% en los genes con frecuencias entre 1/101 y 1/300, del 46% en el rango de frecuencias entre 1/301 y 1/500 y del 19% en los genes con menor frecuencia.

CONCLUSIONES:

A pesar de la variedad de paneles disponibles, entre los 9 incluidos finalmente en el análisis se detectó una elevada coincidencia en las enfermedades de mayor frecuencia (63%), que podría llegar hasta el 85% en caso de excluir los genes que no cumplen los criterios de inclusión en los paneles de ECS y se recalificaran las frecuencias de ciertos genes. Las mayores diferencias entre test radican en las enfermedades de menor frecuencia, probablemente a causa de los criterios de inclusión de cada laboratorio y el número de genes de cada panel.

Los resultados muestran compatibilidades entre test que con pequeños ajustes podrían ser fácilmente ampliables. Con el fin de beneficiar a los pacientes y minimizar las complicaciones derivadas de las incompatibilidades entre test sería recomendable consensuar las enfermedades que debería incluir un test de screening de portadores.

CO-031 ▶

BLASTOCISTOS HUMANOS PROCEDENTES DE CIGOTOS UNIPRONUCLEARES: UN MODELO BIOLÓGICO PARA EL ESTUDIO DE LA PLOIDÍA, EUPLOIDÍA, TOPOGRAFÍA Y PARENTALIDAD CROMOSÓMICAS

X. Vendrell Montón (1), R. Bautista Llàcer (1), R. Tena Ros (1), P. Ferrer Herrera (1), N. Soler Balaguer (2), A. González Picazo (2), MJ. Escribà Pérez (2)

(1) Sistemas Genómicos, Paterna (Valencia) (2) IVIRMA-Valencia, Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

Los cigotos unipronucleares (1PN) se clasifican típicamente como fecundación anómala. La prevalencia estimada oscila entre el 2% y el 8% de los conceptos generados por FIV e ICSI, respectivamente. El fundamento biológico de su génesis no es del todo conocido. La rotura asincrónica de la envoltura pronuclear o una cinética pronuclear aberrante han sido postulados como posibles mecanismos explicativos. Los blastocistos derivados de estos cigotos constituyen un modelo único para ampliar el conocimiento sobre procesos clave del desarrollo embrionario temprano como la segregación cromosómica, la localización cromosómica (topografía) en los compartimentos embrionarios (trofoectodermo [TF]) y masa celular interna [MCI] y el origen parental (paterno/materno) de los cromosomas. La com-

binación de las técnicas citogenéticas clásicas con las nuevas y potentes tecnologías genómicas nos permiten aportar nuevos datos para entender mejor estos momentos clave del desarrollo humano.

OBJETIVO:

Describir la ploidía/euploidía, el grado de concordancia cromosómica entre diferentes regiones del TF, y entre el TF y la MCI, así como identificar el origen cromosómico (paterno/materno) de aquellos blastocistos haploides, diploides o poliploides procedentes de cigotos unipronucleares. Adicionalmente, se pretende discutir sobre el eventual rescate de estos blastocistos para fines reproductivos.

COMUNICACIONES ORALES

MATERIAL Y MÉTODO:

El presente trabajo es un estudio experimental prospectivo, autorizado por el CEIC del centro. Se partió de 90.083 cigotos procedentes de 910 ciclos de ICSI, en 892 parejas, de abril 2016 a diciembre 2018. Se obtuvieron 1081 cigotos unipronucleares (1.2%; 1081/90.083). Un total de 199 alcanzaron el estadio de blastocisto (18.5%) y se vitrificaron para su posterior estudio. Se establecieron experimentos escalonados repartidos en tres series sobre 76 blastocistos. Serie 1: 26 blastocistos fijados completos para control de ploidía por FISH (cromosomas X,Y,13,18,21). Serie 2: 35 blastocistos se diseccionaron en tres fragmentos, dos fragmentos de trofotodermo (TF1 y TF2) y la MCI. El TF1 permitió aproximarnos a la ploidía mediante estudio por FISH (cromosomas X,Y,13,18,21); TF2 y MCI: permitió el estudio por separado de 24 cromosomas por NGS (Illumina). Serie 3: 15 blastocistos se diseccionaron en tres fragmentos: TF1, TF2 y MCI. El TF1: estudio 24 cromosomas por NGS (Illumina). El TF2: estudio 24 cromosomas y SNPs (single nucleotide polymorphisms) por SNP-array de 750K (Affymetrix) en formato trio (estudio simultáneo de ADN de padre/madre/MCI) y análisis bioinformático de los SNPs informativos (software Affymetrix® Chromosome Analysis Suite v.3.3.0.139 de Applied Biosystems® con el método CytoScanOptima_Array Single Sample Analysis, algoritmo NA33.2). La referencia del genoma humano fue NCB37 (hg19). Paquete estadístico R. El resto embrionario que incluye toda la MCI: estudio de ploidía por FISH (cromosomas X,Y,13,18,21).

RESULTADOS:

El 80.5 % de los blastocistos derivados de cigotos 1PN son diploides, frente al 8% mosaico y 11.5% haploides ($P < 0.01$). Los blastocistos diploides mostraron un ratio conservado para los cromosomas sexuales (1:1). Los blastocistos diploides muestran una tasa de aneuploidía del 50%. Respecto a la topografía cromosómica, los resultados exhiben un patrón diferente relacionado con el grado de inestabilidad cromosómica. La correlación entre compartimentos (TF/TF y TF/MCI) es completa en los casos de euploidía y aneuploidía de cromosomas completos (trisomías y monosomías). La correlación se pierde en casos de aneuploidía compleja (>3 cromosomas implicados), aneuploidía segmental y mosaicismo que son más frecuente en los TF. En relación con la parentalidad, el 40% de los blastocistos son heteroparentales diploides.

CONCLUSIONES:

El modelo experimental confirma que la correlación cromosómica entre la MCI y diferentes regiones del TF es completa en casos de euploidía o aneuploidía pura. La inestabilidad cromosómica asociada al mosaicismo y la aneuploidía segmental parece confinada al TF. Un alto porcentaje de blastocistos derivados de cigotos 1PN exhiben dos copias de sendos genomas parentales y euploides. Estos datos orientan a favor de su utilización clínica con fines reproductivos.

GO-032 ▶

BETA2-ADRENERGIC RECEPTORS ARE EXPRESSED IN THE TERMINAL PIECE OF THE HUMAN SPERM FLAGELLUM

JL. Girela López (1), M. Francou (1), A. De Juan (2), J. De Juan (3)

(1) Dpto. Biotecnología, Universidad de Alicante - Alicante (Alicante), (2) Hospital Universitario de San Juan de Alicante - San Juan (Alicante), (3) IUEG, Universidad de Alicante - Alicante (Alicante)

INTRODUCTION:

Recent studies have shown that spermatozoa have very complex machinery of cell signalling processes. As part of that signalling machinery, we can find numerous neuroreceptors expressed in the sperm plasma membrane. Human sperm is regionalised, with several physiological processes restricted to determined areas, being therefore expected that specific molecules involved in those processes should also be restricted

to that area. Although indirect methods had determined the presence of the Beta2-adrenergic receptor (ADRB2) in human sperm, there is no direct evidence nor the description of the localisation of that receptor.

OBJECTIVES:

We design the study by developing new techniques that allow us to use high- resolution microscopes (i.e. Laser Scanning

COMUNICACIONES ORALES

Confocal Microscopy LSCM and Field Emission Scanning Electron Microscopy or FE-SEM) to identify the fine localisation and distribution of ADRB2 in human sperm cells.

MATERIAL AND METHODS:

After written consent and ethical approval, semen samples from 7 young, healthy volunteers were used. All the samples were normozoospermic according to WHO 2010 criteria. As a positive control, we used the neuroblastoma cell line SH-SY5Y known to express the ADRB2. To identify the presence of messenger and protein we used RT-PCR and Western Blot techniques respectively, in both sperm and neuroblastoma cells. In the case of RT-PCR, we also detect the mRNA for Acrosine as a positive control in sperm cells. As a positive control for western blot techniques, we used tubulin for both sperm and neuroblastoma cells.

For the fine localisation, immunolabelling techniques were performed by using the same anti-ADRB2 primary monoclonal antibody followed by the fluorochrome-conjugated secondary antibody for LSCM or gold conjugated for FE-SEM. Negative controls were performed in immunolabelling techniques by omitting the primary antibody.

RESULTS:

We confirm the presence of both messenger and ADRB2 protein in human sperm cells in all the samples, demonstrating the expression of the receptor. LSCM images showed a predominant distribution of the ADRB2 receptor on the Sperm flagellum, with and brighter signal at the terminal piece. The FE-SEM images were analysed by quantifying the number of gold nanoparticles in the sperm cells as well as in the background to determine the specificity of the technique. The flagellum was divided into the three main functional parts, midpiece, principal piece and terminal piece. The mean number of gold particles found in the end piece of the sperm flagellum was significantly higher than the one found in the mid and principal piece ($p < 0.001$).

CONCLUSIONS:

ADRB2 expression is significantly concentrated in the terminal piece of human sperm flagellum. Functional studies suggested that ADRB2 can be involved in the regulation of sperm motility, is compatible with our results. Due to the interaction of ADRB2 with commonly used therapeutics drugs, such those for the treatment of asthma and hypertension, further studies should be performed to determine their implications in male fertility.

This work was partially funded by grants Vigrob-137 and UAUSTI18-09 of the University of Alicante.

CO-033 ▶

ADHERENCE TO DIET QUALITY INDICES IN RELATION TO REPRODUCTIVE PARAMETERS IN YOUNG MEN

E. Adoamnei (1), A. Cutillas Tolín (1), EM. Navarrete Muñoz (2), J. Vioque (2), M. Moñino García (1), J. Mendiola (1), AM. Torres Cantero (1)

(1) Universidad de Murcia (Murcia) (2) Universidad Miguel Hernández de Elche (Alicante)

INTRODUCTION:

Studies assessing the relationship between dietary intake and male reproductive function have been mainly focused on specific nutrients, food groups or data-driven dietary patterns, but the evidence on a-priori defined dietary indices is still scarce.

OBJECTIVES

To evaluate associations between a-priori defined diet quality indices [Alternate Healthy Index 2010 (AHEI-2010), Relative Mediterranean Diet Score (rMED) or Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH)] and semen quality and reproductive hormone levels in young men.

COMUNICACIONES ORALES

MATERIAL AND METHODS

This was a cross-sectional study of 209 male university students recruited from October 2010 to November 2011 in Spain. Healthy young men aged 18-23 years were included in this study. Diet was assessed using a validated food frequency questionnaire and three a priori-defined dietary indices (AHEI-2010, rMED and DASH) were calculated. Linear regression was used to analyze the relation between the three dietary indices and semen quality parameters (semen volume, sperm concentration, motility, morphology, total sperm count and total motile sperm count) and reproductive hormone levels (FSH, LH, estradiol, SHBG, inhibin B, total testosterone and free calculated testosterone) accounting for potential confounders and covariates (e.g. age, body mass index, smoking status, ejaculation abstinence time, presence of varicocele, total caloric intake, etc.).

RESULTS

We found statistically significant positive associations between the DASH index and sperm concentration (P , trend=0.04), total sperm count (P , trend=0.04) and total motile sperm count (P , trend=0.02). No associations were observed for other semen parameters or male reproductive hormones.

CONCLUSIONS

Greater adherence to the DASH diet was related to higher sperm counts but no other reproductive parameters. On balance, our data support the hypothesis that a potential diet with high intake of low-fat dairy products, vegetables, fruits and fish and low intake of sugar-sweetened beverages, processed meat and salt, such as DASH diet, might have positive effects on sperm counts. This study was carried out on healthy unselected young men with unknown fertility, who are likely to be the most of the general population. However, results may differ among other populations (e.g. infertile or fertile men). Therefore, further research is needed to confirm these findings and extend these results to other male populations.

CO-034 ▶

EL ANÁLISIS DE LA CROMATINA ESPERMÁTICA MEDIANTE LA CITOMETRÍA DE FLUJO PUEDE PROPORCIONAR INFORMACIÓN ADICIONAL A LA FRAGMENTACIÓN DEL ADN Y A LA INMADUREZ

C. González Moncada (1), E. Fernández Alegre (1), A. Núñez González (1), F. Martínez Pastor (2), B. Martín Fernández (1)

(1) Bianor Biotech - León (León), (2) Universidad de León - León (León)

INTRODUCCIÓN:

El análisis de la cromatina espermática es una herramienta fundamental en el laboratorio de andrología. Aunque la mayor parte de las técnicas evalúan la fragmentación del ADN, la cromatina puede presentar alteraciones en múltiples niveles, y su correcta organización es fundamental para el éxito de la fecundación y el desarrollo embrionario. Un elemento crucial es la correcta formación de puentes disulfuro entre las protaminas y su estabilización (Björndahl y Kvist, 2010).

OBJETIVO:

Determinar la relación entre el análisis clásico (fragmentación del ADN e inmadurez de la cromatina) y la información obtenida mediante dos nuevos métodos: evaluación tras relajación de la cromatina y evaluación de los puentes disulfuro entre protaminas.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se utilizaron muestras espermáticas previamente analizadas mediante Cytosperm (determinación de la fragmentación del ADN espermático e inmadurez de la cromatina mediante citometría de flujo), y clasificadas en consecuencia como normales, alta fragmentación y alta inmadurez. Se utilizaron 9 muestras (3 muestras por grupo) para cada una de las nuevas determinaciones. En el primer análisis, se evaluó la presencia de una subpoblación espermática con cromatina inestable. Las muestras se sometieron a una incubación con solución de relajación de la cromatina (Kvist, 2018) y se reanalizaron con la misma técnica. En el segundo análisis, se evaluó el grado de formación de puentes disulfuro mediante la evaluación de los sulfhidrilos libres en el núcleo espermático mediante la sonda monobromobimano, según Zubkova et al. (2005). Los resultados se evaluaron con el entorno estadístico R, utilizando correlaciones (Pearson) para determinar la relación entre Cytosperm y las nuevas

COMUNICACIONES ORALES

técnicas, y modelos lineales para comparar los resultados dentro de cada subgrupo (normal, fragmentación alta, inmadurez alta).

RESULTADOS:

La fragmentación y la inmadurez obtenidas mediante Cytosperm estándar y tras la desestabilización de la cromatina mostraron una alta correlación (0,80 y 0,71 respectivamente, $P < 0,05$). En general, el pretratamiento indujo un incremento en la heterogeneidad de la fragmentación del ADN (SD-DFI) y en el grado de fragmentación (subpoblación moderada a alta). No obstante, el comportamiento entre muestras difirió considerablemente, indicando distinta vulnerabilidad de la cromatina. Las muestras de alta fragmentación tendieron a un incremento de una subpoblación de fragmentación muy elevada del ADN. Una de las muestras inicialmente calificadas como normales y una de las de alta inmadurez mostraron una población vulnerable tras el pretratamiento, siendo clasificadas como sensibles y potencialmente vulnerables a la utilización en ART. Esta clasificación se vio confirmada en la muestra previamente clasificada como de alta inmadurez, ya que tras el pretratamiento se observó también un incremento en esta subpoblación de espermatozoides inmaduros.

En el caso de la evaluación de sulfhidrilos libres, encontramos una correlación casi nula con la proporción de espermatozoides inma-

duros, pero una correlación alta con la SD-DFI y la fragmentación total (r 0,70 y 0,73; $P < 0,05$). Esto indica que esta técnica proporciona información que no se refleja en el estudio adicional de la inmadurez de la cromatina, mientras que está relacionada con el riesgo de daños en el ADN. No obstante, no encontramos diferencias entre los grupos definidos con Cytosperm.

CONCLUSIONES:

Estos resultados muestran que el análisis centrado en la fragmentación del ADN espermático pasa por alto muchos factores relacionados con la estructura de la cromatina. Este estudio preliminar, aunque muy limitado por el tamaño muestral y la variabilidad entre muestras, indica que el análisis de la estructura de las protaminas y los puentes disulfuro pueden proporcionar información adicional al análisis espermático, especialmente en cuanto a la posible vulnerabilidad del material genético a sufrir daño adicional durante la ejecución de ART.

BIBLIOGRAFÍA:

- Björndahl, L., Kvist, U. *Mol. Hum. Reprod.* 16:23–29, 2010.
Kvist, U. *XIIIth Intl. Symposium on Spermatology. Estocolmo, mayo de 2018.*
Zubkova, E.V. et al. *Fertil. Steril.* 84 Suppl. 2:1191–1198, 2005.

CO-035 ▶

FERTILECHIP® MEJORA LOS RESULTADOS DE ICSI EN PACIENTES CON CADENA DOBLE DEL ADN ESPERMÁTICO ALTERADA

C. Urda Muñoz (1), M. de la Casa Heras (1), S. Camacho Fernández-Pacheco (1), V. Badajoz Liébana (1), J. Gijón de la Santa (1), T. Lacruz Ruiz (2), S. Lara Cerrillo (2), A. García Peiró (2)
(1) GINEFIV - Madrid (Madrid), (2) CIMAB - Sant Quirze del Vallés (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

La fragmentación del ADN espermático es el principal factor molecular de infertilidad masculina. Valores elevados de roturas de doble cadena (dsSDF), medidos mediante el test CometFertility, se han asociado a cinéticas embrionarias lentas y fallos de implantación en tratamientos de ICSI y aborto recurrente en embarazos naturales. Otros estudios indican que este tipo de daño podría permanecer en la subpoblación de espermatozoides seleccionados en ICSI, mientras que el daño de cadena sencilla (ssSDF) se reduciría significativamente debido a la propia selección de espermatozoides con movilidad

y morfología normal. Recientemente, se ha desarrollado un sistema microfluídico para la selección espermática (FertileChip). Este sistema es capaz de reducir el porcentaje de espermatozoides con ssSDF y dsSDF. De este modo, la reducción específica de dsSDF con FertileChip podría mejorar los resultados reproductivos en tratamientos de ICSI.

OBJETIVO:

Determinar el efecto del FertileChip en ciclos de ICSI en pacientes con valores alterados de dsSDF determinados mediante el test CometFertility.

COMUNICACIONES ORALES

MATERIAL Y MÉTODO:

Se incluyeron un total de 78 ciclos de ICSI realizados desde noviembre de 2018 hasta marzo de 2019, clasificándose en tres grupos: Grupo control (n=28; óvulos propios sin FertileChip); Grupo experimental 1 (n=34; óvulos propios con FertileChip) y Grupo experimental 2 (n=16; óvulos de donante con FertileChip). El estudio de fragmentación se realizó mediante el test CometFertility y se incluyeron aquellos casos con resultados alterados de dsSDF. Como método de selección espermática se usó el FertileChip (DxNow, Maryland, USA) y se calcularon las tasas de fecundación, gestación y aborto en cada grupo experimental. El análisis estadístico se realizó mediante el software UNStat4. El test Kruskal Wallis se utilizó para las variables cuantitativas que no cumplieron los requisitos de normalidad y para las variables cualitativas el test Chi² para muestras independientes. El nivel de significación estadística se fijó al 0,05.

RESULTADOS:

La tasa de fecundación no mostró diferencias significativas entre el Grupo control y los Grupos experimental 1 y 2: 0,51±0,29; 0,53±0,27; 0,63±0,21, respectivamente (p>0,05).

La tasa de embarazo bioquímico mostró diferencias significativas entre el Grupo control y los Grupos experimental 1 y 2: 21,4% (n=3); 54,5% (n=12) y 63,6% (n=7), respectivamente (p<0,05 entre el Grupo control y los Grupos 1 y 2).

La tasa de embarazo clínico en los ciclos con transferencia fue significativamente diferente entre el Grupo control y los Grupos experimentales 1 y 2: 14,3% (n=2); 45,5% (n=10) y 63,6% (n=7), respectivamente (p=0,036).

La tasa de aborto en los ciclos con embarazo clínico fue significativamente mayor en el Grupo control respecto los Grupos experimentales 1 y 2: 100% (n=2); 20% (n=2) y 0% (n=0), respectivamente (p=0,026).

No se observaron diferencias significativas entre los Grupos experimentales 1 y 2 en las tasas de embarazo bioquímico, embarazo clínico y abortos (p=0,618; p=0,325 y p=0,418), respectivamente.

Las edades de las pacientes entre el Grupo control (35,7±3,4 años) y el Grupo 1 (36,2±3,8 años) no fueron significativamente diferentes (p=0,424), mientras que las edades de las donantes de ovocitos del Grupo 2 (26,7±4,3 años) sí mostraron diferencias significativas (p<0,05).

CONCLUSIONES:

FertileChip mejoró la tasa de embarazo bioquímico y embarazo clínico y redujo la tasa de aborto en ciclos de ICSI aunque no mejoró la tasa de fecundación.

CO-036 ▶

EL PORCENTAJE DE ESPERMATOZOIDES CON GAMMA-H2AX AUMENTA CON EL TIEMPO E INDICA LA CAPACIDAD ESPERMÁTICA DE SEÑALIZACIÓN DE NUEVAS ROTURAS DE ADN DE DOBLE CADENA

A. Barberá Alberola, J. Bataller Sanchez, V. Moliner Aguilar, M. Ferrer Buitrago, C. Calatayud Lliso, M. Ruiz Jorro
CREA medicina de la reproducción - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

El tipo de fragmentación del ADN en espermatozoides tiene implicaciones clínicas diferentes. En particular, las roturas de doble cadena (DSB) se han relacionado con bloqueos y malas calidades embrionarias. La fosforilación de la histona H2AX (GH2AX) es una modificación epigenética que señala específicamente la presencia de DSB en todos los tipos celulares,

incluyendo los espermatozoides. Tras la fecundación, este marcaje es reconocido por el ovocito, el cual procede a la reparación por mecanismos de recombinación no homóloga en la fase de pronúcleos. La señalización de GH2AX ocurre durante de la espermatogénesis en respuesta a roturas durante el empaquetamiento de la cromatina espermática. Sin embargo, no se ha descrito la capacidad del espermatozoide maduro para señalar nuevas DSB en su ADN.

COMUNICACIONES ORALES

OBJETIVO:

El objetivo de este estudio fue determinar la capacidad del espermatozoide maduro para identificar nuevas roturas de DSB mediante GH2AX.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se realizaron determinaciones de TUNEL y GH2AX por epifluorescencia en un mínimo de 200 espermatozoides a 34 muestras de semen de pacientes y 9 de donantes fértiles que sirvieron como control. Las muestras se analizaron (OMS-V) y se fijaron inmediatamente después del REM por CGD (t-0h). Para calcular un incremento de la fragmentación (TUNEL) y marcaje GH2AX en el tiempo, las muestras se valoraron tras 2 ($\Delta 2h/h$) y 24 ($\Delta 24h/h$) horas post-CGD.

RESULTADOS:

El grupo de pacientes presentó porcentajes basales de TUNEL y GH2AX significativamente superiores al grupo de donantes (TUNEL $14,78 \pm 10,46$ vs $5,02 \pm 2,78$; GH2AX $2,93 \pm 2,32$ vs $1,04 \pm 1,18$). El porcentaje de espermatozoides positivos para TUNEL aumentó a las 2 y a las 24 horas tanto en el grupo de pacientes como en el de donantes. Así mismo se observó un incremento de GH2AX con el tiempo en los dos grupos. En el grupo de pacientes se observaron valores de $3,51 \pm 3,42$ pasa-

das 2 horas y de $5,96 \pm 5,50$ tras 24 horas. Los donantes mostraron $1,07 \pm 1,41$ a las 2 horas y $3,34 \pm 7,41$ tras 24 horas. Este incremento proporcional de espermatozoides GH2AX positivos a las 2 y 24 horas fue similar en ambos grupos. Los resultados de GH2AX se relacionan con el diagnóstico seminológico, observándose valores a tiempos t-0h, t-2h y t-24h significativamente mayores en muestras dispérmicas ($3,15 \pm 2,26$; $4 \pm 3,92$ y $7,20 \pm 6,15$) y especialmente en muestras con astenozoospermia ($3,79 \pm 2,52$; $4,93 \pm 4,98$ y $7,53 \pm 3,84$), respecto a las muestras normozoospermicas ($1,69 \pm 1,92$; $1,81 \pm 1,77$ y $3,13 \pm 4,85$). No obstante, y a pesar de observar un aumento en la dinámica de GH2AX en muestras dispérmicas ($\Delta 2h/h$ 0,43; $\Delta 24h/h$ 0,17) y con astenozoospermia ($\Delta 2h/h$ 0,57; $\Delta 24h/h$ 0,16), no se observaron diferencias significativas respecto a las muestras normozoospermicas ($\Delta 2h/h$ 0,06; $\Delta 24h/h$ 0,06).

CONCLUSIONES:

El porcentaje de espermatozoides marcados con GH2AX es superior en pacientes infértiles que en donantes fértiles. El número de espermatozoides con señalización de DSB mediante GH2AX aumenta con el tiempo, en ambos grupos. Estas observaciones demuestran la capacidad de identificación de DSB del espermatozoide maduro mediante la fosforilación de la Serina 139 en la histona H2AX. El incremento de señal GH2AX es superior en muestras con diagnóstico seminal alterado, especialmente en aquellas que presentan astenozoospermia.

CO-037 ▶

EXPRESSION AND DISTRIBUTION OF ALPHA2A-ADRENERGIC RECEPTORS IN HUMAN SPERM

JL. Girela López (1), C. Nonne (1), C. Giau (1), M. Escalante (1), M. Francou (1), A. De Juan (2), J. De Juan (3)

(1) Dpto. Biotecnología, UNIVERSIDAD DE ALICANTE - Alicante (Alicante), (2) Hospital Universitario de San Juan de Alicante - San Juan (Alicante), (3) IUEG, Universidad de Alicante - Alicante (Alicante)

INTRODUCTION:

Recently it has been shown that human spermatozoa express several cell signalling receptors. As part of that signalling machinery, we can find numerous neuroreceptors expressed in the sperm plasma membrane. It is believed that those receptors modulate several physiological processes like sperm motility, capacitation and acrosome reaction. The adrenergic receptors or adrenoceptors are a class of G protein-coupled receptors that are targets of many catecholamines like norepinephrine (noradrenaline) and epinephrine (adrenaline)

produced by the body, but also many medications like beta blockers, $\beta 2$ agonists and $\alpha 2$ agonists, which are used to treat high blood pressure and asthma. Although indirect methods had suggested the presence of the Alpha2a-adrenergic receptor (ADRA2A) in human sperm, to the date there is not a clear description of the distribution of that receptor.

OBJECTIVES:

The main objective of the present study is to determine the presence and distribution of the ADRA2A receptor in human

COMUNICACIONES ORALES

sperm cells. We also will assess if there is any change in the pattern of distribution after capacitation.

MATERIAL AND METHODS:

After written consent and ethical approval, semen samples from young, healthy volunteers were used. All the samples were normozoospermic according to WHO 2010 criteria. As a positive control, we used the neuroblastoma cell line SH-SY5Y known to express the ADRA2A. Capacitation of semen samples was performed by using the Swim-Up technique.

For the fine localisation, immunolabelling techniques were performed by using the same anti-ADRA2A primary monoclonal antibody followed by the fluorochrome-conjugated secondary antibody for Fluorescence microscopy and Laser Scanning Confocal Microscope (LSCM). Negative controls were performed in immunolabelling techniques by omitting the primary antibody.

RESULTS:

We confirm the presence of ADRA2A receptors in human sperm cells in all the samples, demonstrating the expression of the receptor. LSCM images showed a predominant distribution of the ADRA2A receptor on the Sperm flagellum, with a concentration of the receptor in the midpiece of immature sperm cells showing cytoplasmic droplets. Signal was also detected on the sperm head. After capacitation, there was a concentration of receptors on the post-acrosomal region of the sperm head, visualised as a bright spot of fluorescence.

CONCLUSIONS:

ADRA2A is expressed in human sperm, showing a predominant distribution on the flagellum of fresh sperm. After capacitation, there is an increase in the presence of ADRA2A receptors in the post-acrosomal region of the sperm head. Functional studies suggested that ADRA2A can be involved in the regulation of sperm acrosome reaction, by inhibiting spontaneous triggering. Our results are compatible with that function, but further studies are needed. Due to the interaction of ADRB2 with commonly used therapeutics and recreational drugs, such those related to amphetamine, further studies should be performed to determine their implications in male fertility.

This work was partially funded by grants Vigrob-137 and UAUS-TI18-09 of the University of Alicante.



**COMUNICACIONES
PÓSTER**



COMUNICACIONES PÓSTER

P-001 ▶

¿AFECTA LA EDAD PATERNA A LOS RESULTADOS REPRODUCTIVOS?

M. Rodríguez Alonso, B. García García, A. Durán Boo, R. Devesa Hermida, F. López-Roibal Mourelle, S. García Oro
Hospital Quironsalud A Coruña - La Coruña (La Coruña)

INTRODUCCIÓN:

Se ha demostrado que la edad materna avanzada tiene un impacto negativo en la fertilidad. A pesar de ello y por diferentes razones, principalmente sociales, la edad a la que las mujeres tienen su primer hijo continúa en aumento. Por este motivo, cada vez más parejas necesitan recurrir a técnicas de Reproducción Asistida para cumplir su deseo gestacional.

Este incremento en la edad materna generalmente va asociado a un aumento de la edad paterna. Sin embargo, los estudios publicados hasta la fecha son poco concluyentes en cuanto al impacto de la edad del hombre en los resultados reproductivos.

OBJETIVO:

Evaluar la influencia de la edad paterna en los resultados reproductivos.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo realizado desde enero de 2016 hasta marzo de 2019, en el que se incluyen los resultados de los ciclos de ICSI realizados en nuestra Unidad. Se han evaluado un total de 390 ciclos, todos ellos microinyectados con semen de la pareja (recogido el mismo día de la punción), de los cuales 206 son ciclos con ovocitos propios y 184 son ciclos con ovocitos donados.

Según el origen de los ovocitos (propios o donados) y la edad paterna (para la que hemos establecido como punto de corte la mediana de los datos, 42 años) se comparan los resultados de las siguientes variables: tasa de fecundación, tasa de llegada a blastocisto, tasa de embarazo acumulado y tasa de aborto.

RESULTADOS:

En los ciclos con ovocitos propios la edad media de las parejas de los varones ≤ 42 (N= 98) es de $36,92 \pm 3,65$, y la de los varones >42 (N=108) es de $40,44 \pm 2,8$. No se observan diferencias en la tasa de fecundación (73% Vs 73%) ni en la tasa de llegada a blastocisto (39% Vs 40%), pero sí en la tasa de embarazo (54% Vs 42%), aunque estas diferencias no son significativas.

En los ciclos con ovocitos donados no se observan diferencias entre los dos grupos de edad paterna (<42 , N= 89 / >42 , N= 95) para la edad media de las donantes ($25,52 \pm 3,7$ Vs $25,84 \pm 4$), la tasa de fecundación (77% Vs 76%) o la tasa de llegada a blastocisto (43% Vs 47%), pero sí se observan diferencias significativas en la tasa de embarazo (70% Vs 49%, $p=0,01$).

Respecto a la tasa de aborto, aunque las diferencias no son significativas, sí se observa que la tasa de aborto aumenta con la edad paterna tanto en ciclos con ovocitos propios (9% Vs 20%) como en los ciclos con ovocitos donados (21% Vs 35%).

CONCLUSIONES:

Aunque en los ciclos con ovocitos propios los resultados no son significativos, el aumento de la edad paterna parece tener un leve impacto en la tasa de embarazo acumulado y aborto. A pesar de ello, es difícil evaluar la influencia de la edad paterna en este grupo de estudio debido al sesgo introducido por la edad materna.

Cuando eliminamos el efecto de la edad materna utilizando solamente casos de donación de ovocitos sí observamos que la edad paterna avanzada se relaciona con menor tasa de embarazo acumulado y mayor tasa de aborto, aunque esta última no es significativa, probablemente debido al reducido número de abortos observado en los casos evaluados.

A la vista de los datos obtenidos, la edad paterna debería ser una nueva variable a tener en cuenta en futuros estudios, de cara a evaluar su impacto real en los resultados reproductivos.

IMPACTO DE LAS TÉCNICAS DE BIOPSIA DE TROFECTODERMO (PULLING Y FLICKING) EN LA INTEGRIDAD DE LAS CÉLULAS BIOPSIADAS Y EN LOS RESULTADOS DE PGT-A

M. Benavent Martínez (1), M. Escribá Suárez(1), C. Miret Lucio (1), N. Costa Borges (2), G. Calderón (2), J. Teruel López (1), J. Crespo Simó (1)

(1) Equipo Médico Crespo - Valencia (Valencia), (2) Embryotools - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

Actualmente la biopsia de trofocotodermo es la principal herramienta para el screening de aneuploidías (PGT-A). Sin embargo, al tratarse de un procedimiento técnicamente complejo, los resultados pueden variar según la técnica utilizada y la manera de ejecutar dicha técnica. Para garantizar el éxito de los resultados, es importante que durante la biopsia se mantenga la viabilidad del embrión y al mismo tiempo minimizar el daño provocado en las células biopsiadas.

OBJETIVO:

Los objetivos principales de este estudio son evaluar el impacto de los dos métodos de biopsia de trofocotodermo ("pulling" y "flicking") sobre la integridad de las células biopsiadas y correlacionar el grado de degeneración de estas con los resultados del PGT-A.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se trata de un estudio retrospectivo observacional que analizó 308 biopsias de trofocotodermo realizadas en 89 ciclos de pacientes (edad media 39.1 años) con indicación para PGT-A entre octubre del 2018 y mayo del 2019. El análisis de aneuploidias se efectuó mediante NGS por un laboratorio especializado independiente. Los embriones se cultivaron en medio único y las técnicas de biopsias se ejecutaron con el auxilio de un sistema de láser (Navilase, Octax, Vitrolife) en blastocistos de día 5, 6 o 7 de desarrollo. En el método de "pulling", los pulsos de láser se aplicaron entre las uniones celulares, mientras que se estiraban las células del trofocotodermo con la pipeta de biopsia hasta conseguir su separación del blastocisto. En el caso del método de "flicking", se realizaron disparos de láser para colapsar el embrión hasta tener un número mínimo de células dentro de la pipeta de biopsia y posteriormente aplicar un movimiento rápido en la pipeta de biopsia contra la pipeta

holding para separar las células. Después de cada biopsia, se anotó el método y el número de pulsos de láser aplicados y se fotografió las células biopsiadas, intentando estimar su número y clasificándolas según el grado de degeneración que presentaban: (A) – intactas; (B) – parcialmente degeneradas; (C) – completamente degeneradas o lisadas. Posteriormente, las células se lavaron y transfirieron a un tubo de PCR para ser procesadas mediante NGS. El análisis estadístico se realizó mediante t-Student o Chi-cuadrado.

RESULTADOS:

En el estudio participaron 4 embriólogos entrenados y con experiencia en ambos métodos de biopsia. De las 308 biopsias realizadas, 136 se ejecutaron mediante "pulling" y 172 mediante "flicking". No se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) en el número medio de pulsos de láser disparados entre los dos métodos (4.1 ± 0.9 vs 3.9 ± 0.9 , respectivamente). El número medio estimado de células biopsiadas mediante "pulling" (4.4 ± 1.8) fue significativamente superior ($p = 0.01$) al obtenido mediante "flicking" (4.0 ± 1.3). El método de "pulling" resultó en una proporción significativamente superior ($p = 0.0003$) de células de aspecto intacto (A) (72.8%) comparado con el método de "flicking" (52.9%), mientras que el número de células lisadas (C) fue similar ($p = 0.65$) entre los dos grupos (4.4% vs 4.1%, respectivamente). En ambos métodos, las células clasificadas como C ($n = 11$) se diagnosticaron mayoritariamente como cromosómicamente anormales (80-100%), comparadas con aquellas clasificadas como A (43.9-62.5%) o B (52.4-62.5%). En términos globales, no se encontraron diferencias ($p > 0.05$) en las tasas de embriones diagnosticados como cromosómicamente normales entre el método de "pulling" (27.9%) y el método de "flicking" (36.6%) o en las tasas de embriones mosaicos entre ambos métodos (9.6% vs 13.4%, respectivamente). Asimismo, el número de embriones que no se pudieron diagnosticar por fallo de amplificación fue idéntico entre las dos técnicas (0.7% vs 1.2%, respectivamente).

COMUNICACIONES PÓSTER

CONCLUSIONES:

Los resultados obtenidos indican que las técnicas de biopsia conocidas como "pulling" y "flicking" presentan resultados similares en cuanto a tasa de embriones diagnosticados como cromosómicamente normales o mosaicos siempre que sean aplicadas correctamente.

La integridad de las células después de la biopsia puede afectar el resultado del diagnóstico del embrión, ya que las aquellas con mayor grado de degeneración parecen presentar mayores tasas de aneuploidias que las clasificadas como intactas o parcialmente degeneradas.

P-003 ▶

CORRELACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN SUERO Y LÍQUIDO FOLICULAR EN PACIENTES SOMETIDAS A FIV/ICSI

V. Castañón Bernardo (1), C. Barneo Caragol (1), S. Rodríguez González (2), I. Vega Naredo (2), L. Sánchez Castro (1), P. Antuña González (1), M. Méndez López (1), C. González González (1), E. Fernández Fernández (1), P. Llana Coto (1) (1) Hospital Universitario Central de Asturias - Oviedo (Asturias), (2) Universidad de Oviedo - Oviedo (Asturias)

INTRODUCCIÓN:

El papel del estrés oxidativo en la fisiología reproductiva de la mujer aún no ha sido del todo esclarecido, a pesar de que sabemos que un correcto estatus oxidativo es necesario para una correcta función endocrina. Los efectos deletéreos de las especies reactivas de oxígeno se deben básicamente a daños en las membranas lipídicas. Aún existen pocos estudios en humanos que relacionen estos daños con las técnicas de reproducción asistida (TRA). Encontrar una correlación robusta entre suero (S) y líquido folicular (LF) podría suponer la inclusión de determinados biomarcadores séricos que nos ayudaran a conocer más acerca de la fisiología reproductiva, con un espécimen fácil de obtener que permitiera predecir determinadas respuestas previamente a la realización del ciclo.

OBJETIVO:

Detectar correlación entre los niveles de marcadores de estrés oxidativo medidos en S y LF en mujeres sometidas a dos ciclos FIV/ICSI en distintas épocas del año.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio prospectivo con 20 pacientes reclutadas que realizaron dos ciclos entre abril de 2017 y febrero de 2018. El análisis

se realizó en ambos ciclos de cada paciente con el fin de incrementar la consistencia de los resultados.

Las mujeres se sometieron a ciclos FIV/ICSI tras estimulación con FSH y fueron monitorizadas mediante controles de estradiol y ecografías. El LF se recogió el día de la punción del primer folículo punccionado y el suero 48 horas antes. Ambas muestras se centrifugaron a 2000 rpm 10 min y se congelaron a -80° hasta el momento del análisis.

Se midieron lipoperoxidación (LP), actividad antioxidante total (AAT) y radio LF/AAT mediante espectrofotometría, usando N-metil-2-fenilindol como cromógeno que reacciona con derivados lipídicos y ácido ABTS para formar radicales con un espectro característico a 414 y 730 nm. Se utilizaron los test t Student y correlaciones de Pearson o Spearman.

RESULTADOS:

Las características basales de la muestra son las siguientes:

Media (DS)

Edad: 35,56 (2,83) años

IMC: 23,92 (5,04) Kg/m²

Período entre ciclos: 7,28 (1,5) meses

Causas de esterilidad: 33,33% factor masculino, 27,78% factor mixto, 22,22% ESCA y 16,67% factor femenino.

COMUNICACIONES PÓSTER

Valores séricos vs LF: media (DS) seguidos de p:

1º ciclo:

LP: 62,12 (25,21) vs 50,57 (24,06), $p=0,109$

AAT: 3,89 (2,70) vs 6,21 (4,25), $p<0,001$

LP/AAT: 17,84 (12,31-28,96) vs 9,46 (6,33-15,15), $p<0,001$

2º ciclo:

LP: 75,54 (36,01) vs 49,58 (20,58), $p=0,033$

AAT: 4,75 (2,05) vs 6,45 (2,92), $p=0,002$

LP/AAT: 17,56 (8,59-21,66) vs 8,21 (4,37-12,13), $p=0,001$

La AAT (mg Tx/g prot) es el único parámetro que es mayor en LF en ambos ciclos/momentos. Se expresa esta actividad en equivalentes de Trolox que producen el mismo efecto antioxidante que la muestra de plasma a estudiar y la LP se expresa en $\mu\text{mol MDA} + 4\text{HNE/g}$ de proteína o μM de MDA + 4 HNE.

Para predecir los valores ováricos basándose en los séricos, se llevaron a cabo modelos de regresión cuando la relación lineal resultó estadísticamente significativa y los coeficientes obtenidos fueron:

1º ciclo: AAT (1,38, $p<0,001$)

2º ciclo: AAT (1,034, $p<0,001$)

CONCLUSIONES:

La LP fue similar en LF y S y existe una fuerte correlación en la defensa antioxidante total en S y LF.

Con este estudio piloto podemos considerar la muestra de suero como una muestra apta para valorar marcadores de estrés oxidativo que se puedan relacionar con el éxito reproductivo en mujeres sometidas a TRA.

Este estudio ha contado con el apoyo en parte de una beca de la Fundación Jose Luis Castaño y la Sociedad Española de Química Clínica (FJLC-SEQC).

BIBLIOGRAFÍA:

Oyawoye O, Abdel Gadir A, Garner A, Constantinovici N, Perrett C, Hardiman P. Antioxidants and reactive oxygen species in follicular fluid of women undergoing IVF: relationship to outcome. *Human Reproduction* 2003;18:2270-2274.

Liu F, He L, Liu Y, Shi Y, Du H. The expression and role of oxidative stress markers in the serum and follicular fluid of patients with endometriosis. *Clin Exp Obst and Gyn* ISSN 0,390-6663.

Prieto L, Quesada J, Cambero O, Pacheco A, Pellicer A, Codoceo R, Garcia-Velasco J.A. Analysis of follicular fluid and serum markers of oxidative stress in women with infertility related to endometriosis. *Fertility and Sterility* 2012;98:126-130.

P-004 ▶

ESTUDIO DEL METABOLISMO OXITOCINÉRGICO EN LÍQUIDO FOLICULAR

MV. Rodríguez Gallego, MV. Aparicio Prieto, A. Urríes López, J. Hernández Hernández, JA. Arizaleta Urarte, L. Casis Sáenz
Hospital San Pedro - Logroño (La Rioja)

INTRODUCCIÓN:

El líquido folicular (LF) está formado por múltiples sustancias que proceden de los vasos localizados por fuera de la lámina basal y de los productos de secreción de las propias células foliculares. Este microambiente que presenta cada folículo, en el que se integran señales endocrinas, inmunológicas y mitógenas, ha sido ampliamente estudiado buscando una relación entre su composición, la calidad del ovocito y el resultado reproductivo. En la presente comunicación describimos las actividades enzimáticas relacionadas con el metabolismo oxitocinérgico en aquellos LF que contenía ovocito y que consiguieron fecundarse.

Sabemos que la Cys-AP (oxitocinasa) es el más importante enzima placentario, teniendo un papel muy conocido durante la gestación, ya que regula los niveles de oxitocina y vasopresina y, por tanto, contribuye a un desarrollo normal del embarazo, evitando contracciones y vasoconstricción uterina. Su presencia en líquido antral puede deberse a un intento por parte del folículo de preparar la cavidad endometrial para la recepción del cigoto, evitando posibles contracciones uterinas durante la implantación embrionaria.

COMUNICACIONES PÓSTER

OBJETIVO:

Describir si el metabolismo oxitocinérgico es diferente en el caso de que el ovocito consiga fecundarse del que no.

MATERIAL Y MÉTODO:

Las muestras de LF fueron 48 (todas con ovocito); se obtuvieron de pacientes voluntarias (consentimiento informado, autorización Comité de Ética) sometidas a tratamientos de reproducción asistida. Analizamos las actividades enzimáticas de Cys-AP (cystil aminopeptidasa u oxitocinasa) y PEP (prolil endopeptidasa), ambas implicadas en la regulación del metabolismo oxitocinérgico. Para las determinaciones enzimáticas utilizamos derivados amídicos de la β -naftilamina (aminoácil- β -naftilamidas). La acción de las peptidasas sobre el sustrato genera aminoácidos libres y moléculas de β -naftilamina, la cual tiene la particularidad de ser fluorescente, por lo que puede ser medida mediante espectrofluorimetría. La concentración del producto fluorescente liberado está en relación con la concentración del enzima de la muestra. El estudio estadístico se llevó a cabo mediante U de Mann-Whitney.

RESULTADOS:

Con los 48 LF obtuvimos una tasa de fecundación del 91,5%, teniendo un total de 43 ovocitos fecundados. En el gráfico 1 se muestran las actividades enzimáticas de Cys-AP y PEP en los ovocitos que se fecundaron frente a los que no fecundaron. Puesto que nuestra tasa de fecundación fue tan alta, la N del grupo de no fecundados fue muy bajo; aún así comparamos actividades sin encontrar diferencias significativas. Un dato llamativo en Cys-AP fue que en el grupo de ovocito fecundado observamos una actividad dos veces superior a los que no consiguieron fecundarse. Proponemos que las diferencias no son significativas por la N tan baja del grupo de la no fecundación. No pudimos hacer comparativa con PEP ya que no hubo ningún LF en el grupo de no fecundados

CONCLUSIONES:

La funcionalidad principal de la Cys-AP es controlar los niveles de oxitocina en plasma durante el embarazo, viéndose incrementada su actividad en tercer trimestre. Estos aspectos podríamos relacionarlos con el aumento de actividad que observamos en los líquidos foliculares de aquellos ovocitos que tienen más opciones de fecundarse, siendo un intento del folículo de reducir las contracciones uterinas para mejorar la implantación embrionaria, aunque faltarían muchos estudios con N mayores.

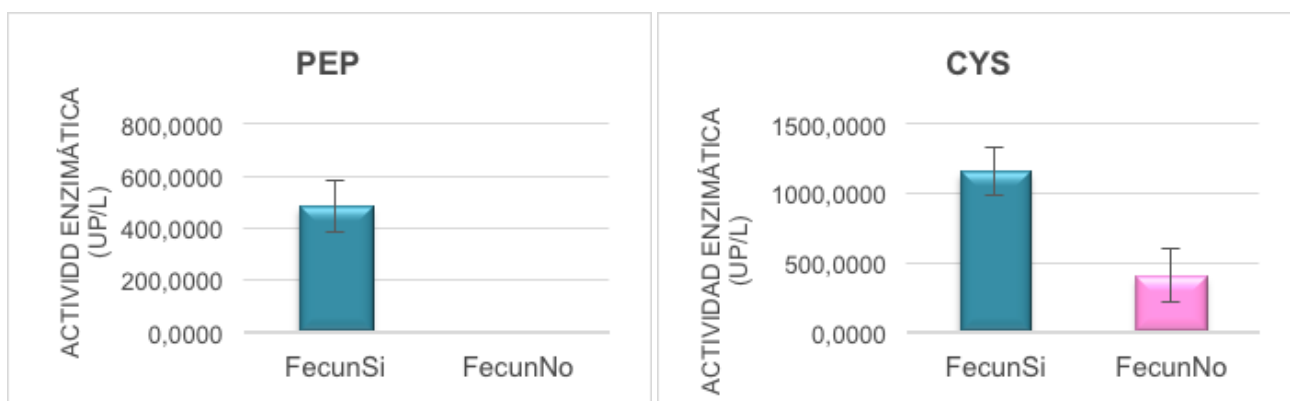


Gráfico 1.- Actividad de CYS y PEP en la fracción soluble del LF con ovocito según si éste tuvo o no fecundación. Se representa la media del enzima (N=38 y 3, respectivamente y N=16 y 0), siendo la actividad enzimática expresada como UP (pmol de sustrato fluorogénico hidrolizado/min).

BLASTOCYST RE-EXPANSION AND ZONA PELLUCIDA DYNAMICS AS PREDICTORS OF IMPLANTATION DURING EMBRYO WARMING PROCEDURE

M. Méndez Justo, E. Vidal Sordé, B. Hernández Dacruz, Y. Cívico Vallejo, S. Cívico Vallejo, V. Moreno Folch
Hospital Clínic de Barcelona - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

The enhancement of culture conditions and vitrification protocols is leading to higher number of cryopreserved embryos, with the same probability to implant as in a fresh cycle. Thus, the need of predictors of IVF outcomes during and after the process of vitrification and warming has emerged.

OBJECTIVES:

The aim of this project is to assess correlations between the probability of embryo implantation and embryo features during the post-warming procedure and before transfer, such as collapse or zona pellucida (ZP) thickness to examine whether any of these features could be established as an implantation predictor. Hence, the embryo re-expansion and ZP thickness are analyzed by an image software.

MATERIAL AND METHODS:

Study Design

A prospective study recruiting cryotransfers at our center from February 2016 to December 2018. The recruitment criteria involved patients undergoing day-5 blastocyst cryotransfer from which embryo images were recorded after warming and before the embryo transfer, body mass index <30 kg/m² and <40 year's patients. Day-6 blastocysts, assisted hatching and preimplantation genetic diagnosis were excluded.

Vitrification and Warming

Vitrification and warming procedures were conducted following Kitazato's protocols using Cryotop. Embryo pictures were obtained at the end of the warming procedure and 3 hours later just before transfer. An inverted microscope with 10X and 20X objectives and a U-PMTVC camera adapter were used. A blastocyst was regarded as surviving when minimal degeneration nor necrosis was observed. Blastocysts were graded according to Gardner and Schoolcraft criteria.

Image Analysis

Images were scanned and a scale was set according to objective's magnification. A single observer measured the images using ImageJ software. In brief, 3 parameters were measured at post-warming (PW) and before transfer (T) (twice per picture and averaged): area of the whole embryo (M1), area inside the inner border of the ZP (M2) and area of the embryo itself (M3) (Figure 1).

Statistical Analysis

A descriptive analysis was performed for each variable in each group -implanted or not- (Table I). Given the complex distribution, a categorization of each variable was decided to make using the quartiles of the implantation and non-implantation groups and a χ^2 test was performed. Significant parameters were identified, and their predictive capability of embryo implantation was assessed using logistic regression procedures. All statistical analyses were performed using SPSS version 23.0.

RESULTS:

There was no difference in patient's characteristics nor embryo quality in the two studied groups (Table II). From 74 cycles, 96 cryopreserved embryos met the study's criteria, 55 embryos in the implanted group and 42 in the non-implanted. Statistically significant differences between groups were observed in four parameters: area of the embryo itself at post-warming (M3-PW), area of the whole embryo before transfer (M1.T), ZP thickness difference (ZP.DIF) and relative area covered by the embryo itself before transfer (Embryo.T). For these variables, categories were established using their quartiles (Table III). It was also found that differences in ZP thickness in the two studied moments, the embryo itself post-warming and prior to transfer, is correlated with implantation (Figure 2).

The predictive capability of these statistically significant parameters added to the original continuous measures (M1, M2 and M3, for PW and T) were assessed by logistic regression reaching a 76.3% of correct classification regarding implantation prediction.

COMUNICACIONES PÓSTER

CONCLUSIONS:

Embryo re-expansion and in particular ZP thickness through warming and transfer may provide quantitative markers for blastocyst implantation potential, although further research with larger samples is needed.

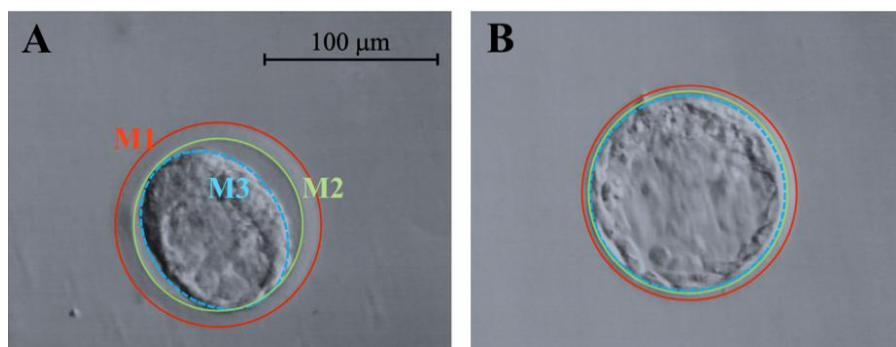


Figure 1. Example of image analysis by ImageJ. Blastocysts were measured just after warming (A) and 3 hours later before transfer (B). The lines show the area of the whole embryo (M1) in red, in green the area inside the infer border of the zona pellucida (M2) and the area of the embryo itself (M3) in blue.

VARIABLE	Implantation (μm^2)	No implantation (μm^2)
M1. PW	18382,17 \pm 6022,37	20727,69 \pm 6755,84
M2. PW	12994,41 \pm 4886,83	14478,75 \pm 5191,17
M3. PW	10957,89 \pm 5055,12	11723,85 \pm 4127,16
M1. T	19186,65 \pm 6027,20	20982,23 \pm 7826,99
M2. T	14014,06 \pm 5035,53	15510,84 \pm 7542,85
M3. T	12696,79 \pm 4825,42	13847,10 \pm 7643,59

Table I. Measurements of blastocyst in implantation and non-implantation groups. Results are expressed as mean \pm standard deviation in μm^2 . Area of the complete embryo (M1), area of the inside part of the ZP (M2) and the area of the embryo itself (M3) at post-warming (PW) and moment of transfer (T) are shown.

	Non-implanted	Implanted
Embryos	55	42
Women's age, mean (SD)	36.50 (5.53)	37.82 (3.76)
IMC, mean (SD)	23.08 (3.50)	22.44 (3.29)
Oocytes obtained (SD)	17.74 (10.92)	19.30 (8.26)
Indications		
Male (%)	14.29%	25.00%
Female (%)	57.14%	53.57%
Combined (%)	16.67%	10.71%
Idiopathic (%)	11.90%	10.71%

Table II. Characteristics of patients and embryos in the study. There were no statistically significant differences between the two groups. SD = standard deviation.

COMUNICACIONES PÓSTER

VARIABLE	Cat 1	Cat 2	Cat 3	Cat 4	p	χ^2 test
M3.PW (μm^2)	≤ 7349.67	7349.67– 10346.74	10346.74 – 14069.01	>14069.01	0.020	9.82
M1.T (μm^2)	14021.05	14021.05– 18848.83	18848.83	-	0.007	9.86
ZP.DIF (%)	≤ -2.31	-2.31– 1.80	>1.80	-	0.031	6.92
EMBRYO.T(%)	≤ 55.85	55.85– 75.71	>75.71	-	0.015	8.44

Table III. Final statistically significant variable categorization ($p < 0.05$). Categories in each variable are shown after a final fusion according to its cut-off values and significant level. M3.PW (area of the embryo itself at post-warming), M1.T (area of the complete embryo at transfer), ZP.DIF (ZP difference calculated as $(M1.T - M2.T) - (M1.PW - M2.PW) \times 100$) and Embryo.T was calculated as $M3/M1 \times 100$.

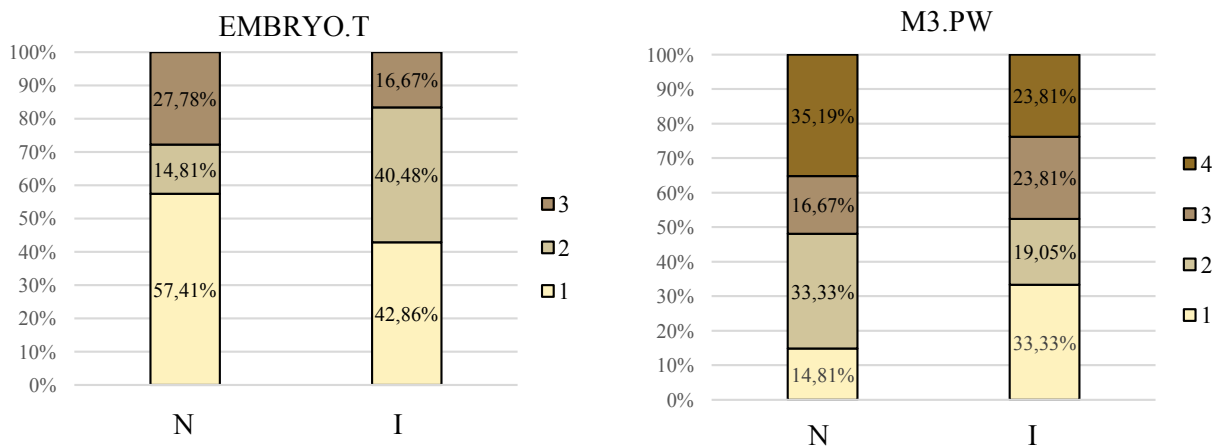


Figure 2. Distribution of non-implanted (N) embryos and implanted ones (I) according to final categorization of the variable *Embryo.T* on the left and *M3.W* on the right. A tendency of non-implanting embryos to be dispersed at extremes was observed for *Embryo.T*. In contrast, the area of the non-implanting embryos at the post-warming (PW) was larger than implanted embryos, suggesting embryo collapse at a positive trait at warming.

EMBRIONES CAPACES DE EXCLUIR CELULAS MULTINUCLEADAS DURANTE LA BLASTULACION INCREMENTAN SU POTENCIAL REPRODUCTIVO

A. Munuera Puigvert, L. Almenara Fuentes, S. Novo Bruña, M. Solans Pomares, C. Castelló Zupanc, M. López-Teijón Pérez
Instituto Marqués - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

La multinucleación embrionaria se define como la presencia de dos o más núcleos en al menos un blastómero. Existen diferentes factores que podrían condicionar la aparición de estos núcleos supernumerarios, como defectos de elementos celulares, edad materna, componentes del medio de cultivo o protocolos de estimulación subóptimos. Las consecuencias descritas van desde un bajo desarrollo embrionario y potencial de implantación a un incremento de aneuploidías en embriones que presentan multinucleación. Sin embargo, sigue existiendo debate sobre la transferencia de embriones multinucleados, ya que algunos estudios afirman que la multinucleación afecta por igual a embriones euploides y aneuploides y, además, se han descrito nacimientos sanos procedentes de embriones multinucleados. Estas discrepancias pueden ser debidas a la localización de las células multinucleadas una vez formado el blastocisto, ya que estas pueden formar parte de la masa celular interna, del trofoectodermo o ser excluidas. Dado que una proporción no despreciable de embriones presentan células con multinucleación, el manejo diario en el laboratorio de esta vicisitud requiere de un estudio más profundo.

OBJETIVO:

Analizar la evolución morfofocinética de embriones que contienen blastómeros multinucleados evaluando la inclusión o exclusión de estos blastómeros en la formación del blastocisto y su implicación clínica.

MATERIAL Y MÉTODO:

Este estudio incluye un total de 133 embriones clasificados como multinucleados y transferidos entre 2015 y 2018. Todos los embriones fueron cultivados hasta el estadio de blastocisto en medio único e incubados con sistema de time-lapse.

Durante el análisis morfofocinético se registró si la multinucleación aparecía en día 2 y/o 3 de cultivo y se clasificaron los blastocistos siguiendo el sistema de gradación ASEBIR. Además se realizó un seguimiento de la/s célula/s multinucleada/s que nos permitió clasificar los embriones en tres grupos: Grupo 1, embriones que no excluían ninguna célula en la formación del blastocisto e incluían la/s célula/s multinucleada/s en él; Grupo 2, embriones que excluían células en la formación del blastocisto pero incluían la/s célula/s derivadas de blastómeros multinucleados en él; Grupo 3, embriones que excluían la/s célula/s multinucleada/s en la formación del blastocisto. Se utilizó el test Chi-Cuadrado para comparar los resultados.

RESULTADOS:

Se ha detectado que un embrión multinucleado que logra un estadio evolutivo a día 5/6 de cultivo apto para ser transferido puede ofrecer notables tasas de éxito reproductivo (TOTAL en Tabla I). No obstante, dentro de este gran conjunto de embriones denominados multinucleados podemos distinguir entre grupos. Las distribuciones entre los tres grupos contemplados en este estudio fueron equivalentes en cuanto al tiempo de aparición de la multinucleación y la calidad de los embriones transferidos (Tabla I).

Los embriones capaces de excluir la/s célula/s multinucleada/s durante la blastulación (Grupo 3) logran resultados clínicos superiores respecto a los que incluyen células multinucleadas en el blastocisto (Grupo 1 y 2). Tanto la tasa de prueba de embarazo positiva (PE+), como la de implantación (Impl.) son superiores en el Grupo 3, aunque no es hasta la tasa de nacido cuando se observan diferencias estadísticamente significativas respecto los otros dos grupos (Tabla I).

CONCLUSIONES:

Gracias a la tecnología time-lapse somos capaces de observar

COMUNICACIONES PÓSTER

dinámicas embrionarias que antes no estaban contempladas. En este aspecto, hemos detectado que los embriones multinucleados no deberían considerarse como un único grupo, sino que han de ser subclasificados en función de su capacidad para ubicar la/s células multinucleadas. Los embriones

que excluyen células multinucleadas durante la formación del blastocisto parecen demostrar una capacidad de autocorrección que les permite mantener intacta su competencia para evolucionar hasta el nacimiento.

	N	Aparición multinucleación			Calidad blastocisto				Resultados clínicos			
		D2	D3	D2+3	A	B	C	D	PE+	Impl.	Aborto	Nacido
Grupo 1	65 (48,9%)	25 (38,5%)	32 (49,2%)	8 (12,3%)	15 (23,1%)	38 (58,5%)	10 (15,4%)	2 (3,1%)	37 ^{a,b} (56,9%)	31 ^{a,b} (47,7%)	12 (20,3%)	13 ^a (22,0%)
Grupo 2	49 (36,8%)	25 (51,0%)	16 (32,7%)	8 (16,3%)	3 (6,1%)	29 (59,2%)	16 (32,7%)	1 (2,0%)	18 ^a (36,7%)	15 ^a (30,6%)	4 (8,3%)	10 ^a (20,8%)
Grupo 3	19 (14,3%)	10 (52,6%)	6 (31,6%)	3 (15,8%)	2 (10,5%)	13 (68,4%)	4 (21,1%)	0 (0,0%)	15 ^b (78,9%)	12 ^b (63,2%)	2 (11,1%)	9 ^b (50,0%)
TOTAL	133 (100,0%)	60 (45,1%)	54 (40,6%)	19 (14,3%)	20 (15,0%)	80 (60,2%)	30 (22,6%)	3 (2,3%)	70 (52,6%)	58 (43,6%)	18 (14,4%)	32 (25,6%)

Tabla I. Diferentes superíndices indican diferencias estadísticamente significativas dentro de la misma columna ($p < 0.05$)

P-007 ▶

MODIFICACIONES DEL METABOLISMO PEPTÍDICO FOLICULAR EN RELACIÓN CON LA EDAD DE LA MUJER

MV. Rodríguez Gallego, MV. Aparicio Prieto, A. Urríes López, J. Hernández Hernández, JA. Arizaleta Urarte, L. Casis Sáenz
Hospital San Pedro - Logroño (La Rioja)

INTRODUCCIÓN:

En las últimas décadas se ha visto un incremento en la edad media de la mujer en el parto. La edad avanzada de la madre se ha asociado con resultados perinatales y maternos adversos. Está claro que la fertilidad decrece a partir de los 35 años y que está asociada a una mala calidad ovocitaria. Si la composición bioquímica del Líquido Folicular (LF) pudiera pronosticar el estado fértil de la mujer, podríamos considerarla un indicador de fertilidad fácil, repetitivo y fiable. Por otro lado se ha descrito que la composición de los LF de distintas punciones en la misma paciente pueden tener metabolismos (niveles bioquímicos) diferentes. Además, hay autores que plantean la necesidad de que cada folículo individual debe ser aspirado también individualmente con el fin de poder correlacionar el contenido folicular con la calidad ovocitaria.

OBJETIVO:

Describir si el metabolismo peptídico folicular, estudiándolo mediante su degradación, se modifica con la edad, considerando edad avanzada las mayores de 39 años.

MATERIAL Y MÉTODO:

Las muestras se obtuvieron de pacientes voluntarias (consentimiento informado, autorización Comité de Ética) sometidas a tratamientos de reproducción asistida. De un total de 29 pacientes, 5 mayores de 39 años y el resto menores, se extrajeron 3 LF a cada una, analizándose su actividad peptidásica. Analizamos las actividades enzimáticas de PSA (Aminopeptidasa sensible a puromicina), APN (Aminopeptidasa neutra), PEP (Prolil endopeptidasa), APB (Aminopeptidasa B), APA (Gluta-

COMUNICACIONES PÓSTER

mil aminopeptidasa), Asp-AP (Aspartil aminopeptidasa), NEP (Endopeptidasa neutra), Cys-AP (Cystil aminopeptidasa u oxitocinasa) y DPPIV (Dipeptidil peptidasa IV) todas ellas descritas y relacionadas con la fertilidad, sobre todo masculina. Para las determinaciones enzimáticas utilizamos derivados amídicos de la β -naftilamina (aminoacil- β -naftilamidas). El estudio estadístico se llevó a cabo mediante U de Mann-Whitney.

RESULTADOS:

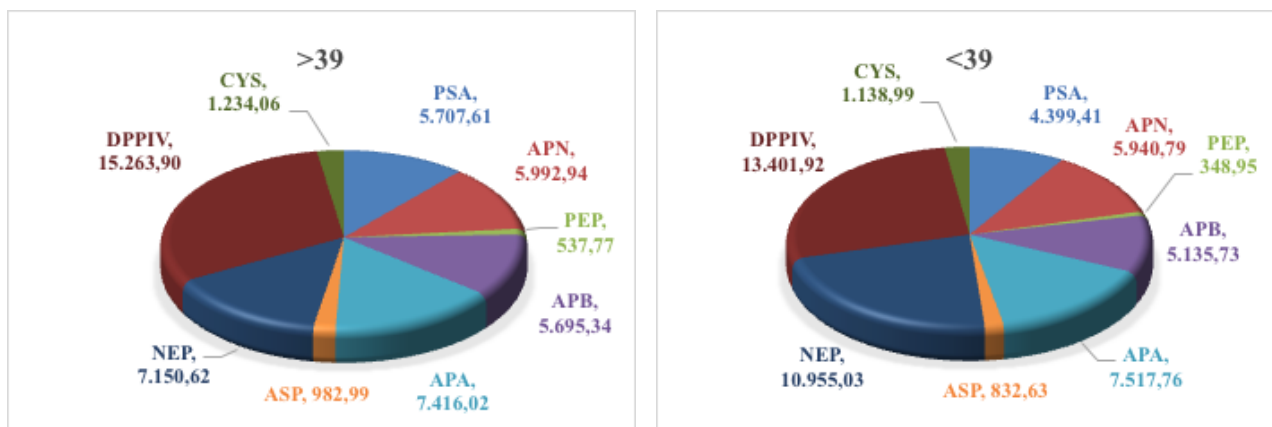
Observamos actividad peptidérgica de todos los enzimas estudiados, observándose similitud entre las proporciones de los dos grupos (gráfica 1); siendo la de mayor actividad en ambos la DPPIV y la NEP y la de menor actividad fue PEP.

Como se objetiva en la gráfica 2, constatamos diferencias estadísticamente significativas en dos de los enzimas estudiados, PSA y NEP, observándose un aumento de actividad 1,3 veces superior en las pacientes mayores de 39 años en PSA; objetivándose lo contrario con NEP, donde obtuvimos una disminución de 1,5 veces de su actividad en > 39 años.

CONCLUSIONES:

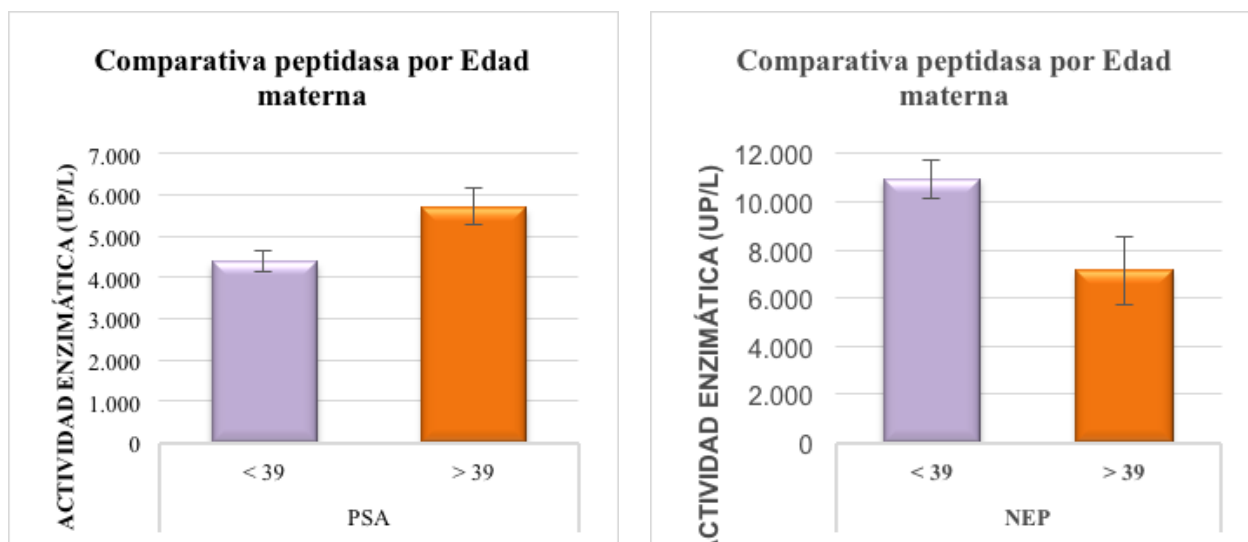
Está claro que la fertilidad decrece a partir de los 35 años y que ésta se asocia a una mala calidad ovocitaria, junto con una disminución de la reserva ovárica y un ambiente hormonal alterado. Existe en la bibliografía múltiples estudios que describen el innegable papel de los péptidos opioides en la fertilidad femenina y aumentos en la actividad de determinadas proteasas a medida que aumentaba la edad del tejido analizado; esto nos cuadra con el resultado de PSA, el cual podría considerarse como un buen marcador de calidad ovocitaria.

Como hemos mencionado, la NEP (otro de los principales enzimas implicados en la regulación de los niveles opioidérgicos), también se ve significativamente alterada a partir de los 40 años. Pero como también hemos presentado, se trata de la primera vez que se describen los niveles de neprilisina en líquido folicular humano, por lo que sólo podríamos deducir que esta proteína está efectivamente implicada en los procesos de fertilidad femenina, posiblemente con alguna relación en el control de los niveles de opioides endógenos.



GRÁFICA 1.- Actividad de las 9 peptidasas en la fracción soluble del total de LF. Se representa la media de cada enzima (ANEXO III), siendo la actividad enzimática expresada como UP (pmol de sustrato fluorogénico hidrolizado/min).

COMUNICACIONES PÓSTER



GRÁFICA 2.- Actividad de PSA y NEP en la fracción soluble del LF en pacientes < y > de 39 años. Se representa la media del enzima (N=51 y 9; N=57 y 12, respectivamente), siendo la actividad enzimática expresada como UP (pmol de sustrato fluorogénico hidrolizado/min). El análisis estadístico fue realizado con SPSS y se hizo una prueba no paramétrica con U de Mann-Whitney, representando los valores con significación estadística $p < 0,05^*$.

P-008 ▶

ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO CINÉTICO DE EMBRIONES HUMANOS CON DISTINTOS GRADOS DE MOSAICISMO GENÉTICO

A. Martín Bastida, C. Vidal Martínez, L. Rodrigo Vivó, A. Mercader Bayarri, C. Rubio Lluesa, J. Giles Jiménez, J. Remohí Giménez, MJ. De los Santos Molina

IVI RMA Valencia - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

Recientemente, varias publicaciones han reportado el nacimiento de bebés sanos tras la transferencia de embriones clasificados como mosaicos en PGT-A. Sin embargo, la decisión de transferir o no dichos embriones sigue siendo motivo de debate: algunas clínicas los transfieren en ciertas circunstancias mientras que otras prefieren no hacerlo. Hasta donde sabemos, el perfil morfocinético de estos embriones, cuya viabilidad suele estar comprometida en comparación con aquellos euploides, aún no ha sido caracterizado.

OBJETIVO:

Determinar si embriones con distintos grados de mosaicismo genético muestran un perfil cinético característico. Esta información podría revelar más detalles sobre su viabilidad, y facilitar así la toma de decisiones a la hora de la transferencia.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo observacional que incluye a 688 embriones de 172 pacientes que se sometieron a ciclos de ICSI y PGT-A desde marzo de 2018 a abril de 2019, e hicieron uso de

COMUNICACIONES PÓSTER

la tecnología time-lapse para el cultivo embrionario. Durante el cultivo se anotaron los tiempos de los siguientes eventos preimplantacionales: extrusión del CP2 (tPB2), aparición y desaparición de pronúcleos (tPNa, tPNf), división a 2, 3, 4, 5, 8 y >9 células (t2,t3, t4, t5, t8, t9+), inicio de la compactación (tSC), llegada a morula (tM), inicio de la blastulación (tSB), llegada a blastocisto (tB), a blastocisto expandido (tEB) y a blastocisto eclosionado (tHB), duración del segundo, tercer y cuarto ciclo celular (cc2, cc3, cc4), y sincronía del segundo y tercer ciclo celular (s2, s3). En día 5-6 de desarrollo se analizaron por NGS las biopsias de trofoectodermo, y se clasificaron en función de su contenido relativo de células aneuploides: euploide (<30%), mosaico de bajo grado (30-50%), mosaico de alto grado (50-70%) o aneuploide (>70%). Las variables anotadas se analizaron de forma retrospectiva mediante ANOVA de un factor y pruebas post-hoc de Bonferroni utilizando el software SPSS ($p < .05$ se consideró significativo).

RESULTADOS:

El 55.5% (n=382) de los embriones sometidos a cultivo time-lapse y PGT-A fueron diagnosticados aneuploides. La tasa total de mosaicismo fue del 16.2% (n=112), es decir, un 29.3% de los embriones con >30% de células aneuploides eran mo-

saicos en mayor o menor grado. Al analizar el perfil cinético de embriones euploides vs. aneuploides se encontraron diferencias significativas en los parámetros tPNf (23.12±3.02 vs. 23.92±3.47), t2 (25.70±3.09 vs. 26.54±3.56), t3 (36.29±4.08 vs. 37.26±4.39), t4 (37.95±4.37 vs. 39.09±4.94) y tSB (98.71±9.05 vs. 101.01±9.16). Sin embargo, los embriones mosaico de alto y bajo grado mostraron un comportamiento cinético similar para todos los parámetros estudiados. Tampoco se hallaron diferencias significativas entre los embriones euploides y mosaicos de bajo grado, ni entre los mosaicos de alto grado y aneuploides.

CONCLUSIONES:

Los embriones mosaico de alto y bajo grado parecen exhibir un comportamiento cinético similar. Los resultados de este estudio preliminar sugieren que las diferencias cinéticas entre embriones euploides y mosaicos de bajo grado, así como entre embriones aneuploides y mosaicos de alto grado, podrían ser sutiles o inexistentes. Esto nos recuerda la importancia de interpretar de forma crítica cualquier dato perteneciente a embriones mosaico, especialmente en estudios con tamaño muestral limitado. Estudio financiado por CDTI n. 20190022.

P-009 ▶

IDENTIFICACIÓN AUTOMÁTICA DEL HALO; UNA NUEVA CARACTERÍSTICA PREDICTIVA DEL EMBRIÓN OBTENIDA A TRAVÉS DE UN ALGORITMO DE INTELIGENCIA ARTIFICIAL

M. Meseguer Escrivá (1), R. Maor (2), R. Del Gallego (3), DS. Seidman (2), L. Bori (3), L. Alegre (3), D. Gilboa (2)
(1) IVI Valencia - Valencia (Valencia), (2) AIVF - Tel Aviv (Israel), (3) MIRMA Valencia - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

La selección embrionaria basada en la morfología tiene un componente subjetivo y las tecnologías de análisis de imagen e inteligencia artificial podrían ayudarnos a mejorar este proceso.

OBJETIVO:

Nuestro objetivo es identificar en ovocitos correctamente fecundados características predictivas de recién nacido no co-

nocidas hasta el momento y que sólo pueden ser desveladas por un algoritmo avanzado basado en la inteligencia artificial.

MATERIAL Y MÉTODO:

Analizamos 123 cigotos correctamente fecundados cultivados en un Sistema de time-lapse. De los 123, 111 presentaban suficiente calidad de imagen para el análisis. Todos los embriones analizados fueron blastocistos transferidos de calidad A ASEBIR, de ellos 88 implantaron, 45 dieron lugar a un recién nacido y 33 abortaron. En general, la tasa de implantación en

COMUNICACIONES PÓSTER

nuestro centro de los embriones tipo A ASEBIR fue superior al 70%. Utilizando un algoritmo de "machine learning", fuimos capaces por primera vez de caracterizar un patrón, el citoplasma claro que crea un "halo" que rodea al núcleo del ovocito fecundado. La medición de la cantidad de este halo sobre un conjunto de imágenes se comparó con un valor de referencia y el resultado del análisis generó una variable binaria (si/no) de decisión que se analizó en relación con la posibilidad de implantación del embrión. Realizamos un análisis de imagen localizado para definir una medida del brillo y la uniformidad del halo en la parte de la imagen donde es más visible. Nosotros calculamos una medida brillo/uniformidad relativa comparando cada imagen con una de referencia del mismo embrión 7 horas antes. Realizando un cálculo medio de estas medidas obtenidas durante 3 horas resultaron en un valor de "cantidad del halo", una mayor cantidad indicaría que estas imágenes tenían más halo que las imágenes previas de los mismos embriones. Esta cantidad, se comparó con un valor de referencia interno obtenido experimentalmente, con unos resultados que son informados como "si" (por encima del valor de referencia, un halo relevante identificado) o "no" (debajo del valor de referencia, sin un halo claramente identificado).

RESULTADOS:

En 40 videos con embriones que dieron lugar a recién nacido, el halo se identificó en el 42% de los casos. En 29 videos con resultado de aborto, el halo se identificó en el 41% de los casos. En 42 videos sin implantación el halo sólo se identificó en el 17% de los casos. En consecuencia, la utilización de esta medición para predecir la implantación de un blasto calidad A de ASEBIR tiene una sensibilidad del 42% y una especificidad del 83%, con un valor predictivo positivo del 85% y un valor predictivo negativo del 46%.

CONCLUSIONES:

Un algoritmo de inteligencia artificial identifico en ovocitos fecundados un patrón hasta la fecha desconocido que está asociado con mayores probabilidades de implantación exitosa. La identificación automatizada del Halo podría ayudar a mejorar la selección embrionaria y aumentar las tasas de recién nacido.

P-010 ▶

IMPACTO DE LA EDAD MATERNA SOBRE EL NÚMERO Y PATRÓN DE ANEUPLOIDÍAS EMBRIONARIAS

M. Pascual Herranz (1), I. Orozco Gómez (1), A. García Segovia (1), A. Ferri Verd (1), N. Al-Asmar Piñar (2), I. Campos Galindo (2), L. Rodrigo (2)

(1) SANITAS - Alcobendas (Madrid), (2) Igenomix - Paterna (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

Existe controversia acerca de la utilidad clínica del Screening Genético Preimplantacional de Aneuploidías (PGT-A) en pacientes de fecundación *in vitro*. En los últimos años esta herramienta se está incorporando cada vez más en los centros de reproducción asistida (RA) en pacientes de edad avanzada (EMA), fallos de implantación, aborto recurrente, factor masculino, etc.

Los datos diagnósticos y clínicos de estos tratamientos comienzan a ser significativos de cara a justificar la aplicación del PGT-A en la práctica clínica en pacientes con indicación. Está demostrado que la edad de la mujer, tiene un impacto

sobre su fertilidad disminuyendo la reserva ovárica e incrementando la incidencia de aneuploidías embrionarias.

OBJETIVO:

Los objetivos de este estudio son:

- Determinar si la edad materna tiene un efecto sobre el número de cromosomas afectos.
- Categorizar el riesgo de cada cromosoma de presentar alteraciones.
- Definir si existe un patrón de aneuploidías característico (monosomías, trisomía, segmentales) en relación a la edad de la paciente.

COMUNICACIONES PÓSTER

MATERIAL Y MÉTODO:

Análisis retrospectivo de las alteraciones cromosómicas en embriones aneuploides tras haber realizado un PGT-A. Se realizó biopsia de trofoectodermo y análisis de aneuploidías de 24 cromosomas mediante secuenciación masiva (NGS). Para la preparación de librerías se utilizó el kit Ion ReproSeq™ PGS y el equipo Ion Chef™ System (Thermo Fisher Scientific, USA). Se utilizó el secuenciador Ion S5 System (Thermo Fisher Scientific, USA) y el software Ion Reporter para el análisis de los datos, que realiza el alineamiento de las lecturas respecto al genoma humano de referencia (hg19) (Thermo Fisher Scientific, USA).

Se definieron 3 grupos de edad: pacientes menores de 35 años (grupo 1), de 35-40 años (grupo 2) y mayores de 40 años (grupo 3) que fueron estudiadas.

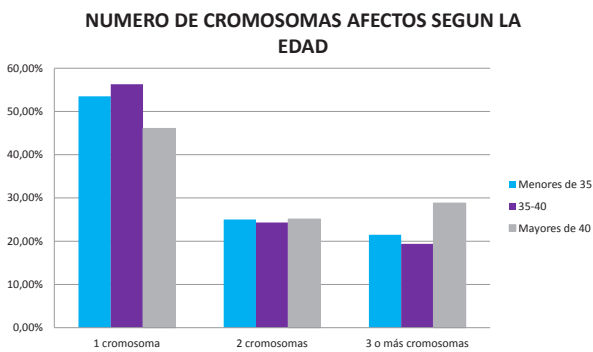
RESULTADOS:

Un total de 620 embriones procedentes de ciclos de fecundación *in vitro* en pacientes con ovocito propio de edades comprendidas entre 26 y 46 años fueron analizados.

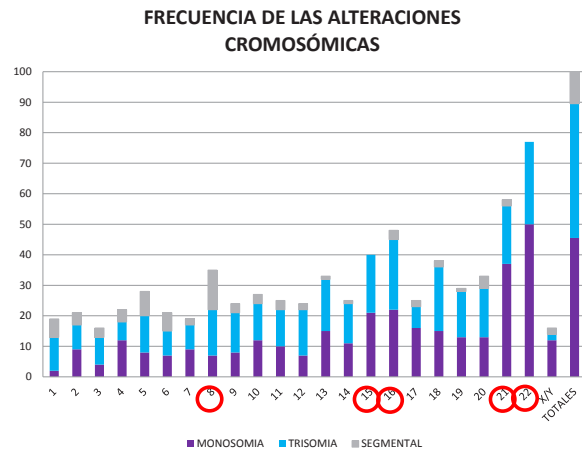
Tras el estudio PGT-A, se obtuvieron como resultados: 56,77% embriones aneuploides (352). Presentando éstos un total de 711 anomalías cromosómicas: 45.5% monosomías, 44% trisomías y un 10,5% anomalías parciales (excluyendo los embriones caóticos).

Encontramos diferencias entre los distintos grupos de edad en relación al número de cromosomas implicados en la aneuploidía. En el grupo 1, más de la mitad de los embriones (53.5%) tienen alteración en un solo cromosoma. A medida

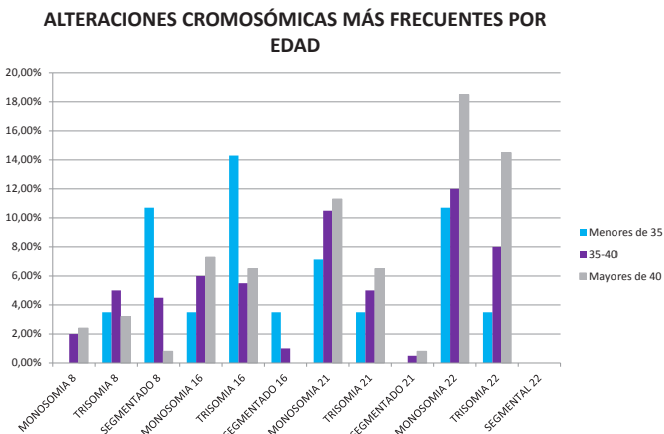
Gráfica 1



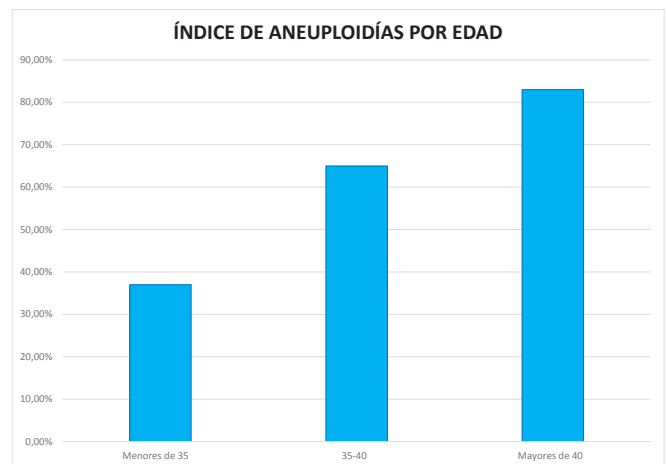
Gráfica 2



Gráfica 3



Gráfica 4



COMUNICACIONES PÓSTER

que avanza la edad, grupos 2 y 3, se observa un incremento en el número de cromosomas afectados (3 o más cromosomas alterados), a costa de una disminución en el grupo de embriones con un solo cromosoma afecto (gráfica 1).

Los cromosomas que presentan mayor frecuencia de alteraciones son el 8, 15, 16, 21 y 22 (gráfica 2).

Tras desglosar los cromosomas más frecuentemente alterados en los distintos grupos de edad, observamos que en el grupo 1, la alteración más frecuente es la trisomía del cromosoma 16, y que en los grupos 2 y 3, la alteración más prevalente es la monosomía del cromosoma 22, seguido de la trisomía del cromosoma 22 y monosomía del cromosoma 21 (gráfica 3).

CONCLUSIONES:

Según los resultados de nuestro estudio, más de la mitad de los embriones analizados presentan alteraciones cromosómicas.

Observamos un claro impacto de la edad, no solo en la presencia de aneuploidías (gráfica 4), sino en la cantidad de las mismas en cada embrión, incrementándose el número de cromosomas alterados en mujeres de mayor edad, siendo los cromosomas con mayor prevalencia el 8, 15, 16 y 21.

P-011 ▶

GENECINÉTICA EN EL MODELO MONOPRONUCLEAR DIPLOIDE HUMANO

N. Soler Balaguer (1), A. González Picazo (2), X. Vendrell Montón (3), MJ. Escribá Pérez (4)

(1) Universidad De Valencia - Valencia (Valencia), (2) Fundación-IVI - Valencia (Valencia), (3) Sistemas Genómicos - Paterna (Valencia), (4) IVIRMA-Valencia - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

Los cigotos monopronucleares (MPN) responden a un tipo de "fecundación anómala" y representan un 8% de los conceptos obtenidos tras ICSI, caracterizados por presentar el segundo corpúsculo polar (2CP) y un único pronúcleo. Morfocinéticamente, su desarrollo es comparable al observado en aquéllos correctamente fecundados, siendo, además, competentes *in vitro* e *in vivo*.

La relación entre morfocinética y euploidía, por análisis de una porción de trofoectodermo (TF), es motivo de controversia. Por su parte, la trazabilidad blastomérica ha permitido hipotetizar sobre mecanismos de "self-correction" en embriones tripronucleares; no habiendo sido aún explorada su potencial aplicabilidad.

OBJETIVO:

Comparar morfocinéticamente, empleando trazabilidad blastomérica, el desarrollo embrionario de blastocistos diploides,

derivados de MPN, en función del resultado de PGT-A sobre muestras de TF y MCI.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio experimental retrospectivo, autorizado por CEIC del centro. Un total de 23 blastocistos derivados de cigotos MPN procedentes de ciclos de ICSI, cultivados en sistema time-lapse, fueron diseccionados en tres fragmentos, dos fragmentos de TF (TF1 y TF2) y MCI.

TF1 y MCI permitieron el estudio por separado de 24 cromosomas por NGS (Illumina); TF2 nos aproxima a la ploidía mediante FISH (cromosomas X,Y,18).

El estudio morfocinético embrionario, retrospectivo e individualizado, consideró el momento preciso de expulsión del 2CP, tiempo de división a 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8 células, como variables directas. El escrutinio del desarrollo mediante trazabilidad blastomérica, permitió el cálculo de la duración del ciclo celular (cc) de cada blastómera y la duración promedio del primer, segundo y tercer cc (cc1, acc2 y acc3).

COMUNICACIONES PÓSTER

RESULTADOS:

Retrospectivamente, seleccionamos 21 blastocistos, identificados como diploides tras análisis mediante FISH de las correspondientes muestras de TF2.

El análisis de 21 TF1 informó de 12 euploides (57,1%) y 9 aneuploides (42,9%), no mostrando diferencias significativas en las cinéticas estudiadas.

El análisis de 21 muestras de MCI diagnosticó dos segmentales a excluir. La comparación morfocinética entre euploides (n=11; 58,9%) y aneuploides (n=8; 42,1%) mostró diferencias en la duración de la fase-S, cc1 y la mayoría de las variables indirectas relacionadas con cc3 (cc3a, cc3b, cc3c y acc3).

Similarmente, 10 blastocistos euploides y 4 aneuploides, con idéntica fórmula cromosómica en TF1 y MCI (homogeneidad genética: 66,7%) mostraron las mismas diferencias cinéticas que aquéllas observadas en MCI; siendo la duración de la fase S y acc3 significativamente más prolongadas en aquéllos aneuploides.

CONCLUSIONES:

Estos resultados deben ser interpretados con cautela por el modelo empleado y el tamaño muestral. No obstante, la trazabilidad embrionaria como variable morfocinética debiera explorarse, pudiendo generar sinergias en genética embrionaria y/o abundar en la selección embrionaria.

P-012 ▶

¿QUÉ FACTORES INFLUYEN EN QUE UNA TRANSFERENCIA SEA EXITOSA?

L. Herrero Grassa (1), L. Cascales Romero (1), M. Aparicio Gonzalez (1), R. Romero Saveedra (1), A. Llana Gonzalez (1), J. Ten Morro (2), R. Bernabéu Pérez (2)

(1) Instituto Bernabéu - Madrid (Madrid), (2) - Instituto Bernabéu - Alicante (Alicante)

INTRODUCCIÓN:

La transferencia embrionaria es el último paso, y uno de los más importantes de un ciclo de FIV. El cuidado de todos los detalles en este momento es esencial para culminar el proceso con éxito. Los profesionales de la reproducción asistida coincidimos en que los tres factores fundamentales para lograr el embarazo de una paciente son: la calidad del embrión transferido, la técnica de la transferencia y la receptividad endometrial (SEF).

OBJETIVO:

Averiguar qué otros parámetros son importantes a la hora de conseguir una prueba de embarazo positiva cuando los tres factores fundamentales están debidamente controlados.

MATERIAL Y MÉTODO:

Análisis retrospectivo de 451 transferencias de embrión único realizadas entre enero de 2018 y marzo de 2019. Dichas trans-

ferencias fueron de embriones en fresco o desvitrificados, en estadio de blastocisto, con o sin diagnóstico genético y precedentes de óvulo propio o donado. Sólo se incluyeron preparaciones endometriales en ciclo sustituido y los embriones transferidos fueron de calidad A o B (según criterios de clasificación ASEBIR). Todas las transferencias fueron transvaginales, ecoguiadas y la cánula utilizada fue Rocket medical®.

Los parámetros analizados y comparados para averiguar su influencia sobre el éxito de la transferencia (tasa de β hCG +) fueron: el origen de los ovocitos, el estado del embrión transferido (fresco o desvitrificado), el diagnóstico genético del embrión transferido (si/no), el día de transferencia (5/6), el medio de cultivo utilizado en el ciclo de FIV/ICSI (GLOBAL® TOTAL®, LifeGlobal® o Continuous Single Culture® Complete, IrvineScientific®), la expansión del blastocisto antes de la transferencia (si/no) y el embriólogo y el ginecólogo que intervinieron en la transferencia.

Los porcentajes de β hCG + se compararon mediante la prueba estadística Chi cuadrado y se realizó una regresión logística

COMUNICACIONES PÓSTER

para valorar la influencia de las diferentes variables sobre el éxito de la transferencia.

RESULTADOS:

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la tasa de β hCG + entre los grupos: ovocito propio vs donado, embrión euploide vs no diagnosticado, medio GLOBAL TOTAL vs Continuous Single Culture ni entre embriólogo que transfiere (ver tabla I).

Sin embargo, sí se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos: embrión fresco vs desvitrificado, transferencia en día 5 vs día 6, blastocisto expandido vs no expandido y entre ginecólogo que transfiere (ver tabla II).

Al realizar una regresión logística con todas las variables, obtuvimos un modelo significativo ($p < 0,00001$) que nos permitió ordenarlas de mayor a menor grado de influencia en el éxito del ciclo siendo la variable más explicativa la "expansión del blastocisto (si/no)" ($p < 0,0001$; OR 2.4781; IC 95% 1.05607-3.9349) seguida del "día de transferencia (5/6)" ($p = 0,01$, OR

0.5341; IC 95% 0.3103-0.9190). En último lugar, como variables menos determinantes, pero significativas, encontramos "ginecólogo", "estado del embrión (fresco o desvitrificado)" y "embrión euploide (si/no)".

CONCLUSIONES:

Aunque este estudio no contempla algunos factores que pueden influir en el éxito post transferencia, como el uso de diferentes tipos de catéter, la dificultad de la transferencia o la limpieza de la cánula, analiza datos uniformes y controlados de un centro de mediano tamaño. Según esto, la expansión del blastocisto transferido es un parámetro muy importante a tener en cuenta a la hora de predecir el éxito de una transferencia, así como el hecho de que la misma sea en día 5 y procedente de blastocisto en fresco.

Este estudio también pone de manifiesto la importancia de la pericia del ginecólogo a la hora de transferir, aunque es necesario realizar un estudio prospectivo con mayor N que incluya mayor número de variables y situaciones que este estudio no ha podido abarcar.

Tabla I: Parámetros estudiados sin influencia sobre la tasa de embarazo:

	Tasa de β hCG + (N)	p valor Chi cuadrado
Embriones procedentes de ovocito propio	47.1% (57/121)	0.8
Embriones procedentes de ovocito donado	46.1% (152/330)	
Embriones cromosómicamente normales	47.8% (87/182)	0.6
Embriones sin diagnóstico genético	45.3% (122/269)	
Embriones cultivados en GLOBAL	48.5% (98/202)	0.4
Embriones cultivados en IRVINE	44.6% (111/249)	
Transferencias realizadas por embriólogo 1	49.7% (95/191)	0.4
Transferencias realizadas por embriólogo 2	45.0% (68/151)	
Transferencias realizadas por embriólogo 3	42.2% (46/109)	

COMUNICACIONES PÓSTER

Tabla II: Parámetros estudiados con influencia sobre la tasa de embarazo:

	Tasa de β hCG + (N)	p valor Chi cuadrado
Embrión transferido en fresco	59.5% (72/121)	0.0007
Transferencia de embrión desvitrificado	41.5% (137/330)	
Blastocisto expandido	52.9% (173/327)	<0.0001
Blastocisto no expandido	28.2% (35/124)	
Blastocisto en día 5	49.5% (182/368)	0.0052
Blastocisto en día 6	32.5% (27/83)	
Transferencia realizada por ginecólogo 1	66.6% (20/30)	0.0019
Transferencia realizada por ginecólogo 2	41.4% (79/191)	
Transferencia realizada por ginecólogo 3	43.7% (84/192)	
Transferencia realizada por ginecólogo 4	68.4% (26/38)	

P-013 ▶

¿EL RESULTADO DEL FISH EN ESPERMATOZOIDES ES PRONÓSTICO DE ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS EN LOS EMBRIONES?

B. Navarro Santos, T. Ganzabal Areso, I. Ausin Hernández, S. Quevedo Galván, M. González Tejedor
Quirónsalud Bilbao - Bilbao (Bizkaia)

INTRODUCCIÓN:

La infertilidad masculina y las anomalías cromosómicas están estrechamente relacionadas. Un estudio completo del factor masculino en la pareja requiere determinar la dotación cromosómica de los espermatozoides mediante la técnica Fluorescent *In Situ* Hybridization (FISH). En los últimos años este tipo de estudios en el varón han ido proliferando, de forma que la contribución del varón sobre la infertilidad de la pareja, cada vez está más clara.

OBJETIVO:

Determinar si existe relación entre la alteración en el número de cromosomas paternos con la presencia de anomalías cromosómicas en el embrión.

MATERIAL Y MÉTODO:

En el estudio se han incluidos dos grupos:
- Ciclos DGP con ovocitos propios de 11 pacientes de entre 31 a 45 años, a cuyos maridos se les había solicitado previamente el estudio FISH de 9 cromosomas con resultado normal.

COMUNICACIONES PÓSTER

- Ciclos DGP con ovocitos propios de 22 pacientes de entre 28 a 44 años, a cuyos maridos se les había solicitado previamente el estudio FISH de 9 cromosomas con resultado alterado.

El FISH se realiza de espermatozoides capacitados para los cromosomas 13, 15, 16, 17, 18, 21, 22, X e Y.

El DGP se realiza de blastómeras procedentes de embriones en estadio de blastocisto, excepto en dos casos de cada grupo de pacientes que se realizó en estadio de células (día tercero de desarrollo embrionario), mediante la técnica Next Generation Sequencing (NGS).

RESULTADOS:

Se han analizado un total de 195 embriones: 58 embriones procedentes de parejas cuyo varón tenía el FISH normal con un resultado de 14 embriones genéticamente normales y, 137 embriones de parejas con FISH alterado de los cuales, 17

embriones resultaron ser normales.

Tras el análisis de la Chi Cuadrado se observa una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos ($p=0,041$).

El resultado de Odd Ratio indica que la probabilidad de que los embriones procedentes de varones con FISH alterado presenten aproximadamente el doble de aneuploidías (2,226 veces, concretamente) que los de varones con FISH normal, es próxima a ser significativa ($p=0,067$).

CONCLUSIONES:

El estudio de las anomalías cromosómicas de los espermatozoides es indispensable para dar un correcto asesoramiento reproductivo a aquellas parejas que acuden a una unidad de reproducción asistida ya que, un resultado anómalo de dicho estudio está asociado a la presencia de anomalías genéticas en sus embriones.

P-014 ▶

¿LA PROPORCIÓN DE OVOCITOS MADUROS EN LA COHORTE OVOCITARIA ESTÁ RELACIONADA CON LOS RESULTADOS REPRODUCTIVOS EN CICLOS DE FIV/ICSI?

M. Regincós Lara, D. García, R. Vassena, M.J. Zamora, A. Rodríguez
Clínica Eugén - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

Los ovocitos inmaduros (MI y vesículas germinales) recuperados en la punción folicular (PF), representan alrededor de un 15% del total de la cohorte ovocitaria (COC). Este porcentaje puede variar en función de la edad de la mujer, el protocolo de estimulación y de factores ováricos. Ya que los ovocitos inmaduros se obtienen de los folículos antrales tras la descarga hormonal, su incompleta maduración podría tener un efecto en la cohorte folicular en desarrollo y representar un marcador no-invasivo de la competencia de los ovocitos maduros hermanos (MII).

OBJETIVO:

El objetivo de este estudio es evaluar la relación entre la pro-

porción de ovocitos maduros/inmaduros tras la denudación y los resultados del ciclo de FIV/ICSI.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo de 1698 ciclos de FIV/ICSI de mujeres entre 20-40 años utilizando semen de pareja (53.2%) o de donante (46.8%). Todos los ciclos se realizaron entre enero 2011 y junio 2018. Los ciclos fueron agrupados para el análisis de acuerdo con el ratio MII/COC tras la PF: ALTO ($\geq 80\%$; $n=979$); MEDIO (60-80%; $n=457$); BAJO ($<60\%$; $n=262$).

El impacto del ratio MII/COC sobre la tasa de fecundación, embarazo bioquímico, clínico, evolutivo y niño nacido tras la primera transferencia en fresco fue analizado mediante análisis univariable y multivariable ajustado por edad de la mujer,

COMUNICACIONES PÓSTER

MII obtenidos en la PF y embriones transferidos, tomando ALTO como grupo de referencia. Valores $p < 0.05$ se consideraron estadísticamente significativos.

RESULTADOS:

La edad media de la mujer fue 35.5 (SD 3.8), 35.2 (SD 4.1) y 35.4 (SD 4.0) para ALTO, MEDIO y BAJO, respectivamente. La media de MII recuperados fue 7.6 (SD 4.8), 7.4 (SD 4.3), 4.6 (SD 3.4) para los mismos grupos ($p < 0.001$). No se observaron diferencias en la tasa de fecundación media, que fue del 72.8%, 71.0% y 74.3%. En la mayoría de ciclos se transfirieron 2 embriones (1228, 72.3%) en D2-3 (94.6%; $n=1606$), aunque en el grupo BAJO la proporción de SET era mayor que en los otros: 18.7% para ALTO, 17.3% para MEDIO y 36.6% para BAJO.

La tasa de embarazo bioquímico fue 45.5%, 44.0% y 37% para ALTO, MEDIO y BAJO, respectivamente (p -tendencia=0.024). El análisis ajustado no mostró un impacto significativo de la proporción de MII sobre embarazo bioquímico: ORMEDIO 0.92 (95%CI 0.73, 1.16) y ORBAJO 0.89 (95%CI 0.66, 1.20). La tasa de embarazo clínico sí que presentó diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio: 32.6% para ALTO, 30.4% para MEDIO, 24.0% para BAJO (p -tenden-

cia=0.011), aunque el análisis ajustado no mostró el mismo efecto: ORMEDIO 0.88 (95%CI 0.69, 1.13) y ORBAJO 0.78 (95%CI 0.56, 1.09). En la tasa de embarazo evolutivo se observó una tendencia creciente: 29.1%, 27.2% y 21.8% para ALTO, MEDIO y BAJO respectivamente (p ?tendencia=0.023), aunque el análisis ajustado tampoco mostró este impacto: ORMEDIO 0.89 (95%CI 0.69, 1.15) y ORBAJO 0.81 (95%CI 0.58, 1.15). Por último, la tasa de niño nacido fue 27.7% para ALTO, 25.6% para MEDIO y 19.7% para BAJO (p -tendencia=0.012). Una vez más, este hecho no se observó en el análisis ajustado ORMEDIO 0.88 (95%CI 0.68, 1.14) y ORBAJO 0.76 (95%CI 0.53, 1.08). El análisis multivariable sí que muestra un impacto significativo del número absoluto de MII obtenidos tras la PF y del número de embriones transferidos sobre los resultados reproductivos.

CONCLUSIONES:

La proporción de MII en la cohorte ovocitaria no tiene un impacto directo en los resultados del ciclo de FIV/ICSI (tasa de fecundación, embarazo bioquímico, clínico, evolutivo y niño nacido), aunque sí existe una relación entre el número absoluto de MII obtenidos en la PF y su proporción en la cohorte, lo que determinará el número de embriones a transferir.

DIFERENCIAS EN EL MICROBIOMA ENDOMETRIAL DE UN ABORTO CLÍNICO, EMBARAZO ECTÓPICO Y EMBARAZO A TÉRMINO CON RECIÉN NACIDO VIVO

I. García Grau (1), I. Moreno Gimeno (2), D. Pérez Villaroya (3), D. Baù (3), M. González Monfort (2), F. Vilella Mitjana (2), C. Simón Vallés (1)

(1) Universitat de València, Igenomix Foundation - INCLIVA, Paterna (Valencia) (2) Igenomix Foundation - INCLIVA, Paterna (Valencia) (3) Igenomix, Paterna (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

La investigación de poblaciones bacterianas que habitan el tracto reproductivo femenino ha revelado la existencia de una microbiota endometrial compuesta principalmente por diferentes especies del género *Lactobacillus*. Sin embargo, la presencia de bacterias patógenas puede alterar el ambiente uterino afectando las tasas de implantación y embarazo. Según su composición, la microbiota endometrial se puede clasificar en dominada por *Lactobacillus* (>90%) o no domi-

nada por *Lactobacillus*, la cual se asocia con peores resultados reproductivos y complicaciones obstétricas en pacientes sometidas a tratamientos de reproducción asistida (TRA).

OBJETIVO:

Evaluar el impacto del microbioma endometrial en los resultados reproductivos mediante la caracterización taxonómica y funcional del microbioma de varios abortos clínicos, un embarazo ectópico y un embarazo a término con nacido vivo.

COMUNICACIONES PÓSTER

MATERIAL Y MÉTODO:

Como parte de un estudio observacional se analizó el microbioma del líquido endometrial (LE), tomado previamente a la transferencia de embriones euploides, de dos pacientes sometidas a TRA. En la paciente 1, se analizaron tres muestras de LE asociadas a un embarazo ectópico y dos abortos clínicos, mientras que en la paciente 2 se analizaron dos muestras de LE, una asociada a un aborto clínico y otra tomada en la cuarta semana de embarazo, el cual resultó en un nacido vivo.

Para la clasificación taxonómica, se obtuvieron los perfiles 16S rRNA con el "Ion 16S metagenomics kit" y se secuenciaron en el sistema "Ion S5 XL" (ThermoFisher Scientific). Por otra parte, la composición funcional se evaluó mediante la secuenciación de metagenomas completos (WMS, por sus siglas en inglés) utilizando "Nextera DNA Flex Library Preparation kit" y secuenciando en el sistema "NextSeq 500" (Illumina).

RESULTADOS:

La secuenciación del gen 16S rRNA del LE recolectado antes de los abortos espontáneos y el embarazo ectópico mostró un perfil disbiótico con presencia de bacterias patógenas como *Gardnerella* o *Atopobium*, con un promedio de *Lactobacillus* del 19.6%, mientras que en la muestra tomada en la cuarta semana de embarazo se observó un perfil dominado por *Lactobacillus* (93.5%) (Tabla I).

En la paciente 2, el análisis funcional por WMS reveló diferentes especies de *Lactobacillus*, con diferentes funciones asociadas

entre el aborto clínico y el embarazo a término. En el LE tomado antes del aborto clínico se detectó *Lactobacillus crispatus* junto con los patógenos indicados (Tabla I), mostrando un patrón funcional inestable caracterizado por transposasas y elementos de inserción. Por el contrario, *Lactobacillus iners* fue la única bacteria presente en la cavidad uterina a las 4 semanas de embarazo, detectando en este caso genes asociados con mecanismos de defensa, producción de energía y división celular. Finalmente, dado que las bacterias pueden modular la fisiología del huésped a través de ligandos de receptores acoplados a la proteína G (GPCR, por sus siglas en inglés), se buscaron secuencias asociadas con la familia PFAM13444 de N-acil-sintetasas, detectando 44 secuencias en el aborto espontáneo frente a 0 secuencias en el embarazo temprano.

CONCLUSIONES:

Este trabajo evidencia como el microbioma uterino de un embarazo exitoso es completamente diferente al de un aborto clínico o un embarazo ectópico, mostrando los diferentes entornos microbianos que se encuentra el embrión en estas situaciones. Comprender la microbiología del embarazo y su aplicación clínica podría tener profundas implicaciones en el manejo de pacientes infértiles.

El impacto del ratio MII/COC sobre la tasa de fecundación, embarazo bioquímico, clínico, evolutivo y niño nacido tras la primera transferencia en fresco fue analizado mediante análisis univariable y multivariable ajustado por edad de la mujer.

Tabla I. Géneros bacterianos más abundantes detectados en el LE de estas pacientes por secuenciación del gen 16S rRNA.

	Paciente 1			Paciente 2	
	Embarazo ectópico	Aborto clínico	Aborto clínico	Aborto clínico	Embarazo con nacido vivo
Lactobacillus	12.1%	0.8%	48%	17.6%	93.5%
Gardnerella	32.8%	28.8%	32.8%	0.0%	0.1%
Pseudoalteromonas	14.2%	16.8%	0.0%	16.3%	1.4%
Bifidobacterium	8.8%	5.0%	6.2%	0.0%	0.0%
Rhodanobacter	5.6%	13.0%	0.0%	17.2%	1.7%
Atopobium	0.4%	13.4%	5.4%	0.1%	0.0%
Streptococcus	1.0%	0.2%	0.0%	3.3%	0.1%
Pseudomonas	3.2%	2.7%	0.1%	3.7%	0.5%
Enterobacteriaceae	1.5%	0.0%	0.0%	2.9%	0.2%
Staphylococcus	0.5%	0.0%	0.0%	1.2%	0.0%

¿PODEMOS CONSIDERAR EL D+4 COMO CUALQUIER OTRO DÍA DE TRANSFERENCIA?

I. Molina González, B. González Soto, E. Mancha Heredero, A. Muñoz Ledesma, A. Rodríguez Bujez, Y. Pascual Arévalo, M. García-Yuste González, A. Mazariegos Martínez
Hospital Universitario Río Hortega - Valladolid (Valladolid)

INTRODUCCIÓN:

La transferencia en D+4 no es procedimiento habitual en el Hospital Universitario Río Hortega de Valladolid. Desde la publicación, en 2015, de los nuevos Criterios ASEBIR de Valoración Morfológica de Oocitos, Embriones Tempranos y Blastocistos Humanos que incluye criterios de evaluación morfológica del estadio de mórula hemos aumentado el número de transferencias realizadas en D+4.

OBJETIVO:

Evaluar si los resultados obtenidos tras realizar transferencias en D+4 permiten considerar el D+4 como cualquier otro día de transferencia.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio descriptivo retrospectivo que incluye 558 tratamientos de reproducción asistida, con transferencia embrionaria en fresco, realizados entre 2014 a 2018. Se analizó: número de transferencias realizadas en D+2, D+3, D+4 y D+5, tasa de gestación y tasa de aborto.

Los embriones fueron evaluados morfológicamente en D+1, D+2, D+3, D+4 y D+5, dentro de los intervalos de tiempo de observación recomendados por ASEBIR. No se realizó la evaluación embrionaria en D+2 en caso de transferencias en D+4 y D+5, y en D+4 en caso de transferencias en D+5.

Los embriones fueron incubados (37°C, 6 % CO₂) en G-1 Plus (Vitrolife, Göteborg Sweden) y en D+3 eran pasados a G-2 Plus (Vitrolife, Göteborg Sweden).

Se analizaron los datos mediante el test Chi-cuadrado de Pearson.

RESULTADOS:

Se realizaron 558 transferencias embrionarias: 169 en D+2, 312 en D+3, 45 en D+4 y 32 en D+5 (Tabla I). Aunque no hay diferencias significativas entre la tasa de gestación en D+2, D+3, D+4 y D+5, se observa una tendencia a unas mayores tasas de gestación y un mayor número de transferencias de un sólo embrión al retrasar el día de transferencia. Si se observa una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre la tasa de aborto para los días de transferencia analizados. La tasa de aborto es menor cuanto más tarde se realice la transferencia.

CONCLUSIONES:

Los resultados demuestran que el D+4 puede considerarse como una alternativa viable a la transferencia en D+3 o en D+5 sin comprometer las tasas de implantación y embarazo clínico. Se observa también que la transferencia en D+4 puede contribuir a una mejor selección embrionaria, disminuyendo la tasa de aborto y permitiendo disminuir el número de embriones transferidos respecto a la transferencia en D+2/3. Esto conllevaría una disminución de las gestaciones múltiples.

Tabla I. Resultados de transferencias de embriones realizadas en D+2, D+3, D+4 y D+5

	D+2	D+3	D+4	D+5
Nº transferencias	169	312	45	32
% gestación	21,30	31,41	28,89	37,50
% aborto	33,33*	11,22*	7,69*	16,67*
% set	33,73	25,32	42,22	43,75

* $p < 0.05$

PROGESTERONA: ¿QUÉ RESPONSABILIDAD TIENE EN EL ÉXITO DE LA REPRODUCCIÓN ASISTIDA?

S. Quevedo Galván (1), M. Mandiola Arizmendiarieta (2), M. González Tejedor (1), A. Rabanal Núñez (1), A. Cearsolo Michelena (1), K. Carbonero Martínez (2), T. Ganzabal Areso (1), I. Ausín Hernández (1), B. Navarro Santos (1)

(1) QuirónSalud Bilbao - Bilbao (Vizcaya), (2) QuirónSalud Donostia - Donostia (Guipúzkoa)

INTRODUCCIÓN:

La hormona Progesterona juega un papel primordial en la fertilidad de la mujer, ya que es la responsable de la preparación endometrial en cada ciclo para la recepción del óvulo fecundado y de un correcto desarrollo en los inicios del embarazo. Por ello, en las técnicas de Reproducción Asistida (RA) es necesario la administración de ésta antes de la transferencia embrionaria, durante la espera de los resultados y, si éstos son positivos, durante varias semanas más. En los días previos a la transferencia, a la paciente se le realizan varios controles ecográficos además de una analítica donde se cuantifica los niveles de progesterona para cerciorarse de que el endometrio esté correctamente preparado.

OBJETIVO:

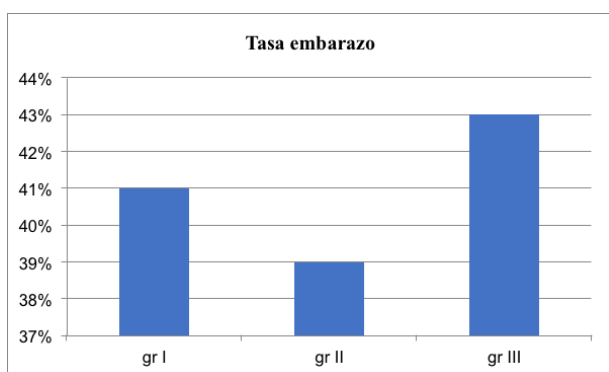
El objetivo del estudio fue evaluar si los niveles de progesterona medidos antes de la transferencia influían en la tasa de embarazo y su evolución.

MATERIAL Y MÉTODO:

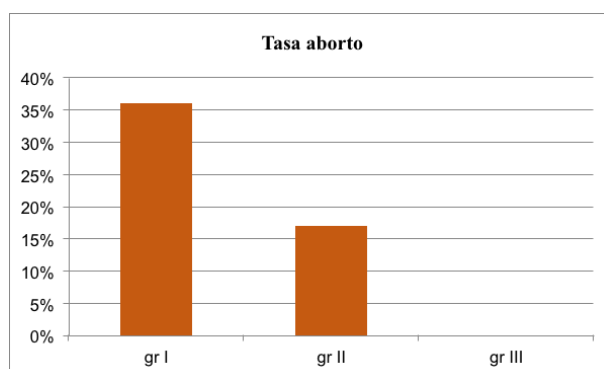
Desde noviembre de 2018 hasta febrero de 2019 se incluyeron 90 casos. Las mediciones de la hormona se realizaron 48 horas pre transferencia embrionaria. Se dividieron en tres grupos: Grupo I: 29 pacientes con niveles de progesterona 9-18 ng/mL; Grupo II: 31 pacientes con niveles de 18-36 ng/mL; y Grupo III: 30 pacientes con niveles > o iguales a 36 ng/mL. A todas las pacientes con niveles inferiores a 9 ng/mL se les canceló las transferencias embrionarias. Se analizaron la tasa de embarazo y de aborto respecto a las edades (pacientes menores o iguales a 38 años y pacientes mayores de 38 años) y las técnicas de RA realizadas (FIV/ICSI; DGP; Recepción de ovocitos de donante).

RESULTADOS:

No se encontraron, en los tres grupos, diferencias en base a la tasa de embarazo (**gráfica 1**) siendo del 41%, 39% y 43%, respectivamente. En cuanto a la tasa de aborto (**gráfica 2**) se observó que disminuía con el aumento de los niveles de progesterona siendo del 36%, 17% y 0% por grupo respectivamente.



(1) Tasa de embarazo-niveles de progesterona



(2) Tasa de aborto-niveles de progesterona

COMUNICACIONES PÓSTER

Respecto a la relación entre los niveles de progesterona medidos y la edad de la paciente (gráfica 3) no se encontró ninguna relación significativa. Si bien, sí que se apreció, centrándonos en los embarazos evolutivos, que en las pacientes con edades menores o iguales a 38 años el porcentaje aumentaba en el grupo III, con un 91%, respecto al grupo I y II, que presentaban porcentajes de 57% y 66% respectivamente. Finalmente, no se observaron diferencias en cuanto a las técnicas de RA utilizadas y los niveles de progesterona medidos en las pacientes.

CONCLUSIONES:

Los resultados obtenidos en el presente estudio nos indican que los niveles de progesterona, medidos 48 horas antes de la

transferencia embrionaria, no influyen a la hora de conseguir el embarazo pero sí en su correcta evolución siendo la tasa de aborto de un 0% en aquellas pacientes que tenían los niveles más elevados de progesterona (grupo III: progesterona > 36 ng/mL). Al analizar la edad de las pacientes con los niveles de progesterona no se observa ninguna relación directa, pero fijándonos en los embarazos evolutivos se aprecia una tendencia positiva en aquellas pacientes menores de 39 años con niveles elevados de progesterona y descartando la técnica de Reproducción Asistida que se haya realizado; por lo que existe una evidencia significativa entre la edad y los niveles de progesterona para conseguir uno de los éxitos de la Reproducción Asistida, que es el embarazo evolutivo.

P-018 ▶

MEDIO DE TRANSFERENCIA, ¿UNICO O SECUENCIAL?

L. Rodríguez Menes, F. Graña Zanón, P. Nieto Olmedo, V. Sánchez Blasco, J. Quintana Paunette, P. De la Fuente Ciruelas, D. Bigotes Álvarez, A. Francos Pérez, M. Gabia Rabano, L. Fernández Juárez
Centro de Fertilización In Vitro De Asturias CEFIVA - Oviedo (Asturias)

INTRODUCCIÓN:

Hoy en día existen dos tendencias en cuanto a los medios de cultivo: Los medios secuenciales que proporcionan las sustancias adecuadas a cada estadio del desarrollo del embrión, y el medio único basado en que el embrión va utilizando lo que necesita en cada momento. Mucho se ha discutido sobre estos dos tipos de medio en cuanto al cultivo embrionario se refiere, sin embargo, no tanto con respecto a la transferencia embrionaria.

OBJETIVO:

El objetivo de este estudio es comparar estos dos medios en la transferencia embrionaria. Es conocido que el ácido hialurónico tiene un papel importante en este momento, ya que actúa ayudando a la implantación, hay estudios que confirman que con concentraciones funcionales de ácido hialurónico las tasas de gestación aumentan.

Se han utilizado los medios de Origio®: Blast® y SAGE 1-Step®. La casa comercial afirma que la composición de ácido hialu-

rónico de ambos medios no es comparable, lo que nos ha llevado a realizar éste estudio.

MATERIAL Y MÉTODO:

Mediante un estudio prospectivo y aleatorio se han realizado transferencias tanto en día 3 como en día 5; se les ha asignado mediante una secuencia aleatoria (independientemente del medio de cultivo en el que se han desarrollado los embriones) el medio a utilizar, para posteriormente comparar las tasas de gestación con cada medio.

RESULTADOS:

Los resultados se pueden ver en la **tabla 1**. De las 94 transferencias hechas con medio blast han terminado en gestación 38, con 3 abortos. En el caso de las 98 transferencias hechas con el medio único las gestaciones han sido 33, y los abortos 1 (tabla I).

Las tasa de gestación por transferencia ha sido de 40,4% en las transferencias hechas con medio blast y de 33,7% en el caso

COMUNICACIONES PÓSTER

de medio único Gráfico 1. Las diferencias no han estadísticamente significativas (gráfico 1).

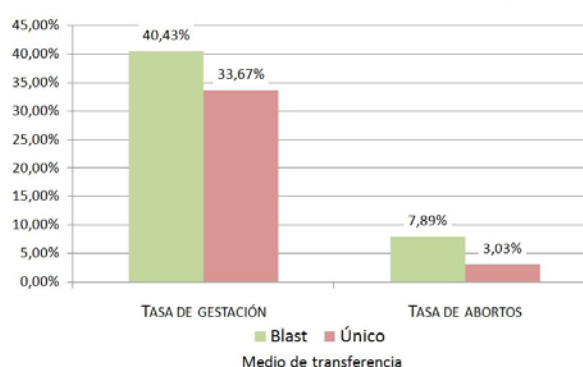
CONCLUSIONES:

Hemos tenido mejor tasa de gestación utilizando el medio de blast para la transferencia. Las diferencias han resultado no ser significativas estadísticamente, pero si en realidad existe

una diferencia como la encontrada, se necesitarían al menos el doble de datos para poder encontrar una significación. El hecho de que la diferencia entre los dos medios se ha mantenido constante a lo largo del estudio, nos alienta a continuar con él hasta que tenga la suficiente potencia como para demostrar las diferencias entre los medios o su inexistencia (en caso de que sea así).

CULTIVO	Transferencias	Gestaciones	Abortos
Blast	94	38	3
Unico	98	33	1
Total	192	71	4

TASA DE GESTACIÓN Y ABORTO SEGÚN EL MEDIO DE TRANSFERENCIA



P-019 ▶

ESTUDIO MORFOLÓGICO DE BLASTOCISTOS Y SU CORRELACIÓN CON LA ANEUPLOIDÍA

A. Villa Milla, R. Gay Fernández Vegue, F. Sotos Borrás, E. Carrillo de Albornoz, S. Bau Aparicio, B. Bueno Olalla, V. Cabezuelo Sánchez, S. Iniesta Pérez, A. Martínez Acera, E. Meliá Fullana

Hospital Ruber Internacional - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN:

Desde siempre, el objetivo de las técnicas de reproducción asistida ha sido obtener embriones de buena calidad para conseguir embarazo y recién nacido sano. La evaluación embrionaria se hace fundamentalmente basándose en parámetros morfológicos, establecidos por los profesionales de la embriología. El desarrollo constante y mejora de los medios y condiciones de los cultivos ha permitido además poder prolongar el desarrollo embrionario hasta el estadio de blastocisto. La valoración morfológica, junto con el empleo cada vez más extendido de la tecnología

time-lapse mediante la cual podemos analizar la dinámica de la división embrionaria, permite una mejor valoración embrionaria.

A pesar de lo anterior, el estudio cromosómico del embrión nos demuestra que no todos los embriones con buena morfología, son cromosómicamente normales.

OBJETIVO:

Evaluar la posible relación entre la morfología embrionaria en estadio de blastocisto y su dotación cromosómica.

COMUNICACIONES PÓSTER

MATERIAL Y MÉTODO:

Durante el periodo de 2017 hasta Marzo de 2019 se han biopsiado para PGT-A 380 blastocistos, procedentes de 94 ciclos (87 de FIV/ICSI y 7 ciclos de ovodonación). Las indicaciones para el estudio han sido: edad materna avanzada, abortos de repetición, gestación anterior con aneuploidia, fallo de implantación, FISH de espermatozoides alterado, ansiedad, y en 3 casos traslocación balanceada en uno de los miembros de la pareja.

Después de evaluar morfológicamente los blastocistos (criterio ASEBIR 2015), se hizo biopsia del trofoectodermo y prácticamente todos los embriones se vitrificaron tras dicha biopsia. El estudio genético de las muestras se hizo mediante NGS.

RESULTADOS:

La media de edad materna fue de 39,1 años (se excluyen los 7 ciclos de ovodonación). En los ciclos de FIV/ICSI se biopsiaron un total de 336 embriones, el 27.1% (91/336) de los blastocistos analizados fueron euploides, el 71,1% (239/336) aneuploides y

en el 1,8% (6/336) no se obtuvo resultado. El 64% (58/91) de los blastos normales presentaron una morfología A y B, mientras que en el 36 % (33/91) fueron de tipo C. Por el contrario entre los aneuploides, el 37% (88/239) eran blastos de buena morfología, y el 63 % (151/239) de morfología C y D.

En los 7 ciclos de ovodonación, se biopsiaron 44 blastos, siendo normales el 59% (26/44), y aneuploides el 41% (18/44). El 84.6% (22/26) de los embriones euploides fueron de tipo A y B, siendo el 15,4% (4/26) restante de calidad C/D. En cuanto a los aneuploides, el 44,5% (8/18) eran de calidad A y B, y el 55,5% (10/18) de calidad C.

CONCLUSIONES:

Aunque parece existir una clara correlación entre la morfología de los blastocistos y la euploidia, no se puede obviar que algo más de un tercio de los procedentes de ciclos de FIV/ICSI, no cumplen esta relación. Por ello y en concordancia con estudios publicados, hoy en día la herramienta más fiable para garantizar la transferencia de un embrión cromosómicamente sano en estos pacientes, es el PGT-A en células de biopsia embrionaria.

P-020 ▶

VALORES DE PROGESTERONA SÉRICA Y TASA DE EUPLOIDÍA EN PACIENTES DE PGT-A

M. Nohales Córcoles, JM. De los santos Molina, V. García Láez, E. Labarta Demur, A. Mercader Bayarri, E. Bosch, MJ. De los santos Molina
IVI Valencia - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

En alrededor de un 35% de las pacientes que se someten a una estimulación ovárica puede ocurrir un aumento de los valores de progesterona en sangre en la fase folicular tardía. Esto puede producir una luteinización prematura y afectar a la receptividad endometrial. Sin embargo, algunos estudios sugieren que la progesterona elevada también podría generar algún tipo de daño en el ovocito, afectando a la calidad embrionaria e incrementando la tasa de aneuploidías, con la subsecuente disminución en la tasa de implantación y de recién nacido vivo.

OBJETIVO:

Determinar si los valores séricos de progesterona (P4) determinados el día de la desencadenación de la ovulación afectan al resultado del ciclo, especialmente en términos de ploidía de los embriones.

MATERIAL Y MÉTODO:

Un total de 2509 pacientes sometidas en nuestro centro a un ciclo de cribado de aneuploidías (PGT-A) entre 2016 y 2018 fueron

COMUNICACIONES PÓSTER

incluidas en este estudio retrospectivo. La edad de las pacientes comprendía entre los 22 y los 49 años. Las biopsias embrionarias se llevaron a cabo en estadio de blastocisto, mediante la técnica de pulling o flicking. Las pacientes fueron sometidas a un protocolo de antagonistas y los niveles de P4 fueron determinados el día de la administración de la hCG. Se aplicó una regresión de Poisson y la P4 fue considerada como una variable continua. Otras variables como la edad, el índice de masa corporal, el índice de sensibilidad ovárica (ISO), el estradiol, el número de ovocitos MII y la ploidía de los embriones fueron incluidas en el modelo. P-valores < 0.05 fueron consideradas estadísticamente significativa.

RESULTADOS:

El incremento del ISO en una unidad predijo un incremento de 1.7 en el número de embriones euploides en términos absolutos. El incremento de la edad reflejó una influencia negativa, disminuyendo alrededor de un 10% la media del número de

embriones euploides. En cuanto a la P4, valores crecientes no disminuyeron la disponibilidad de embriones euploides candidatos a transferir, si no que un incremento de los valores de P4 predecían un incremento de un 7% de embriones euploides.

CONCLUSIONES:

Contra nuestro pronóstico, esta aproximación inicial de la P4 muestra que sus valores séricos el día de la desencadenación de la ovulación son un marcador sustituto de una alta respuesta ovárica, relacionándose positivamente también con el número de embriones euploides. La relación parece lógica, puesto que en pacientes con elevada ISO un mayor número de folículos producirán dos efectos. Por una parte, un incremento de los niveles séricos de P4. Por otra parte, un mayor número absoluto de embriones y, por tanto, un mayor número absoluto de embriones euploides. Sin embargo, faltaría determinar la relación existente entre valores séricos de P4 altos y tasa de euploidía en pacientes con una baja respuesta ovárica.

ADECUACIÓN DE LOS EVENTOS MORFOCINÉTICOS PARA LA SELECCIÓN DE EMBRIONES DE ALTO PODER DE IMPLANTACIÓN EN NUESTRO LABORATORIO

M. Lierta Sancho, JL. Gámez Prieto, L. Tomás Anadón, C. De Bonrostro Torralba, I. Giménez Blasco, J. Marqués Galán, A. Urries López.

Quironsalud Zaragoza - Zaragoza (Zaragoza)

INTRODUCCIÓN:

Por todos es sabido que la selección embrionaria es una de las partes más importantes en los tratamientos de reproducción asistida. La incorporación de los sistemas time – lapse a los laboratorios está permitiendo evaluar morfocinéticamente el desarrollo embrionario.

OBJETIVO:

El objetivo de nuestro trabajo es validar un algoritmo que nos permita predecir el embrión de mayor potencial de implantación.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo en el que se incluyeron 150 pacientes, con una edad media de $34,7 \pm 2,8$ años que se sometieron a un tratamiento de FIV. Se estudiaron 238 embriones, de

los cuales 98 implantaron y 140 no. Para la evaluación de los eventos morfocinéticos se utilizaron imágenes captadas por el incubador GERI+. Los parámetros que se analizaron fueron:

- Asimetría
- Multinucleación
- Fragmentación.
- t2: Tiempo desde la inseminación hasta que se completa la división a 2 células.
- t3: Tiempo desde la inseminación hasta que se completa la división a 3 células.
- t4: Tiempo desde la inseminación hasta que se completa la división a 4 células.
- t5: Tiempo desde la inseminación hasta que se completa la división a 5 células.
- cc2: Tiempo que dura el segundo ciclo celular (t3-t2), de 2 a 3 células.
- cc3: Tiempo que dura el tercer ciclo celular (t5-t3), de 3 a 5 células.

COMUNICACIONES PÓSTER

- t5-t2: 2 a 5 células, combina los conceptos de sincronía y duración de ciclo celular.
- s2: Sincronía del segundo ciclo celular (t4-t3), de 2 a 4 células.

Para la evaluación de la morfología se utilizaron los criterios ASEBIR, y para la cinética se establecieron unos rangos óptimos en base a los porcentajes de implantación.

Se realizó análisis estadístico, considerando la presencia de significancias estadísticas cuando el valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS:

Tras el análisis de los diferentes eventos se observó que había varios parámetros que se correlacionaban con la implantación. Los parámetros más predictivos fueron: cc2, mayor a 5h; s2, menor a 5h; cc3 entre 11-15h y t2, entre 24-25h. Con ellos se llevó a cabo la creación de un algoritmo que pudiera predecir el embrión de mayor poder de implantación. Tras la aplicación de dicho algoritmo se creó una categorización (tabla I).

1: Embrones con un cc2, s2, cc3 y t2 dentro del rango establecido, con un porcentaje de implantación de un 70,4 %. (n=27)

2: Embrones con un cc2, s2, cc3 dentro del rango establecido y un t2 fuera de rango, con un porcentaje de implantación de un 48,7 %. (n=115)

3: Embrones con un cc2, s2, t2 dentro del rango establecido y un cc3 fuera de rango, con un porcentaje de implantación de un 40 %.

(n=5)

4: Embrones con un cc2, s2 dentro del rango establecido y cc3 y t2 fuera de rango, con un porcentaje de implantación de un 29,4 %. (n=68)

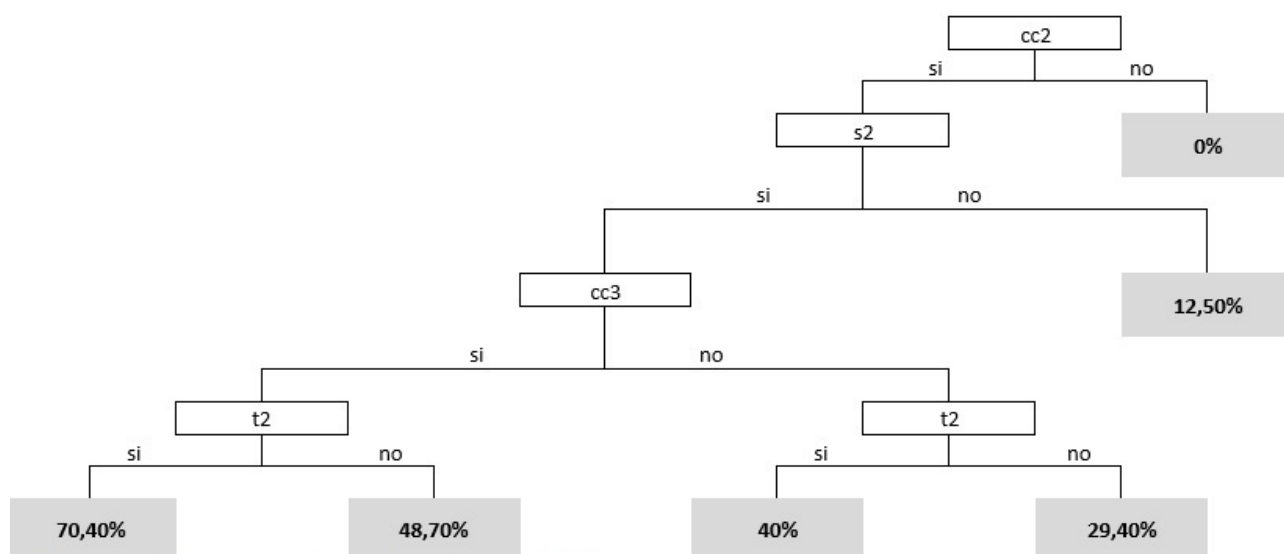
5: Embrones con un cc2 dentro de rango y s2 fuera de rango, con un porcentaje de implantación de un 12,5 %. (n=8)

6: Embrones con un cc2 fuera de rango, con un porcentaje de implantación de un 0 %. (n=15)

Tras el análisis estadístico se observaron diferencias estadísticamente significativas en los embriones cat. 1, frente a embriones de cat. 2, cat. 4 cat. 5 y cat. 6. ($p < 0,05$)

CONCLUSIONES:

- La creación de un algoritmo propio de cada laboratorio nos va a permitir optimizar la selección embrionaria.
- Aquellos embriones que presentan un cc2 más 5 de horas, un s2 menor a 5 horas, un cc3 entre 11 y 15 horas y un t2 entre 24 y 25 horas, podrían ser considerados como embriones de alto poder de implantación (70,4%).
- Los embriones que quedan fuera del rango cc2, con un porcentaje de implantación de 0%, deberíamos no transferirlos.
- Para concluir, establecer una puntuación desde las imágenes obtenidas por un incubador time - lapse es una buena estrategia para seleccionar el mejor embrión y con ello mejorar nuestros resultados.



Gráfica 1. Algoritmo. Porcentajes de implantación según criterios morfofocinéticos.

EXPLORANDO LA CONCORDANCIA ENTRE OBSERVADORES EXPERIMENTADOS EN LA EVALUACIÓN EMBRIONARIA Y LA CLASIFICACIÓN ASEBIR

MC. Pons Gatell (1), B. Carrasco Canal (1), N. Rives Enedaguila (2), J. Teruel López (3), A. Delgado Mendive (4), I. Cuevas Saiz (5), Y. Cabello Vives (6), M. Cuadros Vargas (7), J. Muñoz Ramírez (8), MV. Hurtado de Mendoza Acosta (9)

(1) Hospital Universitari Dexeus - Barcelona (Barcelona), (2) Barcelona IVF - Barcelona (Barcelona), (3) Equipo Médico Crespo - Valencia (Valencia), (4) IVI Valencia - Valencia (Valencia), (5) Hospital General Universitario de Valencia - Valencia (Valencia), (6) Clínica Ruber - Madrid (Madrid), (7) Madrid (Madrid), (8) HM Toledo - Toledo (Toledo), (9) Sevilla (Sevilla)

INTRODUCCIÓN:

Los estudios multicéntricos son un instrumento clave para la validación de una clasificación embrionaria. No obstante, las eventuales variaciones en la evaluación embrionaria entre distintos observadores pueden implicar la interpretación errónea de los resultados. Precisamente, realizar un test de concordancia entre los participantes antes de iniciar el estudio resulta fundamental para, si el grado de acuerdo es óptimo, respaldar la fiabilidad de los resultados en estudios multicéntricos.

OBJETIVO:

Determinar el grado de acuerdo entre centros participantes (observadores) en la evaluación embrionaria desde el D1 hasta el D5 de desarrollo según el criterio ASEBIR como paso previo a la realización de un estudio multicéntrico de validación de la clasificación morfológica de ASEBIR.

MATERIAL Y MÉTODO:

Seis centros han participado en la evaluación de las características morfológicas de 30 embriones mediante videos registrados con tecnología *time-lapse* con pausa en los tiempos de observación recomendados [17h, 44h y 68h (± 1 h); 92h y 116h (± 2 h)] y visualización del embrión en 7 planos focales para conseguir una imagen tridimensional. Los parámetros analizados fueron: fecundación; en D2 y D3: número de células, fragmentación, simetría, multinucleación y vacuolización; estadio en D4 y en D5: grado de expansión, morfología de la masa celular interna (MCI) y del trofocotodermo (TF), además de la categoría ASEBIR del embrión para D2, D3, D4 y D5. El grado de concordancia entre los participantes fue medido con el índice *Kappa* donde $k=1$ equivale al máximo acuerdo y

$k=0$ a falta total de acuerdo. Los valores intermedios son interpretados según la escala siguiente: $k < 0.20$ concordancia pobre, $k: 0.21-0.40$ concordancia débil, $k: 0.41-0.60$ concordancia moderada, $k: 0.61-0.80$ concordancia buena y $k: 0.81-1.0$ concordancia muy buena. Se han considerado como admisibles los valores *kappa* superiores a 0.6. El cálculo del índice *kappa* se ha realizado según Falotico y Quatto (2014), implementado en el package *Raters* de R. La estimación e intervalos de confianza propuestos por Falotico y Quatto, basados en técnicas de permutaciones y metodología *bootstrap*, evitan las bien conocidas y documentadas paradojas de la estimación clásica de Fleiss.

RESULTADOS:

El grado de acuerdo entre participantes resultó admisible en la mayoría de las características analizadas: fecundación; número de células, fragmentación, multinucleación y vacuolización en D2 y D3; estadio en D4 y grado de expansión y morfología del TF en D5. Sin embargo, el acuerdo no fue admisible en la evaluación de la MCI y de la simetría tanto en D2 como en D3. En cuanto a la categoría asignada según el criterio ASEBIR, aunque el acuerdo fue admisible para el D5, resultó inadmisibles para D2, D3 y D4. Ver Tabla I.

CONCLUSIONES:

El grado de acuerdo global entre los participantes puede considerarse hasta cierto punto satisfactorio puesto que el índice *kappa* es superior a 0.61 en 14 de los parámetros analizados, sin embargo dista de ser suficiente debido a los bajos índices *kappa* en la valoración de la simetría celular y de la MCI, ambos por debajo de 0.4. El grado de acuerdo en la categoría de D5 es bueno debido a que la clasificación ASEBIR se basa fundamentalmente en la morfología del TF y poco en la de la MCI. En cambio, la concordancia en las categorías de D2, D3

COMUNICACIONES PÓSTER

y D4 es débil ya que discordancias en alguno de los parámetros puede determinar un cambio de categoría. Considerando que los participantes son embriólogos experimentados, la manifiesta falta de acuerdo en la valoración de la simetría y

de la MCI plantea la necesidad de aplicar las herramientas de medida válidas y el correspondiente *training* y consenso para llegar a acuerdos muy superiores a los actuales.

Tabla I. Índices kappa para la medida del grado de concordancia en los parámetros analizados.

Kappa	D1_P N	D2_CE L	D2_FR G	D2_SIM	D2_CEL_B N	D2_CEL_M N	D2_CEL_VA C	D2_CA T
S*	1	0,946	0,674	0,370	0,788	0,978	0,900	0,561
LCL	1	0,895	0,561	0,223	0,690	0,933	0,828	0,476
UCL	1	0,983	0,782	0,531	0,878	1,000	0,959	0,649
Kappa		D3_CE L	D3_FR G	D3_SIM	D3_CEL_B N	D3_CEL_M N	D3_CEL_VA C	D3_CA T
S*		0,765	0,652	0,325	0,853	0,954	0,739	0,576
LCL		0,667	0,520	0,133	0,757	0,885	0,618	0,491
UCL		0,854	0,777	0,542	0,939	1,000	0,849	0,658
Kappa		D4_ESTADO		D4_CA T	D5_EXPAN	D5_MCI	D5_TF	D5_CA T
S*		0,741		0,529	0,844	0,467	0,738	0,699
LCL		0,649		0,445	0,800	0,362	0,661	0,633
UCL		0,831		0,608	0,885	0,560	0,808	0,764

P-023 ▶

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD EMBRIONARIA EN DÍA 3 EN FUNCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE OXÍGENO

B. Valenzuela Díaz, E. Romero Luna, A. Guerrero Coronil, V. Rey Caballero, JL. García Benítez
Caremujer - Sevilla (Sevilla)

INTRODUCCIÓN:

En la actualidad la optimización de las condiciones de cultivo embrionario *in vitro* se ha convertido en una de las prioridades de los laboratorios de Reproducción Asistida centrándose en asemejarlas al entorno de los embriones *in vitro*. El desarrollo previo a la implantación es un periodo de cambio dinámico y de reprogramación genómica durante el cual el embrión se muestra extremadamente sensible a su ambiente externo. Factores físicos y químicos subóptimos durante esta etapa pueden tener un impacto en el desarrollo de este, especialmente la temperatura, el oxígeno y la composición de los medios.

Sabemos que dentro del tracto reproductor femenino la concentración de oxígeno fluctúa entre el 2 y el 8%, valores alejados de las condiciones atmosféricas. Numerosos estudios han demostrado que concentraciones de oxígeno elevadas, no fisiológicas, tienen una influencia negativa sobre el desarrollo embrionario a través del estrés oxidativo, con mayores tasas de fragmentación, apoptosis, lentitud o interrupción evolutiva. Así como fluctuaciones o niveles de oxígeno demasiado bajos pueden interferir en la embriogénesis que involucra a muchos procesos metabólicos oxidativos.

COMUNICACIONES PÓSTER

Debido a la importancia que representa el cultivo embrionario en el éxito de los tratamientos de FIV, numerosos grupos coinciden en afirmar los efectos beneficiosos de los niveles reducidos de oxígeno en la calidad embrionaria. Sin embargo, las necesidades pueden variar en las diferentes etapas del desarrollo del embrión con resultados de laboratorio muy diferentes.

OBJETIVO:

El objetivo de este estudio fue comparar la calidad embrionaria en D+3 de embriones cultivados a concentraciones de oxígeno del 20% con aquellos cultivados a concentraciones de oxígeno del 5%.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo realizado entre enero de 2018 y abril de 2019, donde se evaluaron 91 ciclos de pacientes con ovocitos propios con una edad media de 36 años (28-44 años) distribuidas en dos grupos. En el grupo I se incluyeron 55 pacientes (354 embriones) con una edad ≤ 38 años. En el grupo II, 36 pacientes (132 embriones) mayores de 38 años. En cada grupo evaluamos la calidad embrionaria en D+3 comparando los embriones cultivados al 20% de oxígeno con los cultivados al 5%. La clasificación embrionaria atiende a los criterios de ASEBIR.

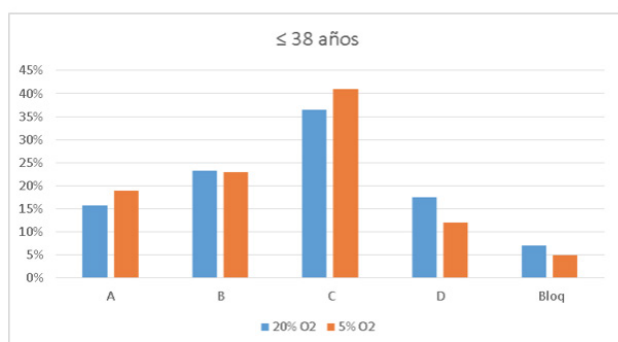
RESULTADOS:

En el grupo I, con una concentración de oxígeno del 20% se obtuvieron un 15.7% de embriones A, 23.2% de embriones B, 36.5% de embriones C, y un 17.5% de embriones D. Con un 5% de oxígeno, 19% embriones A, 23% embriones B, 41% embriones C y 12% de embriones D (Gráfica 1). En el grupo II, con concentraciones del 20% oxígeno 14.3% embriones A, 20.6% embriones B, 36.5% embriones C y 39.1% embriones D. Y con concentración de oxígeno al 5%, se obtuvieron un 20.3% embriones A, 27.5% embriones B, 39.1% embriones C y un 8.7% embriones D (Gráfica 2). En el grupo I no encontramos diferencias en la calidad embrionaria A y B en cuanto a concentración de oxígeno, en cambio, si la hay en los embriones tipo C, siendo ligeramente mayor con menor tensión de oxígeno (36.5%vs 41%). En el grupo II si encontramos diferencias en los embriones de calidad A, B y C, mejorando la calidad al disminuir la concentración de oxígeno. En ambos grupos vemos un porcentaje menor de embriones D y bloqueados con concentraciones de oxígeno al 5%.

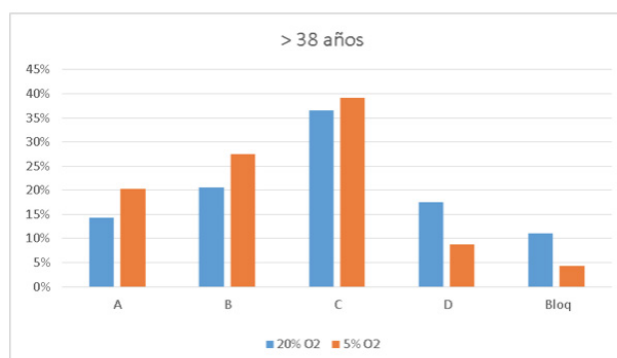
CONCLUSIONES:

Nuestros resultados muestran una mejora en las calidades embrionarias en condiciones de cultivo al 5% en D+3, siendo mayor en el grupo II. Existen evidencias que a partir de 38 años la calidad ovocitaria se ve notablemente disminuida, siendo necesario mejorar las condiciones de cultivo in vitro para que estas se asemejen lo más posible a las condiciones in vivo. De ahí que la disminución de oxígeno pueda favorecer la calidad embrionaria en este grupo de pacientes.

Gráfica 1:



Gráfica 2:



FRECUENCIA DE VARIANTES PATOGENICAS EN GENES "ACMG SECONDARY FINDINGS V2.0" EN 20.000 INDIVIDUOS SANOS MEDIANTE SECUENCIACIÓN DE EXOMA CLÍNICO PARA CRIBADO POBLACIONAL

P. Mir Pardo, J. Panadero, R. Alonso, J. Jiménez, C. Abellán, R. Hernández, G. Escribano, C. Simón, J. Martín
Igenomix - Paterna (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

En programas de reproducción asistida, la introducción de la tecnología de secuenciación masiva (NGS) para cribado poblacional de portadores (*Carrier screening*), permite el análisis simultaneo de miles de variantes génicas para identificar individuos portadores de mutaciones causantes de enfermedades monogénicas (EMG). En concreto, este análisis ofrece a los pacientes sometidos al estudio un cálculo del riesgo de tener descendencia afectada para cada una de las EMG analizadas, tanto para parejas como para pacientes sometidos a donación de gametos, ayudando de esta manera a implementar estrategias para disminuir la incidencia de dichas EMG.

Es posible analizar un número de genes cada vez mayor mediante el uso de NGS, permitiendo ampliar el campo de acción y ofreciendo mayor información a pacientes, por ejemplo, mediante el análisis de variantes que puedan tener una repercusión en la salud del paciente. En este sentido, el ACMG (*American College of Medical Genetics and Genomics*) ha definido un panel de 59 genes que recomiendan analizar si el paciente desea conocer los *secondary findings* (ACMG SF v2.0), ya que estos hallazgos pueden proporcionar información clínicamente relevante para el paciente (Kalia et al., 2016).

OBJETIVO:

Conocer la frecuencia de variantes patogénicas con relevancia clínica en genes ACMG SF v2.0 en pacientes asintomáticos para entender la potencial ventaja de introducir su análisis en programas de cribado poblacional.

MATERIAL Y MÉTODO:

Las muestras incluidas en el estudio fueron previamente analizadas mediante el kit TruSight One (Illumina) para capturar regiones exónicas de 4.800 genes, y secuenciadas en NextSeq 500 (Illumina), en un programa de cribado poblacional. En el presente estudio, se realizó un análisis retrospectivo de dichas muestras anonimizadas mediante proceso bioinformático

propietario para los 59 genes ACMG SF v2.0. Se tuvieron en cuenta como hallazgos las variantes clasificadas como patogénicas o probablemente patogénicas en base a la interpretación de variantes de Clinvar (Landrum et al., 2016).

Un total de 18,364 muestras fueron analizadas retrospectivamente, 9,488 mujeres (51,7%) y 8,876 hombres (48,3%). De ellas, 10,943 corresponden a pacientes (59,6%) y 7,421 fueron donantes (40,4%).

RESULTADOS:

Se encontró al menos un hallazgo asociado a secondary findings en 369 (2%). La distribución de hallazgos entre géneros fue: 2% para hombres, y 2% para mujeres. Igualmente, la distribución de hallazgos entre pacientes y donantes fue equivalente (2%).

Se detectaron un total de 238 variantes únicas. Al menos una variante fue encontrada en 33 (30 AD; 1 AR; 2 XL genes) de los 59 ACMG SFv2.0 genes. La variante patogénica más frecuente fue NM_000238.3:c.1946-2A>C en el gen KCNH2 (n=13), asociada a síndrome del QT largo. Los genes con mayor número de casos positivos fueron BRCA1 y BRCA2, con 75 variantes patogénicas entre ambos. Los genes asociados a Síndrome de Lynch (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2) fueron el segundo grupo de genes en frecuencia de variantes patogénicas, con 30 variantes entre los 4 genes.

CONCLUSIONES:

En el presente estudio retrospectivo de los genes ACMG SFv2.0, se evidenció presencia de variantes con relevancia clínica en el 2% de pacientes asintomáticos analizados, siendo la frecuencia muy similar tanto en hombres como en mujeres, y en pacientes y donantes. Basado en estos resultados, el análisis de *secondary findings* puede ofrecerse de manera opcional junto con los programas de cribado poblacional, de manera que los pacientes que deseen conocer dicha información puedan beneficiarse de ello.

LABORATORIO DE FIV CENTRADO EN EL PACIENTE ¿QUÉ ES LO QUE REALMENTE ESPERAN LOS PACIENTES DEL LABORATORIO DE EMBRIOLOGÍA?

M. Borrallo Fernández (1), V. Badajoz Liébana (2), L. Sánchez Castro (3), M. Serrano Molina (4), M. Ardoy Vilches (5), E. Ferrer i Robles (6), L. Martínez Granados (7), A. Mauri López (8), MA. Vilches Ferrón (9), JA. Castilla Alcalá (10)

(1) Minifiv - Madrid (Madrid), (2) Ginefiv, S.L. - Madrid (Madrid), (3) Hospital Universitario Central de Asturias - Oviedo (Asturias), (4) Clínica IFEM - Córdoba (Córdoba), (5) Hospital Universitario Gregorio Marañón - Madrid (Madrid), (6) CREA - Centro Médico de Reproducción Asistida - Valencia (Valencia), (7) Hospital Universitario Príncipe de Asturias - Madrid (Madrid), (8) Centro Procrear - Reus (Barcelona), (9) Complejo Hospitalario Torrecárdenas - Almería (Almería) (10) U. Reproducción, UGC Obstetricia y Ginecología. HU Virgen de las Nieves. Instituto de Investigación Biosanitaria ibs y Grupo de Interés de Calidad de ASEBIR - Granada (Granada).

INTRODUCCIÓN:

Garantizar la calidad de las prestaciones del Laboratorio de Reproducción es hoy día necesario por requerimientos legales. Sin embargo, muchos de los sistemas de calidad implantados en los laboratorios de embriología se centran en aspectos técnicos y de eficacia. La nueva edición de la ISO9001:2015 da un giro a estos sistemas centrandos gran parte de la gestión de la calidad en los pacientes. Para ello es preciso identificar sus necesidades y diseñar indicadores de calidad centrados en ellos.

OBJETIVO:

Hacer una revisión exhaustiva la bibliografía disponible, donde se analice qué esperan los pacientes usuarios del laboratorio de embriología de éste.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se ha realizado una revisión de alcance en PubMed, ISI, Scopus y Google entre abril 2018-febrero 2019. Además, se revisó la lista de referencias de los artículos identificados con el objeto de no perder citas relevantes. Se analizaron un total de 42 trabajos.

RESULTADOS:

Sólo se han identificado 5 trabajos que aborden la calidad del laboratorio de embriología centrada en los pacientes. En ellos se han identificado 5 aspectos clave:

1. Las clínicas de fertilidad deben ofrecer hacer inseminaciones 6 días a la semana.
2. El ginecólogo debe realizar la anamnesis, informar sobre las posibles causas de infertilidad, consultar a un urólogo en caso de problemas urológicos e iniciar el tratamiento si aumentan las probabilidades de embarazo.
3. Con respecto al análisis de semen, el laboratorio debe informar de los criterios de referencia utilizados, así como de los resultados.
4. Recibir tratamiento los fines de semana.
5. Que todos los miembros del equipo sigan la misma política.
6. No demora en facilitar información de la evaluación embrionaria por parte del laboratorio.

Por otro lado, se han identificado ciertos mitos que pueden distorsionar la calidad percibida del laboratorio de embriología, entre éstos, es clave aclarar que la calidad de los ovocitos y de la reserva ovárica es principalmente paciente dependiente, no laboratorio dependiente; que al considerar el embarazo como inevitable (seguro), se puede relegar al punto más bajo de la lista de "cosas por hacer" y se pospone en el proyecto vital por decisión propia sin consecuencias negativas; y, por último, que perciben las TRA como una "cura fácil y segura" para la infertilidad, cuando su éxito suele ser el resultado de múltiples intentos. La información es esencial para que las mujeres puedan decidir adecuadamente sobre su vida reproductiva, existiendo barreras que afectan a la relación paciente-laboratorio.

Los pacientes priorizan la individualización y atención recibida, siendo estos factores los determinantes en el abandono de las TRA.

COMUNICACIONES PÓSTER

CONCLUSIONES:

En conclusión, un laboratorio de FIV centrado en el paciente sería aquel que: facilite información clara y precisa sobre los falsos mitos del laboratorio de FIV; informe de manera objetiva de los riesgos para pacientes y descendencia; se preocupe

por el estrés que genera e intente conciliar los tratamientos con la rutina teniendo una atención continuada y acortando la demora en la obtención de embarazo; facilite información clara de las pruebas realizadas en el laboratorio; y se integre en equipos multidisciplinares, actuando de forma coordinada con el resto del equipo.

LA SELECCIÓN DE ESPERMATOZOIDES CON ÁCIDO HIALURÓNICO (PICSI) AUMENTA LA EFICIENCIA DE LOS CICLOS DE FIV

L. Alegre Ferri (1), I. Hervás Herrero (1), L. Bori Arnal (1), A. Tejera Pastor (1), N. Garrido Puchalt (2), J. Remohí Giménez (1), M. Meseguer Escrivá (1)

(1) MIRMA GLOBAL - Valencia (Valencia), (2) Fundación IVI - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

La inmadurez espermática está ligada a la presencia de anomalías causadas por defectos durante la espermatogénesis de los espermatozoides. La técnica de selección espermática PICSI (physiologic intracytoplasmic sperm injection) impide que espermatozoides inmaduros sean seleccionados e inyectados en el ovocito; esto se debe a que los espermatozoides que han alcanzado la madurez son capaces de unirse a ácido hialurónico (AH) por receptores específicos. Este es el primer estudio en el que todas las transferencias embrionarias se realizaron en estadio de blastocisto y solamente fueron reclutadas pacientes del programa de ovodonación, evitando así el factor ovocitario por edad.

OBJETIVO:

Nuestro objetivo es demostrar explícitamente la utilidad de la técnica PICSI en ciclos de FIV. Para ello, se hizo un seguimiento desde el primer cigoto obtenido hasta los derivados episodios de transferencia embrionaria que derivasen del tratamiento y se comparó con ciclos en los que se hubiese realizado la técnica de rutina ICSI.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se trata de un estudio unicéntrico, prospectivo y triple ciego. Se reclutaron un total de 277 parejas con infertilidad, 142 en el grupo PICSI y 135 en el grupo ICSI (control). Las muestras de espermatozoides del grupo PICSI se incubaron en gotas rehi-

dratadas de AH para su posterior selección y microinyección. En ambos grupos, se utilizó tecnología time-lapse para la monitorización del cultivo y desarrollo embrionario (Geri, Genea o Embryoscope, Vitrolife). En este estudio se microinyectaron un total de 3104 ovocitos maduros, se obtuvieron 2433 cigotos, 1144 fueron los blastocistos viables resultantes (transferidos+vitrificados). Se transfirieron un total de 488 blastocistos (en fresco + post-desvitrificación) que dieron lugar a 203 recién nacidos vivos. Se crearon grupos de análisis de resultados en función de la concentración y movilidad espermática. Por medio de curvas de supervivencia se calculó la tasa de embarazo acumulada.

RESULTADOS:

La tasa de blastulación fue equiparable entre los grupos PICSI e ICSI. Sin embargo, la proporción de embriones de buena calidad en día 5-6 (clasificación ASEBIR) fue mayor en el grupo PICSI. Aunque la tasa de implantación fue similar en los 2 grupos de tratamiento, se observó una mayor tasa de embarazo en el grupo PICSI 74% vs. 70% en el grupo control (no significativa). También fue mayor tasa de embarazo con la técnica PICSI en parejas incluidas en el grupo con recuento espermático más bajo en comparación con la técnica de rutina ICSI (no significativa). Las tasas de embarazo evolutivo y recién nacido vivo entre grupos fueron comparables. Sin embargo, tras 4 ciclos de transferencia embrionaria, la tasa de embarazo acumulada resultó significativamente mayor en el grupo PICSI que en el grupo control, siendo 88% vs. 71% respectivamente (LogRank y Tarone-ware Test <0.05).

COMUNICACIONES PÓSTER

CONCLUSIONES:

En el presente estudio no se encontraron diferencias significativas atendiendo a parámetros de calidad y desarrollo de la cohorte embrionaria entre los grupos PICSI e ICSI. Por otro lado, la eficiencia global fue significativamente mayor en los

ciclos en los que se llevó a cabo la selección de espermatozoides con AH. Por tanto, la utilización de la técnica PICSI podría ser una herramienta competitiva y representar una ventaja en pacientes del programa de ovodonación, especialmente en aquellos casos en los que un primer ciclo no es suficiente para lograr el embarazo.

P-027 ▶

CALIDAD EMBRIONARIA EN FUNCIÓN DEL TIEMPO QUE HAY ENTRE LA FUSIÓN DE LOS PRONUCLEOS Y LA PRIMERA DIVISION CELULAR

D. García Tajada, M. Pombar Gómez, L. Manzanera Jorge, C. Miyares Erauskin, G. Manzanera Bueno
Centro Médico Manzanera - Logroño (La Rioja)

INTRODUCCIÓN:

La aparición de los incubadores con Time Lapse han permitido el desarrollo en los últimos años de distintos algoritmos matemáticos basados en la cinética de división embrionaria, para poder disponer de más herramientas a la hora de seleccionar los mejores embriones para transferir.

OBJETIVO:

El objeto de este estudio es ver si existe relación entre la calidad de los embriones en día 3 y el tiempo que pasa desde que se fusionan y desaparecen los Pronúcleos y la primera división celular T2.

MATERIAL Y MÉTODO:

Clasificamos un total de 1935 embriones siguiendo los criterios de ASEBIR (A, B, C y D) a las 68 horas post-fecundación. Estos embriones fueron cultivados en el incubador Miri TL y se anotaron los tiempos en los que ocurría la fusión de los pronúcleos y la primera división embrionaria (t2), calculando posteriormente la diferencia entre ambos tiempos.

RESULTADOS:

De los embriones analizados obtuvimos 495 de clase A, 706 de clase B, 399 de clase C y 335 de clase D. La diferencia media entre la fusión de pronúcleos y t2 para los embriones de clase A fue de 2,464 h, para los de clase B fue de 2,417 h, para los de C fue de 2,958 h y para los de D fue de 3,542 h.

Se encuentran diferencias estadísticamente significativas únicamente entre los grupos A y B con el grupo D.

CONCLUSIONES:

Dentro de los grupos de embriones con alto potencial implantatorio no encontramos diferencias en el parámetro morfocinético analizado, pero si que podemos apreciar que cuando este tiempo es próximo o superior a 3 horas la calidad embrionaria baja considerablemente.

A la vista de los resultados podemos decir, que cuando la diferencia entre la fusión de los pronúcleos y la primera división celular se aproxima a las 2,5 horas obtenemos embriones de buena calidad embrionaria, y según va aumentando este tiempo va disminuyendo la calidad embrionaria.

Necesitamos más datos para poder afinar más estos tiempos y poder correlacionarlos con la calidad embrionaria en Blastocito.

¿ESPERAR PARA DECUMULAR Y MICROINYECTAR?

S. Camacho Fernández-Pacheco, J. Gijón De la Santa, O. López Benítez, C. Cañadas Gálvez, M. De la Casa Heras, J.A. Gragera Segura, L. Martínez De la Cruz, C. Urda Muñoz, P. Valenzuela Domínguez, V. Badajoz Liébana
GINEFIV - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN:

En cualquier ciclo de reproducción, lo deseable es contar con un buen número de ovocitos para optimizar las tasas de gestación, pero sin llegar a una hiperestimulación de la paciente.

Ya que el objetivo es recuperar el máximo número de ovocitos maduros (Metafase-II), la punción se debe programar en el momento óptimo del ciclo. Para determinar este momento se realizan controles ecográficos durante la estimulación hormonal y se miden los niveles de concentración de estradiol en sangre.

Se considera que un ovocito estará en Metafase-II, cuando el folículo alcanza un tamaño superior a 16-18mm. En ese momento se administra la hormona hCG para desencadenar la ovulación 36 horas después de su administración, momento en el cual se programa la punción.

Tras la recuperación ovocitaria, la gran incógnita en el laboratorio es cuando proceder al decumulado y posterior microinyección de los ovocitos, ya que a veces nos encontramos que pese a realizar la punción en el momento adecuado por el tamaño folicular, los ovocitos recuperados no se encuentran en Metafase-II.

OBJETIVO:

Con este estudio intentamos determinar si existen diferencias estadísticamente significativas en las tasas de fecundación y calidades embrionarias según las horas de cultivo previas a la decumulación y microinyección.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo randomizado de 91 pacientes con 848 ovocitos microinyectados (media de 9,31 ovocitos/paciente) con una edad media de 31.8 años, microinyectados en nuestro centro entre enero y marzo de 2019, distribuidos en 3 grupos, en función del número de horas que los mantuvimos en cultivo tras la punción hasta el decumulado (Grupo1: menos de 2 horas, Grupo 2: entre 2 y 3 horas, Grupo 3: entre 3 y 4 horas). Por otro lado, dividimos esas mismas pacientes en

función del número de horas desde el decumulado hasta la microinyección (Grupo 1: menos de 1,5 horas; Grupo 2: entre 1,5 y 2,5 horas y Grupo 3: más de 2,5 horas). Para finalizar, analizamos los resultados dividiendo las pacientes en función de las horas totales en cultivo desde la punción hasta la microinyección (Grupo1: menos de 3,5 horas, Grupo 2: entre 3,5 y 4,5 horas y Grupo 3: más de 4,5 horas). Los 3 grupos presentan una Distribución Normal sin diferencias significativas en las edades medias de las pacientes.

RESULTADOS:

Al comparar grupos en función del tiempo transcurrido entre punción y decumulado, las tasas de fecundación son 66,03%, 67,5% y 64% respectivamente. No se observan diferencias significativas. Respecto a calidades embrionarias tampoco hay diferencias significativas (Grupo1: A 19,7%, B 39,7%, C 21,8%, D 12,6%; Grupo 2: A 19,8%, B 46%, C 26% D 8,2%; Grupo 3: A 16,6% B 50% C 26,6% D 6,8%).

Al comparar en función de las horas desde el decumulado hasta la microinyección tampoco se observan diferencias significativas en las tasas de fecundación (63,59%, 67,7% y 67,6% respectivamente) ni calidades embrionarias (Grupo1: A 15,7%, B 41,2%, C 33,3%, D 9,8%; Grupo 2: A 20,4%, B 41,4%, C 27,1% D 11,1%; Grupo 3: A 22,3% B 47,9% C 20,6% D 9,1%).

Por último, respecto al tiempo total transcurrido desde la punción hasta la microinyección, tampoco se observan diferencias significativas en tasas de fecundación (66,66%, 67,4% y 63,4% respectivamente) ni en calidades embrionarias (Grupo1: A 18,4%, B 40%, C 30%, D 11,6%; Grupo 2: A 18,3%, B 44,4%, C 26,5% D 10,8%; Grupo 3: A 19% B 50,6% C 24,6% D 6,4%).

CONCLUSIONES:

En vista de los resultados obtenidos, el tiempo de cultivo de los ovocitos en el laboratorio tras la punción hasta la realización de los procesos siguientes no parece influir en la tasa de fecundación ni en las calidades embrionarias. Quedamos a la espera de poder ampliar el estudio, haciéndolo prospectivo, añadiendo más casos y las tasas de gestación evolutiva.

MULTINUCLEATION AT THE TWO-CELL STAGE. IS THERE ANY CORRECTION PATTERN?

I. Chapa Chordá , C. Olmedo Illueca , S. Marín Real , A. Muijsenberg Alcalá , M. Palma Rodríguez , S. Royo Bolea , L. Abad Velasco , M. Barea Gómez , I. Cuevas Sáiz

Hospital General Universitario de Valencia - Valencia (Valencia)

INTRODUCTION:

The introduction of time-lapse technology has enabled dynamic visualisation and characterization of multinucleation. The use of this novel technology has shown multinucleation to be reversible and more frequent than initially thought in the past, when only classical morphology classification was used. Multinucleation might be present in one or more blastomeres, with a variable number of nuclei within each cell. Furthermore, it has been associated with low blastocyst formation, implantation and live birth rates, in addition to high aneuploidy rates and chromosomal abnormalities. Importantly, within multinucleated embryos, blastomere binucleation patterns present lower aneuploidy rates compared to blastomeres with three or more nuclei, hence having poorer prognosis the latter. For these reasons, multinucleation is currently used as a quality indicator in embryo classification systems, facilitating adequate embryo selection for single transfer.

OBJECTIVES:

To determine whether there is any multinucleation patterns during early embryo stages that favour embryo development and implantation potential.

MATERIAL AND METHODS:

441 embryos from 280 patients which transfer led to Known Implantation Data (KID) were included in the study. All patients underwent IVF treatments from October of 2015 to July of 2018. The mean age of these patients was 34.41 ± 3.84 years old. Embryo development data was collected using time-lapse technology (MIRI-TL, ESCO-Medical©) where embryos were cultured in specific culture dishes in 20 μ l microdroplets of CSCC© (Irvine Scientific); multinucleation type, blastomere nuclei number and morphokinetic parameters at the two- and four-cell stages were among the variables included. Multinucleated embryos were classified into 7 different groups according to nuclei number and size: no multinucleation, 2 even, 2 uneven, 3 even, 3 uneven, >3 even and >3 uneven sized nuclei. Data were processed and statistical analysis were performed using SPSS v.22.0 IBM Statistics. Different statistical tools including Student's t-tests, Chi-squared tests, and COR curves were used accordingly.

RESULTS:

Out of the total non-multinucleated embryos at the two-cell stage, 96.36% maintained this characteristic at the four-cell stage, and only 3.64% presented de novo multinucleation. Within multinucleated two-cell embryos, 77.09% presented non-multinucleation at the four-cell stage whereas 22.91% maintained multinucleation. Statistically significant differences were found ($p < 0.001$) in both associations. Embryo development morphokinetics results showed statistically significant delays ($p < 0.05$) in t3, t6, t7, t8, tPNf and s3 in multinucleated two-cell embryos, and in t8 in multinucleated four-cell embryos, when compared to their respective non-multinucleated counterparts. Statistically significant differences were found among implantation rates and multinucleated and non-multinucleated embryos at the four-cell stage (18.2% vs 37.6%; $p = 0.041$). These differences were not statistically significant in two-cell embryos ($p > 0.05$). No multinucleation patterns, according to the groups defined, have been found to favour implantation and non-implantation in two- and four-cell embryos.

CONCLUSIONS:

Data from our study showed differential behaviours amongst multinucleated and non-multinucleated embryos. Multinucleation at the two-cell stage has shown not to influence implantation potential; however, it favours multinucleation at the four-cell stage, event associated with decreased implantation rates. Moreover, multinucleation has been associated to a delay in morphokinetic parameters. This study provides an insight for a better understanding of the multinucleation phenomenon in early embryo development. In addition, data suggest that multinucleated four-cell embryos have poor prognosis for implantation, nevertheless, it does not affect implantation potential when it is present in two-cell embryos. Further studies increasing sample size need to be conducted in order to refine this prognosis tool and elucidate multinucleation patterns that could predict embryo developmental and implantation potential. These findings would aid in the adequate selection of embryos for single transfer in IVF treatments.

FIV CONVENCIONAL EN EL PROGRAMA DE FECUNDACIÓN IN VITRO EN UNA UNIDAD PÚBLICA DE REPRODUCCIÓN HUMANA ASISTIDA

L. Sanchez Castro (1), V. Castañón Bernardo (1), M. Naves Díaz (2), V. Jiménez Moreno (3), E. Fernández Fernández (1), C. González González (1), M. Méndez López (1), P. Antuña González (1)

(1) HUCA - Oviedo (Asturias), (2) HUCA. ISPA. REDInrREM - Oviedo (Asturias), (3) Hospital Universitario Marqués de Valdecilla - Santander (Cantabria)

INTRODUCCIÓN:

Algunos trabajos en los que se examina la salud de los niños nacidos por técnicas de reproducción humana asistida, concluyen que la ICSI, entre otros factores podría aumentar el riesgo de malformaciones congénitas en los niños nacidos por esta técnica (1). La ICSI se desarrolló para poder tratar factores masculinos severos en los que la FIV convencional fallaba. Sin embargo su uso se ha extendido y en muchos laboratorios ha sustituido por completo a la FIV convencional. En los últimos años han salido también trabajos en los que se concluye que si no hay un factor masculino severo, la ICSI no mejora la tasa de niño nacido en casa (2).

OBJETIVO:

En este trabajo nos proponemos comprobar que los resultados obtenidos cuando usamos a FIV convencional como técnica de fertilización dentro del programa de FIV de nuestra unidad, no difiere de los obtenidos con la ICSI.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se analizaron los ciclos de FIV realizados en la Unidad de Reproducción desde Enero de 2018 hasta final de Febrero de 2019.

El criterio para realizar FIV convencional se basó en el recuento de espermatozoides móviles progresivos después de la capacitación (>3 mill/ml) y que la pareja no tuviera un fallo de fertilización previo.

Las variables comparadas en ambos tipos de técnicas fueron, la media de edad de las pacientes, nº de ovocitos obtenidos, tasa de fertilización, media de embriones transferidos, nº de embriones congelados, nº de transferencias, nº de SET, nº de ciclos freeze all y tasa de embarazo.

RESULTADOS:

En el análisis de los datos encontramos que hay diferencia significativa en el número de transferencias realizadas, siendo mayor en los ciclos de ICSI.

En el grupo de FIV convencional, hay diferencia significativa en el número de embriones congelados ($p < 0.012$), y el número de ciclos freeze all es mayor que en el de ICSI (16% vs 10,6%) aunque en este caso no hay significación estadística.

No se encontraron diferencias significativas en el resto de variables analizadas: edad de la paciente, número de ovocitos, tasa de fertilización, media de embriones transferidos, nº de SET.

La tasa de fallo total de fertilización en FIV clásica fue del 9%

CONCLUSIONES:

Cuando no hay un fallo de fertilización previo y no hay un factor masculino severo asociado, la FIV convencional tiene los mismos resultados que la ICSI en casi todas las variables estudiadas.

La variable número de embriones congelados es significativamente mayor en los ciclo de FIV convencional.

Dado que algunos estudios sugieren una mayor incidencia de malformaciones perinatales relacionadas con la ICSI, la FIV convencional debería ser la técnica de inseminación elegida cuando no hay un factor masculino severo ni un fallo de fertilización previo.

COMUNICACIONES PÓSTER

BIBLIOGRAFÍA:

1. Lacamara C, Ortega C, Villa S, Pommer R, Schwarze JE. Are children born from singleton pregnancies conceived by ICSI at increased risk for congenital malformations when compared to children conceived naturally? A systematic review and meta-analysis. *JBRA Assisted Rep* 2017 21(3):251-59.

2. Li Z, Wang AY, Bowman M, Hammarberg K, Farquar, Johnson L, Safi N and Sullivan EA. ICSI does not increase the cumulative lever birth rate in woman in non-male factor infertility. *Hum Rep* 2018 (7) 1322-30

Tabla 1

	FIV	ICSI	p Valor
Nº total de ciclos	98	122	
Nº de Transferencias	68	102	0,043
Nº SET	26 (38%)	39 (38%)	0,434
Nº ciclos "freeze all"	16 (16%)	13 (10.6%)	0,219

Tabla 2

	FIV	ICSI	p Valor
Media de edad	36,64	36,0	0.172
Media de ovocitos	6,39	6,43	0,934
Tasa de fertilización	0,57	0,62	0,438
Media de embriones transferidos	1,30	1,27	0,629
Nº de embriones congelados	91	99	0.012
Tasa de embarazo clínico	0,22	0,24	0.817

¿ES UN SISTEMA AUTOMATIZADO CAPAZ DE DETECTAR LOS EVENTOS DEL DESARROLLO EMBRIONARIO COMO UN EMBRIÓLOGO?

R. Del Gallego Bonilla, L. Bori Arnal, L. Alegre Ferri, S. Azaña Gutiérrez, I. Hervás Herrero, M. Meseguer Escrivá

IVIRMA Global - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

La consistencia en las anotaciones de los eventos embrionarios en los sistemas de *time-lapse* es esencial para estandarizar la clasificación y selección del mejor embrión a transferir. Esta depende en gran medida en la habilidad y experiencia del embriólogo a cargo. La publicación de guías para la correcta anotación de eventos no ha conseguido eliminar la variabilidad intra e interobservador en ciertos parámetros.

Desde el comienzo de la inteligencia artificial, el desarrollo de algoritmos de *deep learning* se está explorando como alternativa automática para estandarizar las anotaciones. Su incorporación en la evaluación de embriones se está convirtiendo en una tendencia con alto potencial hacia el futuro.

OBJETIVO:

- Comparar las anotaciones morfocinéticas realizadas por un sistema automatizado frente a las manuales realizadas por un equipo de embriólogos en la práctica clínica habitual.
- Comparar la clasificación de los embriones con un algoritmo morfocinético usando ambas anotaciones, manuales y automatizadas.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo con datos recopilados de 1.402 embriones (284 pacientes). Un equipo de embriólogos anotó ocho eventos del desarrollo embrionario mediante el software Geri Assess® 1.3. Los mismos videos se analizaron retrospectivamente con el software automatizado Geri Assess® 2.0, aplicando un filtro de los eventos fuera de rango incorporado en el sistema.

Posteriormente, ambas anotaciones pasaron por un algoritmo de selección embrionaria considerando los parámetros: t3, cc2 (t3-t2) y t5 (Basile et al, 2015). La clasificación de los embriones fue evaluada en ambos grupos. Los datos se analizaron estadísticamente con pruebas de chi cuadrado y tests de proporciones binomiales.

RESULTADOS:

De 11.216 posibles eventos de desarrollo, el grupo de embriólogos detectó el 90% (10.054), el software Geri Assess® 2.0 el 85% (9.546), y ambos concurrentemente el 78% (8.776). La media y la desviación estándar entre los grupos fueron (horas): desaparición de PN 0,6 ($\pm 1,1$), 2 células 0,6 ($\pm 1,3$), 3 células 0,5 ($\pm 2,1$), 4 células 0,7 ($\pm 4,1$), 5 células 1,1 ($\pm 4,3$), 6 células 0,1 ($\pm 4,4$), mórula 4,1 ($\pm 7,4$) y blastocisto temprano 1,1 ($\pm 5,4$). Las tasas de detección más bajas, en el grupo de embriólogos, se encontraron en los eventos más subjetivos: desaparición de PN, mórula y estadio de blastocisto temprano. El software Geri Assess® 2.0 presentaba unas tasas de detección más constantes, sin embargo, estas disminuían tras pasar por el filtro del sistema, el cual eliminó el 12% de los eventos al estar fuera de rango. Las diferencias más marcadas se observaban en los eventos más tardíos. La gran mayoría de eventos, especialmente las primeras divisiones, presentaron una alta detección.

Por otro lado, se encontró una alta concordancia entre los embriólogos y el software en la clasificación de embriones a través del algoritmo de Basile. No se observaron diferencias significativas comparando el porcentaje de embriones transferidos/vitrificados entre los grupos en ninguna categoría: A+, A, B+, B, C+, C, D+ y D; excepto en No Clasificados ($p < 0,05$). El grupo automatizado presentaba un mayor número de embriones sin clasificar, al Geri eliminar los eventos fuera de rango. En particular, t3 fue el parámetro más excluido. La alta detección del software en las divisiones tempranas explica su buen desempeño con los parámetros del algoritmo.

CONCLUSIONES:

Los resultados del estudio apoyan el uso de sistemas automatizados para las anotaciones morfocinéticas, especialmente en los eventos tempranos. Esta herramienta objetiva y no invasiva estandariza el proceso de anotación y podría aliviar la carga de trabajo en la práctica clínica habitual, siempre bajo la supervisión de un embriólogo.

BIBLIOGRAFÍA:

Basile N, Vime P, Florensa M, Aparicio Ruiz B, García Velasco JA, Remohí J, Meseguer M. El uso de la morfocinética como predictor de la implantación: un estudio multicéntrico para definir y validar un algoritmo para la selección de embriones. *Hum Reprod* 2015; 30: 276–283.

COMUNICACIONES PÓSTER

P-032 ▶

TASAS DE ABORTO EN FECUNDACIÓN IN VITRO. EVALUACIÓN DE RESULTADOS EN UNA UNIDAD DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA.

L. Rodríguez Calviño, M. Pombar Pérez, D. Rodríguez Pérez, R. Requeijo Pascual, MA. Andrade Olivé
Complejo Hospitalario Universitario de Vigo - Vigo (Pontevedra)

INTRODUCCIÓN:

Es importante optimizar los resultados en las unidades de reproducción asistida, siendo necesario emplear indicadores de calidad para evaluar los éxitos de los programas de fecundación in vitro. Están descritos diferentes tipos de indicadores, en el cuaderno de Indicadores de Calidad del Laboratorio de Embriología (Grupo de Interés de Calidad de ASEBIR) y en el Manual de Buena Práctica Clínica en Reproducción Asistida (Grupo de Interés de ética y buenas prácticas de la SEF). Uno de estos indicadores es la tasa de abortos (nº abortos/nº gestaciones*100), objeto de estudio en esta comunicación.

Existen múltiples causas que pueden dar lugar a un aborto tras un tratamiento de reproducción asistida, como son edad avanzada de la mujer, alteraciones cromosómicas del embrión o una implantación disfuncional. La tasa de aborto en el Registro de Actividad de la SEF se sitúa en torno a un 20%.

OBJETIVO:

Estudiar la tasa de abortos en nuestra Unidad de Reproducción Asistida y evaluar su relación con el grupo de edad, técnica utilizada y día de transferencia.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo de los ciclos de fecundación *in vitro* realizados desde Enero del año 2015 hasta Marzo del año 2018. Para el análisis de resultados se tienen en cuenta distintas variables:

- Transferencia en fresco vs criotransferencia.
- Grupo de edad de las pacientes: Grupo 1 < 35 años, Grupo 2: 35-39 años, Grupo 3 ≥ 40 años.
- Día de transferencia: D+2 vs D+3.
- Técnica empleada: FIV vs ICSI.

Para el análisis estadístico se utiliza el test Chi-cuadrado de Pearson y prueba exacta de Fisher, en el programa informático PSPP.

Se considera que existen diferencias estadísticamente significativas si $p < 0,05$.

RESULTADOS:

Tabla I. Resultados globales.

	TRANSFERENCIAS EN FRESCO	CRIOTRANSFERENCIAS	P
Nº DE CICLOS	1209	199	
Nº DE TRANSFERENCIAS	1062	175	
GSTACIONES	353	48	0,466
ABORTOS	70	15	0,032
TASA DE ABORTO	19,83%	31,25%	

Tabla II. Resultados por grupo de edad y día de transferencia en transferencias en fresco.

	GRUPO 1 D+2 / D+3 / P	GRUPO 2 D+2 / D+3 / P	GRUPO 3 D+2 / D+3 / P
Nº DE TRANSFERENCIAS	172 / 112 / -	374 / 199 / -	136 / 64 / -
GSTACIONES	65 / 54 / 0,165	109 / 71 / 0,156	34 / 21 / 0,217
ABORTOS	3 / 8 / 0,048	18 / 12 / 0,982	13 / 4 / 0,439
TASA DE ABORTO	4,62% / 14,81% / -	16,51% / 16,90% / -	38,2% / 18,05% / -
TASA DE ABORTO	9,24%	16,67%	30,91%

* TASA DE ABORTO GD+2 vs D+3: $p=0,617$

* TASA DE ABORTO Grupo 1 vs Grupo 2 vs Grupo 3: $p=0,617$

COMUNICACIONES PÓSTER

Tabla III. Resultados en función de la técnica utilizada.

	FIV	ICSI	P
Nº DE TRANSFERENCIAS	304	338	
GESTACIONES	93	100	0,042
ABORTOS	18	22	0,924
TASA DE ABORTO	19,35%	22%	

Tabla IV. Resultados en función de la técnica utilizada, considerando únicamente a las pacientes del grupo 1 (<35 años).

	FIV	ICSI	P
Nº DE TRANSFERENCIAS	57	99	
GESTACIONES	21	38	0,529
ABORTOS	21	5	0,730
TASA DE ABORTO	9,52%	13,16%	

CONCLUSIONES:

La tasa de aborto es:

1. Independiente de la técnica utilizada.
2. Dependiente de la edad de la mujer.
3. Superior en criotransferencias que en las transferencias en fresco.
4. Independiente del día de transferencia. Analizando grupos de edad, en las mujeres más jóvenes hay más abortos en D+3. Sería conveniente ampliar la casuística en estudios posteriores para verificar este resultado.

P-033 ▶

¿INFLUYE LA ESCLEROSIS CON ETANOL DE ENDOMETRIOMAS OVÁRICOS EN LOS RESULTADOS DE LOS CICLOS DE FIV/ICSI?

MC. Gonzalvo López (1), A. Clavero Gilabert (1), N. Morales Rincón (1), A. Castro Rodríguez (1), M. Muñoz Sánchez (1), T. Ortega Martín (1), S. Rodríguez Guirado (1), C.J. Rodríguez Izquierdo (1), A. Sola Leyva (2), JA. Castilla Alcalá (1)

(1) H. U. Virgen de las Nieves - Granada (Granada), (2) Dpto. Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Granada - Granada (Granada)

INTRODUCCIÓN:

El tratamiento considerado gold-standard de los endometriomas ováricos es la quistectomía laparoscópica. Sin embargo, provoca una reducción de la reserva ovárica, por lo que la esclerosis con etanol podría considerarse como una opción más segura a la hora de preservar la fertilidad en estas pacientes.

OBJETIVO:

Evaluar las tasas de gestación en pacientes sometidas a punción-aspiración y esclerosis con etanol de endometriomas previo a ciclos de fertilización *in vitro*.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio observacional retrospectivo realizado en 13 pacientes con esterilidad primaria y endometriosis en las que se llevó

a cabo punción-aspiración y esclerosis con etanol de endometriomas. Posteriormente las pacientes fueron sometidas a ciclo de fertilización *in vitro* o microinseminación espermática (FIV/ICSI) entre los años 2016-2019.

Bajo anestesia local y mediante guía ecográfica transvaginal, el contenido del quiste se aspiró y se introdujo suero salino. Posteriormente se instiló etanol en el interior, manteniéndolo diez minutos para aspirarlo finalmente por completo. Se realizó una ecografía a los 6 meses para evaluar la eficacia y se iniciaron ciclos de FIV/ICSI con estimulación ovárica siguiendo los protocolos habituales.

Se analizaron las tasas de gestación por transferencia, así como variables clínicas (edad media de la mujer, tamaño del endometrioma, bilateralidad, tasa de reducción...) y de laboratorio.

COMUNICACIONES PÓSTER

RESULTADOS:

La edad media de las pacientes fue de 35,6, oscilando entre 27-39 años, los endometriomas midieron entre 4-9,6 cm y el 61,5% fueron bilaterales (8/13). La reducción media de los endometriomas fue del 56%. Todas las pacientes tuvieron una buena tolerancia, sin complicaciones o infección. De las trece pacientes, nueve se sometieron a tratamientos de FIV, realizándose siete transferencias embrionarias (TE) y consiguiéndose 5 gestaciones (71,4%). Una gestación terminó en aborto (20%) y de las 4 gestaciones evolutivas, tres han finalizado en parto y una está actualmente embarazada (tasa de gestación evolutiva por TE: 57,1%). Dos pacientes se encuentran aún en tratamiento reproductivo.

CONCLUSIONES:

La punción-aspiración y esclerosis con etanol en pacientes que van a ser sometidas a FIV, es una técnica bien tolerada que además facilita el acceso a los folículos durante la punción, obteniéndose buenos resultados en las tasas de gestación en ciclos posteriores de FIV/ICSI. Por tanto, debe tenerse en cuenta la incorporación de esta técnica en los centros de Reproducción Asistida, dado que evita la cirugía y por tanto, la reducción de la reserva ovárica que conlleva.

P-034 ▶

TASA DE MALFORMACIONES CONGÉNITAS EN NIÑOS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA

P. Muñoz Soriano, E. Ferrer Robles, V. Antequera Durán, M. Ferrer Buitrago, C. Calatayud Lliso
CREA - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

Diferentes estudios han descrito una relación entre el uso de tratamientos de reproducción asistida (TRA) y un aumento en la incidencia de malformaciones congénitas (MC), principalmente en niños nacidos tras ICSI. En esta relación no queda claramente definida la incidencia de MC en otros tratamientos como por ejemplo la vitrificación ovocitaria. En España disponemos del Registro Nacional de Actividad-Registro SEF que nos puede servir para comparar la incidencia de MC en TRA respecto a la población general, cuya información consta en registros autonómicos de anomalías congénitas, como en el caso del País Vasco y Comunidad Valenciana.

OBJETIVO:

Comparación de la incidencia de malformaciones congénitas en reproducción asistida respecto a la población general.

MATERIAL Y MÉTODO:

Para la obtención de los datos se utilizaron tres registros:

- Registro Nacional de Actividad-Registro SEF de los años 2014 a 2016 (SEF).
- Informe "Anomalías Congénitas en la Comunidad Valenciana (CV), 2007-2011" publicado por la Fundació pel Foment de

la Investigació Sanitària i Biomèdica (FISABIO).

- Base de datos del Instituto Nacional de Estadística (número total de nacidos en los años 2007-2011 en la CV).

Se ha obtenido una tasa de malformaciones en la población general de un 2,3%, a partir de la prevalencia (número de nacidos con malformaciones por cada 10.000 nacimientos). Para los datos de nacidos de TRA, se ha utilizado el número de malformaciones (tablas "resultados perinatales") respecto al número de nacidos, tanto vivos (casillas "recién nacidos vivos" para cada técnica) como muertos (tabla de "resultados perinatales"). Se ha realizado un test Z para la comparación de proporciones de malformación publicadas en los registros FISABIO y SEF, de forma global y según TRA. Ambos registros basan la definición de "malformación" en la Clasificación Internacional de Enfermedades.

RESULTADOS:

La incidencia global de MC tras TRA y la media por tratamiento, se detallan en la Tabla I. La comparación global y por tratamiento respecto a la población general, se detalla en la Tabla II.

Al comparar los resultados del registro SEF y del informe FISABIO, se obtiene un valor significativamente superior de MC en TRA respecto a la población general. No se observa mayor incidencia en FIV ni en transferencias de embriones congelados con ovocitos propios, pero sí cuando se realiza ICSI. Al utilizar

COMUNICACIONES PÓSTER

ovocitos donados, se observa una tasa de malformaciones más elevada que en la población general. Destaca, en los resultados obtenidos, la incidencia de MC con el uso de ovocitos vitrificados, con valores que duplican los resultados de la población general y superiores también a los observados con ovocitos donados frescos. Solo en técnicas de inseminación artificial y PGT se observó una disminución significativa en la tasa de MC respecto a la población general.

CONCLUSIONES:

Este análisis muestra una mayor incidencia de MC en niños nacidos tras ICSI y tras ovodonación, especialmente cuando se utilizan ovocitos vitrificados. Si bien es cierto que el dato sobre ovodonación podría relacionarse con un mayor riesgo de complicaciones obs-

tétricas y neonatales en mujeres de edad avanzada, no se observa, sin embargo, este incremento en la tasa de MC en el grupo de embriodonación, donde el perfil de pacientes es similar (cabe resaltar la desviación en el dato correspondiente al año 2015 en este grupo).

Es fundamental interpretar estos resultados con objetividad y cautela, dadas las limitaciones técnicas de este estudio. Estas radican, principalmente, en los propios datos de los registros (tamaño muestral de algunos grupos, datos incompletos, tipo de malformación, características de la población, edad, multiplicidad de la gestación, etc.).

Se está llevando a cabo una ampliación de este análisis incluyendo mayor información sobre los grupos poblacionales y el tipo de malformaciones.

Tabla I. Incidencia de malformaciones congénitas por año según datos del Registro SEF.

Técnica	2014			2015			2016			Tasa MC %	Tasa MC %	Tasa MC %
	MC	NV	NM	MC	NV	NM	MC	NV	NM	2014	2015	2016
IAC	52	3049	17	32	3027	15	27	2640	9	1,7	1,1	1,0
IAD	27	1819	11	21	1950	15	29	2147	17	1,5	1,1	1,3
FIV PROPIOS	22	1141	7	32	1239	4	32	1199	10	1,9	2,6	2,6
ICSI PROPIOS	273	9152	67	218	8860	54	225	8156	62	3,0	2,4	2,7
FIV DONANTE	17	6313	3	5	5893	2	8	5815	4	3,5	3,2	3,8
ICSI DONANTE	204		15	182		18	212		18			
TEC PROPIOS	212	4737	20	130	6016	15	154	7065	29	2,5	2,2	2,2
TEC DONANTE	143	3384	21	102	3797	15	159	4346	31	4,2	2,7	3,6
PGT	21	1006	3	18	1214	3	25	1321	7	2,1	1,5	1,9
OVO VIT PROPIOS	134	263	9	10	255	1	13	201	1	5,2	3,9	6,4
OVO VIT DONADOS		2311		174	2527	12	82	2498	10		6,9	3,3
TEC OVO VIT PROPIOS	-	-	-	6	93	1	2	95	0	-	6,4	2,1
TEC OVO VIT DONADOS	-	-	-	43	770	5	40	924	10	-	5,5	4,3
MADURACIÓN IN VITRO	0	0	0	0	2	0	0	2	0	0,0	0,0	0,0
DONACIÓN EMBRIONES	16	482	2	7	808	2	35	903	2	3,3	0,9	3,9
ACUMULACIÓN	5	272	0	11	217	1	3	191	1	1,8	4,0	1,6
TOTALES	1035	33929	175	991	36722	163	1046	37503	211	3,0	2,7	2,8

MC: Malformaciones congénitas, NV: Nacidos vivos. NM: Nacidos muertos

Tabla II. Comparación de la tasa de malformaciones, global y por tratamiento de reproducción asistida, respecto a la incidencia en la población general.

GRUPO DE ESTUDIO	NÚMEROS DE CASOS	NACIDOS TOTALES	% TASA DE MALFORMACIONES	P-VALOR	
POBLACIÓN GENERAL	6144	265080	2,3	-	
IAC	111	8757	1,3	0,0000	
IAD	77	5916	1,3	0,0000	
FIV PROPIOS	86	3600	1,4	0,6910	NS
ICSI PROPIOS	716	26351	2,7	0,0000	
FIV DONANTE	628	18081	3,5	0,0000	
ICSI DONANTE					
TEC PROPIOS	405	17882	2,3	1,0000	NS
TEC DONANTE	404	11594	3,5	0,0000	
PGT	64	3554	1,8	0,0479	
OVO VIT PROPIOS	23	458	5,5	0,0001	
OVO VIT DONADOS	256	5047	5,1	0,0000	
TEC OVO VIT PROPIOS	8	189	4,2	0,0816	NS
TEC OVO VIT DONADOS	83	1709	4,9	0,0000	
MADURACIÓN IN VITRO	0	4	0,0	0,7589	NS
DONACIÓN EMBRIONES	58	2199	2,6	0,3502	NS
ACUMULACIÓN	19	736	2,6	0,5877	NS
TOTALES	2938	106077	2,8	0,0000	

(*) Datos exclusivamente de 2015 y 2016 por información incompleta en el año 2014

¿MERECE LA PENA MANTENER EN CULTIVO LOS OVOCITOS CON FALLO DE FECUNDACIÓN O FECUNDACIÓN ANÓMALA?

M . Aparicio González (1), L . Herrero Grassa (1), L . Cascales Romero (1), R. Romero Saavedra (1), J. Llácer Aparicio (2), J . Ten Morro (3), R. Bernabéu Pérez (3)

(1) Instituto Bernabéu - Madrid (Madrid), (2) Instituto Bernabéu - Alicante (Alicante), (3) Instituto Bernabéu - Alicante (Alicante)

INTRODUCCIÓN:

La interacción de los gametos masculino y femenino es un proceso altamente complejo regulado por moléculas de señalización. Alteraciones moleculares en dicho proceso provocan fallos en la fecundación del ovocito (Budhwar et al., 2017). En los laboratorios de FIV, alrededor del 20% de los ovocitos inseminados presentan fallo de fecundación.

Además, menos de un 3% de los ovocitos inseminados presentan fecundación anómala. La observación de cigotos de 1 pronúcleo (PN) puede deberse a una activación partenogenética por parte del ovocito o a una aparición asincrónica de los PN (Staessen et al., 2014). Por otra parte, la observación de 3 PN es un signo inequívoco de fecundación anómala que puede ser originado por la combinación de un juego cromosómico materno y dos paternos, por la combinación de dos juegos cromosómicos maternos y uno paterno (Edwards et al., 1967) o por una fragmentación nuclear, dando lugar en este caso a más de 3 PN.

OBJETIVO:

El objetivo de este estudio es determinar si es posible recuperar un número razonable de blastocistos de buena calidad tras el cultivo y observación de estos ovocitos no fecundados correctamente.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio observacional retrospectivo de 326 ciclos de FIV/ICSI entre mayo de 2017 y abril de 2019. Se inseminaron un total de 3057 ovocitos. En el estudio se incluyeron 808 cigotos, de los cuales 672 procedían de ovocitos no fecundados (ONF) y 136 de ovocitos fecundados de forma anómala (OFA) con 1, 3 o más PN.

Para comparar la formación de blastocistos de buena calidad en cada caso, se crearon diferentes grupos dependiendo de la procedencia de dichos ovocitos (propio o donado), el tipo de ovocitos (fresco o vitrificado), el tipo de semen (fresco o congelado) y el tipo de medio de cultivo empleado hasta día 6 de desarrollo

embrionario (GLOBAL®TOTAL®, LifeGlobal® o Continuous Single Culture® Complete, IrvineScientific®).

Los blastocistos se evaluaron siguiendo la clasificación de ASEBIR, y los diferentes grupos de estudio fueron comparados aplicando el test estadístico Chi cuadrado.

RESULTADOS:

La tasa de formación de blastocistos fue de un 2,67% (18/672 cigotos) en ONF, de un 2,43% en cigotos de 1 PN (2/82 cigotos) y de un 9,25% en cigotos de 3 o más PN (5/54 cigotos).

En las tablas adjuntas (tabla I al IV) se observa en la mayoría de los casos que los OFA se dividieron en un porcentaje significativamente mayor que los ONF. Igualmente, se observa que los OFA con 3 o más pronúcleos dan lugar a un porcentaje significativamente superior de blastocistos de buena calidad (A o B, clasificación ASEBIR).

Si comparamos los porcentajes de blastocistos de buena calidad de cada grupo en ningún caso se observan diferencias estadísticamente significativas, salvo en el caso de los cigotos con 3 o más PN, que formaron más blastocistos de buena calidad en medio IRVINE que en GLOBAL (16.67% vs 0.0%; $p=0.03$ (ver tabla IV).

CONCLUSIONES:

Debido al bajo porcentaje de cigotos procedentes de ONF y AFO que alcanzan el estadio de blastocisto, realizar un seguimiento de su evolución no estaría recomendado salvo en aquellos casos con ausencia de fecundación correcta. En dichos casos, este seguimiento debe acompañarse de una biopsia de trofoectodermo que nos permita conocer el estatus cromosómico de estos blastocistos.

COMUNICACIONES PÓSTER

Tabla I. Cigotos observados procedentes de ovocitos propios y donados:

	Tipo cigoto	Total de cigotos observados (n)	% división día 3 (n)	% formación de blastocistos (n)	% calidad A-B blastocistos (n)
Ovocito propio	0 PN	273	23,44 (64) a, b	5,86 (16) c, d	2,56 (7) e
	1 PN	20	55 (11) a	20 (4) c	5 (1)
	≥3 PN	21	61,9 (13) b	19,05 (4) d	14,29 (3) e
Ovocito donado	0 PN	399	28,57 (114) f, g	4,01 (16) h	2,76 (11)
	1 PN	62	70,97 (44) f	6,45 (4)	1,61 (1)
	≥3 PN	33	60,61 (20) g	21,21 (7) h	6,06 (2)

a: p=0.0018; b: p=0.0001; c: p=0.03; d: p=0.03; e: p=0.004; f: p=0.0000; g: p=0.0001; h: p=0.0000.

Tabla II. Cigotos observados procedentes de ovocitos frescos y vitrificados.

	Tipo cigoto	Total de cigotos observados (n)	% división día 3 (n)	% formación de blastocistos (n)	% calidad A-B blastocistos (n)
Ovocito fresco	0 PN	364	20,33 (74) a, b	4,95 (18) c	2,47 (9)
	1 PN	29	55,17 (16) a	13,79 (4) c	3,45 (1)
	≥3 PN	22	45,45 (10) b	9,09 (2)	4,55 (1)
Ovocito vitrificado	0 PN	308	33,77 (104) d, e	4,55 (14) f, g	2,92 (9) h, i
	1 PN	53	73,58 (39) d	7,55 (4) f	1,89 (1) h
	≥3 PN	32	71,88 (23) e	28,13 (9) g	12,50 (4) i

a: p=0.0001; b: p=0.005; c: p=0.04; d: p=0.0000; e: p=0.0000; f: p=0.0000; g: p=0.03; h: p=0.007; i: p=0.04.

COMUNICACIONES PÓSTER

Tabla III. Cigotos observados procedentes de semen fresco y congelado.

	Tipo cigoto	Total de cigotos observados (n)	% división día 3 (n)	% formación de blastocistos (n)	% calidad A-B blastocistos (n)
Semen fresco	0 PN	483	24,43 (118) a, b	5,18 (25) c	2,69 (13)
	1 PN	59	67,80 (40) a	8,47 (5)	3,39 (2)
	≥3 PN	37	59,46 (22) b	21,62 (8) c	5,41 (2)
semen congelado	0 PN	181	33,15 (60) d, e	3,87 (7) f	2,76 (5)
	1 PN	23	65,22 (15) d	13,04 (3)	4,35 (1)
	≥3 PN	17	64,71 (11) e	17,65 (3) f	17,65 (3)

a: p=0.0000; b: p=0.0000; c: p=0.0001; d: p=0.02; e: p=0.009; f: p=0.01.

Tabla IV. Cigotos observados cultivados en medio de cultivo Continuous Single Culture® IrvineScientific® o GLOBAL® TOTAL®, LifeGlobal®.

	Tipo cigoto	Total de cigotos observados (n)	% división día 3 (n)	% formación de blastocistos (n)	% calidad A-B blastocistos (n)
Continuous Single Culture® Complete	0 PN	293	36,52 (107) a, b	5,12 (15) c	3,41 (10) d
	1 PN	40	70,00 (28) a	12,50 (5)	5,00 (2)
	≥3 PN	30	80,00 (24) b	30,00 (9)c	16,67 (5) d
GLOBAL® TOTAL®, LifeGlobal®	0 PN	379	18,73 (71) e, f	4,49 (17)	2,11 (8)
	1 PN	42	64,29 (27) e	7,14 (3)	0,00 (0)
	≥3 PN	24	37,50 (9) f	8,33 (2)	0,00 (0)

a: p=0.0001; b: p=0.0000; c: p=0.0000; d: p=0.001; e: p=0.0000; f: p=0.03.

ANÁLISIS DE LA EFECTIVIDAD DE UNA ESTRATEGIA DE CULTIVO EN GRUPO DE EMBRIONES EN COMPARACIÓN CON EL CULTIVO INDIVIDUAL EN MEDIO SECUENCIAL

J. Sousa Santos, L. Venegas Montero, A. Braula Reis, M. Pedro, P. Ferreira, M. Gallardo Molina.

MaloClinic-Ginemed - Lisboa (Lisboa)

INTRODUCCIÓN:

Los embriones modifican el medio de cultivo, secretando factores autocrinos y paracrinos que pueden influenciar su desarrollo *in vitro*. Estos factores también pueden afectar a los embriones que estén a su alrededor, con interacciones semejantes a las que ocurren en el tracto reproductivo femenino. Es por ello que existe la hipótesis de que mediante el cultivo de embriones en grupo se puede obtener un efecto sinérgico positivo que favorezca su desarrollo. Se estima que el 35% de los laboratorios de FIV utilizan alguna técnica de cultivo grupal. Sin embargo, no existe un protocolo estándar definido en términos de variables como la densidad embrionaria, presencia de barreras físicas entre los embriones, o la exclusión de embriones de muy mal pronóstico.

OBJETIVO:

Evaluar el efecto del cultivo en grupo en micro gotas en la proporción de blastocistos usables (transferidos o criopreservados) por cigoto, en comparación con el cultivo individual.

MATERIAL Y MÉTODO:

Fue realizado un análisis retrospectivo de un periodo desde Mayo de 2017 hasta Enero de 2018 incluyendo 349 embriones de 46 pacientes de ciclos de FIV/ICSI y receptoras de DO, candidatas a cultivo prolongado hasta blastocisto, con más de 5 cigotos 2PN en D1. Los cigotos fueron divididos en 2 grupos tras la valoración de la fecundación. En un grupo se realizó el cultivo en grupos de hasta 3 embriones por cada gota de 30 uL de medio secuencial (Gplus, Vitrolife), renovado en D3, momento en que eran excluidos de los grupos los embriones tipo D según ASEBIR. El otro grupo de embriones fue cultivado de forma individual, a 37°C, 6%CO₂, 5%O₂ y ambiente húmedo. Fueron excluidos pacientes con ≥3 ciclos previos, factor masculino severo y cariotipo alterado.

RESULTADOS:

Fue analizado el desarrollo de 179 embriones de CG y 170 de CI. La tasa de embriones de buena calidad en D3 por cigoto en CG fue de 0,81 y de 0,70 en CI (p=0.0181, Fisher's exact test). La media de blastómeros en D3 fue similar en los dos tipos de cultivo (7,68 vs. 7,39). La tasa de blastocisto utilizable por cigoto fue de 0,59 en CG y 0.49 en CI (p=0.0868). El porcentaje de blastocistos de buena calidad (3-5,A-B) respecto al total fue de 0,84 en CG vs. 0,86 en CI, y las proporciones del grado de expansión de los blastocistos fue similar entre grupos.

Se transfirieron en fresco y tras la vitrificación 96 blastocistos, 74 de los cuales con Known Implantation Data, resultando en un total de 27 sacos gestacionales, 13 de embriones CG y 14 CI (Tasas de implantación 0,38 y 0,36, respectivamente).

CONCLUSIONES:

La estrategia de cultivo en grupo empleada procura maximizar las ventajas del cultivo en grupo basándose en la literatura existente. La proporción de blastocistos utilizables por cigoto 2PN fue más alta cuando los embriones fueron cultivados en grupo. Por la tendencia a la mejora observada y los resultados de otros autores, no se puede descartar un efecto positivo del cultivo en grupo de embriones. Es posible que las condiciones de cultivo en grupo puedan aún ser optimizadas para maximizar dicho efecto, por ejemplo con el uso de medio de cultivo único, y que dichas ventajas puedan ser observadas en estudios prospectivos en poblaciones más homogéneas de pacientes. El potencial de implantación de los blastocistos no parece estar asociado al método de cultivo.

COMPARATIVA DE RESULTADOS ENTRE INCUBADOR TIME LAPSE VS CULTIVO CONTINUO EN UN INCUBADOR BENCHTOP CONVENCIONAL

M. Ortega Ortega, E. Criado Scholz.

FIV Marbella - Marbella (Málaga)

INTRODUCCIÓN:

La primera semana del desarrollo embrionario conlleva fenómenos cruciales como las primeras divisiones, la activación del genoma embrionario, la compactación y el desarrollo del blastocisto. Todos esos pasos están muy controlados e interrelacionados y cualquier adaptación inadecuada al medio de cultivo puede ocasionar cambios en epigenética o metabolismo, incluso alteraciones en el patrón de expresiones génicas de la implantación embrionaria.

El time lapse es una tecnología no invasiva que permite obtener información sobre lo que les está sucediendo a los embriones a través de la toma de imágenes cada cortos periodos de tiempo permitiendo valorar la morfología embrionaria sin alterar las condiciones de incubación del embrión, evitando perturbarlo durante su cultivo. Esto ha demostrado mejorar el desarrollo de los embriones hasta el estadio de blastocito, ya que al no salir del incubador, estos no se ven afectados por los cambios de ambiente externo.

En nuestro laboratorio cultivamos los embriones con un medio único realizando una única renovación de medio en D+1 tras valorar la fecundación, siendo el único momento en el que los embriones se sacan del incubador. No se vuelven a sacar hasta el D+5 de evolución para valorar su calidad antes de la transferencia o congelación. De esta manera no modificamos las condiciones del cultivo embrionario desde D+1 hasta D+5.

OBJETIVO:

Comprobar si la tecnología time lapse supone una mejora en las tasas de blastulación y gestación clínica con respecto a nuestro sistema de cultivo en incubadores benchtop convencionales sin abrirlos hasta D+5.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo de los tratamientos realizados en nuestro centro con ovocitos de donante entre los años 2015 y el 2019.

Para su análisis, se han dividido los resultados en dos grupos de estudio en función del tipo de incubador en el que se ha llevado a cabo el cultivo y del protocolo de valoración de la calidad y la evolución embrionaria, calculando la tasa de fecundación, tasa de blastulación, tasa de gestación bioquímica y gestación clínica.

Grupo I: Tratamientos con cultivo en incubador MiriTL

Grupo II: Tratamientos con cultivo en incubadores benchtop Planner BT-37 (Origio) sin valorar la calidad embrionaria desde D+1 hasta D+5.

En ambos grupos se utilizó medio de cultivo único Sage 1-step (Origio).

Los datos han sido analizados mediante contraste de proporciones para ver la significación estadística.

RESULTADOS:

La tasa de fecundación y la tasa de llegada a blastocisto es sensiblemente mayor en el cultivo en incubador convencional con nuestro sistema de cultivo "sin molestar" a los embriones ($p < 0.05$). (*)

Sin embargo, la tasa de embarazo (β HCG positiva) y la tasa de gestación clínica no presenta diferencias significativas en los distintos grupos de cultivo. (**) (Tabla I, Fig 1).

CONCLUSIONES:

La tecnología time lapse parece no suponer una mejora en la tasa de blastulación ni en la tasa de gestación con respecto a un incubador convencional cuando se cultivan los embriones en un medio continuo y sin modificar las condiciones de incubación al sacar la placa del incubador para su valoración antes de D+5.

De hecho, parece que con este sistema de cultivo sin abrir los incubadores convencionales, incluso parecen mejorar las tasas de fecundación y blastulación.

COMUNICACIONES PÓSTER

Tabla I. Tasa de fecundación, tasa de blastocisto y tasas de gestación (Beta HCG positiva) y gestación clínica.

	N	MII	FEC (*)	BLASTOS (*)	BHCG POS (**)	GEST CLIN (**)
G.I: TIME LAPSE	110	693	504	294	34	28
			72,70%	58,33%	58,60%	48,27%
G.II: INCUBADOR CONVENCIONAL	508	3432	2606	1644	185	157
			75,93%	63,08%	62,28%	52,86%

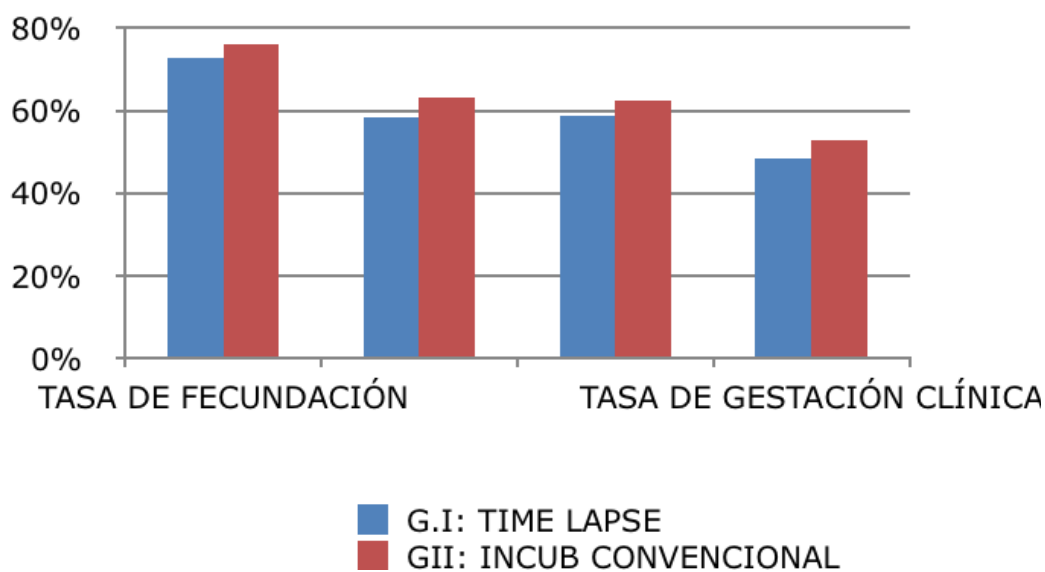


Fig. 1. Comparativa entre los dos tipos de incubadores para las distintas variables de estudio.

¿CUÁNTO TARDA EN REEXPANDIRSE UN BLASTOCISTO QUE LOGRA IMPLANTAR?

E. Martínez Sanz, M. De Las Heras Martínez, O. Gómez Picado, G. Barrenetxea Ziarrusta, MJ. Martínez Cañavate, G. Quea.
Reproducción Bilbao - Bilbao (Vizcaya)

INTRODUCCIÓN:

La mejora de los programas de vitrificación embrionaria hace que cada vez sea más frecuente la política de "freeze all", vitrificando todos los embriones obtenidos y realizando la transferencia en ciclo sustituido en lugar de en fresco. Por otro lado, la transferencia en estadio de blastocisto ofrece más garantías de embarazo, por lo que se tiende a cultivar y vitrificar los embriones en dicho estadio. Una vez desvitrificados estos embriones para su transferencia, se suponen necesarias entre 2-3 horas de cultivo para una reexpansión completa, sin tener cuenta el tamaño original del embrión antes de ser vitrificado ni la densidad de células por las que está formado. Si el cultivo de estos embriones hasta el momento de su transferencia se hace en incubadores convencionales, no se puede evaluar este proceso de reexpansión y únicamente se puede observar el estado en el que se encuentra el embrión en el momento de la transferencia.

OBJETIVO:

Determinar el tiempo mínimo necesario de cultivo embrionario que permita la reexpansión completa del blastocisto antes de que este sea transferido para poder llevar a cabo una programación más precisa de la desvitrificación y optimizar las posibilidades de implantación.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se desvitrificaron 61 embriones vitrificados en día 5 de desarrollo. Antes de ser transferidos, fueron cultivados en Embryoscope +®, un incubador trigas con tecnología video time-lapse que mantiene las condiciones de cultivo estables. Los medios de cultivo utilizados fueron G-2 PLUS y OVOIL, ambos de Vitrolife.

Se evaluó el tiempo empleado por los embriones para lograr una expansión mínima y una expansión completa. Consideramos expansión mínima el momento en el que las células del trofoectodermo entran en contacto con la cara interna de la zona pelúcida y reexpansión completa, el momento en el que las células del trofoectodermo sobrepasan el límite de la zona pelúcida.

A todos los embriones se les practicó eclosión asistida, para evitar el colapso en caso de posible endurecimiento de la ZP causada por la vitrificación

Los embriones fueron clasificados en dos grupos en función del resultado obtenido post transferencia. Grupo 1, embriones que implantaron con presencia de saco embrionaria con latido fetal cardíaco, grupo 2 embriones que no implantaron y embarazos bioquímicos. Para la comparación de medias se utilizó el test de Student.

Todas las transferencias realizadas en nuestro centro son transferencias de embrión único.

RESULTADOS:

La distribución de embriones de buena calidad considerando estos la suma de A+B (según criterios de ASEBIR) es equivalente en ambos grupos, por lo que en caso de hallar diferencias estas no pueden ser atribuidas a la calidad embrionaria.

De los 61 embriones desvitrificados 2 no se reexpandieron debidamente por lo que se canceló su transferencia. Los 59 embriones restantes se distribuyen en Grupo 1 (N=32) y Grupo 2 (N=27). El tiempo de reexpansión mínimo fue de 1,58 (± 1.53) vs 2,39 (± 2.55) horas ($p=0.207$) y el de reexpansión completa 2,72 (± 2.49) vs 3,5 (± 3.55) horas ($p=0.321$) para grupo 1 y 2 respectivamente.

CONCLUSIONES:

A pesar de que los embriones del Grupo 1 tardan menos en comenzar a reexpandirse y alcanzan antes el estado de reexpansión completa las diferencias encontradas con respecto al Grupo 2 no son significativas. No podemos por tanto, establecer el tiempo empleado en la reexpansión como un indicador capaz de predecir el éxito de la transferencia.

En el Grupo 1 la media de horas necesarias para lograr la reexpansión completa fue 2,79 horas, no obstante, encontramos casos en los que fueron necesarias hasta 7 horas de cultivo. Es por ello que consideramos una buena práctica prolongar el cultivo para los embriones vitrificados en D5 siempre y cuando sea posible, con el fin de permitir una rehidratación completa sin perturbar el cultivo.

¿PUEDEN LOS EVENTOS MORFOCINÉTICOS AYUDARNOS A REDUCIR EL RIESGO DE SELECCIÓN DE EMBRIONES ANEUPLOIDES?

L. Gámez Prieto, M. Lierta Sancho, L. Tomás Anadón, C. de Bonrosto Torralba, I. Giménez Blasco, J. Marqués Galán, A. Urries López.

Quironsalud Zaragoza - Zaragoza (Zaragoza)

INTRODUCCIÓN:

A pesar de los grandes avances en cultivo embrionario y morfocinética, la selección de embriones con alto poder de implantación sigue siendo el gran reto con el que nos enfrentamos. Para conseguir estas altas tasas de implantación es necesario transferir embriones euploides, que actualmente los seleccionamos mediante una técnica invasiva como es el test genético preimplantacional de aneuploidías (TGP-A), y que suelen representar menos del 30% de los embriones generados.

Sigue siendo controvertido el uso de la técnica del PGT-A en todos los ciclos de reproducción asistida por el coste económico y la invasividad del procedimiento. Por ello, en estos casos podría ser importante hacer una buena selección embrionaria que nos permitiera reducir el riesgo de seleccionar embriones aneuploides únicamente utilizando criterios morfocinéticos.

OBJETIVO:

El objetivo del trabajo es analizar distintas características morfológicas y eventos cinéticos que puedan estar relacionados con embriones euploides, y de existir dicha relación, crear un algoritmo que nos ayude a reducir el riesgo de seleccionar embriones aneuploides.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo de 29 ciclos de TGP-A en el que se analizaron genéticamente 109 embriones, obteniendo 30 embriones euploides y 79 embriones aneuploides tras el análisis genético. Los motivos para la realización de estos TGP-A fueron abortos de repetición y/o cariotipos alterados.

Estudiamos los siguientes eventos cinéticos y características morfológicas revisando los videos time-lapse registrados en el incubador Geri+: tiempo de aparición de pronúcleos, tiempo de desaparición de pronúcleos, tiempo de presencia de pronúcleos, división temprana (t2), división directa (división de una célula a tres en los 3 primeros ciclos celulares), cc2 (tiempo que transcurre entre 2 y 3 células, 2º ciclo celular), cc3 (tiempo que transcurre entre 3 y 5 células, 3º ciclo celular), s2 (sincronía del 2º ciclo celular, de 2 a 4 células), t5-t2 (combinación de sincro-

nía y duración del ciclo celular), porcentaje de fragmentación embrionaria, multinucleación y asimetría entre blastómeras (criterios de clasificación ASEBIR). Realizamos estudio estadístico.

RESULTADOS:

De los eventos y/o características estudiados encontramos diferencias estadísticamente significativas en (tabla 1):

- División directa: el 3,3% de los embriones euploides presentaron división directa frente al 24,1% de los embriones aneuploides ($p < 0.001$).
- División temprana, t2 (<25h): el 60% de los embriones euploides presentaban una primera división antes de las 25 horas, mientras que en el caso de los aneuploides solo la hacían el 27% de los embriones ($p < 0.002$).
- cc2 (t3-t2): el 86,7% de los embriones euploides realizaron este evento entre el rango de 10 y 14 horas, mientras que lo hicieron el 69,6% de los embriones aneuploides ($p < 0.033$).
- Multinucleación: el 16,7% de los embriones euploides presentaron multinucleación, mientras que la presentaron el 34,2% de los embriones aneuploides ($p < 0.041$).

Para el resto de características morfológicas y eventos cinéticos no encontramos diferencias estadísticamente significativas.

Evento	Euploides	Aneuploides	Pvalue
Nº embriones (n=109)	30 (27,5%)	79 (72,5%)	
Aparición PN (5-9h)	83,3%	83,5%	
Desaparición PN (19-24h)	70,0%	53,2%	
Presencia PN (13-18h)	70,0%	65,4%	
t2 (<25h)	60%*	27,8%	p<0.002
cc2 (10-14h)	86,7%*	69,6%	p<0.033
cc3 (11-15h)	64,5%	58,2%	
s2 (0-2)	83,3%	72,2%	
(t5-t2) (20-29)	83,3%	68,4%	
División directa	3,3%*	24,1%	p<0.001
Multinucleación	16,7%*	34,2%	p<0.041
Fragmentación <10%	73,3%	82,3%	
Asimetría blastómeras	10,0%	11,4%	

Tabla 1. Proporción de embriones euploides y aneuploides que cumplen cada evento.

COMUNICACIONES PÓSTER

CONCLUSIONES:

Solo el 3,3% de los embriones euploides presentaban división directa, por lo que podrían ser descartables en el caso de disponer de más embriones en una misma paciente.

El 56,6% de los embriones euploides presentaban estas tres características: división temprana, ausencia de división directa y ausencia de multinucleación, frente al 15,2% de los embriones aneuploides ($p < 0.001$). Por tanto, en aquellos casos en los

que no esté indicado el TGP-A podría ser una buena combinación de características a tener en cuenta para la selección embrionaria.

Gracias a esta capacidad predictiva (56,6%), casi duplicamos la probabilidad de seleccionar embriones euploides (30% máximo de embriones euploides esperados tras un TGP-A), aunque ello no suponga un dato suficientemente contundente como para sustituir la selección de embriones genéticamente sanos mediante TGP-A en los casos indicados.

LA VISUALIZACIÓN EN DIRECTO POR PARTE DE LOS PACIENTES DEL DESARROLLO DE SUS EMBRIONES MEJORA LAS TASAS DE EMBARAZO EN CICLOS DE FECUNDACIÓN *IN VITRO*

F. Moffa, S. Novo Bruña, C. Castelló Zupanc, M. López-Tejón Pérez

Instituto Marqués - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

En el campo de la reproducción humana, pese a la evidencia de que la infertilidad por sí misma y los tratamientos de reproducción asistida puedan generar ansiedad y estrés, el impacto de las emociones sobre las tasas de embarazo está subestimado. La interacción entre psique y sistemas nervioso, endocrino e inmunitario ha sido ampliamente descrita. El enfoque psico-neuroendocrino-inmune (PNEI) se ha utilizado para entender y tratar diferentes condiciones patológicas desde un punto de vista holístico. El uso de terapias complementarias y la conducta activa parecen estrategias positivas para disminuir la ansiedad, la depresión y el estrés de las pacientes y así incrementar su calidad de vida reproductiva y las tasas de embarazo. En este sentido, una conducta activa, como la visualización en directo de las imágenes capturadas mediante una tecnología time-lapse de sus propios embriones desarrollándose hasta blastocisto podría tener algún efecto en el éxito reproductivo.

OBJETIVO:

Valorar el efecto en las tasas de embarazo del número diario de conexiones visuales a las imágenes en directo de sus propios embriones en desarrollo hasta blastocisto.

MATERIAL Y MÉTODO:

Este es un estudio retrospectivo incluye los datos de 934 pacientes sometidas a un ciclo de fecundación *in vitro* con trans-

ferencia embrionario en fresco durante un periodo de tres años (2016-2018). Para minimizar las variables relacionadas con el factor ovocitario y embrionario, se han incluido en el estudio exclusivamente ciclos de donación de óvulos. Todos los embriones se cultivaron en una incubadora time-lapse y las pacientes pudieron conectarse on-line desde un ordenador o Smartphone a las imágenes de sus embriones antes de la transferencia de embrionaria (blastocisto único). En el día uno de cultivo, los pacientes consencientes recibieron un enlace individualizado y seguro para conectarse on-line a las imágenes de sus propios embriones en cualquier momento durante los cinco días de cultivo.

En este estudio se ha valorado el impacto de la conducta activa relacionada con la conexión visual a las imágenes en directo de los embriones sobre las tasas de embarazo. Para ello las pacientes han sido repartidas en cinco grupos en función del número de visualizaciones on-line registradas (A= 0; B= 1-10; C= 11-20; D= 21-30; E >31).

RESULTADOS:

De todos los pacientes a los que se les facilitó la posibilidad de observar el desarrollo en directo de sus embriones el 69,3% utilizó la aplicación. Los distintos grupos en función del número de visualizaciones diarias presentaron una edad media de la receptora y de la donante de ovocito equivalente entre ellos. Al compararlos entre ellos se ha observado un incremento progresivo de las tasas de embarazo a medida que aumenta el número de visualizaciones (Tabla I). De hecho, se

COMUNICACIONES PÓSTER

ha detectado un incremento estadísticamente significativo ($p < 0,05$) en las tasas de prueba de embarazo (PE+) y de embarazo clínico (LC+) cuando las visualizaciones superaban las 30 conexiones diarias ($<30 = 534/851, 62,7\%$; $459/851, 53,9\%$ vs $>31 = 60/83, 72,3\%$; $54/83, 65,1\%$).

CONCLUSIONES:

La visualización on-line de las imágenes de sus propios embriones durante el ciclo de FIV incrementa la tasa de em-

barazo después de la transferencia de blastocisto único en fresco. Parece ser que el estímulo visual repetido al observar las imágenes podría producir un efecto positivo de conexión emocional entre las pacientes y sus propios embriones en desarrollo, reduciendo así la ansiedad e incrementando su receptividad. Es importante mencionar que para lograr estos beneficios es necesaria una incubadora time-lapse, así como un soporte informático sólido para asegurar una conexión on-line segura y personalizada para cada paciente en cualquier momento durante los cinco días de cultivo.

Grupo	Visualizaciones diarias	N	Edad receptora	Edad donante	PE+	LC+
A	0	287	42,8±3,9	25,5±4,3	175 (61,0%) ^a	146 (50,9%) ^a
B	1-10	328	42,8±4,2	26,9±4,4	207 (63,1%) ^{a,b}	184 (56,1%) ^{a,b}
C	11-20	156	41,8±4,5	27,1±4,2	100 (64,1%) ^{a,b}	68 (55,1%) ^{a,b}
D	21-30	80	41,9±4,1	26,4±4,5	52 (65,0%) ^{a,b}	43 (53,8%) ^{a,b}
E	>31	83	41,9±4,0	26,5±4,1	60 (72,3%) ^b	60 (65,1%) ^b

Tabla I. Comparativa entre grupos de pacientes en función del número de visualizaciones diarias al time-lapse del desarrollo de sus embriones. Diferentes superíndices indican diferencias significativas entre grupos ($p < 0,05$).

P-041 ▶

ALGORITMOS DE TIME-LAPSE: VALIDACIÓN INDIVIDUAL Y RELACIÓN ENTRE ELLOS

E. Güell Penas, J. Cura Ruiz, L. Felip Roca, E. Morono Sobral, O. González Barreda, J. Ibarz Batet, R. Ibarz Serrat, J. Ruiz Romero, M. López Rodríguez.

Conceptum - Reus (Tarragona)

INTRODUCCIÓN:

Desde la aparición de la tecnología time-lapse en la embriología ha habido numerosos intentos para proporcionar algoritmos que permitan predecir el potencial evolutivo e implantatorio de los embriones. La mayoría de los estudios recomiendan que cada laboratorio elabore su propio algoritmo al ser de difícil exportación a los demás laboratorios. Esto se debe a que cada laboratorio tiene unas condiciones de cultivo determinadas y unos protocolos específicos potencialmente poco reproducibles. Por eso, para valorar la importación de un algoritmo, lo primero que deben hacer los

centros es la validación de sus propios embriones con este algoritmo.

OBJETIVO:

Evaluar el grado de concordancia de cuatro de los algoritmos principales con los datos morfofocinéticos de embriones de nuestro centro y la concordancia de dichos algoritmos entre sí.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo de 58 embriones de implantación

COMUNICACIONES PÓSTER

conocida y nacidos sanos obtenidos entre mayo de 2014 y diciembre de 2017. Fueron cultivados con sistema time-lapse Primo Vision (37°C, 6%CO₂). Se anotaron los t-times para cada embrión (Ciray et al., 2014). Se relativizaron los t-times al t0 de cada oocito (iniciando proyecto al empezar ICSI y anotando t0 en el momento en que se va a microinyectar cada oocito). Cada embrión fue valorado por los siguientes 4 algoritmos: (KIDSCORE, Petersen et al., 2017, algoritmo1= Meseguer et al., 2011; algoritmo2=Basile et al., 2015; algoritmo3=Conaghan et al., 2013). No se tuvo en cuenta ningún dato de morfocinética ni de algoritmos para la toma de decisiones sobre la transferencia embrionaria. Se calculó una tabla de frecuencias de cada algoritmo y el número de embriones clasificados en cada una de sus categorías. Por otro lado, se determinó la coincidencia de valoración embrionaria entre algoritmos

RESULTADOS:

El algoritmo KIDSCORE (Petersen et al., 2017) y el algoritmo3 (Conaghan et al., 2013) fueron capaces de dar la máxima nota (categoría 5 y High), al 56,9% y 58,6% de embriones, respectivamente. De hecho, agrupando las categorías 4&5 de KIDSCORE se hallan el 91,4% de los nacidos. Les siguieron el algoritmo2 (Basile et al., 2015) con el 48,28% y por último el algoritmo1 (Meseguer et al., 2011) con el 25,86% (TABLA I).

Analizando los algoritmos entre sí, se encontró un 70,7% de resultados coincidentes entre KIDSCORE y algoritmo3 (Conaghan et al., 2013), seguido de un 63,8% entre algoritmo2 (Basile et al., 2015) y algoritmo3 (Conaghan et al., 2013). Las demás relaciones no superaron el 50% de coincidencia como se detalla en la TABLA II.

TABLA I

5	4	3	2	1
56,90%	34,49%	1,72%	5,17%	1,72%

A+	A-	B+	B-	C+	C-	D+	D
1,72%	24,14%	3,45%	10,34%	12,07%	32,76%	1,72%	13,79%

A+	A-	B+	B-	C+	C-	D+	D
44,83%	3,45%	6,90%	1,72%	5,17%	17,24%	1,72%	18,97%

HIGH	MEDIUM	LOW
58,62%	25,86%	15,52%

El número de embriones que no recibieron la máxima nota fue de 10 (17,2%), pero asumiendo los grupos 4 y 5 conjuntamente, la cifra baja hasta encontrar solo 3 embriones (5,17%) sin la máxima valoración.

CONCLUSIONES:

El algoritmo KIDSCORE muestra el mayor grado de concordancia con los datos morfocinéticos de nuestro centro. Combinando todos los algoritmos, el 82,8% (48/58) de los embriones KID obtuvieron la mejor calificación (categoría 5, A y High), (y si contemplamos las categorías 4 y 5 juntas, el 94,83% de ellos). Se requieren estudios prospectivos para valorar el poder predictivo real durante la toma de decisiones. Sin embargo, la poca concordancia entre sí de la mayoría de algoritmos estudiados pone de relieve la dificultad de la exportación de algoritmos como herramientas únicas o aisladas de las demás.

TABLA II

	n=58	% coincidentes
KIDSCORE vs Algoritmo3	41	70,7%
Algoritmo2 vs Algoritmo3	37	63,8%
Algoritmo1 vs Algoritmo3	23	39,7%
KIDSCORE vs Algoritmo2	21	36,2%
KIDSCORE vs Algoritmo1	12	20,7%
Algoritmo1 vs Algoritmo2	11	19,0%

EFECTO DE LA HUMEDAD EN LAS CONDICIONES DE CULTIVO SOBRE EL DESARROLLO EMBRIONARIO

J. Marcos Alises (1), N. González Espeja (2), JM. De Los Santos López (3), Z. Larreategui Laiseca (2), M. Molla Silva (1), M. Meseguer Escrivá (1).

(1) IVI Murcia (Murcia) (2) IVI Bilbao (Bilbao) (3) IVI Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

Las condiciones de cultivo de un embrión *in vivo* se producen en un ambiente húmedo. Nuestro propósito ha sido comparar, *in vitro*, el desarrollo embrionario en ambiente húmedo y un ambiente seco, bajo unas mismas condiciones de cultivo e incubador.

Nuestros resultados sugieren que las condiciones de cultivo con una atmósfera de alta humedad no mejoran el desarrollo del embrión, no obstante si se produce una mejora en la tasa de embarazo y la tasa de implantación.

LO QUE YA SABEMOS:

El recubrimiento con aceite ha apoyado el uso exitoso de un incubador con atmósfera seca para el cultivo de embriones humanos, previniendo cambios en el pH y la temperatura. Sin embargo, las condiciones secas pueden afectar la osmolalidad debido a la evaporación de los medios de cultivo. Por lo tanto, el uso de condiciones húmedas evita los cambios de osmolalidad. En un estudio anterior encontramos diferencias estadísticas en términos de tasa de blastocistos. La tasa de embarazo e implantación fue diferente pero no significativamente.

OBJETIVO:

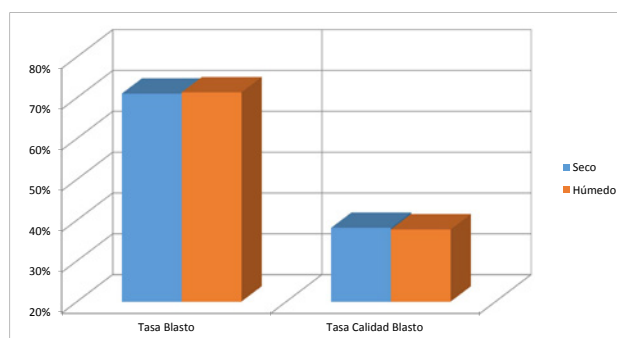
Nuestro propósito ha sido comparar, *in vitro*, el desarrollo embrionario en ambiente húmedo y ambiente seco, bajo unas mismas condiciones de cultivo e incubador.

MATERIAL Y MÉTODO:

Un total de 7544 embriones y 1043 pacientes, pertenecientes al programa de donación de ovocitos y de ovocitos propios, que han sido cultivados en un incubador con sistema Time Lapse (Geri Genea Biomedx, Australia), fueron incluidos en un estudio retrospectivo y multicéntrico, desde 2016 a 2018.

Este incubador tiene 6 cámaras de cultivo individuales. Tres de ellas han trabajado con una atmósfera seca (DC) y las otras 3 en condiciones húmedas (HC). En las cámaras secas, se cultivaron los embriones de 478 pacientes y bajo HC un total de 558. Retrospectivamente, se evaluaron la tasa de blastocistos de buena morfología, La tasa embarazo, la tasa implantación y la

tasa de abortos espontáneos.



	Seco	Húmedo
Tasa Blasto	71,0%	71,3%
Tasa Calidad Blasto	38,1%	37,7%

RESULTADOS:

En un estudio anterior, encontramos que las condiciones de cultivo con una atmósfera de alta humedad mejoraban el desarrollo del embrión y el resultado reproductivo. En nuestro estudio, no encontramos ninguna diferencia en el desarrollo del embrión.

Tuvimos una tasa muy similar de llegada a Blasto cuando los embriones se cultivaron en HC; 71.3% vs 71.0%. También la calidad del embrión (A + B) fue muy similar al 38.1% en HC vs 37.7% y DC. La tasa de embarazo en curso fue mayor en HC versus DC (52.5% vs 47.7% respectivamente), y también la tasa de implantación fue mejor en HC 54.85 vs 52.7 pero esta diferencia no fue estadísticamente diferente.

CONCLUSIONES:

Nuestros resultados sugieren que podemos mejorar nuestros resultados clínicos en condiciones de humedad, pero se necesita un tamaño de muestra más grande de muestras para confirmarlo.

El estudio retrospectivo y el tamaño de la muestra limitan el resultado del estudio. Es necesario realizar un estudio randomizado y aumentar el tamaño de la muestra.

ESTUDIO DE PORTADORES DE ENFERMEDADES RECESIVAS EN DONANTES DE SEMEN MEDIANTE SECUENCIACIÓN MASIVA

Marta. Molina Romero (1), Alberto. Yoldi Chaure (1), Purificación. Navas Bastida (2), Miguel. Gañán Parra (3), José Luis. del Pico Sánchez (1), Ángel. Vaquero Argüelles (1), Juan Pablo. Ramírez López (1), José Antonio. Castilla Alcalá (1)

(1) CEIFER Biobanco - Granada (Granada), (2) CEIFER Biobanco Córdoba - Córdoba (Córdoba), (3) CEIFER Biobanco Sevilla - Sevilla (Sevilla)

INTRODUCCIÓN:

Diferentes sociedades científicas recomiendan el cribado de portadores de enfermedades autosómicas recesivas (EAR) en los donantes de semen, con el objeto de establecer el riesgo genético de padecer las enfermedades estudiadas en la descendencia. Además, el Real Decreto-Ley 9/2014 indica que en la donación de gametos se debe evaluar la carga genética en relación a la existencia de genes autosómicos recesivos en base al conocimiento científico y a la prevalencia conocida en la etnia del donante. Aunque históricamente se ha recomendado el estudio de fibrosis quística y atrofia muscular espinal, en la actualidad no existe un consenso internacional en relación a las enfermedades que deben ser evaluadas en los donantes de gametos. Las enfermedades incluidas en el cribado deberían ser graves y con elevada frecuencia de portadores en nuestra población.

OBJETIVO:

El objetivo de este estudio es determinar, mediante NGS, la frecuencia de variantes patogénicas en genes relacionados con EAR en donantes de semen en nuestra área geográfica.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se han utilizado dos plataformas de NGS, qCarrierPlus (qGenomics; 307 genes) y CarrierTest (Genetaq; 201 genes), en 525 y 316 donantes de semen de raza caucásica, respectivamente. Se analizan las enfermedades con alta frecuencia de portadores encontradas en los donantes. Se comparan las frecuencias observadas con las frecuencias referidas en la literatura, según nuestra área geográfica.

RESULTADOS:

El 81.6% (686/841) de los donantes son portadores de al menos una variante patogénica en genes relacionados con EAR. Encontramos una frecuencia de portadores de variantes patogénicas en el gen CFTR de 1/6 y de 1/105 en el gen SMN1. Otros genes con alta frecuencia de portadores que encontramos fueron: ABCA4 (1/14), PRODH (1/16), HBA2 (1/20), GJB2 (1/22), BTBD9 (1/23), ATP7B (1/24), PKHD1 (1/26), PAH (1/28), DUOX2 (1/29), MEFV (1/30), PYGM (1/31), CYP21A2 (1/32), SLCO1B1 (1/37). Las enfermedades halladas con mayor frecuencia de portadores en los donantes coinciden con las esperadas en base a nuestra área geográfica, pero los datos de frecuencias que encontramos fueron muy superiores a las reflejadas en la literatura científica.

CONCLUSIONES:

La exclusión de donantes portadores de al menos una variante patogénica, nos obligaría a descartar a prácticamente todos los candidatos a donantes (82%), lo que dificultaría en gran medida la accesibilidad a técnicas de reproducción asistida. Estos datos sugieren la importancia de la realización de un adecuado asesoramiento genético en las parejas que se someten a un ciclo de reproducción asistida con semen de donante, con la intención de transmitirles toda esta información y ofrecerles la posibilidad de realizar la asignación de donante mediante matching genético, con el fin de disminuir el riesgo reproductivo de las enfermedades incluidas en el estudio.

UTILIDAD DE LA ECLOSIÓN ASISTIDA CON LÁSER EN EMBRIONES DERIVADOS DE OVOCITOS DE DONANTE VITRIFICADOS Y TRANSFERIDOS A D+3

A. Cardona Barberán, M.J. Zamora, M. Durban, R. Vassena, A. Rodríguez

Clínica Eugén - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

La vitrificación se ha establecido como una técnica eficaz y segura para la criopreservación de ovocitos. Actualmente, se usa de forma habitual en laboratorios FIV, así como en programas de donación de ovocitos. No obstante, existe aún controversia sobre los resultados reproductivos de embriones derivados de ovocitos de donante desvitrificados. La mayoría de artículos no muestran diferencias significativas cuando se comparan las tasas de implantación y embarazo entre ciclos de donación de ovocitos vitrificados y frescos. Un metaanálisis reciente demuestra que existe gran heterogeneidad en los resultados clínicos después de la desvitrificación de ovocitos. Además, aunque la vitrificación presenta altas tasas de supervivencia, aún se sigue investigando los efectos de esta técnica sobre la estructura e integridad genómica de los ovocitos. Se ha descrito que la vitrificación causa endurecimiento de la zona pelúcida, lo que podría dificultar el proceso de eclosión del embrión y, en consecuencia, traducirse en tasas de implantación y embarazo más bajas. En embriones criopreservados se ha descrito que la técnica de eclosión asistida con láser o assisted hatching (AH) en inglés mejora las tasas de implantación y embarazo, sin embargo es escasa la bibliografía sobre la eclosión asistida en embriones derivados de ovocitos vitrificados.

OBJETIVO:

Evaluar si la técnica de eclosión asistida con láser antes de la transferencia en d+3 de embriones procedentes de ovocitos de donante desvitrificados mejora los resultados reproductivos hasta niño nacido en comparación con no realizar dicha técnica.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo de cohortes con un total de 127 ciclos de FIV con ovocitos vitrificados de donante inseminados mediante la técnica de ICSI. Todos los ciclos se realizaron entre marzo 2017 y mayo 2018. En 60 ciclos se realizó la técnica de eclosión asistida (grupo AH) mientras que en 67 ciclos no se realizó dicha técnica (grupo No AH). En el grupo AH se

realizó la eclosión asistida con láser afinando la mitad de la zona pelúcida al 60-80% y seguidamente se realizó la transferencia embrionaria a d+3, mientras que en el grupo No AH se transfirieron los embriones directamente en d+3. Las variables continuas (edad, número de ovocitos Mill recibidos, número de ovocitos fecundados, número de embriones evolutivos en d+3 y número de embriones transferidos en d+3) se compararon entre los dos grupos mediante la prueba t de Student para comprobar que no hubiera diferencias en las características de los ciclos incluidos en el estudio. Las variables categóricas (tasa de supervivencia, tasa de fecundación, y los resultados reproductivos: tasa de implantación, embarazo bioquímico, clínico, evolutivo y niño nacido) se compararon entre los dos grupos utilizando la prueba Chi2. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas con un p-valor < 0.05.

RESULTADOS:

No se encontraron diferencias significativas entre el grupo AH y el grupo No AH para ninguno de los parámetros analizados siendo la tasa de implantación 12.5% vs 14.4% (p=0.67), la tasa de embarazo bioquímico 36.7% vs 38.8% (p=0.80), la tasa de embarazo evolutivo 23.3% vs 26.9% (p=0.65) y la tasa de niño nacido 21.7% vs 17.9% (p=0.60).

CONCLUSIONES:

En vista de los resultados de este estudio, la eclosión asistida no parece mejorar los resultados reproductivos en ciclos de FIV con embriones derivados de ovocitos de donante desvitrificados.

CAN WE USE BLASTOCYST COLLAPSING AS A MARKER OF EMBRYO IMPLANTATION?

A. Navarro Sánchez, C. Olmedo Illueca, S. Marín Real, I. Chapa Chordá, M. Palma Rodríguez, A. Muijsenberg Alcalá, L. Abad Velasco, S. Royo Bolea, M. Barea Gómez, I. Cuevas Sáiz
Hospital General Universitario de Valencia - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

In order to increase results in assisted reproduction techniques, embryo selection criteria are continuously improving. Blastocyst collapses is one of the studied parameters to be included or not as a tool for embryo selection. Some groups have shown that weak collapses help the subsequent hatching of the embryo, however, strong collapses can affect implantation capacity. Studies in mouse blastocysts have shown that collapse is associated with the Na⁺ / K⁺ -ATP pump, which implies an extra energy expenditure. This suggests that repeated strong collapses in human blastocysts, could lead to a lack of energy and subsequent embryo blocking.

OBJECTIVES:

The objective of the present study is determine whether type or quantity of blastocyst collapses provide information about embryo quality and chance of implantation.

MATERIAL AND METHODS:

We retrospectively analyzed data obtained from 113 blastocysts from 96 patients. All patients carried out an in vitro fertilization treatment, and embryo transfers (ET) were performed on day 5. The treatments were recorded between January of 2015 and December of 2018. Embryos were cultured in a MIRI-TL (ESCO-Medical ©) time-lapse incubator in microdroplets of single culture media (CSCC©, Irvine Scientific) covered with mineral oil (Irvine Scientific) until ET. The amount and type of collapses, that defined groups (strong, weak and mixed collapses) were recorded. Morphokinetic characteristics of each embryo were collected too. Statistical analysis was carried out with the SPSS program (V22.0, IBM Statistics), using the t-student test to find differences between groups.

RESULTS:

Observed collapses were classified into three groups: strong, weak and mixed collapses. Number ranged from 0 to 4. Blastocysts that had strong collapses showed a significant negative impact on the implantation rate, observing, in addition, a zero-implantation rate in mixed type collapses. We observed that weak collapses were related to embryo implantation. Regarding number of collapses, those which did not perform any type of collapse did not show significant differences in the pregnancy rate. However, as the number of collapses progressed, there was a notable tendency towards less implantation. Regarding morphokinetic data, those blastocysts with strong collapse exhibited shorter cell cycles during their development and less synchrony between divisions, as opposed to weak collapses. No significant statistical differences were found, but a trend was observed.

CONCLUSIONS:

Our results show a correlation between the collapses at the blastocyst stage and the implantation rate probably due to the waste of ATP in expansions and fast mitotic division. This information could help us to better select embryos with the highest implantation potential. It's necessary to increase sample size to confirm our data.

RELACIÓN DE LA CLASIFICACIÓN EMBRIONARIA, OBTENIDA A TRAVÉS DE UN SISTEMA AUTOMÁTICO BASADO EN MORFOCINÉTICA, CON SU POTENCIAL REPRODUCTIVO

S. Pérez Albalá, B. Aparicio Ruiz, A. Delgado Mendibe, L. Romany Sevilla, A. Galán Rivas, M. Meseguer Escrivá
IVIRMA Valencia - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

El primer algoritmo Eeva (Early Embryo Viability Assessment) estaba basado únicamente en la combinación de dos parámetros calculados automáticamente por el sistema: $P2=t3-t2$ y $P3=t4-t3$. Este algoritmo ya fue propuesto por Wong et al (2010). Varios grupos han demostrado la utilidad de esta clasificación obteniéndose mejoras en la selección embrionaria y disminuyendo la variabilidad entre embriólogos (VerMilyea et al 2014, Conaghan et al 2013, Aparicio-Ruiz et al 2016). Actualmente, una versión mejorada del algoritmo (Eeva Xtend®) permite clasificar los embriones en 5 categorías. Además de tener en cuenta los valores de P2 y P3, incorpora la edad de los ovocitos, número de células en D3 y un análisis de la textura del embrión (relacionado con la fragmentación) para clasificar los embriones.

Por otra parte, estudios recientes han demostrado mejores resultados tras la incubación en cámaras de humedad debido probablemente a una mayor estabilidad en las condiciones de cultivo (Fawzy et al Fert Ster 2017).

OBJETIVO:

Estudiar la correlación de la clasificación proporcionada de forma automática por el algoritmo Xtend, y de las condiciones de incubación (humedad/seco) con el potencial reproductivo (capacidad de alcanzar el estadio de blastocisto, tasa de implantación y porcentaje de euploidía).

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo en el que se incluyeron 362 pacientes procedentes del programa de ovodonación en la primera parte del estudio y 93 pacientes procedentes del programa de PGT en la segunda parte.

Los embriones fueron incubados en un sistema de time-lapse (Geri®, Genea, Australia). Este sistema utiliza su propio algoritmo (Xtend) para clasificar los embriones en 5 categorías (1-5).

En la primera parte del estudio se correlacionaron las categorías Xtend con la tasa de implantación, en función de la calidad de los blastocistos. Debido a que el sistema dispone de cámaras de incubación con humedad y en seco, estudiamos también si

podía existir alguna correlación entre el tipo de incubación y la clasificación proporcionada por el algoritmo Xtend.

El objetivo de la segunda parte fue ver si existía correlación entre el porcentaje de embriones biopsiables y la euploidía según categorías.

RESULTADOS:

En la primera parte, de 514 blastocistos de implantación conocida, las tasas de implantación fueron: 1: 53.91%; 2: 52.63%; 3: 45.68%; 4: 39.02%; 5: 24% ($p=0.017$). Al distinguir la calidad de los blastocistos observamos que esta correlación de las tasas de implantación con las categorías Xtend eran más evidentes en blastocistos de buena calidad morfológica (A/B ASEBIR): 1: 56.7%; 2: 55.9%; 3: 51.6%; 4: 39.35%; 5: 27.8% que en aquellos de peor calidad morfológica (no A/B ASEBIR): 1: 33.3%; 2: 36.4%; 3: 23.5%; 4: 41.7%; 5: 18.2%, a pesar de que las diferencias no fueron en ningún caso estadísticamente significativas. Además, el porcentaje de embriones categorizados como 1-2-3 fue superior en el caso de incubación con humedad (63.3%), respecto a la incubación en seco (57.26%).

En la segunda parte estudiamos el porcentaje de blastocistos biopsiables en cada categoría: 1: 61.7%; 2: 63.1%; 3: 54.3%; 4: 32.3%; 5: 8.6% ($p<0.01$). La tasa de euploides en blastocistos clasificados como 1-2-3 fue 82.3% mientras que sólo el 17.7% de los blastocistos categorizados como 4-5 fueron cromosómicamente normales.

CONCLUSIONES:

Se ha demostrado que la selección embrionaria utilizando la clasificación proporcionada por el algoritmo Xtend está relacionada con la capacidad reproductiva. Los resultados también demuestran que la incubación con humedad ofrece mejores resultados, proporcionando un mayor porcentaje de embriones clasificados con las categorías superiores (1-2-3). Estas categorías se correlacionan con mejores tasas de implantación y de blastocistos euploides. Otra de las conclusiones que podemos sacar con los resultados obtenidos es que este algoritmo es más eficiente en embriones de buena calidad morfológica, siendo por lo tanto una información complementaria y de gran utilidad para el embriólogo a la hora de seleccionar los mejores embriones para transferir.

INDICADORES DE CALIDAD EN EL LABORATORIO DE RHA: OPINIÓN DE USUARIOS

M. Iglesias Núñez (1), C. Olmedo Illueca (2), E. Veiga Álvarez (3), M. Fernández Díaz (4), L. Martínez Granados (5), JM. Moreno García (6), F. Marina Rugero (7), M. Ardoy Vilches (8), AL. González Utor (9), N. Ortiz Piñate (10)

(1) Hospital Universitario Quirónsalud Madrid - Pozuelo de Alarcón (Madrid), (2) Hospital General Universitario de Valencia - Valencia (Valencia), (3) Hospital Clínico Universitario de Santiago - Santiago de Compostela (La Coruña), (4) Clínica Ergo (Ergo Biotech S.L.) - Gijón (Asturias), (5) Hospital Universitario Príncipe de Asturias - Alcalá de Henares (Madrid), (6) Clínica Vistahermosa - Alicante (Alicante), (7) Instituto de Reproducción CEFER - Barcelona (Barcelona), (8) Hospital Universitario Gregorio Marañón - Madrid (Madrid), (9) Yes! Reproducción y CEIFER Biobanco - Sevilla (Sevilla), (10) Instituto Europeo de Fertilidad y Grupo de Interés de Calidad de ASEBIR - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN:

Los indicadores de calidad (IC) son una herramienta fundamental para evaluar el funcionamiento del laboratorio de Reproducción Humana Asistida (RHA). Con la publicación de la UNE179007:2015 se han estandarizado. Hasta la fecha no ha sido evaluada su utilidad por los usuarios.

OBJETIVO:

El Grupo de Interés de Calidad en el Laboratorio de RHA, se propuso como objetivo conocer la opinión de embriólogos clínicos sobre los IC de la UNE179007:2015 para valorar la utilidad de los existentes y la posible necesidad de introducir alguno nuevo.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se elaboró una encuesta que se hizo llegar a los potenciales participantes a través de la página web de ASEBIR, con acceso desde julio de 2018 a abril de 2019. En dicha encuesta se debía valorar los IC que han resultado más controvertidos una vez implementados. Para ello se plantearon 11 preguntas, 1 referente a la utilización de IC, 7 relacionadas con muestras de semen y 3 sobre resultados obtenidos en las técnicas de ICSI y FIV. Además, los participantes debían valorar la posible introducción de nuevos indicadores que no se están empleando actualmente. En este apartado se incorporaron 4 preguntas: 2 de ellas relacionadas con ciclos sin transferencia en fresco ("freeze-all"), 1 sobre porcentaje de embriones útiles y otra sobre transferencias electivas de un solo embrión (eSET). Se seleccionó el percentil 90 de las respuestas dadas para establecer los nuevos valores de los estándares de los IC revisados.

RESULTADOS:

Respondieron a la encuesta 28 participantes de centros de Reproducción Asistida. De ellos el 85,7% indicaron que utilizan los IC en su práctica clínica.

Sólo el 29% encontraron útil el IC actual de "porcentaje de recuperación de espermatozoides móviles progresivos". Sin embargo, el porcentaje de espermatozoides móviles tras REM, sin referirlo a los valores iniciales, fue considerado positivamente por 60% de los participantes, proponiéndose un valor igual o superior al 90% como estándar.

El estándar a nivel deseable del indicador "porcentaje máximo de ovocitos degenerados post-ICSI" fue del 9% y el de porcentaje máximo de fallo de fecundación total en ICSI" y "en FIV", 8% y 10%, respectivamente. Respecto a la incorporación de nuevos indicadores, las respuestas donde se observó mayor uniformidad de criterios fue en la introducción del porcentaje de eSET (96% a favor). El 68% consideró positivo incorporar como IC "el porcentaje de embriones transferidos".

Como IC sobre ciclos "freeze-all", los más escogidos fueron "tasa de gestación clínica acumulada por punción" (64%) y "tasa de gestación clínica en la primera transferencia" (50%).

CONCLUSIONES:

Para una mejora continua de los sistemas de calidad, es necesario conocer la opinión de los usuarios de los indicadores de calidad y actualizar estos a su experiencia. En vista de los resultados, podríamos llegar a las siguientes conclusiones: Es muy recomendable eliminar como IC el "porcentaje de recuperación de espermatozoides móviles progresivos" e incorporar porcentaje de espermatozoides móviles tras REM, sin referirlo a los valores iniciales. El IC "fallo de fecundación total en ICSI" debería revisarse y valorar su actualización, ya que el 50% de los encuestados contestó entre el 4-8%, es decir, parece haber un indicio de que el valor publicado hasta ahora (menos del 3%) sea demasiado bajo. Además, se deberían incorporar IC que hagan referencia a los ciclos "freeze-all" y porcentaje de eSET.

LA TÉCNICA DE MACS PARA LA SELECCIÓN ESPERMÁTICA NO CAUSA NINGÚN EFECTO EN LOS BLASTOCISTOS DEL PROGRAMA DE PGT-A.

L. Romany Sevilla (1), J. Aguilar Prieto (2), P. Gámiz Izquierdo (1), B. Aparicio Ruiz (1), A. Delgado Mendibe (1), M. Meseguer Escrivá (1).

(1) IVIRMA - Valencia (Valencia), (2) IRMA - Vigo (Pontevedra)

INTRODUCCIÓN:

Diversos factores moleculares, como la apoptosis, están implicados en la función espermática. Es más frecuente en espermatozoides de varones infértiles que de conseguir la fecundación podría dar lugar a embriones con anomalías que terminarían con un fracaso del ciclo reproductivo. La selección celular inmunomagnética (MACS) permite eliminar espermatozoides apoptóticos, mediante la anexina-V que se une específicamente a la fosfatidilserina, proteína que se externaliza viéndose la membrana comprometida cuando el proceso de apoptosis se ha iniciado.

OBJETIVO:

Comparar el porcentaje de blastocistos disponibles para biopsiar, tasa de euploides y resultados reproductivos en embriones incubados en el sistema time-lapse cuando utilizamos la técnica de MACS para la selección espermática y cuando utilizamos el swim up como procedimiento de preparación seminal habitual.

MATERIAL Y MÉTODO:

A través de un diseño retrospectivo se distribuyen 500 pacientes en 2 grupos, y antes del ICSI en el grupo de estudio $n=245$ aplicamos swim up+ MACS y en el grupo control sólo aplicamos el swim up $n=255$. Con el uso de la tecnología del time-lapse realizamos un completo seguimiento hasta el estadio de blastocisto óptimo para biopsiar con el correspondiente análisis morfocinético.

RESULTADOS:

Biopsiamos un total de 1600 blastocistos en ambos grupos, obteniendo diferencias significativas con un valor de $p<0,001$ en el grupo de estudio con 716 blastocistos biopsiados (42,7%) y 884 (52,0%) en el grupo control.

El porcentaje de blastocistos euploides en cada grupo es de 42,2% en el grupo de MACS y 38,1% en el grupo control en este caso sin significancia estadística.

Obtenemos resultados similares en cuanto al número de embriones transferidos siendo 0,85 (IC95% 0,6-1,1) y 1,0 (IC95% 0,5-1,5) y tasas de implantación de 38,6% (IC95% 18,2-59,1) y 55,6% (IC95% 30,1-81,0) en el grupo de estudio y el grupo control, respectivamente.

CONCLUSIONES:

Observamos una correlación inversa y significativa cuando utilizamos la tecnología de selección espermática MACS en cuanto a la proporción de blastocistos biopsiables, pero este efecto no se detecta cuando analizamos el número de blastocistos euploides en cada grupo, obteniendo, además, datos similares en cuanto a los resultados reproductivos. Lo que sugiere que cuando aplicamos la tecnología de MACS, esta no tiene ningún efecto sobre el resultado del programa de PGT-A. Los resultados obtenidos están respaldados por un tamaño muestral consistente.

EFFECTOS DE LA QUERCETINA EN LOS MEDIOS DE CULTIVO DE EMBRIONES DE RATÓN OBTENIDOS POR FECUNDACIÓN IN VITRO (FIV)

N. Hernández Rollán (1), M. López Moratón (1), J. Mijares Gordón (1), S. Sánchez Mateos (1), FM. Sánchez Margallo (1), IS. Álvarez Miguel (2)

(1) Centro de Cirugía de Mínima Invasión - Cáceres (Cáceres), (2) Universidad de Extremadura - Badajoz (Badajoz)

INTRODUCCIÓN:

La quercetina es un flavonoide presente en frutas, verduras y bebidas como el vino. La actividad antioxidante de los flavonoides ha atraído gran atención recientemente en reproducción asistida debido a su capacidad de captación de radicales libres. Muchas investigaciones se han centrado en los efectos de los antioxidantes en los gametos masculinos y femeninos y en el desarrollo del embrión, sin embargo no se han estudiado sus efectos durante el estadio de mórula a blastocisto en embriones obtenidos por FIV.

OBJETIVO:

Evaluar el efecto de un tratamiento de quercetina de 2 ó 4 horas sobre la muerte celular y el número de células en blastocistos de ratón obtenidos por FIV.

MATERIAL Y MÉTODO:

Ratones hembras B6D2 se estimularon hormonalmente para activar el reclutamiento folicular y desencadenar la ovulación. Se obtuvieron complejos de cumulus-ovocitos maduros, se realizó una FIV, se cultivaron en KSOM y una vez en estadio de mórula compacta (D3), se dividieron en 6 grupos experimentales: FIVKSOM: tras la fecundación, los embriones se cultivaron en KSOM hasta la fase de blastocisto, a 37 °C con una atmósfera del 5% de CO² y 95% de aire; FIV50µM, FIV10µM, FIV5µM y FIV1µM: las mórulas se cultivaron en medio KSOM suplementado con 50 µg/ml, 10 µg/ml, 5 µg/ml y 1 µg/ml de quercetina, respectivamente, en una atmósfera del 5% de CO² y 95% de aire durante 2 o 4 horas, transfiriéndose nuevamente a KSOM hasta la etapa de blastocistos; IU: blastocistos producidos in vivo (grupo control). En todos los blastocistos obtenidos por FIV se evaluó el número de células (mediante tinción con DAPI) y la muerte celular (ensayo de TUNEL) y se comparó con los resultados de los blastocistos obtenidos IU.

RESULTADOS:

En cuanto al número medio de células, en embriones de FIV cultivados durante 2 horas con quercetina, los resultados fueron de 80.5 para FIVKSOM, 77.46 para FIV50µM, 79.06 para FIV10µM, 85.63 para FIV5µM, y 80.93 para FIV1µM, mientras que para embriones cultivados durante 4 horas con quercetina fueron de 84.1 FIVKSOM, 82.23 para FIV50µM, 89 para FIV10µM, 86.7 para FIV5µM, y 87.56 para FIV1µM. Estos resultados se compararon con los de blastocistos IU, 98.26, y se encontraron diferencias significativas con todos los grupos de FIV 2h, y con los grupos de FIVKSOM y FIV50µM de 4 horas ($p < 0,05$). Además, los embriones tratados durante 4 horas con 10 µM de quercetina presentan un mayor número de células con respecto a los demás grupos. En cuanto al número medio de células muertas en embriones cultivados durante 2 horas con quercetina, los resultados fueron de 0.72 para FIVKSOM, 1.83 para FIV50µM, 0.35 para FIV10µM, 0.08 para FIV5µM, y 0.2 para FIV1µM, mientras que para embriones cultivados durante 4 horas con quercetina, los resultados fueron de 0.10 para FIVKSOM, 0.15 para FIV50µM, 0.04 para FIV10µM, 0.08 para FIV5µM, y 0.08 para FIV1µM. Estos resultados se compararon con los de blastocistos IU, 0.04, y se encontraron diferencias significativas con los grupos de FIVKSOM y FIV50µM de 2h ($p < 0,05$). La muerte celular fue menor en embriones cultivados durante 4 horas con 10 µM de quercetina.

CONCLUSIONES:

Los embriones tratados con quercetina durante 2 horas poseen un menor número de células y mayor muerte celular en comparación con los de 4 horas o los blastocisto IU. Se ha podido observar también que los embriones tratados durante 4 horas con 10 µM de quercetina son de mejor calidad, mientras que los tratados con 50 µM, ya sea durante 2 o 4 horas, presentan menor calidad, probablemente debido a toxicidad producida por la quercetina.

IMPACTO DE LOS POLIMORFISMOS CROMOSÓMICOS EN LA TASA DE ANEUPLOIDÍAS Y MOSAICISMO EMBRIONARIO

V. Peinado Cervera (1), L. Rodrigo Vivó (1), I. Campos Galindo (1), M. Riboldi (2), S. García Herreo (1), D. Castelló Salom (1), C. Cinnioglu (3), C. Simón Vallés (4), C. Rubio Lluesa (1)

(1) Igenomix-España - Valencia (Valencia), (2) Igenomix-Brasil - Sao Paulo (Brasil), (3) Igenomix-USA - Los Ángeles (USA), (4) University of Valencia, IGENOMIX foundation/INCLIVA - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

Los polimorfismos de heterocromatina no tienen repercusión fenotípica conocida, pero representan un interrogante en el asesoramiento genético de parejas de reproducción asistida.

OBJETIVO:

El objetivo de este estudio fue determinar si estos polimorfismos afectan a la tasa de diferentes tipos de aneuploidías y de mosaicismo en pacientes que se realizan un test genético preimplantacional para cribado de aneuploidías (PGT-A).

MATERIAL Y MÉTODO:

Se realizó un estudio retrospectivo de octubre de 2018 a marzo de 2019 analizando la tasa de aneuploidías y de mosaicismo en 307 embriones procedentes de ciclos de PGT-A

de pacientes con indicación de fallo de implantación (FI), aborto de repetición (AR), factor masculino (FM) y edad materna avanzada (EMA) que eran portadores de polimorfismos, asociados a los cromosomas 1,8,9,13,14,15,16,21,22 e Y. El grupo de estudio se subdividió teniendo en cuenta el rango de edad materna: ≤ 38 años (n= 211 embriones) y >38 años (n= 96 embriones). Se comparó con un grupo control formado por 5.013 embriones procedentes de ciclos de PGT-A de pacientes con cariotipo normal, con las mismas indicaciones y subdividido en los mismos rangos de edad materna: ≤ 38 años (n= 2.705 embriones) y >38 años (n= 2.308 embriones).

El análisis se llevó a cabo mediante secuenciación masiva (Thermo Fisher Scientific, USA) en biopsias de trofoectodermo (d5-d6), aplicando un algoritmo propio para detectar mosaicismo embrionario de alto grado (50-70% células aneuploides) y bajo grado (30-50% células aneuploides).

≤ 38 años TABLA I	CONTROL	PORTADORES	P-VALOR	RR (95IC)
Nº embriones analizados	2.705	211	-	-
Edad materna media \pm DS	38,89 \pm 1,50	34,38 \pm 0,70	NS	-
Aneuploidías de cromosoma completo (%)	941 (34,78)	69 (32,70)	NS	-
Aneuploidías segmentales (%)	192 (7,09)	28 (13,27)	p=0,0017	1,06(1,01-1,12)
Mosaicismo (%)	195 (7,21)	15 (7,11)	NS	-
- Mosaicismo de bajo grado (%)	130 (4,80)	7 (3,31)	NS	-
- Mosaicismo de alto grado (%)	65 (2,40)	8(3,79)	NS	-
Total embriones anormales (%)	1.328 (49,09)	112 (53,08)	NS	-

Chi-cuadrado test p<0,05. RR: Riesgo Relativo. IC: Intervalo de confianza. NS No significativo

≤ 38 años TABLA II	CONTROL	PORTADORES	P-VALOR	RR (95IC)
Nº embriones analizados	3.308	96	-	-
Edad materna media \pm DS	40,74 \pm 1,45	40,74 \pm 1,56	NS	-
Aneuploidías de cromosoma completo (%)	1.362 (59,01)	55(57,29)	NS	-
Aneuploidías segmentales (%)	161 (6,97)	12 (12,5)	NS	-
Mosaicismo (%)	157 (6,80)	3 (3,12)	NS	-
- Mosaicismo de bajo grado (%)	90 (3,89)	3 (3,12)	NS	-
- Mosaicismo de alto grado (%)	67 (2,90)	0	NS	-
Total embriones anormales (%)	1.680 (72,79)	70 (72,91)	NS	-

Chi-cuadrado test p<0,05. RR: Riesgo Relativo. IC: Intervalo de confianza. NS No significativo

COMUNICACIONES PÓSTER

RESULTADOS:

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y el grupo de estudio, respecto al porcentaje total de embriones anormales, en ninguno de los rangos de edad evaluados (≤ 38 años: 53,08 vs. 49,09% %; >38 años: 72,91 vs. 72,79%). El porcentaje de embriones mosaico fue similar en ambos grupos (≤ 38 años: 7,11% vs. 7,21%; >38 años: 3,12% vs. 6,80%). Al analizar los datos en función del tipo de aneuploidía, no se observaron diferencias significativas en cuanto al porcentaje de aneuploidías de cromosoma completo (≤ 38 años: 32,70% vs. 34,78%; >38 años: 57,29 % vs. 59,01%). Sin embargo, el porcentaje de aneuploidías segmentales mostró un incremento significativo en pacientes portadores de polimorfismo con edad materna ≤ 38 años (13,27% vs. 7,09%, $p < 0,01$), sin diferencias significativas para >38 años (3,12 % vs. 6,80%). Ver Tabla I y Tabla II.

CONCLUSIONES:

Los pacientes portadores de un polimorfismo cromosómico no presentan un incremento en la tasa de mosaicismo ni en la tasa de aneuploidías total. En cuanto al asesoramiento reproductivo, la inclusión de estos pacientes en un programa de PGT-A dependerá de su historial clínico previo, de modo que si presentan un historial de AR o FI estaría recomendado realizar PGT-A al igual que en los casos con cariotipo normal con las mismas indicaciones.

P-051 ▶

IS BLASTULATION TIME A GOOD EMBRYO IMPLANTATION PREDICTOR?

A. Navarro Sánchez, C. Olmedo Illueca, S. Marín Real, I. Chapa Chordá, M. Palma Rodríguez, A. Muijsenberg Alcalá, L. Abad Velasco, S. Royo Bolea, M. Barea Gómez, I. Cuevas Sáiz

Hospital General Universitario de Valencia - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

The key to choose most viable embryo for transfer from a large cohort of embryos remains a great challenge for embryologists. Since the introduction of time-lapse technology to in vitro fertilization laboratories, morphokinetics has gained relevance in this selection process. Some early development events, such as the time to five-cell stage (t5) and the synchrony of the second cell cycle (s2), have been used in the first time-lapses algorithms to predict implantation potential of embryos. Furthermore, other late events including blastulation time, which is defined as the difference between the time of start of blastulation (tsB) and the time to reach a full blastocyst (tB) is related with ploidy status of the embryo. In centers where preimplantation genetic diagnosis could not be performed or for patients who cannot afford this kind of embryo analysis, blastulation time might be a non-invasive predictor to help selecting embryos with highest potential.

OBJECTIVES:

The aim of the present study was to analyze the blastulation time among transferred embryos to determine if it could be used to predict implantation.

MATERIAL AND METHODS:

This retrospective study includes 72 patients that underwent elective embryo transfer from January of 2015 to April of 2019. All patients included were aged below 40 years old. A total of 108 embryos with known implantation data (KID) were selected for transfer using ASEBIR's morphological criteria. In addition, and based on previous experience of the group, $t5 < 52$ hours and $s2 < 1$ hour were also considered as morphokinetics criteria to select embryos in a more accurate way. 99 out of 108 embryos complied kinetic criteria and 9 did not. All embryos were individually cultured in a time-lapse incubator (MIRI-TL, ESCO-Medical©) in 20 μ L microdroplets of CSCC© (Irvine Scientific). t2, t3, t4, t5, t6, t7 and t8 were noted down and s2 was calculated. tsB and tB were also registered and blastulation time (tB-tsB) was calculated then. The three blastulation variables were compared depending on implantation outcomes. The statistical analysis was carried out using SPSS© v22.0 (IBM, EEUU) program and t-Student tests were performed.

COMUNICACIONES PÓSTER

RESULTS:

The overall implantation rate was 43,5%, and abortion rate 5,6%. No significant differences ($p>0,05$) were found in implantation outcomes regarding blastulation time, tsB and tB. When the analysis was performed taking into account the group of embryos that did not comply kinetic criteria ($n=9$), in this specific group, embryos that presented early tsB ($98,40h\pm 3,82h$) showed significantly higher clinical pregnancy rates ($p<0,05$) than embryos with late tsB ($108,48h\pm 3,72h$). Significant differences ($p<0,05$) were found in tB between implanted ($111,12h\pm 2,76h$) and not implanted ($118,51h\pm 3,81h$) embryos. In this group, no significant differences ($p>0,05$) were found in total blastulation time.

CONCLUSIONS:

Nowadays, in order to select best embryo for transfer morphokinetics can help us to improve our results. According to our own previous results of KID embryos, some kinetic markers (t5 and s2) can be used for that purpose. In an attempt of finding new markers related to embryo implantation and ploidy status of the embryos, new late events are tested. Unlike reviewed literature, in our study, no differences were found regarding time of blastulation, tsB or tB between embryos that implant and those that do not do. Interestingly, in those embryos that do not accomplish these early kinetic criteria, meaning that t5 is over 52h and s2 is over 1h, early start of blastulation and time to reach a full blastocyst are associated to implantation outcomes. Nevertheless, it would be necessary to increase the number of patients to confirm these preliminary results.

P-052 ▶

¿QUÉ PARÁMETROS PUEDEN AFECTAR A LA MORFOLOGÍA Y A LA RESISTENCIA DE LA MEMBRANA OVOCITARIA DURANTE LA MICROINYECCIÓN?

A. Rodríguez Arnedo, M. Herreros Hergueta, N. Díaz Hernández, J. Ortiz Salcedo, MC. Tió Marquina, L. Martí Ferri, J. Guerrero Villena, J. Ten Morro, R. Bernabeu Pérez
Instituto Bernabeu - Alicante (Alicante)

INTRODUCCIÓN:

La microinyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) supuso una revolución para los tratamientos de reproducción asistida (Palermo 1992). Actualmente es una técnica de rutina en los laboratorios de fecundación *in vitro*, que no deja de tener sus ventajas y sus limitaciones. Permite obtener fecundación en factores masculinos severos, evitando que el recuento espermático sea una limitación, pero el mayor inconveniente es que es operador dependiente. Requiere personal cualificado que realice el proceso. Pero una vez que el personal es capaz de realizar el proceso de forma segura, ¿por qué existe variabilidad en los resultados? ¿por qué observamos diferencias entre ovocitos durante la ICSI? y ¿qué factores pueden afectar a esta variabilidad?, incluso cuando trabajamos dentro de un programa de ovodonación.

OBJETIVO:

Determinar si existe algún factor en la estimulación de las ovodonas que pueda estar relacionado con la morfología ovocitaria y con el tipo de rotura de membrana durante el ICSI (rotura SS, sin salto).

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio prospectivo donde se registran los datos de estimulación ovárica de las ovodonas de nuestro programa de ovodonación entre enero y abril de 2019 (174 ciclos). Se incluyeron el tipo de gonadotropina y la dosis. Se administró una gonadotropina A (a diferentes dosis 150 UI y 225 UI) y una gonadotropina B (a dosis única, 300 UI). Además se registró la fase de inicio de la estimulación y su duración, el número de ovocitos recuperados y ovocitos maduros (MII). En el momen-

COMUNICACIONES PÓSTER

to de la microinyección se valoró el número de ovocitos con rotura SS y en día 1 las tasas de degeneración y fecundación.

El análisis estadístico se llevó a cabo mediante la aplicación de Anova, chi cuadrado y regresiones lineales y logísticas utilizando la edad de la ovodona como factor de confusión (paquete estadístico SPSS 20.0).

RESULTADOS:

Se establecieron comparativas entre los distintos protocolos de estimulación, gonadotropinas A-150UI, A-225UI y B-300UI con las tasas de MII, rotura SS, degeneración y fecundación. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los parámetros evaluados, aunque sí se observó una tendencia a mayor tasa de rotura SS ($p=0.110$) y degeneración ($p=0.375$) a medida que se aumentaba la dosis de gonadotropina, no observándose tendencia en cuanto a tasa de MII ($p=0.584$) y fecundación ($p=0.536$) (ANOVA test).

Se comparó el protocolo de estimulación utilizado con la presencia/ausencia de ovocitos de morfología alterada (OMA), no observándose diferencias significativas entre protocolos ($p=0.382$) (chi cuadrado test).

Se establecieron correlaciones entre la dosis total de gona-

dotropina consumida, independientemente del tipo, y las tasas de rotura SS, degeneración, MII y fecundación, no observándose diferencias estadísticamente significativas con las tasas de degeneración ($p=0.323$), MII ($p=0.241$) y fecundación ($p=0.596$). Sí se observaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la rotura SS ($p=0.023$) estableciéndose una correlación positiva, a mayor dosis total de gonadotropina consumida mayor número de ovocitos con rotura SS (regresión lineal). Se realizó una regresión logística para la dosis total consumida y la presencia/ausencia de OMA no observándose diferencias ($p=0.384$). SE utilizó siempre la edad de la ovodona como factor de confusión.

CONCLUSIONES:

Que las cohortes ovocitarias son heterogéneas es una realidad que observamos a diario en el laboratorio de FIV. Los factores que afectan a esta variabilidad son en muchos casos una incógnita y descubrir cuáles son es un objetivo para mejorar tanto la calidad como la competencia ovocitaria.

En un grupo tan homogéneo como las ovodonas, hemos podido encontrar asociación entre la dosis de gonadotropina total consumida y el número de ovocitos con rotura SS, y es posible que incrementando el número de casos podamos encontrar alguna relación más.

P-053 ▶

DOES THE USE OF THE CALCIUM IONOPHORE CALCIMYCIN IMPROVE OUTCOMES IN PATIENTS WITH PREVIOUSLY FAILED ICSI CYCLES?

I. Chapa Chordá , C. Olmedo Illueca , S. Marín Real , A. Muijsenberg Alcalá , M. Palma Rodríguez , L. Abad Velasco, S. Royo Bolea , M. Barea Gómez , I. Cuevas Sáiz

Hospital General Universitario de Valencia - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

Fertilization is a complex event in which the oocyte is activated through the fusion of both sperm and oocyte plasma membranes. This fusion triggers an increase in cytosolic Ca^{2+} , prompting the oocyte to begin development. Furthermore, it has been reported that peaks in intracellular Ca^{2+} levels occur shortly before mitotic divisions during embryo development, and that disappearance of these Ca^{2+} oscillations results in arrested embryos. The sensitivity of the mechanisms by which fertilization occurs often leads to impaired fertilization and, in some patients, to repeated fertilization failures even in the presence of normozoospermia and a good ovarian response.

This issue could be potentially overcome by the use of chemical agents that artificially activate the oocyte. Calcium ionophores are the most ubiquitously used in IVF due to their less invasive approach and high success rates in several fertilization studies. In this study, a ready-to-use calcium ionophore (calcimycin) commercially known as GM508 CultActive© has been used to induce artificial oocyte activation in patients with unsuccessful ICSI cycles.

OBJECTIVES:

To determine whether the use of GM508 CultActive© improves fertilization, good-quality blastocyst formation and

COMUNICACIONES PÓSTER

clinical pregnancy rates in patients with previously failed ICSI cycles due to reduced overall fertilization and/or embryo arrest.

MATERIAL AND METHODS:

Patients with previously failed ICSI cycles underwent a new cycle using calcimycin; a total of 71 microinjected oocytes were included in the study. Fertilization, good-quality blastocyst formation and clinical pregnancy rates resulting from a patient's failed cycle (control group, n=36 oocytes) were compared to rates obtained for the same patient on the new cycle (study group, n=35 oocytes). MII oocytes were treated with GM508 CultActive® for 15 minutes immediately after ICSI in order to induce oocyte activation. Oocytes were then thoroughly washed and incubated accordingly. Fertilization and blastocyst quality on D5 were assessed using Time-Lapse technology (MIRI-TL, ESCO-Medical®); good-quality blastocysts were defined as quality A and B according to ASEBIR criteria. Statistical analysis were performed using Microsoft Excel (Microsoft Office Standard 2010®) and Prism 8 (Graphpad Software®).

RESULTS:

Statistically significant results were obtained for fertilization rates ($p < 0.0001$), increasing from 33.7% in failed ICSI cycles (control group) up to 60.4% in cycles using GM508 CultActive® (study). An increase was also observed in good-quality blastocyst formation rates, from 66.7% in the control group up to 70.7% in the study group; however, no statistical significance was obtained ($p = 0.81$). Clinical pregnancy was achieved in 3 out of 4 patients after a single embryo transfer each (D5), compared to none achieved in the control group after a total of 7 transferred embryos. Statistically significant results were obtained for clinical pregnancy rates (0% control group vs. 75% study group; $p = 0.024$). Statistical results for these rates are shown in Figure 1.

CONCLUSIONS:

In this study, the use of the calcium ionophore calcimycin (GM508 CultActive®) improved fertilization and clinical pregnancy rates in women with previously failed ICSI cycles due to reduced fertilization rate and/or embryo arrest. Further studies including a larger sample size need to be conducted; particularly, in order to determine whether the use of this agent significantly improves good-quality blastocyst formation rates. Rates such as live birth and malformation need to be assessed overtime.

Figure 1.

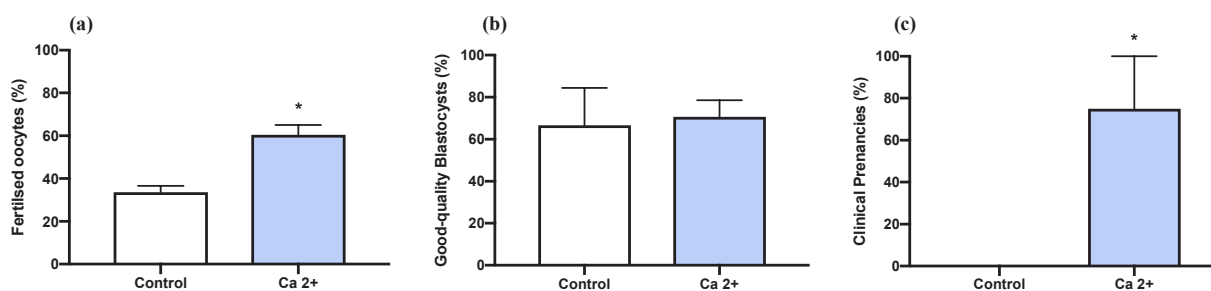


Figure 1. Rates of fertilization, good-quality blastocyst formation and clinical pregnancy. (a) Fertilization rates: statistically significant difference (p -value <0.0001), 33.7% control vs. 60.4% Ca²⁺. (b) Good-quality blastocyst formation rates: no statistically significant results (p -value=0.81), 66.7% control vs. 70.7% Ca²⁺. (c) Clinical pregnancy rates: statistically significant difference (p -value=0.02), 0% control vs. 75% Ca²⁺. Control - unsuccessful ICSI cycles. Ca²⁺ - ICSI cycles using GM508 CultActive. * Statistically significant result.

DESAPARICIÓN TEMPRANA DE LOS PRONÚCLEOS EN CIGOTOS HUMANOS: LO QUE EL TIME-LAPSE NOS PUEDE ENSEÑAR

C. Mestre Ferrer, E. Palmeiro Prieto, M. Esbert Algam

IVI Barcelona - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

Se considera que un cigoto está correctamente fecundado cuando presenta dos pronúcleos (PN) y 2 corpúsculos polares (CP). Cuando evaluamos en el microscopio los cigotos cultivados en incubadores convencionales, podemos encontrar casos donde no visualizamos PN pese tener 2 CP. Si esto sucede, no es posible saber si ha habido una fecundación correcta con desaparición temprana de los PN o si no se ha producido fecundación, aunque el ovocito ha finalizado la meiosis. El destino de los embriones que proceden de cigotos donde no ha sido posible la visualización de los PN depende de cada centro, pudiendo ser descartados o transferidos según el protocolo que decidan.

El momento en el que se realiza la valoración de la fecundación también depende del centro, siendo lo habitual entre 16 y 20 horas post inseminación. En nuestro centro, esta valoración se realiza aproximadamente 19 horas tras la inseminación.

OBJETIVO:

El objetivo principal del estudio es determinar el porcentaje de cigotos correctamente fecundados, cuyo tiempo de desaparición de PN (tPNf) es menor a 19 horas.

MATERIAL Y MÉTODO:

Para realizar el presente estudio retrospectivo se analizaron 5528 embriones de 806 ciclos diferentes que fueron cultivados en un incubador EmbryoScope®, pertenecientes a 762 parejas sometidas a un ciclo de ICSI entre 2016 y 2017.

Mediante la ayuda del programa Embryoviewer se determinó la media global de tPNf, se calculó el porcentaje de cigotos que a las 19h presentaban 0PN+2CP, se estudió si en algún momento habían o no presentado PN y se calculó el porcentaje de división embrionaria en los embriones que presentaban 1 y 3 PN.

RESULTADOS:

La media de tPNf fue 24,5h (IC 95% 24.41-24,57). En total, de los 5528 embriones analizados, 269 (4,9%) presentaban 0PN+2CP a las 19h. De ellos, 161 (59,8%) habían presentado 2PN+2CP en un momento previo del desarrollo, pero la desaparición había ocurrido antes de las 19h. En los casos restantes, habían presentado 0PN (33,8%), 1PN (3,7%) y 3PN (2,6%).

Cuando se evaluó la división embrionaria, se observó que se había producido en 10 cigotos (100%) que presentaban 1PN+2CP y en 5 de los 7 (71,4%) de los que presentaban 3PN y 2CP.

CONCLUSIONES:

Según nuestros hallazgos, si en el momento de valorar la fecundación visualizamos que un cigoto presenta 0PN+2CP, lo más probable es que se haya producido una fecundación adecuada pero la desaparición de los pronúcleos ha sucedido antes de lo habitual. Esta es la primera vez que alguien realiza esta afirmación, que nosotros sepamos.

Por otro lado, este estudio confirma que el momento en el que realizamos la valoración de la fecundación en nuestro centro (19 horas tras ICSI) es el correcto, ya que sólo en el 4,9% de los casos los cigotos presentarían 0PN y 2CP.

TASA DE EMBARAZO EN FUNCIÓN DEL TIEMPO TRANSCURRIDO ENTRE LA DESVITRIFICACIÓN Y LA TRANSFERENCIA DE BLASTOCISTOS

Y. Cabello Vives, P. Belchín Fernández, M. Fernández Rubio, A. García Enguádanos, D. Ordóñez Pérez

Hospital Ruber Juan Bravo - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN:

La criopreservación es uno de los pilares dentro de las técnicas de reproducción asistida. La vitrificación se ha convertido en un procedimiento de rutina ampliamente utilizado que, gracias a sus buenos resultados, le ha permitido convertirse en una estrategia terapéutica con múltiples indicaciones cuando se realiza FIV/ICSI. En concreto, la vitrificación de blastocistos permite maximizar la probabilidad de embarazo único.

Los protocolos de vitrificación y desvitrificación están muy bien descritos y estandarizados y se cuenta con sugerencias sobre las horas que deben transcurrir entre la descongelación y la criotransferencia de embriones en día 3 o en estadio de blastocisto. Sin embargo, no existe bibliografía que nos indique los tiempos exactos a los que realizar la criotransferencia para obtener la máxima tasa de embarazo posible.

OBJETIVO:

En el presente trabajo, se han revisado los minutos transcurridos entre la descongelación de un blastocisto y su posterior criotransferencia, si se ha conseguido aumentar la tasa de embarazo con el cambio de tiempos que se ha decidido en el laboratorio y si ésta es similar a la obtenida en las transferencias en fresco en nuestro centro.

MATERIAL Y MÉTODO:

En un estudio prospectivo, se han recogido los tiempos transcurridos entre la descongelación de un blastocisto y su transferencia realizando 2 grupos: $t_1 \leq 150\text{min}$ (2h30') y $t_2 \geq 240\text{min}$ (4h), comparándose las tasas de embarazo en ambos grupos. En total, se han registrado los tiempos transcurridos en 207 transferencias de un solo blastocisto tipo A o B procedentes de gametos propios o donados en D+5, $n=149$ en el grupo t1 (realizadas desde enero a septiembre de 2018) y $n=58$ en el grupo t2 (llevadas a cabo desde octubre de 2018 a mayo de 2019).

La preparación endometrial en todos los casos ha sido similar y la criotransferencia se ha realizado en el día 5, momento en los que se encuentra la ventana de implantación de la mayoría de pacientes.

Los resultados han sido validados estadísticamente con la prueba χ^2 .

RESULTADOS:

En el grupo t1 la tasa de embarazo por transferencia fue del 45% frente a un 60% en el grupo t2, resultando ser esta diferencia estadísticamente significativa ($p=0,04$).

Las cancelaciones de criotransferencia por mala supervivencia o no re-expansión del blastocisto en ambos grupos fueron similares. Se debe reseñar que en el grupo t2 existió la posibilidad de observar la re-expansión del blastocisto a las 2h de su descongelación para tener la opción de descongelar otro en caso de que se detectara la no evolución del primero, aunque sólo se tuvo que hacer en algún caso puntual. En estos casos, se esperó también el mismo tiempo del grupo t2 ($\geq 240\text{min}$).

CONCLUSIONES:

La descongelación de los blastocistos debería ser al menos 4h antes de su posterior criotransferencia, ya que parece que se obtiene mayor tasa de embarazo en ese grupo de pacientes, similar a las obtenidas en fresco.

A mayor tiempo se puede valorar mejor la calidad del blastocisto a transferir y tomar la decisión de transferirlo o descongelar otro de la misma cohorte.

RELACIÓN DEL PERFIL DE ANEUPLOIDÍAS EN ESPERMATOZOIDES CON LAS CARACTERÍSTICAS DEL PACIENTE Y DE LA MUESTRA SEMINAL

C. Andrés Santé (1), C. Cordero Rosales (1), A. Rodrigo Carbajosa (1), R. Pandolfi (1), M. Saladino (1), A. Núñez González (2), E. Fernández Alegre (2), S. Cortés Gallego (1), B. Martín Fernández (2), F. Martínez Pastor (3)

(1) Clínica Tambre - Madrid (Madrid), (2) Bianor Biotech - León (León), (3) INDEGSAL, Universidad de León - León (León)

INTRODUCCIÓN:

Las aneuploidías están asociadas a numerosos problemas reproductivos, como pérdidas tempranas, y pueden tener consecuencias graves en la descendencia. Los hombres infértiles tiene mayor riesgo de producir espermatozoides aneuploides (García-Mengual, 2019). El análisis habitual es mediante FISH, pero hay pocos estudios sobre los datos obtenidos mediante la cuantificación de ADN por citometría de flujo (Lazaros, 2011).

OBJETIVO:

Determinar si la ocurrencia de aneuploidías en espermatozoides, determinada mediante citometría de flujo, está asociada a otros parámetros de la muestra seminal o del paciente.

MATERIAL Y MÉTODO:

Las muestras espermáticas (n=51, edades 24–56, datos anonimizados) se recogieron en una clínica española y se enviaron para evaluar la posible presencia de aneuploidías. La evaluación de la ploidía se determinó mediante Chromosperm (contenido de ADN por citometría de flujo). Se obtuvo el porcentaje de espermatozoides normales (haploides), con menor ploidía (nulisomías), mayor (disomías), doble (diploidías) y superior (poliploidías). También se distinguió una población haploide con cromatina inmadura. En un análisis categórico (χ^2), se evaluó la asociación de los resultados de ploidías (normal/alterado) con la edad, profesión (sedentaria o no), consumo de alcohol (sí, ocasional, no), tabaquismo (sí, exfumador, no), fragmentación del ADN espermático y tipo de patología seminal (ninguna, asteno, oligo o teratozoospermia). En un segundo análisis, utilizando modelos lineales generalizados (GLM), evaluamos el efecto de los distintos factores en la proporción de cada población ploídica.

RESULTADOS:

El análisis del perfil de ploidías de cada muestra resulta en una calificación normal (perfil normal, mayor parte de los espermatozoides en el pico haploide/inmaduros), aceptable (perfil

normal pero con alguna población aneuploide ligeramente elevada) o alterada (perfil anormal, una o más poblaciones aneuploides elevadas). La distribución de las categorías fue 15/22/14 (normal/aceptable/alterado). El análisis χ^2 encontró una asociación significativa ($P<0,001$) sólo con la ocurrencia de oligozoospermia (única o combinada con asteno o teratozoospermia). En la evaluación de los modelos lineales encontramos un efecto significativo del tabaquismo ($P=0,002$; categoría fumador) y la oligozoospermia ($P=0,028$) en el incremento de la población de nulisómicos. Este efecto fue similar pero a la inversa para la población de haploides ($P=0,041$ para tabaquismo; $P=0,004$ para oligozoospermia). La oligozoospermia también tuvo un efecto significativo en la población de disómicos ($P=0,027$), incrementándola. Las variables continuas concentración espermática, movilidad progresiva y morfoanomalías no mostraron una relación significativa con la clasificación de las muestras o con las poblaciones ploídicas.

CONCLUSIONES:

Los pacientes con oligoastenoteratozoospermia, azoospermia no obstructiva, teratozoospermia severa y fallo repetido de implantación o pérdida de embarazo podrían estar en mayor riesgo (García-Mengual, 2019). El tamaño de nuestro estudio no permite estudiar con profundidad todos estos factores o su interacción con el estilo de vida, pero proporciona información preliminar importante y señala a la oligospermia como un factor de riesgo. Considerando el estilo de vida, hay pocos estudios concluyentes sobre los efectos del alcohol o tabaquismo, tal vez debido a que los estudios por FISH se centran en disomías. Nuestros resultados apuntan a un efecto más evidente en la población de nulisómicos (pérdida de cromosomas, en parte o su totalidad).

Estos datos deben tomarse con precaución debido al pequeño tamaño muestral, pero indican que al menos la presencia de oligoespermia y el tabaquismo podrían asociarse con un mayor riesgo de aneuploidías.

BIBLIOGRAFÍA:

García-Mengual et al. *J. Assist. Reprod. Genet.* 36:371–381, 2019.

EL USO DE OVOCITOS DESVITRIFICADOS NO DISMINUYE EL NÚMERO DE EMBRIONES TRANSFERIBLES TRAS PGS

C. González Navas, E. Criado Scholz

FIV Marbella - Marbella (Málaga)

INTRODUCCIÓN:

El uso de ovocitos vitrificados de banco donantes es cada vez más frecuente debido a las ventajas que ofrecen los bancos de gametos con respecto a la planificación del tratamiento de las receptoras y la seguridad de disponer de un número determinado de ovocitos maduros evitando de antemano la posible cancelación de un tratamiento debido a la no recuperación de ovocitos maduros en una punción ovárica. Algunos autores han reportado que los procesos de vitrificación y desvitrificación pueden afectar a diversos componentes del ovocitos como el huso mitótico de modo que podría disminuir la tasa de embriones euploides derivados de ovocitos desvitrificados.

OBJETIVO:

El objetivo de este estudio es analizar si los procesos de vitrificación-desvitrificación de ovocitos pueden influir en la generación de un menor número de embriones euploides y mosaicos transferibles.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se analizaron retrospectivamente 56 tratamientos de PGS entre los años 2017 a inicios del 2019. 28 tratamientos fueron realizados a partir de ovocitos frescos de donante o de pacientes de menos de 35 años y 28 procedían de ovocitos de donante o pacientes de menos de 35 años, pero que fueron previamente vitrificados. Los embriones resultantes fueron cultivados hasta el estadio de blastocisto en medio único en una atmósfera de 7% CO² / 5% O² siendo observados solamente el día de la fecundación y en día +5/+6 para la biopsia de trofoectodermo y su posterior vitrificación. Se analizaron 118 blastocistos procedentes de ovocitos frescos y 97 procedentes de ovocitos desvitrificados. A todos se les realizó PSG por NGS.

RESULTADOS:

La media de edad de las donantes y/o pacientes fueron 25,7 para el grupo de ovocitos frescos y 24,2 para el grupo de ovocitos desvitrificados. La media de MIU microinyectados fue 8,6 para el grupo de tratamientos con ovocitos frescos y 7,8 para desvitrificados. De los 118 blastocistos biopsiados derivados de ovocitos frescos 55 fueron euploides y 14 mosaicos transferibles dando un total de 69 blastocistos transferibles. De los 97 blastocistos analizados derivados de ovocitos desvitrificados, 55 fueron euploides y 6 de ellos mosaicos transferibles (Tabla I). Los porcentajes de embriones transferibles fueron 58,5% y 62,9% respectivamente (Tabla I). Mediante el test estadístico T- de Student podemos asumir que no existen diferencias estadísticamente significativas en las medias (0.459>0.05) de blastocistos euploides generados a partir de ovocitos frescos o desvitrificados con un 95% de intervalo de confianza.

CONCLUSIONES:

Según nuestros resultados y bajo nuestras condiciones de trabajo podemos aconsejar el uso de ovocitos vitrificados para tratamientos de PGS ya que no hay evidencias de que se produzca un menor número de embriones euploides a partir de estos ovocitos por lo que ofrecen el mismo potencial que los ovocitos frescos siendo buenos candidatos para los programas de PGS. Sin embargo, nuestra N se encuentra limitada porque la realización de PGS con ovocitos de donante aún no es una práctica muy extendida aunque hoy en día sabemos que estos ovocitos no están exentos de tasas considerables de aneuploidías.

LAS DIVISIONES DIRECTAS RESTAN BLASTOCISTOS

M. Grossmann i Camps, A. Rabanal Anglada, N. Rives, C. Pucho, T. Torrecillas Testa, O. Serra, M. Colodron Bello, X. Lin, R. Olivares Vela
Barcelona IVF - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

Sabemos que las divisiones directas (1 a 3 o bien 2 a 5 blastómeros) son eventos de mal pronóstico que reducen drásticamente el potencial de implantación ¿Qué impacto tienen estos eventos en la actividad ordinaria de un centro de RHA?

OBJETIVO:

Conocer la incidencia de las divisiones directas en los distintos programas (FIV, ROPA, DO) de nuestro centro y detectar el origen de estas divisiones.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo consecutivo de 1006 embriones normalmente fecundados en los programas de FIV, ROPA y DO (Noviembre 2018 a Marzo 2019). Utilización de la tecnología time-lapse para detectar las divisiones directas (1 a 3 o bien 2 a 5 blastómeros) y correlacionarlas con la evolución hasta el estadio de blastocisto.

G1 (n=478): DO con semen de la pareja; G2 (n=90): DO con semen de donante; G3 (n=153): FIV con gametos propios en mujeres menores de 35 años; G4 (n=120): FIV con semen de donante o ciclos de ROPA en mujeres menores de 35 años y G5 (n=165): FIV con gametos propios en mujeres mayores de 35 años.

Cultivo *in vitro* en EmbryoScope+ (Vitrolife) hasta D+5/D+6 en medios secuenciales G1/G2 de Vitrolife.

RESULTADOS:

La división directa [1 a 3] parece estable entorno al 5% entre los cinco grupos (6,2%, 6,5%, 3%,4%, 5% respectivamente) y sin diferencias significativas entre ellos. Existe una marcada reducción del desarrollo hasta blastocisto asociada a la edad de la paciente y al origen de los gametos (74% y 83% para G1 y G2; 60%, 60% y 46% para los grupos G3, G4 y G5).

La división directa [2 a 5] tiene una presencia escasa entorno al 2% y también es parece estable entre los cinco grupos (1,8%, 2,2%, 1,2%, 1,5% y 2% respectivamente) y la tasa de embriones que llegan a blastocisto es menor que en el caso anterior (48%, 50%, 0, 100%, 0) aunque estos resultados no son interpretables.

No tenemos transferencias únicas de embriones con divisiones directas.

CONCLUSIONES:

La división directa [1 a 3] sí tiene un impacto en un programa de RHA. ¿podemos reducirlo? Que las tasas de división directa sean similares en todos los grupos de estudio descarta el origen ovocitario o que sean un efecto derivado de los protocolos de estimulación hormonal. Tampoco se aprecia un efecto de origen masculino, por lo que debería tratarse de un efecto del cultivo *in vitro*.

Las limitaciones obvias para este estudio: el bajo número en algunos grupos y que podemos comparar nuestros resultados con los de otros centros con distintas condiciones para el cultivo *in vitro*.

EFFECTO DE LA EDAD MATERNA EN LAS TASAS DE MOSAICISMO EUPLOIDE Y ANEUPLOIDE

V. Montalvo Pallés, S. Novo Bruña, C. Castelló Zupanc, M. López-Teijón Pérez
 Institut Marqués - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

Una de las principales consecuencias de la implantación del Next Generation Sequencing (NGS) en el test genético pre-implantacional para aneuploidias (PGT-A) es el mayor número de mosaicos detectados. Principalmente, los embriones mosaico surgen de errores en la segregación cromosómica durante las divisiones mitóticas. Diversos estudios donde se relaciona el mosaicismo total (mosaicismo euploide y aneuploide conjuntamente) con la edad materna, indican que la tasa de error mitótico que lo origina se mantiene constante. Sin embargo, esta hipótesis se basa en el supuesto de que los embriones se comportan igual frente a errores mitóticos independientemente de edad y/o ploidía del ovocito del que provienen.

Por otro lado se cree que la tasa de mosaicismo podría ser un indicador de calidad relacionado con en el cultivo embrionario. En este sentido las tasas de mosaicismo descritas en la bibliografía cubren un rango muy amplio (10-40%).

Dada la importancia de un análisis preciso al clasificar y cuantificar el mosaicismo, en este estudio se evalúa la presunción de que todo mosaicismo, sea euploide o aneuploide, se considere conjuntamente.

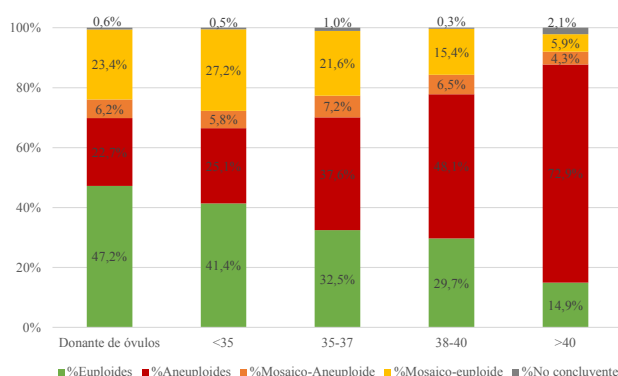


Gráfico 1. Resultado del PGT-A de 1400 embriones clasificados según edad materna.

OBJETIVO:

Determinar la incidencia del mosaicismo (euploide y aneuploide) y establecer de manera estricta como se correlaciona con la edad.

MATERIAL Y MÉTODO:

Este estudio retrospectivo incluye el resultado de la biopsia de 1400 blastocistos procedentes de 371 ciclos donde se realizó PGT-A mediante NGS. Todos los embriones fueron cultivados bajo las mismas condiciones en medio único e incubador time-lapse. Una vez diagnosticados, los embriones fueron clasificados en cuatro grupos: euploide; aneuploide; mosaico-euploide (embrión con al menos dos líneas celulares, siendo una euploide); y mosaico-aneuploide (embrión con al menos dos líneas celulares aneuploides). Los casos se agruparon según la edad materna siguiendo las recomendaciones de la Society for Assisted Reproduction Technology: Donantes de óvulos, y pacientes de FIV de <35, 35-37, 38-40, y >40 años. El test Chi-cuadrado se realizó para comparar las tasas de mosaicismo entre grupos.

Edad	Me	Ma
Donantes	33,2%	21,4% ^a
<35	39,7%	18,6% ^a
35-37	40,0%	16,1% ^a
38-40	34,1%	11,9% ^{a,b}
>40	28,2%	5,5% ^b

Tabla I: Distribución por edades del ratio de mosaico-euploides entre el total de embriones procedentes de óvulos euploides (Me) y del ratio de mosaico-aneuploides entre el total de embriones procedentes de óvulos aneuploides (Ma). Diferentes superíndices indican diferencias significativas entre grupos (p<0,05).

COMUNICACIONES PÓSTER

RESULTADOS:

Los datos obtenidos en este estudio muestran una aparente disminución en la tasa de mosaicismo-euploide a medida que la edad materna avanza (Gráfico 1). Sin embargo, si consideramos que embriones mosaico-euploides y embriones euploides se originan a partir de un ovocito euploide, la tasa de mosaicismo se mantiene constante en todos los grupos de edad ($35.0 \pm 4.9\%$; $p = 0,768$; Tabla I). Por otro lado, aplicando el mismo criterio para los mosaico-aneuploides, la tasa de mosaicismo de los embriones derivados de ovocitos aneuploides disminuye con la edad, siendo estadísticamente significativo a partir de los 40 años (Tabla I; $p < 0,05$).

CONCLUSIONES:

Estos resultados demuestran que el error mitótico no depende de la edad en embriones derivados de ovocitos euploides.

Por lo tanto, el mosaicismo de embriones transferibles es independiente a la edad materna. No obstante, a diferencia de otras publicaciones, este estudio demuestra que el mosaicismo embrionario se comporta diferente dependiendo de la ploidía y la edad del ovocito. Una posible explicación podría ser que los embriones mosaico-aneuploides tengan más dificultad de formar un blastocisto biopsiable como más avanzada sea la edad materna. De este modo observamos una menor tasa de estos cuanto mayor es la edad materna.

Tradicionalmente el mosaicismo se ha evaluado de forma conjunta independientemente de si es euploide o aneuploide aunque, dados los resultados presentados aquí, se tendría que tratar de forma separada.

P-060 ▶

SPANISH TRENDS IN IN VITRO FERTILIZATION TREATMENTS

I. Cuevas Sáiz, JA. Castilla Alcalá, I. Pons Mallol, MJ. de los Santos Molina, J. Herrero García, Y. Cabello Vives, I. González Foruria, R. Lafuente Varea, FJ. Prados Mondéjar
Comité de Registro SEF - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN:

Spain is nowadays the third country in the world regarding number of registered in vitro fertilization (IVF) treatments. The Spanish ART registry is the largest yearly population of ART data in Europe and its analysis is of paramount importance to account for the current situation of the IVF treatments.

OBJECTIVES:

The objective of the present study was to analyse current trends and implementation of techniques as well as evolution of results in our country.

MATERIAL AND METHODS:

We performed a review of the reports of the Spanish Registry on ART Activity, paying attention on the last three annual reports. The 2014 was the mandatory ART registry in the country. We analysed the trend in the utilization of techniques, number and stage of embryos transferred. We also included an overview of treatments to crossborder patients.

RESULTS:

The number of participating centers has increased during the last reports being 240 in the last one. The total number of cycles recovered was 138.553, steadily increasing along

COMUNICACIONES PÓSTER

the years. The total number of treatments with fresh own- or donor- oocytes remains stable, but we have experienced an increase (21% from previous report) in frozen embryo transfer (FET) cycles both with own or donor oocytes. The use of vitrified oocytes is starting to be significant, 5,6% of all IVF cycles during 2016. Another technique that is starting to be implemented in routine work in the labs is PGT, with an increase of 36% from 2015 to 2016. In a 50% of PGT cycles embryo transfer was delayed. The overall percentage of freeze-all cycles are exponentially increasing, being 19,5% in 2016. Single embryo transfer is becoming more popular over the years, and this tendency is more marked in donor and FET cycles, particularly when blastocyst stage transfer is performed. Regarding crossborder patients, they represent 7,8% of total IVF cycles in Spain. 64% of them perform oocyte donor treatments.

CONCLUSIONS:

Single embryo transfer is becoming more popular, mostly in donor and FET. The introduction of vitrification, in oocytes as well as embryos, has increased the confidence in cryopreservation allowing the development and implementation of adjuvant techniques to increase the safety and improve the results in IVF.

P-061 ▶

ARE THERE ANY DIFFERENCES IN THE USE OF FRESH OR FROZEN OOCYTES FOR EGG-DONOR TREATMENTS?

JA. Castilla Alcalá, I. Cuevas Sáiz, I. Pons Mallol, M. de Andrés Cara, P. Muñoz Soriano, AB. Castel Castro, FJ. Prados Mondéjar.

Comité de Registro SEF - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN:

Nowadays, donor oocyte cycles are very frequent ART treatments all around the world. One of the reasons is the retardation of the maternity, which makes it difficult to develop an ongoing gestation with own oocytes. The development of oocyte vitrification has helped to better organize the oocyte donor program in the clinics. In terms of clinical results, both origins (fresh or frozen egg donation) seems to be similar.

OBJECTIVES:

The objective of this work is to investigate whether if fresh or frozen origin in egg donation cycles could make a difference in terms of treatment effectiveness.

MATERIAL AND METHODS:

We performed a review of oocyte donor cycles reported to the 2106 Spanish ART Registry. We analysed clinical pregnancy, abortion rate and delivery rate after IVF cycles with, either fresh or frozen oocytes.

RESULTS:

A total of 22.982 donor egg cycles were performed in 2016: 16.133 with fresh and 6.849 with frozen oocytes. In the fresh group, 78,2% had fresh embryo transfer. The percentage of pregnancy per transfer was 54,3%. Abortion rate in this group was 20,3%. The delivery rate per transfer was 38,4%. Donor egg treatments with cryopreserved oocytes lead to a percentage of pregnancy per transfer of 50,1%; the abortion rate was 18,8% and delivery rate per transfer was 34,1%. In this case, 6.166 of the 6.849 frozen-egg donation cycles lead to embryo transfer, which means a cancellation rate of 10%. All differences were statistically significant.

CONCLUSIONS:

Oocyte donor cycles with cryopreserved oocytes showed a lower pregnancy and delivery rate than those with fresh oocytes. Number of oocytes and embryos available per cycle are not analysed and can be one of the reasons for the differences. In any case, vitrification of donor oocytes could be a good tool to improve the donor program in IVF clinics.

VALORACIÓN DE LOS INDICADORES DE CALIDAD DEL LABORATORIO DE EMBRIOLOGÍA PROPUESTOS POR EL CONSENSO DE VIENA DEL COMITÉ DE EXPERTOS DE ESHRE Y ALPHA

M. Iglesias Núñez (1), MA. Vilches Ferrón (2), L. Sánchez Castro (3), M. Serrano Molina (4), E. Ferrer i Robles (5), A. Mauri López (6), E. Veiga Álvarez (7), M. Fernández Díaz (8), M. Borrallo Fernández (9), N. Ortiz Piñate (10)

(1) Hospital Universitario Quirónsalud Madrid - Pozuelo de Alarcón (Madrid), (2) Complejo Hospitalario Torrecárdenas - Almería (Almería), (3) Hospital Universitario Central de Asturias - Oviedo (Oviedo), (4) Clínica iFEM - Córdoba (Córdoba), (5) CREA - Centro Médico de Reproducción Asistida - Valencia (Valencia), (6) Centro Procrear - Reus (Tarragona), (7) Hospital Clínico Universitario de Santiago - Santiago de Compostela (La Coruña), (8) Clínica Ergo (Ergo Biotech S.L.) - Gijón (Asturias), (9) Minifiv - Madrid (Madrid), (10) Instituto Europeo de Fertilidad y Grupo de Interés de Calidad de ASEBIR - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN:

En 2008, ASEBIR publicó un documento de consenso sobre "Estandarización de indicadores en el Laboratorio de Reproducción Asistida", y en 2009 elaboró por primera vez estándares para alguno de estos indicadores. Estos indicadores se incorporaron en 2015 en la norma UNE179007:2015. En 2017 un comité de expertos de ESHRE y Alpha publicó Indicadores de calidad para el Laboratorio de Embriología bajo la denominación de Consenso de Viena (CV). Hasta la fecha no se ha realizado una evaluación de los IC propuestos por el CV a nivel nacional.

OBJETIVO:

El Grupo de Interés de Calidad en el Laboratorio de RHA, se propuso como objetivo conocer la opinión de los socios de ASEBIR sobre los IC del CV.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se elaboró una encuesta que se hizo llegar a los potenciales participantes a través de la página web de ASEBIR, donde ha permanecido el acceso desde julio de 2018 a abril de 2019. En la encuesta se enunciaron 12 de los IC valorados en dicho Consenso y sus valores propuestos, preguntando a los encuestados si estaban de acuerdo con dichos valores y su deseo de incorporarlos o no a los IC de ASEBIR. De estos 12 IC, 2 guardaron relación con los ovocitos recuperados, 1 con la movilidad espermática, 3 con las tasas de fecundación anómalas en ICSI y FIV, 5 con desarrollo embrionario en los distintos estadios de evolución, y 1 con la biopsia embrionaria.

RESULTADOS:

Respondieron a la encuesta 28 participantes de centros de Reproducción Asistida. Gran parte de los IC propuestos en el CV son valorados positivamente por los encuestados y se acepta su introducción. Además de los 12 IC (mostrados en la tabla I), se formuló la pregunta de si la "tasa de fecundación normal" debería calcularse como hasta ahora (número de cigotos con 2 pronúcleos (PN)/ número de ovocitos metafase II microinyectados) x100, o sería más adecuado dividir entre el número de ovocitos recuperados en la punción, pero el 96% de las respuestas optaron por seguir calculándola como hasta ahora.

Los más aceptados son la "tasa de desarrollo hasta blastocisto en día 5" (93% de respuestas a favor de introducirlo como IC), el "porcentaje de ovocitos metafase II en ICSI" (86%) y la "tasa de división embrionaria" (82%).

Sobre algunos IC propuestos en el CV no hay una opinión clara sobre la necesidad de incorporarlos, como son la "tasa de ovocitos con 1 pronúcleo" tanto en FIV (50% de los encuestados a favor de incorporarlo) como en ICSI (54%) (Tabla I).

CONCLUSIONES:

En vista de los resultados, podríamos concluir que para actualizar los IC empleados en la práctica rutinaria del Laboratorio de RHA y adaptarlos a sus necesidades actuales, sería conveniente incorporar IC que hasta ahora no están recogidos en el cuadernillo de indicadores de ASEBIR, como la "tasa de desarrollo hasta blastocisto". Sin embargo, algunos IC propuestos en el CV no parecen ser tan necesarios y sobre ellos sería conveniente ampliar el número de encuestados para llegar a una conclusión más definitiva.

COMUNICACIONES PÓSTER

Tabla 1. Resumen de respuestas relacionadas con los IC propuestos en el CV no existentes en los IC de ASEBIR.

Indicador de Calidad Propuesto	% mínimo propuesto	% óptimo propuesto	% respuestas a favor de incorporarlo	% conformidad con los valores propuestos
"% de ovocitos recuperados en los ciclos de estimulación" (nº de ovocitos recuperados / nº de folículos el día de la hCG) x100	80-95	N/A	75	100
"% de ovocitos metafase II en ICSI" (nº de MII en ICSI / nº de cúmulos recuperados) x100	75-90	N/A	85,7	85,7
"Movilidad espermática post-preparación" para IA y FIV (espermatozoides móviles progresivos / nº total espermatozoides contados) x100	90	95	64,3	82,1
"Tasa de polispermia en FIV" (nº de ovocitos fecundados con >2PN / nº de cúmulos inseminados) x100	N/A	<6	78,6	71,4
"Tasa de ovocitos con un sólo pronúcleo en FIV" (nº de ovocitos con 1PN / nº de cúmulos inseminados) x100	N/A	<5	50	71,4
"Tasa de ovocitos con un sólo pronúcleo en ICSI" (nº de ovocitos con 1PN / nº de MII microinyectados) x100	N/A	<3	53,6	75
"Tasa de división embrionaria" (nº de embriones divididos en D+2 / nº de ovocitos con 2PN y 2CP en D+1) x100	95	99	82,1	82,1
"Tasa de desarrollo embrionario en día 2" (nº de embriones en 4 células en D+2 / nº de ovocitos con 2PN y 2CP en D+1) x100	50	80	57,1	75
"Tasa de desarrollo embrionario en día 3" (nº de embriones en 8 células en D+3 / nº de ovocitos con 2PN y 2CP en D+1) x100	45	70	60,7	75
"Tasa de desarrollo hasta blastocisto en día 5" (nº de blastocistos en D+5 / nº de ovocitos con 2PN y 2CP en D+1) x100	40	60	92,9	78,6
"Tasa de desarrollo hasta blastocistos de buena calidad" (nº de blastocistos de buena calidad en D+5 / nº de ovocitos con 2PN y 2CP en D+1) x100	30	40	67,9	78,6
"Tasa de biopsias satisfactorias" (nº de biopsias con ADN amplificado / nº de biopsias realizadas) x100	90	95	60,7	85,7

SOFTWARE AUTOMÁTICO DE ANÁLISIS MORFOCINÉTICO ES CAPAZ DE DETECTAR EMBRIONES CON MAYOR POTENCIAL DE IMPLANTACIÓN. ESTABLECIMIENTO DE UNA POLÍTICA DE TRANSFERENCIA DE UN ÚNICO EMBRIÓN

T. Viloría Samochín (1), L. Alegre Ferri (1), R. Del Gallego Bonilla (1), L. Bori Arnal (1), A. Pellicer Martínez (2), M. Meseguer Escrivá (1)

(1) IVIRMA GLOBAL - Valencia (Valencia), (2) IVIRMA GLOBAL - Roma (Roma)

INTRODUCCIÓN:

El sistema DANA compara cada cohorte embrionaria con una nube de datos de embriones KID (Known Implantation Data). Esta nube se generó a partir de un análisis retrospectivo de 1021 embriones KID. Para ello, se incluyeron en el software los tiempos de división y ciclos celulares de los embriones. Mediante gráficos de bidimensionales se calculó la unidad de distancia media (UAD) de cada embrión con respecto al centro de la nube. Se definió una categoría de embriones "TOP" ($UAD \leq 0.5$), como los embriones con mayor potencial de implantación.

OBJETIVO:

Analizar el potencial del software de selección embrionaria DANA para interpretar el potencial de implantación de cada embrión y generar un ranking de orden de transferencia bajo una política de transferencia de un único embrión.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se calculó el porcentaje de gestaciones gemelares en los casos de transferencias DET (double embryo transfer) y se comparó el resultado atendiendo al número de embriones catalogados como TOP que se habían transferido en cada caso: 1 embrión TOP o 2 embriones TOP. Por tanto, se generaron 2 grupos: 1ET (1 embrión TOP transferido) y 2ET (2 embriones TOP transferidos). Se analizaron 357 ciclos en fresco, de los cuales 356 dieron lugar a transferencias DET en estadio de blastocisto (día 5 o 6). Obtuvimos un total de 371 embriones KID.

RESULTADOS:

La tasa de gestación gemelar fue significativamente mayor en el grupo 1ET que en el grupo 2ET: 52% vs. 25% respectivamente ($P < 0.001$). Observándose así una tasa de implantación mucho mayor para los embriones considerados TOP ($UAD \leq 0.5$).

CONCLUSIONES:

El score ($UAD \leq 0.5$) generado por el software de análisis automático DANA, ha demostrado ser una buena herramienta para garantizar la eficiencia en transferencias de embrión único; estableciendo así que el uso del sistema Dana es una buena estrategia como ranking de orden de transferencia embrionaria.

EVALUACIÓN DEL SOPORTE MICROFLUÍDICO EN MUESTRAS NORMOZOOSPÉRMICAS COMO MÉTODO DE SELECCIÓN ESPERMÁTICA PARA TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA

A. Martí Alemany, B. Sánchez Ruiz, P. Piqueras Trilles, M. Martí Vilanova, MC. Tormos Muñoz, D. Royo Cuenca, S. Pérez Maicas, A. López Puche, P. Sánchez Martín, F. Sánchez Martín
Ginemed Valencia - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

Las dos técnicas ampliamente usadas para la capacitación espermática (gradientes de densidad y swim-up) incluyen en sus protocolos centrifugaciones a elevadas revoluciones en tiempos que comprenden de los 10 a los 20 minutos. Este proceso podría dañar los espermatozoides afectando incluso a la integridad de su ADN y aumentando la liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS).

En los últimos años, ha surgido una nueva técnica de capacitación que permite seleccionar aquellos espermatozoides de mejor motilidad y morfología mediante el uso de un canal microfluídico. El protocolo de esta técnica no incluye ningún proceso centrífugo, por lo que se trataría de un método de selección más fisiológico.

OBJETIVO:

Estudiar la eficacia de los canales microfluídicos como soportes para la capacitación espermática previa a un ICSI.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo en el que se utilizó como técnica de capacitación espermática el chip FERTILE® en un total de 56 pacientes, de las cuales en 15 casos los ovocitos provenían de donantes (Grupo I) y en 41 los ovocitos pertenecían a las pacientes (Grupo II).

Para todos los casos las muestras espermáticas fueron diagnosticadas como normozoospermicas. Las transferencias embrionarias se realizaron con embriones en estadio de blastocisto crioconservados.

Se estudiaron las siguientes variables: edad, tasa de llegada a blastocisto (TBI), tasa de beta (TBe) y tasa de gestación evolutiva (TG). Se realizó una comparación con los estándares de calidad para las variables TBe y TG proporcionadas por ASEBIR, en el Cuaderno de Embriología Clínica correspondiente a Indicadores de calidad de laboratorio de embriología: definición y especificaciones (Tabla I).

Para valorar la TBI se consideraron los valores de calidad proporcionados por el consenso de Viena realizado por ESHRE y Alpha (Tabla II).

RESULTADOS:

Para el Grupo I la media de edad de las donantes fue de 25,9 años. La TBI obtenida fue del 82,56% de un total de 115 ovocitos microinyectados. En cuanto a la TBe ésta fue de 50% y la TG de 43,8%.

Para el Grupo II la media de edad de las pacientes fue de 37,55 años. La TBI obtenida fue 58,17% de un total de 309 ovocitos microinyectados. En este caso la TBe fue de 35,71% y la TG de 19,04%

Las variables TBe y TG fueron valoradas con los indicadores proporcionados por ASEBIR mostrados en la Tabla I. Para el Grupo I los valores obtenidos de TBe y TG se enmarcan dentro del valor óptimo. En el caso del Grupo II, los valores de TBe y TG se sitúan dentro del valor deseable sin alcanzar el valor óptimo.

La variable TBI fue comparada con los valores proporcionados por ESHRE y Alpha expuestos en la Tabla II. Para el Grupo I el porcentaje obtenido supera el valor óptimo en más de 20 puntos. En el caso del Grupo II, la TBI se encuentra situada dentro del rango deseable.

COMUNICACIONES PÓSTER

CONCLUSIONES:

Los resultados obtenidos de TBI, TBe y TG tras la utilización del soporte chip FERTILE[®] superan los valores mínimos de calidad proporcionados por ASEBIR, ESHRE y Alpha, alcanzando en algunos casos los estándares óptimos. En base a estos resultados, el uso de dicho soporte podría ser propuesto como un método de selección apropiado para su uso en técnicas de reproducción asistida. Sin embargo, son necesarios más estudios retrospectivos con mayor número de muestra para obtener resultados más contundentes.

BIBLIOGRAFÍA:

ESHRE Special Interest Group of Embryology and Alpha Scientists in Reproductive Medicine, The Vienna consensus: report of an expert meeting on the development of ART laboratory performance indicators. Reproductive BioMedicine Online (2017).

Cuaderno de Embriología clínica: Indicadores de calidad del laboratorio de embriología: definición y especificaciones. ASEBIR (2016).

Tabla I. Estándares de calidad pertenecientes al porcentaje de gestación clínica por transferencia de preembriones crioconservados y tasa de implantación en ciclos de preembriones crioconservados. (Adaptación del Cuaderno de Embriología Clínica: Indicadores de calidad de laboratorio de embriología: definición y especificaciones. ASEBIR).

		Óptimo	Deseable	Mínimo
Porcentaje de gestación clínica por transferencia de preembriones crioconservados	Ovocitos propios	37,3 (32,7-65,6)	22,1 (20,4-24,7)	13,3 (12,0-15,6)
	Ovocitos donados	48,0 (37,6-83,3)	29,0 (25,0-31,9)	21,9 (16,7-23,8)
Tasa de implantación en ciclos de preembriones crioconservados	Ovocitos propios	26,4 (20,1-43,8)	13,6 (12,2-15,9)	6,9 (5,1-9,0)
	Ovocitos donados	34,6 (24,0-63,6)	15,0 (14,3-18,9)	7,6 (0,8-10,1)

Tabla II. Estándar de calidad para el porcentaje de llegada a estadio de blastocisto proporcionado por el consenso de Viena realizado por ESHRE y Alpha.

	Óptimo	Deseable	Mínimo
Porcentaje de llegada a blastocisto	$\geq 60\%$	Rango entre ambos valores	$\geq 40\%$

INFLUENCIA DEL FACTOR CENTRO EN LA VARIABILIDAD DE LOS RESULTADOS DE REPRODUCCIÓN HUMANA ASISTIDA

M. Muñoz Sánchez (1), I. Cuevas (2), F. Prados Mondéjar (3), I. Pons Mallol (4), M. de Andrés Cara (5), E. Vidal (6), L. Sánchez Castro (7), R. La Fuente (8), P. Muñoz (9), JA. Castilla Alcalá (1)

(1) Hospital Universitario Virgen de las Nieves - Granada (Granada), (2) Hospital General Universitario de Valencia - Valencia (Valencia), (3) Hospital Universitario Montepíncipe - Madrid (Madrid), (4) URH García del Real - Madrid (Madrid), (5) Hospital Reina Sofía - Córdoba (Córdoba), (6) U. Reproducción Asistida, H. Clínic i Provincial - Barcelona (Barcelona), (7) Hospital Universitario Central de Asturias - Asturias (Asturias), (8) CIRH - Barcelona (Barcelona), (9) CREA - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

Las tasas de gestación clínica por transferencia muestran una gran variabilidad entre centros de Reproducción Asistida (RA). Entre los factores que influyen en esta variabilidad se encontraría las características clínicas de los pacientes (case-mix), aspectos estructurales (legales, cobertura sanitaria o competencia entre centros), calidad y práctica clínica de la clínica y por último, la variación natural. Investigaciones previas demuestran que un 20% de esta variabilidad se debe a diferencias en el case-mix entre centros.

OBJETIVO:

En este estudio pretendemos determinar la importancia del factor centro en la variabilidad de los resultados de las TRHA mediante la construcción de un modelo predictivo de la tasa de gestación (TG) por transferencia de embriones (TE) frescos procedentes de ovocitos propios.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se utilizaron los datos del Registro Nacional de Actividad- Registro de la Sociedad Española de Fertilidad que recoge la actividad de las técnicas de RA de 2015. Participaron de manera obligatoria 234 centros. De los cuales, se incluyeron 56 centros en este estudio, que cumplieron la condición de haber realizado más de 30 transferencias de embriones (TE) frescos y vitrificados procedentes de ovocitos propios y donados. Se llevó a cabo un análisis de correlación lineal simple entre los resultados de las distintas técnicas de RA, y posteriormente se ajustó un modelo predictivo de Regresión Lineal Múltiple de la tasa de gestación por transferencia de dos embriones

frescos procedentes de ovocitos propios. Para el ajuste de Modelo de Regresión Lineal Múltiple, se llevó a cabo en primer lugar un análisis univariante sobre la relación entre esta variable y diversas variables clínicas, laboratorio, política de transferencia y tamaño del centro. A continuación se consideraron variables candidatas a ser incluidas en dicho modelo aquellas que presentaron una $p < 0,1$ en el análisis univariante y no presentaron colinealidad entre ellas.

RESULTADOS:

La correlación de la tasa de gestación por transferencia entre técnicas de RA fue más alta cuando se tuvo en cuenta el número de embriones transferidos, por lo que la variable "tasa de gestación por transferencia de dos embriones frescos procedentes de ovocitos propios" fue la escogida como variable dependiente para definir un modelo que nos explicará qué factores influyen en la variabilidad de la eficacia entre centros. Las variables incluidas en el Modelo de Regresión Lineal Múltiple para la variable "Tasa de gestación por transferencia de dos embriones en fresco procedentes de ovocitos propios" fueron "TE en mujeres mayores de 40 años" (R^2 ajustada= 32,8%; $p < 0,001$) y "Tasa de gestación por transferencia de dos embriones vitrificados procedentes de ovocitos de donante" (R^2 ajustada= 10,8%; $p < 0,001$) (Figura 1) La variabilidad de la variable dependiente explicada por este modelo fue del 43,6% siendo la mayor parte de esa variabilidad explicada por la variable "porcentaje de TE en fresco procedentes de ovocitos propios en mujeres mayores de 40 años" (32,8%), y el resto, 10,8%, por la variable "TG por transferencia de dos embriones vitrificados procedentes de ovocitos donados" (Tabla I y II).

COMUNICACIONES PÓSTER

CONCLUSIONES:

El factor centro explica alrededor del 10% de la variabilidad de los resultados de las técnicas de RA entre los distintos centros. En nuestro estudio el factor más relevante que explica la variabilidad entre centros en la tasa de gestación por transferencias

de embriones procedentes de ovocitos propios es el case-mix, representado por la variable "porcentaje de transferencias embrionarias en mujeres mayores de 40 años". Este factor explicó un 33% de dicha variabilidad. Lo que sumado al 10% de variabilidad que explicaría el factor centro, hace que aún sea necesario analizar la influencia de otros factores en esta variabilidad.

Tabla I. Resumen del modelo de regresión lineal múltiple paso a paso de la tasa de gestación por transferencia embrionaria de dos embriones en fresco procedente de ovocitos propios

	B	Error típico	t exp	p
Constante	44,36	4,05	-	-
%TE en fresco procedentes de ovocitos propios en mujeres >40 años.	-0,36	0,08	-4,26	<0,001
TG por transferencia de dos embriones vitrificados procedentes de ovocitos donados.	0,19	0,07	2,95	<0,01

TE: Transferencia Embrionarias; TG: Tasa de Gestación

Tabla II. Resumen del modelo de regresión lineal múltiple paso a paso de la tasa de gestación por transferencia de dos embriones en fresco procedente de ovocitos propios

Pasos	R	R ²	R ² ajustado	Error típico de la estimación
1	0,59 ^a	0,34	0,33	6,36
2	0,68 ^b	0,46	0,44	5,83

^a %TE en fresco procedentes de ovocitos propios en mujeres >40 años.

^b %TE en fresco procedentes de ovocitos propios en mujeres >40 años + TG por transferencia de dos embriones vitrificados procedentes de ovocitos donados.

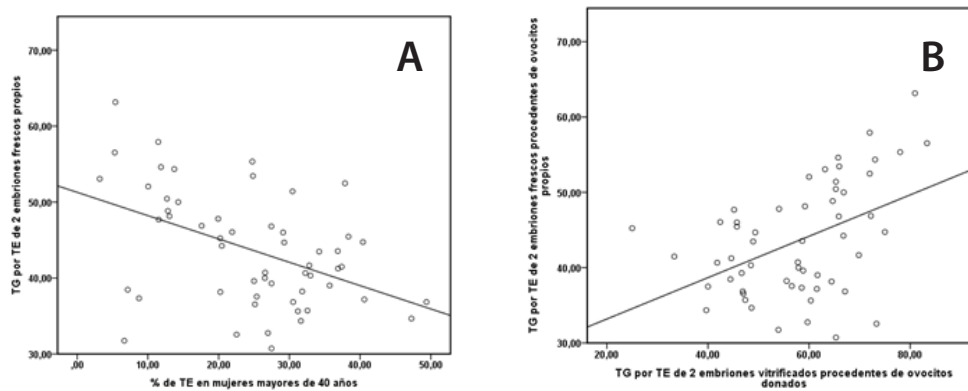


Figura 1. Regresión lineal simple de la tasa de gestación por transferencia de dos embriones frescos procedentes de ovocitos propios frescos frente a la variable "porcentaje de TE en mujeres mayores de 40 años" (A) y "TG por transferencia de dos embriones vitrificados procedentes de ovocitos donados" (B).

COMPARACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE LAS CONDICIONES DE CULTIVO ENTRE ACEITE MINERAL DE ALTA Y BAJA VISCOSIDAD

E. Mestres Gonzalvo, M. García Jiménez, I. Vanrell Barbat, A. Casals Acién, C. Llop Lechuga, Y. Barrueco Torres, G. Calderón Oya, N. Costa Borges

Embryotools, S.L. - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

El uso del aceite mineral está ampliamente extendido en el cultivo *in vitro* de gametos y embriones, debido a su papel estabilizador sobre las condiciones de cultivo: temperatura, pH y osmolaridad. Sin embargo, se desconoce cómo las características propias de cada tipo o marca de aceite (por ejemplo, su viscosidad) pueden influir en su capacidad para mantener unas condiciones estables.

OBJETIVO:

Evaluar las diferencias entre un aceite mineral de alta viscosidad y uno de baja viscosidad, por lo que respecta a sus efectos sobre el mantenimiento de la temperatura, pH y osmolaridad durante la manipulación y/o cultivo *in vitro* de gametos y embriones.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se compararon 2 tipos de aceite (alta y baja viscosidad), y con ellos se prepararon placas de cultivo según 3 diseños: 1) Microgotas (50µl) cubiertas de aceite (4ml); 2) Gran volumen de medio (2ml) cubierto de aceite (2,5ml); 3) Gran volumen de medio (2ml) sin aceite.

Tras su completa equilibración en un incubador húmedo, se midieron en cada una de ellas: 1) Los cambios en la temperatura y pH tras retirar la placa del incubador y colocarla en una superficie calefactada; 2) La recuperación de temperatura al devolverla al incubador; 3) La osmolaridad del medio de cultivo tras 24 y 120 horas de incubación, que se comparó adicionalmente con los mismos tiempos de cultivo en un incubador seco.

La temperatura se analizó de forma continua dentro del medio de cultivo mediante una sonda termopar. El pH se midió con un analizador de gases en sangre (epoc®, Siemens Healthineers) y la osmolaridad con un osmómetro de presión dva por (Vapro®5600, Wescor Inc.).

RESULTADOS:

El pH no varió tras 10min. fuera del incubador cuando se usó aceite, independientemente del diseño de la placa y del tipo de aceite utilizado. A los 30min., el pH se vio incrementado al usar aceite de baja viscosidad en 0,11 (microgota) y 0,05 (gran volumen), pero se mantuvo estable con el aceite de alta viscosidad. En las placas sin aceite, incluso en atmosfera húmeda, el medio presentó excesiva evaporación durante las 24h. de incubación y resultó en un pH fuera del rango de medición (>8,0).

La pérdida de temperatura al sacar las placas del incubador presentó una dinámica similar en todos los grupos con aceite, manteniéndose por encima de 37°C durante los 3 primeros minutos y disminuyendo hasta 36,5°C a los 10 minutos. Sin aceite, la temperatura descendió hasta los 33°C tras sólo 2 minutos en la superficie calefactada. Todas las placas tardaron aproximadamente 4 minutos en recuperar una temperatura de 37°C al devolverlas al incubador de sobremesa.

El uso de cualquiera de los aceites evitó el aumento en la osmolaridad del medio tras 24h. en un incubador húmedo. Sin embargo, a las 120h. sí se observó un aumento de ~5mmol/kg, tanto en microgotas como en gran volumen, que se vio incrementado hasta ~15mmol/kg al realizar el mismo cultivo en un incubador seco. Sin aceite, la osmolaridad subió más de 200mmol/kg tras sólo 24h. en el incubador húmedo.

CONCLUSIONES:

Nuestros resultados evidencian la importancia de utilizar aceite durante la manipulación y cultivo de los gametos y embriones en el laboratorio. La viscosidad del aceite mineral no se ha correlacionado con un cambio en su capacidad para mantener la temperatura, pH y osmolaridad del medio, exceptuando la conservación del pH durante largos períodos de tiempo fuera del incubador, en cuyo caso el aceite de alta viscosidad ha aportado una mayor estabilidad. Asimismo, el diseño de la placa, utilizando microgotas o grandes volúmenes de medio, no ha influido en las dinámicas de las condiciones de cultivo estudiadas.

¿DEBERÍAMOS ESTUDIAR MÁS A FONDO EL FACTOR MASCULINO? ESTUDIO PRELIMINAR

J. Muñoz Ramírez, B. Rojas Ruiz, M E. Alonso Santiago, L. Pérez García, M. Sánchez-Dehesa Rincón

HM Fertility Center Toledo - Toledo (Toledo)

INTRODUCCIÓN:

Cada vez más estudios apuntan a que el varón tiene mayor importancia en el resultado final de un tratamiento de Reproducción Asistida. Además de la edad del varón, otros factores como la integridad de su ADN, están siendo correlacionados con fallos de implantación y abortos de repetición.

El estudio básico del semen, basado en un seminograma, se queda corto a la hora de analizar una muestra de semen.

Actualmente existen diversas técnicas que estudian el estrés oxidativo, el daño en el ADN del espermatozoide o las aneuploidías.

La fragmentación en el ADN espermático se asocia a un mayor riesgo de aborto que el descrito en la población general. Es importante diferenciar entre rotura de cadena sencilla (ssDNA) que se asocian a una menor tasa de fecundación. Y las roturas de doble cadena (dsDNA) que suponen un riesgo de alteración cromosómica asociándose a cinéticas embrionarias más lentas, así como una menor tasa de implantación.

OBJETIVO:

El objetivo de este estudio es valorar la elevada incidencia de alteraciones genéticas en semen de varones con problemas de fertilidad, y considerar si es necesario ampliar el estudio del varón a todas las parejas infértiles.

MATERIAL Y MÉTODO:

El criterio de inclusión de este estudio es cuando no se encuentran causas que expliquen la infertilidad de ciertas parejas y, de manera empírica, se solicitan pruebas a pacientes con abortos de repetición (una vez descartadas trombofilias, alteraciones de cariotipo, inmunidad), fallos de FIV (ciclos con baja fecundación o baja formación de blastocistos), hábitos de vida no saludables (elevado consumo de cafeína, abuso de drogas, exposición a químicos, obesidad mórbida...) y un último grupo de esterilidad de origen desconocido (ciclos previos sin encontrar causa aparente).

Se estudia en 44 varones la fragmentación de ADN mediante Comet neutro y alcalino (CIMAB) y a 32 de ellos además para FISH (5 sondas, Reprogenetics) FISH en tres colores con sondas específicas para el cromosoma X, Y y 18. FISH en dos colores para los locus 13, 21. En cada muestra se determinará de incidencia de disomías para los cromosomas X, Y, 13, 18 y 21, la incidencia de espermatozoides diploides y la proporción de espermatozoides portadores del cromosoma X e Y.

RESULTADOS:

De los 44 varones estudiados, 2 (4.5 %) tenían elevada la fragmentación de cadena sencilla, 30 (68.2 %) tenían elevada la fragmentación de cadena doble y 12 (27.3 %) eran normales. Si dividimos por indicaciones obtenemos:

(Ver tabla 1)

CONCLUSIONES:

En nuestra selección de pacientes, observamos un porcentaje muy elevado de varones con alteraciones tanto en FISH como en fragmentación del ADN de doble cadena. Este porcentaje se mantiene, más o menos, en los diferentes grupos. Debemos tener en consideración que estos pacientes tienen antecedentes de abortos de repetición, fallos de FIV, ... lo que les hace ser un subgrupo de mal pronóstico reproductivo.

Cabe preguntarse si extendiendo el estudio ampliado del varón a pacientes infértiles, pero con seminogramas normales y sin antecedentes de FIV, se mantendría la proporción encontrada.

Incluso si estudiamos el semen de donantes podríamos encontrarnos con alteraciones en la fragmentación y/o el FISH que no esperaríamos.

Por ello, en nuestro centro estamos empezando a indicar un estudio más profundo del varón para, si detectamos alteraciones, tratarlos bien sea con Fertile-Chip, MACS (Miltenyi Biotech), PICS1 (Origio, Cooper Surgical), Sperm Slow (Origio, Cooper Surgical), o Screening de aneuploidias para los casos de FISH alterado.

COMUNICACIONES PÓSTER

Tabla 1. RESULTADOS

Fragmentación	Total	Abortos	Fallo FIV	Hábitos	EOD
NORMAL	12 (27.3 %)	4 (30.7 %)	3 (21.4 %)	1 (12.5 %)	4 (44.4 %)
Cadena doble	30 (68.2 %)	9 (69.2 %)	9 (64.2 %)	7 (87.5 %)	5 (55.5 %)
Cadena sencilla	2 (4.5 %)	0 (0 %)	2 (14.3 %)	0 (0 %)	0 (0 %)

En cuanto al FISH, encontramos 12 varones normales (37.5 %) y 20 alterados (62.5 %). Desglosado por indicaciones:

FISH	Tota	Abortos	Fallo FIV	Hábitos	EOD
NORMAL	12 (37.5 %)	7 (58.3 %)	6 (54.5 %)	1 (50 %)	6 (85.7 %)
Alterado	20 (62.5 %)	5 (41.7 %)	5 (45.5 %)	1 (50 %)	1 (14.3 %)

De los 32 pacientes a los que se les estudió tanto FISH como fragmentación:

FISH + Frag	Total	Abortos	Fallo FIV	Hábitos	EOD
NORMAL	5 (15.6 %)	1 (8.3 %)	2 (18.2 %)	0 (0 %)	2 (28.6 %)
Solo FISH alterado	3 (9.4 %)	3 (25 %)	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
Solo Frag alterado	15 (46.9 %)	6 (50 %)	4 (36.4 %)	1 (50 %)	4 (57.1 %)
Ambos alterados	9 (28.1 %)	2 (16.6 %)	5 (45.4 %)	1 (50 %)	1 (14.3 %)

LA SELECCIÓN ESPERMÁTICA MEDIANTE CHIPS MICROFLUÍDICOS EN PACIENTES CON FRAGMENTACIÓN DE ADN ALTERADA INCREMENTA EL NÚMERO DE BLASTOCITOS EN CICLOS DE OVO DONACIÓN

A. Munuera Puigvert, S. Novo Bruña, B. Freijomil Díaz, F. García José, C. Castelló Zupanc, M. López-Teijón Pérez
Institut Marquès - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

Estudios previos han demostrado el efecto negativo de la fragmentación del ADN espermático en el desarrollo embrionario temprano, reduciendo las tasas de división y la calidad embrionaria. En consecuencia al aumento del bloqueo embrionario se produce una disminución de las tasas de embarazo e implantación. Los métodos convencionales de selección de espermatozoides para FIV-ICSI (swim-up, gradientes de densidad, etc.) requieren centrifugación de la muestra, proceso que puede incrementar las especies reactivas de oxígeno y la fragmentación del ADN espermático. La aparición

de nuevas técnicas de selección espermática para ICSI, como los sistemas de microfluídica, permiten seleccionar espermatozoides con mejor movilidad y morfología, menor daño del ADN y menores niveles de especies reactivas de oxígeno que los métodos convencionales.

OBJETIVO:

Comparar los resultados reproductivos en ICSI de dos métodos de selección espermática: gradientes de densidad (GD) y chip microfluídico en hombres estériles con un índice de fragmentación (IDF) superior al límite de normalidad.

COMUNICACIONES PÓSTER

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio de cohorte retrospectivo comparativo de los resultados de 46 ciclos de ICSI-ovodonación realizados entre Noviembre de 2017 y Diciembre de 2018. Para minimizar el impacto del factor femenino el estudio se realizó en un modelo de ovodonación (OD). Se incluyeron sólo varones con un índice de fragmentación del ADN (IDF) alterado en semen (> 30%). Según el método de selección espermática utilizado para ICSI, se establecieron dos grupos: gradientes de densidad (G1, n=23) y chip microfluídico (G2, n=23). El IDF de todas las muestras fue evaluado mediante el test SCD (sperm chromatin dispersion). Los resultados de ambos grupos se compararon entre sí y con un grupo control (GC) de 768 ciclos de ICSI-OD en pacientes sin indicación de test de fragmentación de ADN o con resultado normal y selección espermática mediante GD. El estudio de homogeneidad no demostró diferencias entre grupos. Se utilizó el estadístico de Fisher para evaluar los resultados considerándolos estadísticamente significativos $p < 0,05$.

RESULTADOS:

Se analizaron las tasas de fecundación, blastocito de calidad óptima, embarazo por transferencia e implantación en todos los grupos. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla I. La tasa de embriones evolutivos fue significativamente superior en el grupo del chip microfluídico respecto al grupo de selección espermática mediante gradientes de densidad (G2: 52,9% vs G1: 34,7%).

No se encontraron diferencias significativas en la tasa de fecundación: 71,6% vs 78,6%; tasa de embarazo: 33,3% vs 50,0% y tasa de implantación: 26,3% vs 40,0%, respectivamente para G1 y G2.

No se encontraron diferencias significativas entre los resultados del grupo chip microfluídico (G2) con el grupo control (GC), para las tasas de blastocito de calidad óptima (52,9% vs 53,0%), fecundación (78,6% vs 74,8%), embarazo (50% vs 64,9%) y de implantación (40% vs 51,9%) respectivamente para G2 y GC.

CONCLUSIONES:

En pacientes con un IDF alterado, que se someten a un ciclo de ICSI-DO, la selección espermática mediante chip microfluídico aumenta significativamente el número de blastocitos de calidad óptima. Estos resultados muestran que el mal pronóstico previsible en casos con IDF alterado, puede ser revertido aplicando el chip microfluídico para la selección espermática. Lo que podría explicarse por el hecho de que, a diferencia de los métodos convencionales de selección espermática, el chip microfluídico no requiere centrifugación, lo que favorecería la selección de espermatozoides libres de roturas de ADN. Con el aumento de embriones disponibles se esperaría, además, un incremento en la tasa de embarazo acumulado por ciclo.

	N	FECUNDACIÓN	BLASTOCISTO DE CALIDAD ÓPTIMA	EMBARAZO POR TRANSFERENCIA	IMPLANTACIÓN
GRADIENTES DENSIDAD (G1)	23	71,6%	34,7% ^b	33,3%	26,3%
CHIP MICROFLUÍDICO (G2)	23	78,6%	52,9% ^a	50,0%	40,0%
GRUPO CONTROL (GC)	768	74,8%	53,0% ^a	64,9%	51,9%

* Significación estadística ($p < 0.05$)

Tabla I. Diferentes superíndices indican diferencias estadísticamente significativas dentro de la misma columna ($p < 0.05$)

NUTRICIÓN MATERNA Y SU IMPACTO EN EL DESARROLLO EMBRIONARIO Y FETAL DURANTE EL EMBARAZO

C. Álvarez Santana

IVI RMA Global - Tegueste (Santa Cruz de Tenerife)

INTRODUCCIÓN:

Estudios actuales señalan la importancia de una nutrición adecuada para una óptima salud reproductiva, tanto que se han observado gestaciones espontáneas al modificar la dieta de mujeres inicialmente incapaces de concebir.

El ambiente intrauterino es de vital relevancia y, de todos los factores por los que está influenciada su composición y procesos metabólicos, la nutrición es el más importante: tanto que se ha demostrado que el crecimiento de un embrión proveniente de donación está más influenciado por el estado nutricional y de salud de la receptora que de la donante, a pesar de que el embrión sea genéticamente descendiente de esta última.

Existe cada vez más evidencia científica de que el estado nutricional de la madre puede alterar el estado epigenético del genoma fetal y su impronta genómica; bien por procesos de metilación o por modificación de histonas. Un estado nutricional inadecuado puede resultar en la expresión de genes aberrantes con patologías asociadas.

Además, la nutrición también tiene impacto durante la etapa post-natal del recién nacido, determinando incluso enfermedades que podría padecer durante su edad adulta.

OBJETIVO:

Analizar el impacto de la nutrición materna sobre el desarrollo fetal y las patologías asociadas tanto a un estado de desnutrición, como en sobrepeso u obesidad.

MATERIAL Y MÉTODO:

La metodología de este trabajo es una investigación bibliográfica, donde se han consultado bases de datos, artículos científicos de relevancia y actualidad; así como en libros o revistas de ámbito médico.

RESULTADOS:

Por una parte, encontramos a las mujeres que se hallan en un estado de desnutrición, donde se ha demostrado una reduc-

ción en el crecimiento de la placenta que afecta al desarrollo fetal: ocurre aparición del llamado retraso del crecimiento intrauterino (RCIU), que determinará la manifestación de problemas neurológicos, respiratorios, intestinales y circulatorios en la infancia o edad adulta del futuro recién nacido.

Por otra parte, con respecto a la sobre alimentación, un Índice de Masa Corporal (IMC) por encima de 25 ya presenta riesgos para la gestación. Las patologías asociadas a la obesidad materna son los defectos del tubo neural, siendo la espina bífida el más prevalente, seguido de la anencefalia: incluso con el aporte de ácido fólico, este grave problema no mejora. Asimismo, existen otras complicaciones, como las anomalías cardiovasculares, labio leporino, atresia anorrectal, hidrocefalia, microcefalia, hipospadias y reducción de miembros inferiores; todas estas aumentan de manera exponencial con el grado de obesidad.

Asimismo, el llamado síndrome metabólico (asociación de obesidad, resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa, hipertensión arterial y dislipemia) presenta una alta probabilidad de aparición en la infancia del feto desarrollado en una madre con un IMC elevado. La ingesta excesiva de nutrientes conlleva un aporte exagerado de nutrientes al feto, lo que produce un aumento de las concentraciones de leptina fetal: ello puede afectar a la regulación de esta hormona en el feto, creando desde ese momento tan temprano de su desarrollo una resistencia a la misma, que se mantendrá en su vida postnatal. Incluso se ha observado una mayor prevalencia de autismo y otras complicaciones del neurodesarrollo en hijos de madres obesas.

CONCLUSIONES:

1. La nutrición resulta el factor más relevante para la salud de la mujer embarazada, pudiendo modificar el ambiente placentario y la eficiencia de funcionamiento de este órgano, y afectando, por ende, al feto.
2. Una alimentación inadecuada puede influir en la eficacia de la perfusión uterina, del intercambio transplacentario de nutrientes y productos de desecho, y de una perfusión umbilical entre madre y embrión normales.
3. La alimentación materna impacta desde el desarrollo fetal hasta la vida del recién nacido desde su etapa postnatal hasta su edad adulta.

COMUNICACIONES PÓSTER

P-070 ▶

IMPACTO DE LA EDAD PATERNA EN LA INCIDENCIA DE ANEUPLOIDÍAS EMBRIONARIAS

N. Al-Asmar Piñar (1), A. Polo Picasso (1), C. Cinnioglu (2), A. Akinwole (3), L. Rodrigo Vivó (1), I. Campos Galindo (1), V. Peinado Cervera (1), S. Garcia Herrero (1), D. Castelló Salom (1), C. Rubio Lluesa (1)

(1) Igenomix HQ - Paterna (Valencia), (2) Igenomix Los Angeles - Los Angeles (California (USA)), (3) Igenomix Miami - Miami (Florida)

INTRODUCCIÓN:

A lo largo de los años se ha investigado mucho acerca del efecto que la edad materna avanzada, sobre todo a partir de los 35-37 años, puede llegar a producir en la fertilidad de una pareja y sus resultados reproductivos. Sin embargo, la influencia de la edad paterna avanzada sigue siendo aún controvertida.

OBJETIVO:

El propósito de este estudio fue evaluar si la edad paterna avanzada podía afectar a la prevalencia de anomalías cromosómicas embrionarias en blastocistos procedentes de ciclos de donación de ovocitos (<35 años), para minimizar el efecto de la edad materna en la incidencia de aneuploidías.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo multicéntrico de cohortes. En este estudio se incluyeron 1.202 ciclos de FIV/ICSI (6.934 embriones) tras donación de ovocitos a los que se les realizó un análisis cromosómico de los embriones (PGT-A). Las biopsias fueron realizadas entre enero de 2016 y Diciembre de 2018. Todos los

embriones incluidos fueron biopsiados en día 5 ó 6 (estadio de blastocisto) y se analizaron mediante NGS (Next Generation Sequencing) con ReproSeq PGS (ThermoFisher Scientific) y el software Ion Reporter. Se establecieron 6 grupos de edad paterna y se realizaron las comparaciones estadísticas mediante chi-cuadrado y análisis de varianza (ANOVA).

RESULTADOS:

Los resultados de los 6.934 embriones se muestran en la tabla adjunta de acuerdo con los grupos de edad paterna (ver tabla I).

CONCLUSIONES:

En nuestro estudio no observamos un efecto de la edad paterna en la incidencia de aneuploidías embrionarias para los rangos de edad considerados. Hasta donde sabemos, este es el estudio más extenso realizado para evaluar el posible efecto de la edad paterna en las anomalías cromosómicas embrionarias utilizando ciclos con ovocitos de donantes y NGS. Las limitaciones de este estudio incluyen la falta de resultados clínicos como puedan ser el embarazo y la tasa de nacidos vivos y el número limitado de varones mayores de 60 años.

Edad paterna /años	18-34	35-37	38-40	41-44	45-60	60+	
Nº Ciclos FIV/ICSI	121	159	188	289	424	21	
Nº embriones biopsiados	739	898	1013	1640	2527	117	
% embriones aneuploides	35,7	37,4	36,2	37,5	38,2	32,5	p= 0,6695
Nº pacientes con datos disponibles de seminograma	10	15	27	34	50	1	
Media de concentración espermática (mill/ml) (SD)	30,7 (33,9)	23,7 (29,3)	35,9 (31,6)	27,1 (38,7)	33,9 (29,7)	33,0 (0,0)	p= 0,810

Tabla I. Resultados

CRIOTRANSFERENCIA DE BLASTOCISTOS; ¿ES SIEMPRE MEJOR TRANSFERIR UN EMBRIÓN?

J. Martínez Sanchís, I. Iniesta Mirón, J. Subirá Nadal, P. Polo Sánchez, M. De la Orden Rodríguez, M. Baena Uruña, L. Antolín Martínez, P. Fernández Colom, J. Rubio Rubio
Hospital La Fe - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

Está aceptado que los blastocistos son los embriones que mayor tasa de implantación tienen por lo que la tendencia actualmente es transferir un único blastocisto (SET) en lugar de dos (DET). Pero, ¿qué ocurre si los blastocistos no son de la mejor calidad?

OBJETIVO:

Estudiar si los blastocistos transferidos en un ciclo de criotransferencia de embriones propios tienen distintas tasas de gestación clínica (TG), implantación (TI) y recién nacido vivo (TRNV) en función del número de blastocistos que se transfieren y de su calidad

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo y comparativo de 191 ciclos de transferencia de congelados propios con sistema cryotop en estadio de blastocisto entre los años 2016 y 2018. Se establecieron 5 grupos de estudio en función de la calidad del blastocisto según criterios ASEBIR y del número de blastocistos transferidos (SET o DET):

Grupo 1, SET de blastocistos tipo A o B (N=100)

Grupo 2, SET blastocistos tipo C (N=46)

Grupo 3, DET de 1 blastocistos tipo A o B y 1 blastocisto tipo C o D (N=21)

Grupo 4, DET de 2 blastocistos tipo A o B (N=13)

Grupo 5, DET de 2 blastocistos tipo C o D (N=11)

RESULTADOS:

La TG (%) para los grupos 1, 2, 3, 4 y 5 fueron respectivamente 33.3, 30.4, 52.38, 53.8 y 45.4. La TI en los distintos grupos fue 33.3% en el grupo 1, 30.4% en el grupo 2, 28.6% en el grupo 3, 38.5% en el grupo 4 y 22.7% en el grupo 5. La TRNV por transferencia fue de 16% en el grupo 1, 19.5% en el grupo 2, 42.8% en el grupo 3, 38.4% en el grupo 4 y 45.4% en el grupo 5

En el grupo 3 se obtuvo una tasa de embarazo doble (2 sacos) del 9.1% (un embarazo doble de 11 transferencias), en el grupo 4 fue del 42.9% (3 embarazos dobles de 7 transferencias) y en el grupo 5 no hubo embarazos dobles.

CONCLUSIONES:

La tasa de gestación y la tasa de recién nacido vivo es superior cuando se transfieren 2 embriones aunque sean de inferior calidad respecto a si se transfiere únicamente uno aunque la tasa de implantación sea más baja en algunos grupos de transfer de dos embriones.

La tasa de gestación doble es del 17.4% en las transferencias DET. Si los dos embriones son de calidad A o B la tasa de gestación doble es muy elevada (42.9%). Sin embargo, si al menos uno de los dos embriones transferidos es de calidad C o D la tasa de gestación doble es muy baja (6.2%). Por todo ello, en nuestro laboratorio debemos hacer SET si tenemos dos blastocistos vitrificados de tipo A o B y DET si tenemos dos blastocistos vitrificados y uno de ellos o ambos son de tipo C o D.

Es necesario aumentar el tamaño muestral de los distintos grupos para confirmar las conclusiones del estudio.

MOSAICISMO EN ESTADIO BLASTOCISTO, FRECUENCIA Y CROMOSOMAS IMPLICADOS: D5 VS D6/D7

A. Genovés Pérez, A. Sáez Cuevas, E. García Mengual, M. Davila Lodeiro, J. Descals Ferrando, R. Bautista Llácer, A. Oller Campillo, E. Raga Giner, A. Catalá Belenguer, X. Vendrell Montón

Sistemas Genómics S.L - Paterna (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

El reciente advenimiento de las técnicas de secuenciación masiva o NGS (Next Generation Sequencing) ha permitido aumentar la resolución en los estudios de aneuploidías. Este hecho ha cobrado especial relevancia ya que, además de los embriones euploides y aneuploides, ahora también es posible detectar una nueva categoría: embriones mosaico.

Un embrión mosaico se caracteriza por la presencia de dos o más líneas celulares con diferente cariotipo (una euploide y otra aneuploide). En función del número de cromosomas implicados podemos reconocer tres tipos i) mosaico simple (1 cromosoma), ii) mosaico doble (2 cromosomas), iii) mosaico complejo (3 o más cromosomas).

En sentido estricto, los embriones mosaico no pueden considerarse aneuploides, circunstancia que ha generado una gran controversia en cuanto a su devenir clínico. La comunidad científica, por medio de Preimplantation Genetic Diagnosis International Society (PGDIS), se ha pronunciado al respecto estableciendo una guía de recomendaciones para proceder con estos embriones.

Por otra parte, el cultivo embrionario prolongado evidencia una amplia variedad morfofocinética. Mientras algunos embriones alcanzan el estadio blastocisto en día 5 (D5), otros lo alcanzan en día 6 (D6) o incluso día 7 (D7) de cultivo.

OBJETIVO:

- 1) Establecer y comparar las frecuencias de embriones euploides, aneuploides y mosaico observadas en estadio de blastocisto tanto en D5 como en D6/D7.
- 2) Describir las frecuencias de los diferentes tipos de mosaicismo embrionario en D5 y en D6/D7: simple, doble y complejo.
- 3) Describir la distribución cromosómica del mosaicismo embrionario y su frecuencia por embrión en D5 y D6/7.

MATERIAL Y MÉTODO:

El presente trabajo es un estudio observacional multicéntrico retrospectivo. Se ha analizado un total de 788 casos de PGT-Aneuploidias (NGS) y 3143 embriones procedentes de 42 centros entre julio 2017 y abril 2019. Los embriones fueron analizados mediante Veriseq-PGS Illumina® siguiendo las instrucciones del fabricante. Se distribuyeron en dos grupos en función del día de cultivo en el que se biopsiaron, D5 y D6/D7.

El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico PSPP 1.0.1. mediante la prueba chi-cuadrado ($p \leq 0.05$).

RESULTADOS:

De los 3143 embriones analizados, 2856 (90.9%) fueron diagnosticados. En D5 se analizaron 1943 embriones resultando 644 (33.14%) euploides, 988 (50.85%) aneuploides y 311 (16.01%) mosaicos. En D6/D7 se analizaron 913, de los cuales 261 (28.59%) euploides, 503 (55,09%) aneuploides y 149 (16.32%) mosaicos. Se observó una frecuencia de embriones aneuploides en D6/D7 significativamente superior a D5 ($p=0,013$).

Para describir las frecuencias del tipo de mosaicismo se analizaron 460 embriones, 311 en D5 y 149 D6/D7. De los cuales 159 (51.13%), 65 (20.90%) y 87 (27.97%) se clasificaron como simple, doble y complejo en D5; y 76 (51.01%), 28 (18.79%) y 45 (30.20%) en D6/D7. Observándose una distribución similar de los mismos.

Cada cromosoma participa en el fenómeno de mosaicismo una media de 9.20% en D5 y de 9.86% en D6/D7. En ambos grupos se observa una mayor la frecuencia media de los autosomas (9.49% y 9.86%) frente a la de los cromosomas sexuales (2.89% y 0%) en D5 y D6/D7, respectivamente (Figura 1).

COMUNICACIONES PÓSTER

CONCLUSIONES:

La frecuencia de embriones mosaico es similar en D5 y D6/D7. Las frecuencias de embriones mosaico simple, doble y complejo se mantienen similares en D5 y D6/D7, siendo el mosaico

simple el más frecuente en ambos grupos. El fenómeno de mosaicismo se observa con mayor frecuencia en autosomas que en cromosomas sexuales. La tasa de embriones aneuploides en D6/D7 es significativamente superior que en D5.

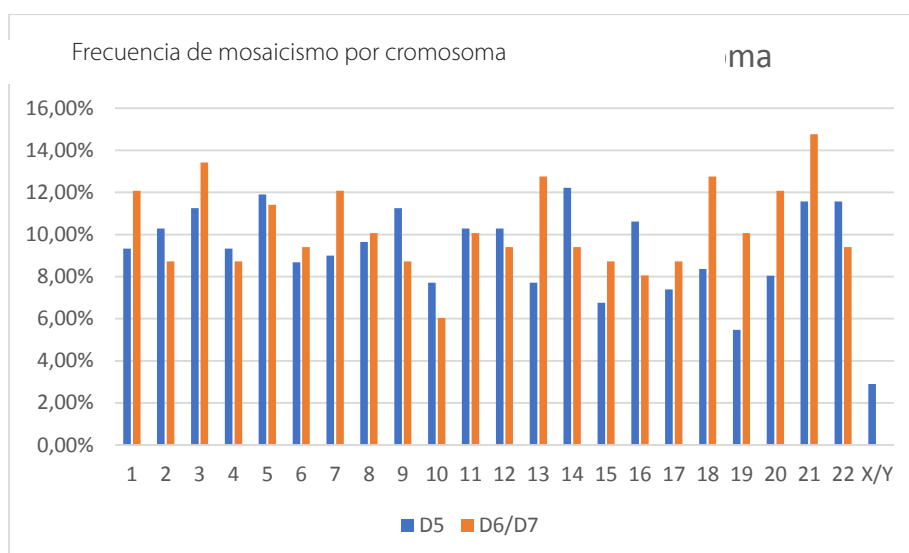


Figura 1. Distribución de las frecuencias de mosaicismo por cromosoma en D5 y D6/D7.

P-073 ▶

BIRTHWEIGHT COMPARISON BETWEEN CONSECUTIVE SINGLETON SIBLINGS CONCEIVED WITH IN VITRO FERTILIZATION IN FROZEN VERSUS FRESH EMBRYO TRANSFER

M. Méndez Justo, E. Vidal Sordé, J M. Calafell Pozo, M. Guimerà Leal, S. Cívico Vallejos
Hospital Clínic de Barcelona - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

Concern has raised about perinatal outcomes in IVF children. On one hand, fresh embryo transfer are described for being low-birthweight, while frozen embryo transfer for larger one. Certain groups have stated statistical differences between birthweights, however, confounding factors may explain these findings. Hence, we have examined these differences between siblings to minimize the confounding factors.

OBJECTIVES:

The aim of the study is to assess differences between consecutive sibling singletons from: fresh and fresh, FET-FET, fresh-FET, FET-fresh transfers to examine the possible effect of embryo cryopreservation on perinatal outcomes (birthweight, large for gestational age (LGA), small for gestational age (SGA) and macrosomy). Indeed, the consecutive singletons population was compared with total FET and SET singletons.

COMUNICACIONES PÓSTER

MATERIAL AND METHODS:

Study design

A retrospective study of women delivering at least two babies with their autologous oocytes, from fresh or FET transfers (and all the possible combinations), each of them in a single pregnancy from 1995 to 2018. Thus, cohort of FET and SET singletons were also included from the same period.

Statistics

Maternal characteristics and perinatal outcomes were assessed using paired-samples t-test, and proportions with the χ^2 test.

The significance level was established as $\alpha = <0.05$, so p-value less than 0.05 was considered statistically significant. All statistical analyses were performed with SPSS version 23.0.

RESULTS:

Siblings fresh and fresh (N=290), FET-FET(N=60), fresh-FET

(N=188), FET-fresh (N=32). The total FET cohort included 607 singletons while the SET one 2604.

In this study with sibling oocytes we have been able to confirm the results published in similar studies in which it is stated that the weight of the children born after cryopreservation and subsequent transfer in a cycle different from the cycle in which the embryos are obtained is superior To the children born after stimulation and transfer without going through the cryopreservation process. Children born after cryopreservation and subsequent transfer presented a higher weight ($p = 0.003$, $p = 0.048$) to those born (siblings) after the transfer of fresh embryos.

CONCLUSIONS:

Larger birthweights in singletons are observed in frozen-embryo transfers when comparing with their sibling from a fresh embryo transfer, although further research with larger sibling samples is needed.

Singletons born after fresh or cryopreserved transfers			
Singletons (N)	Fresh embryo transfer (N=2604)	FET (N=607)	P-values
Maternal age (years), mean (SD)	34.58 (3.47)	34.37 (3.43)	0.177
Gestational age (weeks), mean (SD)	38.76 (2.17)	39.20 (1.91)	<0.0001
Birthweight (g), mean (SD)	3101.29 (551.30)	3295.41 (548.67)	<0.0001

Table I. Summary of maternal characteristics are shown (mean, standard deviation) for the different total cohorts.

Consecutive singleton sibling pairs										
Singletons (N)	Fresh-Fresh siblings (N=290)		FET-FET siblings (n=60)		p-values (fresh-fresh, CT-CT)	Fresh-FET siblings (N=188)		FET-fresh siblings (N=32)		p-values (fresh-FET, FET-fresh,)
	1 Fresh	2 Fresh	1 FET	2 FET		Fresh	FET	FET	Fresh	
Maternal age (years), mean (SD)	31.77 (3.40)	35.14 (3.28)	33.21 (3.18)	33.83 (3.51)	<0.0001, 0.012	33.51 (3.10)	34.04 (3.00)	33.25 (2.01)	36.75 (2.01)	<0.0001, <0.0001
Gestational age (weeks)	39.30 (1.64)	39.18 (1.90)	39.34 (1.53)	38.72 (1.96)	0.522,0.592	39.26 (1.49)	39.45 (1.54)	39.67 (1.78)	38.31 (2.33)	0.348, 0.078
Gestational age (days)	275.09 (11.47)	274.26 (13.31)	-	-	0.529, 0.118	275.65 (10.53)	278.97 (38.72)	278.31 (11.82)	268.50 (13.88)	0.415, 0.054
Birthweight (g), mean (SD)	3134.06 (420.62)	3173.64 (505.84)	3128.55 (455.44)	3179.21 (477.34)	0.352,0.592	3218.42 (503.87)	3390.15 (513.46)	3457.50 (605.45)	3096.37 (695.87)	0.003, 0.048

Table II. Summary of maternal characteristics are shown (mean, standard deviation) for the different sibling cohorts.

¿QUÉ PODEMOS ESPERAR CON MENOS DE 8 OVOCITOS DONADOS?

I. Carreño Pérez, M. Borrallo Fernández, I. Seco Blanco, R. Vázquez Agüero, J. Iglesias Rodríguez-Aguilar, A. Bermejo De la Calzada, B. Castro Martín, S. Fernández Prada
MINIFIV - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN:

La donación de óvulos ofrece las mayores tasas de embarazo en sus diferentes indicaciones. Como contrapartida, supone uno de los tratamientos con mayor coste para los pacientes y los centros de Reproducción Asistida. Por ello, muchas clínicas ofrecen como garantía de éxito un número alto de ovocitos de donante, siendo descartados o vitrificados lotes con un número bajo. En nuestro programa de donación (Mini-donación) se asignan exclusivamente entre 5 y 7 ovocitos vitrificados por paciente, lo que permite ofrecer el tratamiento a un coste inferior respecto a las donaciones convencionales, reducir la lista de espera y programar las fechas para la fecundación y la transferencia.

OBJETIVO:

- Analizar las tasas de implantación y gestación obtenidas en nuestro laboratorio de FIV durante el año 2018 con Mini-donación (5-7 ovocitos vitrificados/paciente), procedentes de un banco externo de ovocitos.
- Comparar nuestras tasas de gestación con Mini-donación frente a los resultados con donación convencional recogidos en el último registro publicado (año 2016) de la Sociedad Española de Fertilidad.

MATERIAL Y MÉTODO:

Análisis retrospectivo de los resultados obtenidos en el programa de donación de óvulos de la clínica Minifiv en 2018. Los ovocitos vitrificados (de 5 a 7 metafase II) proceden de un banco externo de óvulos, asignados en función del fenotipo de la paciente. La preparación endometrial de la receptora se lleva a cabo mediante terapia hormonal sustitutiva (estrogenoterapia) o siguiendo el ciclo natural de la paciente. Tras confirmar por ecografía el patrón y grosor endometrial (trilaminar > 6 mm), se programa con las pacientes la fecha para la desvitrificación (siguiendo el protocolo de Kitazato) y fecundación de los ovocitos; sólo en los días laborables. La transferencia embrionaria se fija en día 3 o en día 5 en función de los antecedentes de la paciente y la organización del laboratorio.

RESULTADOS:

Los datos obtenidos a partir de la tabla adjunta muestran que no existen diferencias significativas en el apartado de tasa de embarazo por transfer y por ciclo, lo que significa que podemos garantizar unas tasas de embarazo similares a aquellas obtenidas mediante nuestro programa de Mini-donación frente a las donaciones convencionales. Así mismo, la tasa de aborto es menor con nuestro programa respecto a los datos publicados en la SEF.

CONCLUSIONES:

A pesar de los avances que se han producido en la técnica de vitrificación de ovocitos, y las altas tasas de embarazo conseguidas, los costes asociados, tanto para los pacientes como para las clínicas sigue siendo elevado. Además, las estimulaciones ováricas de la donante no siempre salen como se esperaba, obteniéndose en algunos casos un número más bajo de ovocitos de lo esperado. Esto significa que los ovocitos no van a tener salida y van a quedar permanentemente en los bancos de nitrógeno.

Por ello, queremos destacar algunos puntos de nuestro programa de Mini-donación, entre los que se encuentran una reducción en los costes, tanto para pacientes como para la clínica; y la utilización de una misma donante para varias receptoras. Sin embargo, y aunque el número de embriones generado es menor, esto supone una ventaja para determinadas pacientes que por su edad avanzada o por motivos éticos, no quieren congelar un número alto de embriones. No obstante, lo más destacable de nuestro programa es el hecho anteriormente mencionado en el que mantenemos unas tasas similares tanto de embarazo por transfer como por ciclo, así como una disminución en la tasa de aborto respecto a los datos publicados por la SEF.

COMUNICACIONES PÓSTER

Tabla 1

	MINIFIV Mini donación 2018	Ovodón SEF 2016	Diferencia	95% CI (Low)	95% CI (High)	p-valor
Nºciclos	196	6849				
Edad media	41,39					
Tasa de ciclos cancelados	7,65% (15/196)					
Tasa de ciclos con transferencia	92,3% (181/196)	90% (6166/6849)	2.3%	-2.3489%	5.3605%	0.2886
Nº MII desvitrificados	1295 (media=6,6/paciente)	71181 (media=10,4/paciente)				
Nº MII supervivientes	89,7% (1162/1295) (media=5,92)	86,8 % (61764/71181)	2.9%	1.1083%	4.4601%	0.0022
Tasa fecundación	78,74 % (915/1162)	74,4 % (45951/61764)	4.34%	1.8709%	6.6221%	0.0008
Nº embriones transferidos en fresco	1,25 (238/189)					
Nºembriones vitrificados/ciclo	1,4 (265/187)	2,2 (15130/6849)				
Ciclos en los que se congelan embriones	65,8 % (129/196)	69,5 % (4761/6849)	3.7%	-2.6761%	10.6718%	0.2678
Tasa implantación	33,2% (79/238)					
Tasa embarazo/ciclo	40,8 % (80/196)	45,1 % (3090/6849)	4.3%	-2.7911%	11.0436%	0.2328
Tasa gestación/transferencia	44,1 % (80/181)	50,1 % (3090/6166)	6%	-1.3875%	13.1459%	0.1116
Tasa aborto	17,5 % (14/80)	31,3 % (969/3090)	13.8%	3.9104%	20.7790%	0.0084
Nº MII desvitrificados/gestación	16	23,0				

EXPERIENCIA Y COMPARACIÓN DE TEST DE PORTADORES DE FIBROSIS QUÍSTICA MEDIANTE SECUENCIACIÓN MASIVA EN DONANTES DE SEMEN

Marta. Molina Romero (1), Alberto. Yoldi Chaure (1), Purificación. Navas Bastida (2), Miguel. Gañán Parra (3), José Luis. del Pico Sánchez (1), Ángel. Vaquero Argüelles (1), Juan Pablo. Ramírez López (1), José Antonio. Castilla Alcalá (1)

(1) CEIFER Biobanco - Granada (Granada), (2) CEIFER Biobanco Córdoba - Córdoba (Córdoba), (3) CEIFER Biobanco Sevilla - Sevilla (Sevilla)

INTRODUCCIÓN:

Desde hace años, diversas sociedades científicas recomiendan el cribado de portadores de fibrosis quística (FQ) en donantes de semen con el fin de disminuir el riesgo de descendencia afecta. Este cribado ha pasado de realizarse con paneles dirigidos de variantes del gen CFTR a secuenciación completa mediante NGS.

OBJETIVO:

El objetivo de este estudio es evaluar los resultados del cribado de FQ en donantes de semen mediante NGS y compararlo con los resultados que se hubieran obtenido mediante la aplicación de diversos paneles dirigidos del gen CFTR.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se han utilizado dos plataformas de NGS, qCarrierPlus (qGenomics) y CarrierTest (Genetaq), en 525 y 316 donantes de semen de raza caucásica de área mediterránea, respectivamente. En ambos test se realiza la secuenciación completa del gen CFTR y el análisis no dirigido de las variantes halladas. Se han comparado las variantes patogénicas y probablemente patogénicas encontradas con las incluidas en los siguientes paneles dirigidos de variantes del gen CFTR: a) Recomendado por la sociedad americana (ACOG/ACMG); b) CF-EU2 kit-CF Iberian (Elucigene

Diagnostic); c) Preconception FOCUS (Sistemas Genómicos); d) CGT (igenomix); e) HERES GEN (Fullgenomics).

RESULTADOS:

De los 841 donantes analizados, 148 resultaron portadores de una o varias variantes patogénicas en el gen CFTR, lo que supone una frecuencia de portadores del 17,6% del banco de semen. En total se hallaron 38 variantes patogénicas diferentes. Si se hubiera utilizado los paneles dirigidos de variantes del gen CFTR, del total de donantes portadores de FQ, se hubieran obtenido las tasas de detección reflejadas en la Tabla I.

CONCLUSIONES:

Dadas las grandes diferencias entre nuestros resultados y los paneles analizados, creemos necesario alcanzar un consenso sobre qué variantes deben considerarse en el cribado de los donantes de semen. De lo contrario, la alta frecuencia de portadores de FQ observada, reduciría casi un 20% el número de donantes, afectando considerablemente a la disponibilidad y variedad de donantes en reproducción asistida. Por otro lado, la tasa de detección de donantes portadores de FQ con los paneles dirigidos de variantes de CFTR es de aproximadamente el 50%, la aplicación de estos paneles dirigidos supone un riesgo incrementado de descendencia afecta de FQ, incluso ante el resultado de un test de portadores negativo para el gen CFTR.

Donantes portadores detectados		
Test de portadores	Total Donantes (n=841)	Donantes portadores detectados con qCarrier Plus (n=148)
qCarrier Plus	148 (17,6%)	-
Preconception FOCUS	74 (8,8%)	74 (50%)
CGT	73 (8,7%)	73 (49,3%)
HERES-GEN	72 (8,6%)	72 (48,6%)
CF-EU2 kit- CF Iberian	72 (8,6%)	72 (48,6%)
ACOG/ACMG	8 (1%)	8 (5,4%)

Tabla I. Comparativa test portadores CFTR

EL PH DURANTE EL CULTIVO EN HIPOXIA: UN FACTOR A TENER EN CUENTA

JM. de los Santos Molina, A. Tejera Pastor, M. Meseguer Escrivá, M. Nohales Córcoles, S. Pérez Albalá, C. Albert Rodríguez, P. Gámiz Izquierdo, T. Viloría Samochín, A. Mercader Bayarri, MJ. de los Santos Molina

IVI Valencia - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

El cultivo de los embriones en condiciones de hipoxia especialmente en cultivo prolongado es altamente recomendado. A pesar de que se sabe que variables como la altitud, el ambiente hormonal, la integridad vascular o la contractilidad uterina afectan a la presión parcial del O² en los tejidos, nunca están por encima de 8% ni por debajo de 2% en el aparato reproductor femenino. Sin embargo, poco se sabe de cómo puede afectar los cambios de condiciones de normoxia a condiciones de hipoxia y viceversa al pH de los medios de cultivo.

OBJETIVO:

Teniendo en cuenta que las constantes de disolución de los diferentes gases implicados, a saber, CO², N² y O² son diferentes, nuestro objetivo será demostrar si debido a este hecho pueden producirse cambios de pH al someter a un medio de cultivo dado al paso desde condiciones hipóxicas a condiciones normóxicas.

MATERIAL Y MÉTODO:

Material:

- pH metro online MTG (Vitrolife, Dinamarca)
- Placas 4 pocillos con mini-sensor de pH (Vitrolife, Dinamarca)
- Incubador Heracell 150 trigas (Heraeus, Alemania)
- Incubador Heracell 150 convencional (Heraeus, Alemania)
- Cabina Isolette SS225 (Astec, Japan)
- Blastocyst culture media (Cook, Australia)
- Aceite mineral (FertiPro, Bélgica)

Métodos:

Se diseñó una experiencia para evaluar el posible cambio del pH en el medio de cultivo "Blastocyst", desde unas condiciones hipóxicas a unas normóxicas, intentando emular las condiciones que se darían en una placa de transferencia en el momento del transfer. Para ello, se equilibraron durante 24h dos placas de 4 pocillos con mini sensor de pH en condiciones de hipoxia (5,2% O₂, 5,7% CO₂ y 89,1% N₂), 37°C y saturación de humedad en incubador Heracell 150 trigas (por duplicado). La primera de ellas con 400 microlitros de medio de cultivo en el pocillo provisto de sensor, cubierto con 200 microlitros de aceite mineral. La segunda con únicamente 400 microlitros de medio "Blastocyst" (emulando una placa de transferencia). Por otro lado, también se equilibraron 24h dos placas más en condiciones de normoxia (19,6% O₂, 5,6% CO₂ y 74,8% N₂), 37°C y saturación de humedad en incubador Heracell 150 convencional (también por duplicado). Del mismo modo que en el caso anterior, la primera de ellas con 400 microlitros de medio "Blastocyst" en el pocillo provisto de sensor, cubierto con 200 microlitros de aceite mineral. La segunda con únicamente 400 microlitros de medio "Blastocyst". Tras obtener las placas equilibradas en las diferentes condiciones se procedió a las medidas del pH en sendas placas con el pH metro online MTG. Una vez comprobada la homogeneidad de los pH con y sin aceite en las diferentes placas (tabla I) se procedió a someter a las placas incubadas en hipoxia y normoxia sin cobertura de aceite mineral a condiciones de normoxia (19,6% O₂, 5,6% CO₂ y 74,8% N₂) y ausencia de humedad del interior de la cabina Astec Isolette SS225 (gráfica 1), lugar donde se realizan las transferencias embrionarias en nuestra clínica. Tras ello, a diferentes tiempos discretos se realizaron medidas del pH de las diferentes placas para elaborar un perfil de pH en el tiempo.

RESULTADOS:

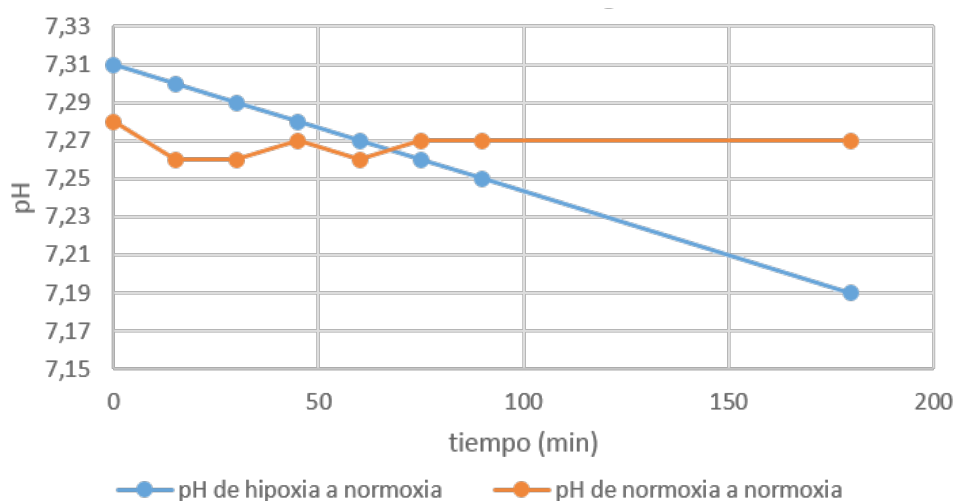
COMUNICACIONES PÓSTER

Tabla 1

	pH hipoxia 24h post incubación	pH normoxia 24h post incubación
pH con aceite mineral	7,28	7,26
pH sin aceite mineral	7,30	7,28

Gráfica 1

Variación del pH en el tiempo en relación al cambio de la concentración inicial de oxígeno.



CONCLUSIONES:

A tenor de los resultados obtenidos concluimos que, debido a la diferente solubilidad de los gases involucrados, el paso desde hipoxia a normoxia afecta al equilibrio de éstos, acidificando el medio de cultivo. Como contrapunto, los tiempos

necesarios para esta acidificación son, con mucho, superiores a los que se necesitan, por regla general, para el procedimiento de transferencia embrionaria. Sin embargo, estos hallazgos desaconsejan claramente el cultivo de embriones en normoxia en periodos prolongados si previamente éstos hubieran sido cultivados en hipoxia.

UTILIZACIÓN DE LA CÁMARA MICROFLUÍDICA FERTILE EN CASOS DE FRAGMENTACIÓN DE LA CADENA DOBLE DEL ADN DE LOS ESPERMATOZOIDES

J. Cuadros Fernández, L. Andrés Criado, M. Morales Morales, M. Villa Martínez, JL. Gómez Palomares, E. Ricciarelli
Clínica FIVMadrid - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN:

Se ha relacionado la rotura de la cadena doble de ADN de los espermatozoides con los fallos de implantación o los abortos de repetición. Por otro lado, como el daño de cadena doble no está relacionado con los parámetros evaluados en el seminograma, la selección de los espermatozoides para realizar la ICSI no evitaría la elección de espermatozoides con daño de cadena doble, como al parecer ocurre con el daño de cadena sencilla. Además, se ha sugerido que la selección de espermatozoides mediante la cámara microfluídica FERTILETM (DxNow) permitiría recuperar espermatozoides sin daño de cadena doble en los varones que presentan dicha alteración en el ADN.

OBJETIVO:

Analizar los resultados de los ciclos de parejas con fallo de implantación o abortos de repetición en los que el varón presentaba daño de cadena doble, y en los que seleccionamos los espermatozoides para la ICSI mediante la cámara microfluídica FERTILETM.

MATERIAL Y MÉTODO:

Entre enero de 2017 y diciembre de 2018 utilizamos la cámara FERTILETM para seleccionar los espermatozoides en los ciclos de FIV-ICSI de 13 parejas con fallos de implantación o abortos de repetición en las que se detectó daño de cadena doble de ADN superior al 60% mediante la técnica del Comet neutro.

RESULTADOS:

12 de las 13 parejas tuvieron una β -hCG positiva (92,3%), 11 fueron embarazos clínicos (84,6%), y 2 fueron abortos (18,1%). Hasta la fecha, de los 9 embarazos evolutivos han nacido 7 niños (77,7%). En este periodo utilizamos además la cámara microfluídica FERTILETM en 9 parejas a las que no se había realizado el Comet neutro para detectar el daño de cadena doble, pero que presentaban fallos de implantación o abortos de repetición, consiguiendo 6 embarazos clínicos (66,6%) y ningún aborto. De estos 6 embarazos, han nacido ya 4 niños (66,6%).

CONCLUSIONES:

A la vista de los resultados, concluimos que la utilización de la cámara microfluídica FERTILETM podría ser una herramienta eficiente para la selección de espermatozoides en los ciclos de FIV-ICSI de las parejas con fallos de implantación o abortos de repetición en las que los varones presenten daño de cadena doble del ADN.

EVOLUCIÓN DE LOS EMBRIONES CON DIVISIÓN DIRECTA, DIVISIÓN REVERSA U OTRAS DIVISIONES ANÓMALAS, DETECTADAS MEDIANTE TIME-LAPSE

M. Morales Morales, L. Andrés Criado, MA. Manzanares Ruiz, E. Ricciarelli, J. Cuadros Fernández
Clínica FIVMadrid - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN:

Además de las ventajas de conocer los tiempos de división de los embriones, el Time-Lapse brinda la posibilidad de identificar los embriones que presentan división directa, división reversa u otras divisiones anómalas. En ausencia del Time-Lapse, al no ser posible detectar estas anomalías, estos embriones podrían ser transferidos o congelados, reduciendo la probabilidad de éxito del ciclo. La división directa es la división de un cigoto en tres células (1 a 3) o la de un embrión de dos células en el que una de ellas se divide en tres (2 a 5); la división reversa es aquella en la que dos células completamente separadas se fusionan; y consideramos "otras divisiones anómalas" al resto de divisiones incorrectas.

OBJETIVO:

Determinar la evolución y el destino de los embriones que presentan división directa, división reversa u otras divisiones anómalas, con el objetivo de estimar el potencial implantatorio de estos embriones y su capacidad para dar lugar a un embarazo evolutivo.

MATERIAL Y MÉTODO:

En el periodo comprendido entre junio de 2018 y febrero de 2019, los embriones fueron cultivados en un Miri-TL (Esco) hasta los días 5-6 de desarrollo. Se registraron los embriones con división directa, división reversa u otras divisiones anómalas, y su destino, determinando si fueron transferidos, congelados, descongelados, o si detuvieron su desarrollo.

RESULTADOS:

Los embriones que presentaron división directa de 1 a 3 fueron 64, de los cuales 63 (98,4%) detuvieron su desarrollo y 1 se congeló. Los de división directa de 2 a 5 fueron 62, de los

cuales detuvieron su desarrollo 51 (82,3%); de los 11 embriones restantes, 4 se transfirieron en fresco, en cuatro ciclos, con el resultado de dos embarazos clínicos en curso; y se congelaron 7 embriones. Los embriones con división reversa fueron 45, de los cuales 41 (91,1%) detuvieron su desarrollo y 4 fueron congelados; de estos últimos, se descongelaron 3 embriones, con el resultado de tres embarazos clínicos, dos de los cuales fueron abortos y el tercero es un embarazo en curso. Los embriones con otras divisiones anómalas fueron 57; de ellos, 47 (82,5%) detuvieron su desarrollo, 2 embriones fueron transferidos en fresco, con resultado negativo, y 8 embriones fueron congelados; de estos últimos, se han descongelado y transferido 3 embriones, con resultado negativo.

CONCLUSIONES:

Aunque el número de casos es aún pequeño, concluimos que la tecnología del Time-Lapse es una herramienta necesaria para evitar la transferencia o la congelación como primera opción de embriones con división directa, división reversa o con otras divisiones anómalas, dada la baja probabilidad que tienen estos embriones de generar un embarazo. Sin embargo, algunos de estos embriones pueden alcanzar el estadio de blastocisto y dar lugar a un embarazo clínico.

COMUNICACIONES PÓSTER

EVOLUCIÓN DE LOS EMBRIONES DE BAJA CALIDAD ANTES Y DESPUÉS DEL USO DEL TIME-LAPSE

L. Andrés Criado, M. Morales Morales, M. Carrera Roig, E. Ricciarelli, J. Cuadros Fernández
Clínica FIVMadrid - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN:

Con la llegada del Time-Lapse, además de la posibilidad de seguimiento en tiempo real de los embriones, las condiciones de cultivo también han mejorado de forma importante. En este estudio hemos querido valorar el desarrollo embrionario y la capacidad de implantación de los embriones supernumerarios dejados en cultivo por ser de baja calidad, tras una transferencia en D+3.

OBJETIVO:

Comparar la evolución de los embriones de baja calidad no transferidos o congelados en D+3, antes y después del uso del Time-Lapse, para valorar la eficacia de esta tecnología sobre el desarrollo de estos embriones subóptimos y su potencial para generar un embarazo.

MATERIAL Y MÉTODO:

Comparar la evolución de los embriones de baja calidad no transferidos o congelados en D+3, antes y después del uso del Time-Lapse, para valorar la eficacia de esta tecnología sobre el desarrollo de estos embriones subóptimos y su potencial para generar un embarazo.

Estudio realizado durante 2017 y 2018, en el que evaluamos el desarrollo de los embriones que no se transfirieron o congelaron en D+3, por su calidad baja (categoría D de ASEBIR), en función de si fueron cultivados en un incubador estándar con O₂ al 20% o en un Miri-TL con O₂ al 5%. Estos embriones se mantuvieron en cultivo hasta el D+5/+6, y se congelaron si formaron blastocistos de calidad adecuada (categorías A, B o C de ASEBIR). Se registró también el resultado de los blastocistos que fueron descongelados y transferidos.

RESULTADOS:

De 427 embriones de calidad baja, cultivados en un incubador estándar con O₂ al 20%, 19 (4,4%) se congelaron al formar blastocistos de morfología adecuada. De este grupo, se descongelaron 6 blastocistos, sin conseguir un embarazo. Por otro lado, de 235 embriones de calidad baja, cultivados en un incubador Miri-TL con O₂ al 5%, 34 (14,5%) se congelaron al formar blastocistos de morfología adecuada. De estos, se descongelaron 5 embriones con el resultado de cuatro embarazos clínicos; uno de ellos fue un aborto.

CONCLUSIONES:

Consideramos que las condiciones de cultivo del Miri-TL han influido de forma positiva en el desarrollo de los embriones de baja calidad, mejorando la probabilidad de que estos embriones alcancen el estadio de blastocisto y den lugar a un embarazo clínico.

DOES ENDOMETRIAL MICROBIOME CHANGE ALONG THE MENSTRUAL CYCLE: AN OPEN ISSUE

A. Sola Leyva (1), N. Molina Morales (1), J. Plaza Díaz (1), MJ. Sáez Lara (1), J. Fontes Jiménez (2), J. Mozas Moreno (2), B. Romero Guadix (2), JA. Castilla Alcalá (2), L. Martínez Navarro (2), S. Altmäe (1)

(1) Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I. Facultad de Ciencias. Universidad de Granada - Granada (Granada), (2) U. Reproducción, UGC Laboratorio clínico y UGC Obstetricia y Ginecología. HU Virgen de las Nieves. Inst Invest Biosanitaria Ibs GRANADA - Granada (Granada)

INTRODUCCIÓN:

Novel studies are providing evidence that uterus has its own microorganismal composition, i.e. microbiome. Differences in the endometrial microbiome composition have been associated with in vitro fertilization (IVF) treatment outcomes and with gynaecological diseases such as endometriosis, dysmenorrhea and endometrial cancer. It is, however, not clear whether endometrial microbiome is different in different cycle phases. A small number of studies claim no differences, while even smaller number of studies detect differences between the cycle phases. Thus, we are still searching for the consensus whether the cycle phase differences are also reflected on the microorganismal level in the uterus.

OBJECTIVES:

The aim of this study is to determine if endometrial microorganismal composition differ between proliferative and mid-secretory phases.

MATERIAL AND METHODS:

14 endometrial samples, 7 samples from the mid-secretory phase and 7 samples from the consecutive proliferative phase were previously collected and RNA sequencing was performed. We obtained the raw sequencing data from the GEO repository, accession number GSE86491.

RESULTS:

With our novel metatranscriptomic approach we identified 'active' microorganisms in the human endometrium, specifically different bacteria, fungi, viruses and archaea. On the taxonomical level, after stringent multiple correction, we did not detect any significant differences in the microorganismal composition between proliferative and mid-secretory phases. However, metabolic functions of the detected bacteria differed between the two cycle phases, where amino acid and carbohydrate metabolisms were more active in the proliferative phase while lipid and energy metabolisms were more active in the secretory phase.

CONCLUSIONS:

Our preliminary data do not detect significant differences in microorganismal composition between cycle phases, however differences arise on bacterial metabolic function levels.

ANÁLISIS DE LOS INDICADORES DE CALIDAD ENTRE LOS DIFERENTES CENTROS PÚBLICOS ESPAÑOLES EN TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA. BENCHMARKING

S. Rodríguez Guirado, MC. Gonzalvo López, A. Clavero Gilabert, M. Ríos Lorenzo, A. Castro Rodríguez, N. Morales Rincón, T. Ortega Martín, C.J. Rodríguez Izquierdo, L. Martínez Navarro, JA. Castilla Alcalá

Hospital Universitario Virgen de las Nieves - Granada (Granada)

INTRODUCCIÓN:

La atención a los deseos reproductivos en los centros públicos de reproducción presenta ciertas peculiaridades que lo diferencian de la atención a nivel de centros privados (criterios de exclusión, limitación de ciclos, listas de espera, etc), lo que obliga a los centros públicos a adaptar sus recursos a estas limitaciones, sin menoscabar la eficiencia de los tratamientos y la seguridad de las pacientes.

El benchmarking competitivo es una herramienta que busca analizar los resultados y características de los centros que obtienen mejores resultados en sus indicadores de calidad.

OBJETIVO:

El objetivo principal de este trabajo es identificar los procedimientos que realizan los centros públicos más eficaces y seguros a nivel nacional.

MATERIAL Y MÉTODO:

A partir del Registro Nacional de Actividad de TRA – Registro SEF, se obtuvieron datos de 42 Centros Públicos. Se compararon en primer lugar las especificaciones a nivel deseable de los indicadores de calidad de la UNE 179007:2013 establecidas por ASEBIR, con la media de los resultados de los centros públicos de reproducción, que incluyen en su cartera de servicios FIV/ICSI.

Se calculó el porcentaje de fecundación de ovocitos propios frescos (OPF), porcentaje de implantación, gestación clínica y gestación múltiple tras transferencia de embriones en fresco (TE) de OPF, porcentaje de supervivencia a desvitrificación de embriones de OPF, porcentaje de implantación y gestación clínica por criotransferencia (CTE) de embriones de OPF.

En segundo lugar, se determinaron los centros públicos excelentes como aquellos que cumplían las siguientes condiciones: (i)

Tasa de gestación por transferencia de embriones en fresco procedentes de OPF superior a la media de centros públicos, (ii) Tasa de gestación por transferencia de embriones criopreservados procedentes de OPF, superior a la media de centros públicos y (iii) Tasa de embarazo múltiple de embriones frescos procedentes de OPF inferior a la media de centros públicos.

Además, se realizó una encuesta on-line a Centros públicos con laboratorio propio de FIV, obteniendo datos sobre: Protocolos de inducción a la ovulación, método de fecundación, política de transferencia embrionaria, recursos humanos, tipo de incubadora y programación semanal de la actividad. Una vez obtenidos los datos se realizó un análisis descriptivo de variables.

RESULTADOS:

La encuesta on-line fue respondida por 36 centros públicos, lo que supuso una tasa de respuesta del 90%.

La media de los indicadores de calidad analizados en los centros públicos, alcanzó o superó las especificaciones de calidad de ASEBIR a nivel deseable (**Tabla I**).

Sólo dos centros cumplieron con las condiciones para ser considerados excelentes (**Tabla II**).

Estos dos centros excelentes tuvieron un porcentaje de ciclos de estimulación con ACO previos, superior a la media de centros públicos. Los dos centros considerados excelentes realizaron un porcentaje de TE en día 5, transferencias diferidas y eSET superior a la media.

También pudimos observar que los dos centros considerados excelentes realizaron un porcentaje de ciclos con FIV convencional superior a la media.

COMUNICACIONES PÓSTER

Evaluando los recursos humanos y físicos, los dos centros considerados excelentes utilizan más incubadoras tipo “sanwich” que la media y entre ambos había diferencias con respecto al personal del que disponían.

Por último, se desprende de nuestro estudio que ambos centros públicos excelentes no tenían programación de actividad durante los fines de semana.

CONCLUSIONES:

La excelencia en centros públicos estaba relacionada con la programación de ciclos con anticonceptivos, la realización de FIV como método de fecundación, el equilibrio entre transferencias en día 5, TE diferido y electivas, una baja ratio de ciclos por incubadora convencional y el uso de sanwicheras, sin encontrar relación con la dimensión de los recursos humanos.

Tabla I: Valores medios de los indicadores de calidad analizados en los centros públicos y valores a nivel deseable de las especificaciones de ASEBIR para esos indicadores de calidad.

Indicadores	media	Especificaciones de ASEBIR a nivel deseable
% de fecundación de ovocitos propios frescos	66,0	64,6 (63,8-66,0)
% de implantación de embriones procedentes de OPF	23,3	20,3 (19,3-21,4)
% de gestación clínica tras transferencia de embriones en fresco procedentes de OPF	34,2	30,6 (28,8-31,9)
% de gestación múltiple tras transferencia de embriones en fresco procedentes de OPF	20,8	12,5 * (11,0-13,6)
% de supervivencia de embriones desvitrificados procedentes de OPF	75,7	70,9 (67,1-73,9)
% de implantación de embriones criopreservados tras criotransferencia procedentes de OPF	18,5	18,4 (16,8-19,8)
% de gestación clínica de embriones criopreservados tras criotransferencia procedentes de OPF	26,4	28,0 (26,7-28,9)

* Especificación a nivel óptimo

Tabla II. Indicadores de calidad de los centros públicos excelentes

Indicador de calidad	Centro 1	Centro 2	Media centros públicos
% de gestación por transferencia de embriones frescos procedentes de ovocitos propios	37,2	36,8	34,2
% de gestación por transferencia de embriones criopreservados procedentes de ovocitos propios	33,3	32,3	26,4
Porcentaje de gestación múltiple tras transferencia de embriones frescos procedentes de ovocitos propios	17,2	16,3	20,8

SEPARACIÓN MAGNÉTICA POR COLUMNAS DE ANEXINA V EN VARONES DE EDAD AVANZADA

C. Alonso Muriel, M. Lara Lara, B. Buch Tomé, C. Segura García, R. Garnica Sarria, A. Flores Gornés, J. Sánchez Rosas, I. Alonso Muriel, A. Pérez Garrido, C. Álvarez Pinochet

Unidad de Reproducción Centro Gutenberg - Málaga (Málaga)

INTRODUCCIÓN:

Se sabe que la edad materna es uno de los factores pronóstico principales en fertilidad y también en los tratamientos de Reproducción Asistida. En la literatura, además, se describe que la fertilidad masculina y la calidad seminal también disminuyen con el aumento de edad del varón. Por otro lado, los cambios socioculturales que hacen retrasar la maternidad en la mujer, influyen igualmente en el varón. En este sentido, no existen datos concluyentes respecto a la influencia de la edad en la reproducción del varón. Algunos estudios han demostrado que hay una relación entre el aumento de la edad del varón y marcadores tempranos de apoptosis en espermatozoides como es la unión de los mismos a la Anexina V.

OBJETIVO:

Evaluar el impacto en los resultados de Técnicas de reproducción asistida (TRA) de las columnas de Anexina V o Magnetic Activated Cell Sorting (MACS) en varones con edad igual o superior a 45 años.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo 72 ciclos de un programa de donación de ovocitos. Se utilizó Separación magnética por columnas de anexinas. La edad de los varones fue igual o superior a 45 años. En todos los casos se hizo transferencia embrionaria en día 5, en el estado de blastocisto. Los criterios de exclusión fueron los siguientes: patología uterina, endometriosis y factor masculino severo. 24 ciclos (grupo 1) con muestra seminal seleccionada mediante swim up y 48 ciclos grupo 2 (muestra seminal seleccionada por swim up y MACS.) Con la muestra seminal obtenida se realizó ICSI y para cada grupo se evaluó: a) el porcentaje de fertilización, b) porcentaje de embarazo y c) porcentaje de aborto.

RESULTADOS:

El porcentaje de fertilización fue de 78.1 vs 80.8 % para los grupos 1 y 2, respectivamente; por lo que se refiere al porcentaje de embarazo, fue de 79.1 y 91.6 y en cuanto al porcentaje aborto de 22.6 vs 17.6 para los grupos 1 y 2, respectivamente, sin alcanzar significación estadística.

CONCLUSIONES:

Nuestros resultados sugieren que la edad avanzada del varón como indicación única para el uso de MACS no mejora los resultados de gestación ni de niño nacido vivo. Son necesarios estudios prospectivos aleatorizados para poder determinar la ventaja de aplicar la técnica MACS en TRA.

ESTUDIO POBLACIONAL DEL GRADO DE ACEPTACIÓN DE LA DONACIÓN DE GAMETOS ANTE SUPUESTO CAMBIO EN EL MARCO REGULADOR

M. Reguera Cabezas, E. Martínez Díaz, ME. Pelaz Díez, C. Cepedal Hernández, T. González Peña

Hospital Universitario Marqués de Valdecilla - Santander (Cantabria)

INTRODUCCIÓN:

La normativa española, pionera en el ámbito de las Técnicas de reproducción humana asistida (en adelante TRHA), establece el anonimato de los donantes de gametos, tanto en la regulación del 1988 como en la actual 14/2006. Dichas normativas han permitido a nuestro país situarse como líder de turismo reproductivo en TRHA, con contribución de donantes de gametos.

Los centros y unidades de reproducción humana asistida, ante la ausencia de un registro nacional de donantes, deben proteger dicha información y velar por la confidencialidad de las donaciones.

Varios países de nuestro entorno han modificado sus normativas, con la finalidad de defender el derecho de la descendencia a conocer su origen biológico y genético, para un mejor desarrollo de su personalidad y libertad individual. Existen diferentes modelos que van desde el anonimato electivo hasta la supresión total con efecto retroactivo, en países como Suecia y Portugal.

El marco regulador español, garantiza dicho anonimato y prioriza ese derecho frente al de conocer los orígenes biológicos.

El análisis bioético y jurídico hace que existan voces que reclamen la supresión del anonimato de donantes de gametos en nuestro país.

OBJETIVO:

En este trabajo, se presentan los resultados obtenidos de una encuesta a nivel de la población usuaria de la Unidad de Reproducción, con el objeto de conocer la información global y el grado de aceptación de las TRHA con contribución de ga-

metos donados, el grado de comunicación de la información, así como la posible repercusión en el supuesto de un cambio normativo a nivel nacional.

MATERIAL Y MÉTODO:

Revisión bibliográfica de la normativa española en materia de donación de gametos. Revisión bibliográfica del estado actual de la temática.

Diseño y realización de una encuesta anónima, de enero a diciembre de 2018, en relación tanto a datos demográficos, como a preguntas que versaban sobre la aceptación del uso de gametos donados, la libre comunicación a la descendencia y/o familiares.

La información recogida fue procesada en una hoja de cálculo.

RESULTADOS:

La participación fue mayoritaria, se han realizado 368 encuestas, de 402 pacientes.

En la población estudiada, en general el grado de aceptación de gametos donados, es aceptable, aunque vemos diferencias según la edad. (Gráfico 1)

Las mujeres aceptarían de mejor grado la contribución de donantes tanto de ovocitos como de semen.

Vemos una mayor aceptación de las donaciones en mujeres solas y parejas homosexuales femeninas, en comparación con las parejas heterosexuales. Igualmente, las primeras son más partidarias de comunicar a la descendencia el origen biológico y genético. Lo cual está adentro de la racionalidad, debido a la estructura familiar. En contraposición las parejas

COMUNICACIONES PÓSTER

heterosexuales, además presentar una menor aceptación uso de donantes, son menor partidarios, de comunicar a la descendencia y familiares la utilización de gametos donados. (Gráfico 2)

Analizando el supuesto de pérdida del anonimato en las donaciones, podemos observar de forma significativa, un menor grado de aceptación de las TRHA con gametos donados, en todos los grupos estudiados.

CONCLUSIONES:

La normativa reguladora de la donación de gametos se enfrenta a una serie de cuestiones éticas, ante un posible cambio del régimen de las donaciones, que afectarían tanto a donantes, receptores y a la descendencia.

No hemos encontrado publicados posicionamientos de las sociedades científicas españolas en la materia.

No hemos encontrado asociaciones ni grupos de pacientes o descendientes que reclamen dicho cambio.

Estudio realizado, pone de manifiesto, que el régimen de donación no anónima contrastaría drásticamente con los hábitos de las familias, en las cuales, menos de 10% comunican a la descendencia el origen biológico.

Los resultados y la encuesta podrían completarse a nivel de la población general.

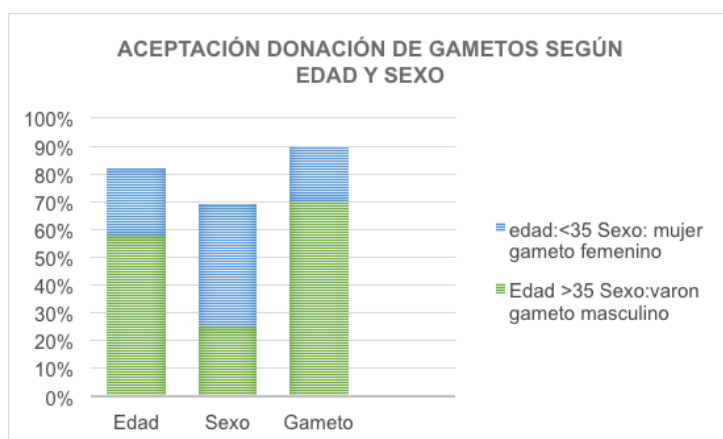


Tabla 1

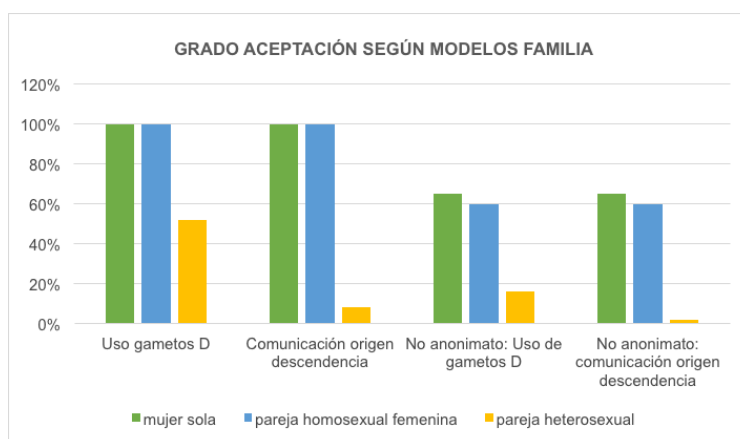


Tabla 2

INFLUENCIA DE LA PROCEDENCIA DE LOS ESPERMATOZOIDES -TESTÍCULO O EYACULADO- EN CICLOS DE ICSI DE PAREJAS ESTÉRILES POR FACTOR MASCULINO SEVERO

R. Otero Casado (1), A. Clavero Gilabert (2), MC. Onzalvo López (2), A. Castro Rodríguez (2), N. Morales Rincón (2), M. Muñoz Sánchez (2), T. Ortega Martín (2), S. Rodríguez Guirado (2), A. Alkourdi Martínez (2)

(1) Universidad de Granada - Granada (Granada), (2) HU Virgen de las Nieves - Granada (Granada)

INTRODUCCIÓN:

Se estima que hasta un 3% del total de parejas en edad reproductiva estarán afectadas por un factor masculino severo. En estos casos, se ha sugerido la existencia de un daño en el DNA espermático posttesticular debido al efecto deletéreo que ejerce el estrés oxidativo sobre los espermatozoides a su paso por el tracto genital masculino. Esto ha llevado a diferentes autores a proponer el uso generalizado de espermatozoides procedentes de biopsia testicular a pesar del riesgo quirúrgico, entre otras complicaciones, que ello supone.

OBJETIVO:

Analizar la influencia de la procedencia de los espermatozoides en parejas estériles por factor masculino severo, en las que se desconoce la integridad de su DNA previamente, en los resultados de los ciclos de ICSI -fecundación ovocitaria y primeras divisiones embrionarias-, así como en la tasa de gestación y los resultados obstétricos y neonatales.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se realizó un estudio retrospectivo a partir de una base de datos específica conformada por ciclos de ICSI de parejas estériles, atendidas en nuestro centro entre Enero de 2014 y Diciembre de 2017, por factor masculino severo -oligozoospermicos severos, criptozoospermicos y azoospermicos no obstructivos-. Estos ciclos fueron posteriormente divididos según la procedencia de los espermatozoides -testículo o eyaculado-. Dado que las biopsias testiculares se realizaron entre 2 y 6 meses antes de la punción folicular, los espermatozoides de esta procedencia fueron todos crioconservados. Para el análisis estadístico de los datos se recurrió a los estadísticos t de student y Chi cuadrado, así como al test de Welch y el test exacto de Fisher, según fue requerido.

RESULTADOS:

En total se analizaron 152 ciclos de ICSI, los cuales fueron divididos en dos grupos, 107 ciclos realizados con espermatozoides en fresco procedentes de eyaculado y 45 ciclos realizados con espermatozoides crioconservados de biopsia testicular. Al comparar ambos grupos, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en las variables aisladas del factor masculino severo estudiado -edad materna, indicación clínica, protocolo de estimulación, número de ovocitos y porcentaje de ovocitos Metafase II-. Tampoco se observaron diferencias significativas en los resultados de la ICSI, obteniéndose un porcentaje de fecundación similar en ambos grupos (54,3% vs. 48,6%); al igual que sucedió en los porcentajes de implantación (23,1% vs. 22,8%) y de gestación por transferencia (35,5% vs. 37,1%), sin diferencias significativas. Se observó un mayor porcentaje de abortos (18,5% vs. 46,1%), así como un menor porcentaje de nacidos vivos (28,9% vs. 20,0%) en el grupo de biopsia testicular, aunque sin resultar diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

CONCLUSIONES:

Tras el análisis de los datos, concluimos que no se encontraron evidencias a favor del uso generalizado de espermatozoides de testículo frente a eyaculado en las parejas estériles por factor masculino severo, cuando no se analiza previamente el nivel de fragmentación del DNA en los espermatozoides de su eyaculado.

INFLUENCIA DE LA MORFOLOGÍA ESPERMÁTICA EN LA CINÉTICA EMBRIONARIA

M. Poveda García, A. Aragonés Esteve, JM. Moreno García, JJ. López Gálvez
UR Vistahermosa - Mutxamel (Alicante)

INTRODUCCIÓN:

La selección del embrión con mayor potencial implantatorio, es una de las dificultades más comunes en el laboratorio de embriología a pesar de que en los últimos años, se han desarrollado diferentes tecnologías para facilitar esta tarea.

La tecnología Time-Lapse permite analizar todos los momentos clave en el desarrollo del embrión pudiendo obtener parámetros morfocinéticos y realizar una medida objetiva que nos facilite seleccionar los mejores embriones para la transferencia.

Uno de los principales problemas que ofrece esta tecnología, es la variabilidad de las divisiones embrionarias en función de factores externos como el tipo de medio de cultivo utilizado, la estimulación ovárica, la edad materna o la calidad seminal entre otros.

La aparición de la ICSI y las diferentes técnicas de selección espermática permiten seleccionar los espermatozoides más adecuados para realizar la fecundación y que generen embriones con mayor capacidad implantatoria. Sin embargo, parámetros como la morfología seminal sigue siendo un factor dotado con cierta subjetividad y que puede interferir en los resultados de las técnicas.

OBJETIVO:

El objetivo de nuestro estudio es observar si existe influencia de la morfología espermática en los resultados y la cinética embrionaria en ciclos de donación de ovocitos.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se realizó un estudio retrospectivo de los embriones transferidos en 105 ciclos de ovodonación en los cuales, los embriones fueron cultivados en Embryoscope® hasta D+5 de cultivo.

Los ciclos se dividieron en dos grupos en función de si el semen de la pareja presentaba o no Teratozoospermia.

El cultivo se realizó en condiciones de hipoxia con oxígeno al 5% y utilizando medio único (Geri Medium-Merk®). Las variables analizadas fueron: tasa de fecundación, tasa de embarazo evolutivo, tasa de aborto y las variables cinéticas t2, t3, t4, t5, t8, tM (tiempo de mórula), tSB (tiempo de inicio de cavidad), CC2, S2, CC3 y S3.

RESULTADOS:

Se observó que la tasa de fecundación fue similar en ambos grupos (72,7% en el grupo de ciclos en los que el semen utilizado presentaba un valor normal de morfología espermática vs. 69,89% en los ciclos con semen diagnosticado con teratozoospermia).

La media de embriones transferidos en ambos grupos de pacientes fue de 1,8 obteniendo una tasa de embarazo de un 62% en los ciclos de ovodonación con semen con morfología normal y de un 46% en los ciclos con semen teratozoospermico. La tasa de aborto observada fue similar en ambos grupos (un 16% vs. Un 15,4% en muestras seminales alteradas morfológicamente).

Los parámetros cinéticos analizados se muestran en la tabla 1, siendo el p valor menor de 0,05, lo que nos revela significación estadística.

CONCLUSIONES:

Tras analizar los datos obtenidos observamos que, a pesar que la ICSI permite seleccionar los espermatozoides, en los sémenes con menos de un 4% de espermatozoides morfológicamente normales, los resultados en los ciclos de ovodonación pueden verse afectados.

COMUNICACIONES PÓSTER

En los ciclos analizados, se observa una disminución de la tasa de embarazo en aquellos que casos en los que se utilizaron muestras de semen teratozoospermico. Esto puede deberse a un enlentecimiento significativo en la cinética embrionaria de las últimas etapas de desarrollo y como consecuencia, a un empeoramiento de la calidad de los embriones transferidos.

Hemos de seguir analizando estos ciclos con el fin de aumentar el número de casos y valorar si los diferentes métodos de selección espermática, pueden igualar los resultados en ambos grupos.

	Semen TERATO Media (n=27)	Semen NORMAL Media (n=46)	t-STUDENT p<0.05
t2	26,724	26,430	0,32
t3	36,131	35,473	0,24
t4	37,573	36,603	0,16
t5	50,975	49,977	0,18
t8	54,216	52,553	0,045
CC2	9,407	9,043	0,33
S2	1,442	1,130	0,09
CC3	13,402	13,373	0,49
S3	3,294	2,576	0,13
tM	93,250	84,491	0,002
tSb	105,104	96,917	0,001

P-086 ▶

CARACTERÍSTICAS DEL CICLO DE FIV QUE CONTRIBUYEN A LA INCIDENCIA DE MOSAICISMO EMBRIONARIO

L. Rodrigo Vivó (1), I. Campos Galindo (1), V. Peinado Cervera (1), S. García Herrero (1), M. Riboldi (2), R. Kayali (3), A. Polo Picasso (1), C. Simón Vallés (4), C. Rubio Lluesa (1)

(1) Igenomix Spain - Valencia (Valencia), (2) Igenomix Brazil - Sao Paulo (Brazil), (3) Igenomix USA - Los Angeles (USA), (4) University of Valencia, IGENOMIX foundation/INCLIVA - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

La secuenciación masiva (NGS) aplicada al test genético preimplantacional para cribado de aneuploidías (PGT-A) ha permitido identificar la presencia de mosaicismo en biopsias de trofoectodermo. La incidencia de mosaicismo puede variar en función de la plataforma de NGS, el algoritmo de diagnóstico utilizado y el límite inferior de mosaicismo considerado.

OBJETIVO:

Determinar la incidencia de embriones anormales y mosaico en ciclos de PGT-A y evaluar el efecto de la edad materna, el origen de los embriones, la concentración espermática y la indicación para PGT-A.

COMUNICACIONES PÓSTER

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo de 15.073 ciclos de PGT-A tras biopsia de trofoectodermo en D5/6/7 de desarrollo. Realizamos PGT-A de las biopsias mediante NGS (Thermo Fisher Scientific, USA). Aplicamos un algoritmo propio para la detección de mosaicismo, diferenciando mosaicismo de bajo grado (30-50% células aneuploides) y mosaicismo de alto grado (50-70% células aneuploides).

Analizamos la incidencia de embriones anormales y mosaico en función de la edad materna en dos grupos: pacientes <40 años (10.072 ciclos, 45.757 embriones) y pacientes ≥40 años (5.001 ciclos; 16.077 embriones). Adicionalmente, analizamos los datos en base a las siguientes características: (1) Origen de los embriones, como ovocitos frescos (OF), ovocitos vitrificados (OV) y embriones vitrificados (EV); (2) Concentración espermática con ≤5 millones/ml, >5-<15 millones/ml y ≥15 millones/ml; (3) Indicación de PGT-A en pacientes ≤37 años con fallo repetido de implantación (FI), aborto de repetición (AR), factor masculino severo (FM) y gestación trisómica previa (GTP), y edad materna avanzada (EMA, >37años). Para las comparaciones estadísticas se utilizó test Chi-cuadrado con corrección de Bonferroni ($p < 0,05$).

RESULTADOS:

La incidencia de embriones anormales fue superior en pacientes ≥40 años comparado con pacientes <40 años (70,9% vs. 47,1%, $p < 0,0001$). Sin embargo, los pacientes ≥40 años mostraron menor incidencia de embriones mosaico (5,1% vs. 6,6%, $p < 0,0001$) y de mosaicismo de bajo grado (2,7% vs. 4,5%, $p < 0,0001$).

No se observaron diferencias en la incidencia de embriones anormales en función del origen de los embriones (OF: 50,2%; OV: 50,2%; EV: 48,0%, NS) en pacientes <40 años. Sin embargo, las pacientes ≥40 años, mostraron una incidencia de embriones anormales procedentes de OF superior a la de EV (75,5% vs. 67,9%, $p < 0,05$), siendo en OV del 72,8%. La tasa de embriones mosaico fue similar dentro de cada grupo de edad, independientemente del origen embrionario.

No se observaron diferencias en la incidencia de embriones anormales en función de la concentración espermática (48,6%, 47,2%, 53,7% en <40 años y 76,2%, 75,9%, 75,3% en ≥40 años, en los grupos ≤5 millones/ml, >5-<15 millones/ml y ≥15 millones/ml, respectivamente). La tasa de embriones

mosaico fue similar en las pacientes <40 años, independientemente de la concentración espermática. En las pacientes ≥40 años, la incidencia de embriones mosaico fue más elevada en el grupo de menor concentración y disminuyó gradualmente con el incremento de la concentración (9,9%; 7,7%; 5,8%, respectivamente, NS).

La incidencia de embriones anormales fue similar en las indicaciones FI (45,4%), AR (43,9%), FM (42,6%) y GTP (40,9%), y menor a EMA (70,7%, $p < 0,001$). La indicación EMA mostró la menor incidencia de embriones mosaico, siendo significativamente menor a FM (5,3% vs. 7,1%, $p < 0,01$). La incidencia de mosaicismo de bajo grado fue menor en la indicación EMA comparado con FI, AR y FM (2,9% vs. 5,1%, 4,7% y 5,2%, $p < 0,001$ respectivamente).

CONCLUSIONES:

La edad materna es la característica que más se ha relacionado con la incidencia de embriones anormales y mosaico, mostrando un efecto inverso sobre ambas. Mientras que la incidencia de embriones anormales se ve incrementada, la incidencia de embriones mosaico disminuye moderadamente con la edad, principalmente a partir de los 40 años.

EFFECTO DE LOS REORDENAMIENTOS CROMOSÓMICOS EQUILIBRADOS SOBRE LA TASA DE ANEUPLOIDÍAS Y DESEQUILIBRIOS CROMOSÓMICOS EN BIOPSIA DE TROFOECTODERMO

I. Campos Galindo (1), L. Rodrigo Vivó (1), V. Peinado Cervera (1), R. Kayali (2), A. Polo Picasso (1), S. García Herrero (1), A. Capalbo (3), C. Simón Vallés (4), C. Rubio Lluesa (1)

(1) IGENOMIX SPAIN - Paterna (Valencia), (2) IGENOMIX USA - Los Ángeles (USA), (3) IGENOMIX ITALY - Marostica (Italia), (4) University of Valencia, IGENOMIX foundation/INCLIVA - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

Los pacientes portadores de reordenamientos cromosómicos estructurales equilibrados tienen riesgo aumentado de generar gametos y embriones aneuploides y/o desequilibrados. El test genético preimplantacional para estos reordenamientos (PGT-SR) permite la selección de embriones normales/equilibrados para transferencia.

OBJETIVO:

Determinar el impacto de la presencia de reordenamientos estructurales equilibrados sobre la tasa de aneuploidías y desequilibrios cromosómicos en embriones de pacientes portadores de inversiones (INV), traslocaciones Robertsonianas (ROB) y traslocaciones recíprocas (REC).

MATERIAL Y MÉTODO:

Se realizó un estudio retrospectivo de enero de 2016 a abril de 2019. Se incluyó 2445 biopsias de trofoectodermo (D5, D6, D7) de 772 ciclos de pacientes portadores de reordenamientos cromosómicos estructurales distribuidos en tres grupos: (1) portadores de INV (2) portadores de ROB (3) portadores de REC. Cada grupo se subdividió en función del sexo del portador y de la edad materna (<38 años y ≥38 años). Se realizó PGT-SR de las biopsias mediante secuenciación masiva (NGS) (Thermo Fisher Scientific, USA) con un protocolo adaptado para reordenamientos cromosómicos estructurales y un algoritmo interno para su diagnóstico. Se valoró el porcentaje de embriones normales, anormales totales (aneuploides no desequilibrados + aneuploides/desequilibrados + desequilibrados sin aneuploidía adicional), desequilibrados totales (aneuploides/desequilibrados + desequilibrados sin aneuploidía) y aneuploides no desequilibrados. Adicionalmente, se evaluó el efecto inter cromosómico (ICE) considerado como la suma

de aneuploides no desequilibrados y aneuploides/desequilibrados. Para las comparaciones estadísticas se utilizó test Chi-cuadrado con corrección de Bonferroni ($p < 0,05$).

RESULTADOS:

La tasa de embriones anormales totales fue significativamente más elevada en REC que en ROB e INV en pacientes <38 años (70,8% vs. 52,6% y 52,9%; $p < 0,001$, respectivamente). Sin embargo, en pacientes ≥38 años fue mayor que en <38 años, pero similar en los tres grupos (83,1%, 76,4% y 74,4%, respectivamente).

La tasa de embriones desequilibrados totales en portadores de REC fue significativamente más elevada que la de portadores de ROB, y ambas más elevadas que la de portadores de INV en ambos grupos (<38 años: 52,5% vs. 26,6% vs. 15,0%, $p < 0,001$, respectivamente; ≥38 años: 54,9% vs. 28,2% vs. 8,9%; $p < 0,001$, respectivamente).

La tasa de embriones aneuploides no desequilibrados en portadores de INV fue significativamente más elevada que la de portadores de ROB y ambas más elevadas que la de portadores de REC en ambos grupos de edad materna (<38 años: 37,90% vs. 25,6% vs. 18,4%, $p < 0,01$, respectivamente; ≥38 años: 67,5% vs. 48,2% vs. 28,3%; $p < 0,01$, respectivamente).

El efecto inter cromosómico fue mayor en INV comparado con ROB y REC en ambos grupos de edad materna (<38 años: 45,4% vs. 31,2% y 34,3%; $p < 0,01$ respectivamente; ≥38 años: 73,9% vs. 55,5% y 56,9%; $p < 0,01$ respectivamente).

La Tabla I resume los resultados en función del sexo del portador y la edad materna (<38 años o ≥38 años). Cuando la edad materna <38 años, la tasa de embriones anormales totales en INV fue significativamente mayor en varones que

COMUNICACIONES PÓSTER

en mujeres portadoras (59,3% vs. 46,4% $p < 0,05$), al contrario que ocurrió en REC, siendo significativamente mayor en mujeres que en varones portadores (67,5% vs. 74,2%, $p < 0,01$). La tasa de embriones desequilibrados totales en ROB fue significativamente mayor en mujeres que en varones portadores (21,0% vs. 34,2%; $p < 0,01$). Cuando la edad materna fue ≥ 38 años, las mujeres portadoras presentaron mayor incidencia de embriones anormales totales (87,7% vs. 54,0%, $p < 0,001$) y ICE (64,4% vs. 37,9%, $p < 0,01$) que los varones en ROB y, mayor incidencia de embriones anormales/desequilibrados en REC (33,9% vs. 23,2%, $p < 0,01$).

CONCLUSIONES:

Los portadores de translocaciones recíprocas presentan el mayor riesgo de embrión no transferible por alteración cromosómica, principalmente por desequilibrios para la translocación. En portadores de inversiones, el efecto inter cromosómico parece ser la principal causa de embrión no transferible. Mientras que en portadores de Robertsonianas la causa es, tanto por desequilibrios como por efecto inter cromosómico. El efecto adverso de la presencia de un reordenamiento cromosómico estructural se ve incrementado en edad materna avanzada y en mujeres portadoras de translocaciones.

Tabla I

Tabla I	Inversiones				Traslocaciones Robertsonianas				Traslocaciones Recíprocas			
	<38		≥ 38		<38		≥ 38		<38		≥ 38	
Edad materna	Varón	Mujer	Varón	Mujer	Varón	Mujer	Varón	Mujer	Varón	Mujer	Varón	Mujer
Nº de ciclos PGT-SR												
Nº embriones informativos	140	140	89	68	276	205	37	73	880	879	241	251
% Normales	40,7	53,6	27,0	19,1	50,4	43,4	45,9	12,3	32,5	25,8	20,3	13,5
% Anormales totales	59,3 ^a	46,4 ^b	73,0	80,9	49,6	56,6	54,0 ^c	87,7 ^f	67,5 ^k	74,2 ^l	79,7	86,4
% Desequilibrados totales	17,1	12,9	6,7	11,8	21,0 ^c	34,2 ^d	27,0	28,8	49,2	55,7	50,2	59,4
% Aneuploides/desequilibrados	9,3	5,7	3,4	10,3	5,4	4,9	10,8	5,5	14,3	17,5	23,2 ^m	33,9 ⁿ
% Aneuploides no desequilibrados	42,1	33,6	66,3	69,1	28,6	22,4	27,0 ^e	58,9 ^h	18,3	18,4	29,5	27,1
% ICE	51,4	39,3	69,7	79,4	34,1	27,3	37,8 ⁱ	64,4 ^j	32,6	35,9	52,7	61,0

Test Chi-cuadrado ^{a-b} $p = 0.0416$; ^{d-c} $p = 0.0017$; ^{e-f} $p = 0.0002$; ^{g-h} $p = 0.0023$; ^{i-j} $p = 0.0143$; ^{k-l} $p = 0.0023$; ^{m-n} $p = 0.0096$

P-088 ▶

DETERMINACIÓN DE LA HORMONA ANTIMULLERIANA (AMH) EN SUERO FRESCO Y CONGELADO

R. Pandolfi, C. Andrés Santé, M. Saladino, A. Rodrigo Carbajosa, C. Cordero Rosales, S. Cortés Gallego

Clínica Tambre - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN:

La hormona antimulleriana (AMH) parece ser es uno de los predictores más frecuentemente utilizados de la respuesta ovárica a la estimulación ovárica y, en algunos casos, de la tasa de embarazo. Por otro lado, la baja concentración de AMH se asocia con un mayor riesgo de aneuploidia en mujeres de edad avanzada (2). Dado que la importancia clínica de

la AMH sigue creciendo, se han desarrollado rápidamente diferentes ensayos para su determinación (3). Hay estudios que observaron una pequeña disminución en el valor de AMH en muestras de suero congeladas/descongeladas que no es clínicamente importante. Según otros estudios, la concentración de AMH aumenta de forma más significativa desde el punto de vista clínico en muestras de suero congeladas/descongeladas (4).

COMUNICACIONES PÓSTER

OBJETIVO:

El objetivo de este trabajo es analizar los niveles de la AMH en suero fresco y congelado de diferentes mujeres para comprobar si la congelación afecta la estabilidad y determinación de la concentración de AMH.

MATERIAL Y MÉTODO:

La concentración de AMH (ng/ml) se determinó en muestras de suero frescas y congeladas (a -20°C), procedentes de mujeres ($n=43$) y obtenidas por centrifugación de la sangre extraída a 3500 rpm durante 5 minutos (periodo de estudio: Marzo-Agosto 2018). El aparato utilizado fue el analizador cobas e411 que automatiza las reacciones de inmunoanálisis mediante electroquimioluminiscencia (ECL). Los resultados se expresan como media \pm SEM. El análisis estadístico se realizó utilizando la prueba t de Student para comparar AMH en suero fresco vs congelado. Un valor de $p<0.05$ fue considerado estadísticamente significativo.

RESULTADOS:

No se han encontrado diferencias significativas ($p = 0,9525$) entre los valores de AMH en muestras de suero en fresco (1.844 ± 0.3088) y congeladas (1.871 ± 0.3132).

CONCLUSIONES:

Independientemente del tipo de muestra y almacenamiento, los valores de concentración sérica de AMH son confiables y podrían representar una herramienta útil para predecir el resultado de un tratamiento de reproducción asistida.

BIBLIOGRAFÍA:

- 1) Broekmans, F.J., Kwee, J., Hendriks, D.J., Mol, B.W., Lambalk, C.B., 2006b. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Hum. Reprod. Update* 12, 685–718.
- 2) Jiang X, Yan J, Sheng Y, Sun M, Cui L, Chen ZJ. Low anti-Müllerian hormone concentration is associated with increased risk of embryonic aneuploidy in women of advanced age. *Reprod Biomed Online*. 2018 Apr 13. pii: S1472-6483(18)30189-5. doi: 10.1016/j.rbmo.2018.04.039. [Epub ahead of print].
- 3) S. Iliodromiti, R.A. Anderson, S.M. Nelson, Technical and performance characteristics of anti-Müllerian hormone and antral follicle count as biomarkers of ovarian response, *Hum. Reprod. Update* 21 (6) (Nov. 2015) 698–710.
- 4) Li HW, Wong BP, Ip WK, Yeung WS, Ho PC, Ng EH. Comparative evaluation of three new commercial immunoassays for anti-Müllerian hormone measurement. *Hum Reprod*. 2016 Dec;31(12):2796-2802.

P-089 ▶

ACTUALIZACIÓN DEL PRONÓSTICO TRAS TEST GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL MEDIANTE NGS PARA PACIENTES PORTADORES DE REORGANIZACIONES CROMOSÓMICAS

M. Sandalinas Alabert (1), M. Sánchez Castro (1), D. Campos Rodero (1), M. Palahí Bages (1), C. Giménez Sevilla (1), E. Fernández García (2), A. Gómez Duro (2), E. Garcia Guixé (1)

(1) Reprogenetics Spain - Barcelona (Barcelona), (2) Geniality Diagnóstico Genético - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN:

Los pacientes portadores de una reorganización cromosómica equilibrada suelen presentar un fenotipo normal pero tienen un riesgo de producir gametos desequilibrados durante la meiosis debido a una segregación anómala de los cromosomas implicados en la reorganización cromosómica. Los embriones desequilibrados resultantes darían lugar a un

error de implantación, un aborto o el embarazo de un feto afecto. Estas parejas pueden beneficiarse de un ciclo de FIV-PGT-SR mediante la técnica de NGS, que permite diagnosticar los embriones euploides en la gran mayoría de reorganizaciones cromosómicas. Para poder realizar un asesoramiento genético a estas parejas y valorar sus opciones reproductivas es interesante conocer el pronóstico esperable.

COMUNICACIONES PÓSTER

OBJETIVO:

Describir el pronóstico tras ciclos de FIV-PGT-SR para pacientes portadores de reorganizaciones cromosómicas de cara a realizar un asesoramiento genético reproductivo adecuado.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se evaluaron retrospectivamente casos de FIV-PGT-SR de pacientes portadores de un cariotipo alterado realizados mediante la técnica de NGS (VeriSeq Illumina) aplicada a biopsias de trofoectodermo.

Se han estudiado un total de 143 ciclos de PGT-SR: 22 ciclos de pacientes portadores de una inversión cromosómica (19 pacientes), 80 de portadores de translocación recíproca (68 pacientes) y 41 de portadores de translocación Robertsoniana (38 pacientes). La media de edad materna fue de: 30.9, 34.8 y 34.2 años, respectivamente. En total se han analizado 784 embriones (tasa de amplificación del 97%). La media de embriones biopsiados fue de: 5.8 en el grupo de inversiones, 4.8 en el grupo de translocaciones Robertsonianas y 5.7 en el grupo de translocaciones recíprocas.

RESULTADOS:

El grupo de mejor pronóstico fue el de pacientes portadores de una inversión cromosómica. Se obtuvo de media un 48% de embriones euploides. El porcentaje de embriones 2n/mosaico fue del 13%. Un 86% de las pacientes tuvieron, al menos, 1 embrión euploide apto para transferencia. Ningún ciclo sin embriones euploides tenía embriones mosaico como opción alternativa de transferencia.

En pacientes portadores de una translocación Robertsoniana se ha obtenido de media un 39% de embriones euploides. El porcentaje de embriones 2n/mosaico fue del 14%. Un 73% de las pacientes tuvieron, al menos, 1 embrión euploide apto para transferencia. Un 45% de los ciclos sin embriones euploides presentaba al menos un embrión 2n/mosaico potencialmente transferible.

El grupo de peor pronóstico es el de pacientes portadores de una translocación recíproca. Se ha obtenido de media un 17% de embriones euploides. El porcentaje de embriones 2n/mosaico fue del 8%. Un 61% de las pacientes tuvieron, al menos, 1 embrión euploide apto para transferencia. Un 29% de los ciclos sin embriones euploides presentaba al menos un embrión 2n/mosaico potencialmente transferible.

Se ha calculado el número mínimo de blastocistos necesario para conseguir, al menos, 1 embrión euploide: 2 embriones en el caso de portadores de una inversión, 3 embriones en el caso de portadores de una translocación Robertsoniana y 6 en el caso de una translocación recíproca.

CONCLUSIONES:

La aplicación del PGT en pacientes portadores de una reorganización cromosómica, con biopsia de blastocisto y analizados mediante NGS, permite que la mayoría de las pacientes tengan transferencia embrionaria, incluso las del grupo de peor pronóstico (portadores de translocaciones recíprocas). Este porcentaje aumenta si se contempla la transferencia de embriones diagnosticados como 2n/mosaico.

P-090 ▶

DETERMINACIÓN DEL ORIGEN DE ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS MEIÓTICAS MEDIANTE GENOTIPADO DE SNPS

E. Toro Toro, D. Campos Rodero, L. Álvarez Gómez, E. Balius Fort, E. García Guixé, M. Sandalinas Alabert, C. Giménez Sevilla

Reprogenetics Spain - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

El Test Genético Preimplantacional para el estudio de enfermedades hereditarias (PGT-M) puede llevarse a cabo mediante diferentes técnicas. Una de ellas que permite el PGT-M sin tener que diseñar un protocolo específico para la pareja,

es el genotipado de SNPs. Esta técnica, permite identificar el haplotipo ligado al gen alterado en esa familia mediante el análisis de más de 300.000 SNPs distribuidos a lo largo de todo el genoma en el ADN de la pareja y de otro familiar cercano (referencia) de estatus genético conocido. El genotipado mediante SNPs, también permite detectar cualitativa y

COMUNICACIONES PÓSTER

cuantitativamente anomalías cromosómicas. El análisis cualitativo se basa en SNPs informativos (haploblocks) y el análisis cuantitativo, en los diagramas log-R ratio (Log-R) y B-allele frequency (BAF) que contribuyen a la detección de variantes en el número de copias (CNV). Con el análisis de estos parámetros es posible detectar la presencia de monosomías (y también de algunas mitóticas) y de determinadas trisomías meióticas, así como establecer su origen parental. Las anomalías cromosómicas mitóticas y algunas trisomías meióticas pueden resultar difíciles de detectar porque no son visibles en el análisis cualitativo.

OBJETIVO:

Evaluar el origen parental, la incidencia y la tipología de las aneuploidías meióticas observadas en blastocistos provenientes de ciclos de PGT-M en parejas fértiles portadoras de enfermedades genéticas.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se estudiaron muestras de trofoectodermo de 234 blastocistos de 47 ciclos de PGT-M. La edad media de las pacientes incluidas fue de 32 años (21-37). Tras una amplificación total del genoma en las muestras analizadas (amplificación por desplazamientos múltiples [MDA]), los productos de amplificación se analizaron mediante genotipado de SNPs (Human Karyomap, Illumina) para el estudio de la enfermedad hereditaria y para la evaluación de anomalías cromosómicas numéricas.

Los embriones analizados se clasificaron según la presencia o ausencia de aneuploidías detectables mediante esta técnica. Solo se tuvieron en consideración las anomalías cromosómicas meióticas que se observaron mediante análisis cualitativo y cuantitativo. Las anomalías cromosómicas evaluadas se agruparon en función de su origen parental (materno o paterno) y de su tipología (trisomías o monosomías, completas o parciales).

RESULTADOS:

Se observaron anomalías cromosómicas numéricas en el 31,2% de los embriones analizados (n=73). En total se detectaron 91 eventos aneuploides de origen meiótico, de los cuales 72 eran de origen materno y 19 de origen paterno (79,1% y 20,9% respectivamente). El 95,8% de las anomalías cromosómicas de origen materno implicaban la ganancia o la pérdida de un cromosoma completo, frente al 4,2% restante que presentaba aneuploidías parciales. El porcentaje de aneuploidías parciales en los eventos meióticos de origen paterno fue del 31,6% (todo monosomías) frente al 68,4% que se asoció a anomalías cromosómicas completas.

Se detectaron un total de 66 monosomías y 25 trisomías (72,5% y 27,5% respectivamente). Cuarenta y ocho monosomías procedían de errores meióticos maternos (72,7%) y 18 de errores meióticos paternos (27,3%). El 96% de las trisomías meióticas observadas procedían de errores de origen materno.

CONCLUSIONES:

Según nuestros resultados preliminares, la mayoría de las aneuploidías meióticas detectadas en blastocistos se deben a errores en el ovocito que conllevan la pérdida o ganancia del cromosoma completo. Del mismo modo, los resultados obtenidos muestran que la presencia de anomalías cromosómicas parciales es mayoritariamente de origen paterno y se asocia principalmente a monosomías parciales.

Los resultados de este estudio confirman además la presencia de un importante porcentaje de embriones aneuploides incluso en parejas fértiles que se someten a tratamientos de FIV-PGT-M. Estos resultados ponen de manifiesto la importancia del estudio adicional de aneuploidías en parejas portadoras de enfermedades hereditarias para optimizar las tasas de embarazo.

EN TERATOZOOSPERMIAS SEVERAS, LA SELECCIÓN ESPERMÁTICA PREVIA A ICSI CON CHIP MICROFLUÍDICO, OFRECE RESULTADOS EQUIVALENTES A LOS OBTENIDOS CON GRADIENTES DE DENSIDAD E IMSI

B. Freijomil Díaz, A. Munuera Puigvert, B. Pujal Bravo, A. Arjona Rodríguez, F. García José, C. Castelló Zupanc, M. López Teijón Pérez

Institut Marquès - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

El impacto de la morfología de los espermatozoides, tanto en la fertilidad natural como en los resultados de las técnicas de reproducción asistida, es motivo de debate y tiene escaso valor pronóstico en los resultados de ICSI. La aplicación de la morfología de orgánulos de espermatozoides móviles (MSOME, por sus siglas en inglés) seguida de ICSI, conocida como IMSI (Intracytoplasmic morphologically selected sperm injection), reveló un nuevo criterio morfológico en los espermatozoides humanos: la presencia de vacuolas nucleares. Las grandes vacuolas en la cabeza del espermatozoide se han correlacionado con su calidad nuclear (grado de condensación de la cromatina y/o integridad del ADN, y contenido cromosómico), y se han asociado con menores tasas de fecundación y embarazo, y mayor tasa de aborto. La aplicación de la IMSI, al seleccionar los espermatozoides con mejor morfología, mejoraría estos resultados. La irrupción de nuevas técnicas de selección espermática para ICSI, como los sistemas de microfluídica, permite seleccionar espermatozoides con mejor motilidad y morfología, menores tasas de fragmentación del ADN y niveles más bajos de especies reactivas de oxígeno que las técnicas convencionales como los gradientes de densidad (GD) o el swim-up.

OBJETIVO:

Comparar los resultados reproductivos (fecundación, embriones evolutivos en D+5 y embarazo por transfer) obtenidos mediante dos técnicas de selección de espermatozoides para ICSI: GD+IMSI versus chip microfluídico.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo de 73 ciclos de ovodonación (OD) con semen homólogo y teratozoospermia severa, realizados de

enero a diciembre del 2018. Para minimizar el impacto del factor femenino, el estudio se realizó en un modelo de OD. Se establecieron dos grupos en función de la técnica de selección espermática utilizada para ICSI: chip microfluídico (G1, n=16) y GD+IMSI (G2, n=57). La morfología se evaluó en un seminograma previo al ciclo mediante tinción rápida y criterios estrictos de Kruger. Se consideró teratozoospermia severa un porcentaje de morfología normal $\leq 2\%$. La selección espermática para ICSI se realizó con chip microfluídico (G1) y gradientes de densidad de tres capas e IMSI a x6000 (G2). El estudio de homogeneidad no demostró diferencias entre grupos.

Se utilizó el estadístico de F-Fisher para evaluar los resultados considerándolos significativos $p < 0,05$.

RESULTADOS:

Se encontró una mejor tasa de fecundación en el grupo de selección espermática con chip microfluídico, (G1=76,64% vs G2=65,48%), siendo la diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$). La tasa de embriones evolutivos en D+5 (G1=53,66% vs G2=56,2%) y la tasa de embarazo por transfer (G1=66,67 % vs G2=68,65%) fueron similares en ambos grupos.

CONCLUSIONES:

La selección espermática mediante chip microfluídico incrementa el número de cigotos obtenidos tras la ICSI en comparación con la selección con gradientes de densidad más IMSI. Por otro lado, no encontramos diferencias significativas en la tasa de embriones evolutivos y de embarazo por transfer. Estos resultados sugieren, que el chip microfluídico proporciona unos resultados equiparables al IMSI en pacientes con teratozoospermia severa, por lo que podría ser una alternativa para aquellos centros que no dispongan de IMSI.

¿EXISTE UNA VENTAJA EN LA UTILIZACIÓN RUTINARIA DE ICSI EN TODOS LOS CASOS DE INFERTILIDAD?

C. Fernández Alonso (1), L. Sánchez Castro (2), V. Castañón Bernardo (2)

(1) Unidad de Epidemiología Molecular del Cáncer. IUOPA. Departamento de Medicina - Oviedo (Asturias) (2) Unidad de Reproducción. Hospital Universitario Central de Asturias - Oviedo (Asturias)

INTRODUCCIÓN:

Actualmente, en los laboratorios de FIV existe una tendencia a la utilización de la ICSI como técnica a aplicar de manera rutinaria a la mayoría de los pacientes, incluso aunque estos no presenten un factor de esterilidad grave de causa masculina. Según los últimos datos publicados por la Sociedad Española de Fertilidad (SEF), en el 2015 el 82,9% de los ciclos de Fecundación *In Vitro* se llevaron a cabo por ICSI, mientras que el factor masculino representó tan solo el 22,4% del total de causas de infertilidad.

Teniendo en cuenta estos datos, y sabiendo que la ICSI es una técnica mucho más costosa en términos de tiempo y dinero, cabría esperar que los resultados mostrasen una gran diferencia en las tasas éxito alcanzadas por ICSI en comparación con las de FIV clásica para poder justificar su mayor utilización. Pero ¿existe realmente una ventaja en la utilización de la ICSI de rutina?

OBJETIVO:

Analizar y comparar los resultados clínicos obtenidos asociados a la aplicación de FIV clásica e ICSI a parejas sin factor masculino severo.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se trata de un estudio retrospectivo observacional en el que se incluyeron 202 casos de pacientes con diagnóstico de infertilidad femenina, masculina, mixta o ESCA.

Las pacientes fueron sometidas a un protocolo de estimulación corto con antagonistas de la GnRH hasta la observación por ecografía de 3 o más folículos de 17 mm en ambos ovarios. El desencadenamiento de la ovulación se llevó a cabo mediante la administración de hCG en todos los casos, exceptuando aquellos con riesgo de hiperestimulación en los que se utilizaron agonistas de la GnRH. Las punciones se llevaron a cabo 36 horas post hCG.

La elección de la TRA a utilizar se basó fundamentalmente en el recuento de espermatozoides móviles del varón. Si el REM superaba los 3 millones de espermatozoides móviles progresivos y no existía contraindicación previa, se llevaba a cabo una FIV clásica. En caso contrario, se aplicaba ICSI. La valoración de la fertilización se llevó a cabo entre las 18 – 20 horas post FIV/ICSI, y los embriones fueron evaluados una vez al día durante su periodo de cultivo siguiendo los criterios morfofocinéticos de la clasificación ASEBIR.

Las variables recogidas en el estudio fueron: edad de las pacientes y de sus parejas, causa de esterilidad, parámetros seminales, técnica de fertilización empleada (FIV, ICSI o mixta), número de ovocitos obtenidos en la punción ovárica, número de ovocitos maduros en estadio MII, tasa de fertilización, porcentaje de embriones de buena calidad (tipos A y B) según la clasificación embrionaria de ASEBIR, número de embriones transferidos, día de transferencia, detección de embarazo, tanto bioquímico como clínico, y/o aborto.

RESULTADOS:

La tasa de gestación clínica alcanzada por FIV clásica resultó muy similar e, incluso, ligeramente superior (23,404%) a la alcanzada por ICSI (21,367%), no encontrándose diferencias significativas entre ellas.

Con el objetivo de eliminar en la medida de lo posible la variabilidad intermuestral, se realizó una comparación de la calidad embrionaria obtenida por FIV e ICSI en 32 ciclos mixtos. Los resultados mostraron un porcentaje de embriones de buena calidad (A+B) significativamente mayor en los derivados de ICSI (Mediana = 50; IQR = 50) que en los embriones de FIV clásica (Mediana = 33,34; IQR = 63,54).

CONCLUSIONES:

La aplicación de ICSI de manera rutinaria a pacientes sin factor masculino severo no mejora las tasas de gestación clínica obtenidas con respecto a la FIV clásica. La calidad de los embriones derivados de ICSI es significativamente mejor que la de los embriones derivados de FIV clásica.

ARMONIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN CONTENIDA EN LOS INFORMES DE PUNCIÓN FOLICULAR DEL LABORATORIO DE EMBRIOLOGÍA CLÍNICA

L. Martínez Granados (1), ML. López Regalado (2), S. Zamora López (1), C. Olmedo Illueca (3), M. Serrano Molina (2), A. González Utor (4), M. Iglesias Nuñez (5), N. Ortiz Piñate (6), V. Badajoz Liébana (7), JA. Castilla Alcalá (8)

(1) Hospital Universitario Príncipe de Asturias, Oviedo (Asturias) (2) IFEM, Córdoba (Córdoba) (3) Hospital General Universitario de Valencia (Valencia) (4) Yes Reproducción, Sevilla (Sevilla) (5) Hospital Universitario Quirónsalud Madrid (Madrid) (6) Instituto Europeo de Fertilidad, Madrid (Madrid) (7) Ginefiv, Madrid (Madrid) (8) Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada (Granada)

INTRODUCCIÓN:

La armonización de actividades del laboratorio de embriología clínica se ha centrado, tradicionalmente, en las actividades de la fase técnica. Sin embargo, en las fases extratécnicas esta armonización es escasa. Concretamente, aspectos de la fase postécnica como la terminología y unidades utilizadas en los informes, formato de los mismos, intervalos de referencia, límites de decisión o los criterios para interpretar dicha información, deben ser armonizados.

La armonización de la fase postécnica pretende mejorar la continuidad asistencial y la experiencia del paciente. La elaboración de informes y transmisión de la información generada en el laboratorio, de una manera precisa, comparable y reproducible permite mejorar la seguridad del paciente, al evitar una mala interpretación, por parte de clínicos y pacientes, de los resultados del laboratorio.

OBJETIVO:

Armonizar la información contenida en los informes procedentes del laboratorio de embriología clínica tras realizar una punción folicular.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se analizan 7 informes de punción folicular de centros españoles autorizados dirigidos por embriólogos expertos miembros del Grupo de Interés de Calidad de ASEBIR, así como las Recomendaciones para la preparación de los informes de laboratorio clínico de la SEQC y lo recogido en la ISO 15189, Sistemas de gestión en la Calidad en Laboratorios Clínicos.

Tras este análisis, se realiza un documento con 97 puntos relacionados con distintos aspectos de un informe, como la identificación del centro, identificación de los pacientes, técnicas realizadas, etc.

Este documento se envía a un grupo de 11 expertos propuesto por el Grupo de Interés de Calidad de ASEBIR en tres rondas con los siguientes objetivos:

- **1ª ronda.** Proposición de otros puntos que se consideren importantes y no aparezcan en el documento adjunto.
- **2ª ronda.** Evaluación de los puntos del 1 al 5 en función de la importancia de que el ítem aparezca en el informe acuerdo
- **3ª ronda.** Evaluación de los puntos a los que no se haya llegado a un acuerdo en la fase anterior, del 1 al 3.

Se analiza el acuerdo entre expertos en los puntos que deben incluirse en un informe de punción folicular en la 2ª y 3ª ronda según un modelo Delphi modificado (Tabla I).

RESULTADOS:

Tras la 1ª ronda se añaden 42 puntos propuestos por el panel de expertos, analizándose en la 2ª ronda un total de 139 puntos. En la 2ª ronda se llegó al acuerdo en 84 puntos, como nombre del centro, número de ovocitos fecundados o día del desarrollo embrionario en el que se realiza la transferencia o se crioconservan los embriones y no se rechazó ninguno de los puntos propuestos (Tabla II). En la 3ª ronda se analizan 55 puntos, en los que no se llegó a ningún acuerdo en la ronda

COMUNICACIONES PÓSTER

anterior. En esta última fase se llega al acuerdo en 31 puntos más, en dos de los puntos evaluados no se llegó a un acuerdo (persona a la que va dirigido el informe y el tipo de endometrio) y en 14 puntos se consideró innecesario su incorporación a un informe de punción folicular, como las técnicas previas realizadas en otros centros, identificación del personal que procesa las muestras biológicas, entre otras (Tabla III).

CONCLUSIONES:

Se han puesto en evidencia los puntos básicos que debe tener un informe de punción folicular en el laboratorio de embriología clínica según un panel de expertos. La incorporación de la información propuesta, con objeto de armonizar dichos informes, podría mejorar los resultados sanitarios y aumentar la seguridad de los pacientes.

Criterios de acuerdo	Criterios de desacuerdo
Todas las clasificaciones se encuentran dentro de una de las siguientes agrupaciones: 1 – 2, 3, o 4 – 5	Considerando todas las clasificaciones, al menos 1 (10%) fue 1 y al menos otra (10%) fue 5
Todas las clasificaciones se encuentran dentro de una de las siguientes agrupaciones: 1 – 3 o 3 – 5	Considerando todas las clasificaciones, al menos 1 (10%) fue 1-2 y al menos otra (10%) fue 4-5
Después de descartar los dos extremos alto y bajo (aproximadamente 10% en cada extremo), todas las clasificaciones restantes entran dentro de uno de los siguientes grupos: 1 – 2, 3, o 4 – 5	Después de descartar los dos extremos alto y bajo (aproximadamente 10% en cada extremo), al menos 1 (10%) fue 1 y al menos otra (10%) fue 5
Después de descartar los dos extremos alto y bajo (aproximadamente 10% en cada extremo), todas las clasificaciones restantes entran dentro de uno de los siguientes grupos: 1 – 3 o 3 – 5	Después de descartar los dos extremos alto y bajo (aproximadamente 10% en cada extremo), al menos 1 (10%) fue 1-2 y al menos otra (10%) fue 4-5

COMUNICACIONES PÓSTER

Tabla II. Puntos en los que se alcanza el acuerdo en la 1ª ronda

Nivel 1 de acuerdo	Nivel 2 de acuerdo	Nivel 3 de acuerdo	Nivel 4 de acuerdo
Nombre del centro	Dirección postal del laboratorio	Código de identificación del informe	Identificación sanitaria del centro
Calidad de los embriones crioconservados	Dirección web	Título del informe	Fax
Calidad de los embriones transferidos	Número total de páginas (al menos en la primera hoja)	Fecha de nacimiento del paciente	Número de registro
Código de identificación (Número de Historia)	Técnica que realizada	Fecha de nacimiento de la pareja	Identificación del área
Concentración de espermatozoides pre capacitación	Nombre y apellidos del facultativo solicitante	Observaciones sobre la calidad de la muestra que pudiera comprometer los resultados del análisis	Hora de obtención de la muestra semen
Día del desarrollo embrionario en el que se realiza la vitrificación	Servicio solicitante	Observaciones sobre la idoneidad de la muestra con respecto a los criterios de aceptación/rechazo	Hora de obtención de la muestra líquido folicular
Día del desarrollo embrionario en el que se realiza la transferencia	Tipo de muestra primaria (líquido folicular y muestra seminal)	Nº de embriones descartados	Número identificación solicitante: número colegiado o código de médico
Estado de los ovocitos (fresco/congelado)	Nº de vesículas germinales o profases	Nº de embriones evolutivos	Edad del paciente
Fecha de emisión del informe	Nº embriones obtenidos	Concentración de espermatozoides post capacitación	Edad de la pareja
Fecha de la obtención de la muestra seminal	Nº MI	Licuefacción	Hora de la punción folicular
Fecha de la punción folicular	Nº MII	Porcentaje de espermatozoides móviles progresivos pre capacitación	Hora de procesado semen
Fecha de la transferencia	Nº ovocitos inseminados	Comentarios de interpretación sobre los resultados	Nº de blastómeras
Método de evaluación embrionaria (morfología clásica y/o time lapse)	Procedencia de la muestra (pareja/donante)	Motivo cancelación del ciclo	Nº de ovocitos anormales
Método de obtención de la muestra seminal (eyaculado/biopsia testicular)	porcentaje de espermatozoides móviles recuperados		Días de abstinencia sexual

COMUNICACIONES PÓSTER

Nº cigotos 2PN	Límites de referencia		Porcentaje de espermatozoides movilidad total
Nº de ovocitos destinados a FIV	Firma del facultativo que valida		Porcentaje de formas normales pre capacitación
Nº de ovocitos destinados a ICSI	Cancelación del ciclo		
Nº de ovocitos fecundados	Criterios de catalogación embrionaria seguidos		
Nº embriones crioconservados	Diagnóstico preimplantacional: Sí/No		
Nº embriones transferidos	Eclosión asistida: Sí/No		
Nº ovocitos crioconservados			
Nº ovocitos totales obtenidos tras la punción folicular			
Nombre y apellidos de la paciente			
Nombre y apellidos de la pareja			
Nombre y apellidos del facultativo que valida			
Nombre/identificación del laboratorio (propio del centro o externo)			
Número de teléfono			
Páginas numeradas			
Porcentaje de espermatozoides móviles progresivos post capacitación			
Presencia de hematíes, leucocitos o microorganismos en la valoración microscópica			
Procedencia de los ovocitos (propios/donados)			
Técnica de capacitación empleada			

COMUNICACIONES PÓSTER

Técnica de inseminación utilizada			
Volumen de la muestra seminal pre capacitado			

Tabla III. Puntos analizados en la 2ª ronda		
Aceptados	Sin acuerdo	Rechazados
Entidad jurídica de la que depende (si procede)	Persona a quien va dirigido	Lugar al que debe enviarse el informe
Certificación/Acreditación y norma	Tipo de endometrio	Hora de administración de la hCG (u otro desencadenante de la ovulación)
Director/a del laboratorio		Persona que procesa el líquido folicular
Numero de petición		Persona que procesa la muestra seminal
Sexo de la paciente y su pareja		Blastómeras uninucleadas
Código de identificación (Número de Historia) de la pareja		Calidad de los embriones cada día del desarrollo
Procedimiento de medición (P.e. Manual de la OMS para análisis de semen)		Tipo de cultivo embrionario (único/secuencial)
Blastómeras multinucleadas		MAR TEST
Nº cigotos 1PN		Porcentaje de formas normales post capacitación
Nº cigotos 3PN o más		Grosor endometrial
Nº de embriones bloqueados		Imágenes de los embriones transferidos
Nº de no fecundados		Método de monitorización del ciclo (control ecográfico/análisis de estradiol sanguíneo...)
Nº de ovocitos degenerados		Progesterona sérica y estradiol el día de la hCG
Nº de zonas pelúcidas fragmentadas		TRA previas en otros centros
Porcentaje de fragmentación celular máximo observado		
Presencia de vacuolas		
Simetría de las blastómeras		
Aglutinaciones		
Agregaciones		
Color		
Índice de teratozoospermia		
pH		
Test de vitalidad		
Viscosidad		
Volumen post capacitado		
Cámara para recuento espermático utilizada		
Destino de la muestra seminal (crioconservar/usar)		
Destino de los ovocitos (crioconservar/usar)		
Estimulación hormonal (dosis inicio, fecha de inicio, dosis total)		
Indicación		
TRA previas en el centro		

IMPORTANCIA CLÍNICA DE LA ASINCRONÍA FOLICULAR EN MUJERES CON EDAD MATERNA AVANZADA SOMETIDAS A ESTIMULACIÓN OVÁRICA PARA ICSI

CJ. Rodríguez Izquierdo, A. Clavero Gilabert, MC. Gonzalvo López, B. Romero Guadix, N. Morales Rincón, J. Fontes Jiménez, J. Mozas Moreno, A. Alkourdi Martínez, R. Sánchez Ruíz, JA. Castilla Alcalá

Hospital Universitario Virgen de las Nieves - Granada (Granada)

INTRODUCCIÓN:

En los ciclos de ICSI, hay dos factores femeninos determinantes, la edad de la mujer y la cantidad y madurez de los ovocitos que se obtienen. En mujeres con una respuesta pobre a la estimulación de la ovulación (1-3 ovocitos) o subóptima (4-9 ovocitos), no es infrecuente obtener ovocitos inmaduros. Cuando este porcentaje es superior al 50% se le denomina asincronía folicular. En mujeres jóvenes, el número de ovocitos y la madurez de éstos, puede ser menos determinante de los resultados reproductivos, por su elevada viabilidad y calidad. Pero en el caso de mujeres de edad materna avanzada (EMA) y una respuesta a la estimulación de la ovulación subóptima, la presencia de asincronía folicular puede tener gran relevancia clínica.

OBJETIVO:

El objetivo principal de este trabajo es analizar en mujeres de EMA con respuesta subóptima a la estimulación de la ovulación, si la asincronía folicular influye sobre el resto de ovocitos maduros de la misma cohorte.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se ha realizado un estudio retrospectivo de los resultados de laboratorio y clínicos obtenidos en 660 pacientes sometidas a ciclos de ICSI con ovocitos propios y frescos, entre enero de 2014 y diciembre de 2017. Estas mujeres presentan un rango de edad entre 35-40 años, una respuesta subóptima a la estimulación de la ovulación y la presencia o no de asincronía folicular. El procedimiento de fecundación *in vitro* fue la ICSI y las transferencias embrionarias (TE) en fresco se realizaron en Día 2 o Día 3 de desarrollo embrionario.

RESULTADOS:

Los resultados nos demuestran que existen diferencias significativas a nivel del número de ovocitos maduros recuperados entre ciclos con y sin asincronía folicular, como era de esperar ($5,88 \pm 1,62$ vs $6,5 \pm 1,69$, $p < 0.05$). Por ende, esto influye en el número de embriones que se desarrollan, pero no hay diferencias en la tasa de fecundación (54,73% vs 59,4%, N.S.), ni en el porcentaje de embriones utilizados (82,97% vs 81,19%, N.S.), ni en la tasa de desarrollo embrionario ($89,78 \pm 26,76$ vs $94,58 \pm 14,22$, N.S.) (tabla I). En la tabla II podemos ver que tampoco hay diferencias significativas entre la calidad embrionaria de grado A, B, C y D, según ASEBIR, entre los grupos (tipo A 16,07% vs 16,07%, tipo B 17,85% vs 11,09%, tipo C 25% vs 27,42%, tipo D 25% vs 28,12%, N.S.). En la tabla III, podemos ver que no hay diferencias significativas en la tasa de implantación (22,58% vs 20,1%, N.S.), tampoco en el porcentaje de gestación por TE (31,8% vs 36,2%, N.S.). Los resultados obstétricos y neonatales son similares entre los grupos, no habiendo diferencias en la tasa de abortos (14,28% vs 35,24%), de embarazo ectópico (0% vs 1,63%, N.S.) y en la tasa de parto (85,71% vs 63,11%, N.S.). Tampoco observamos diferencias en la tasa de parto por TE (27,27% vs 22,44%, N.S.), solamente en el peso de los recién nacidos (3506 ± 464 vs 2906 ± 537 , $p < 0.01$), siendo menor en el de mujeres sin asincronía porque fue el grupo donde se dieron casos de gestación múltiple.

CONCLUSIONES:

De nuestro estudio podemos concluir que la presencia de asincronía folicular no tiene influencia sobre el resto de ovocitos maduros de la misma cohorte, por tanto la asincronía folicular no tiene importancia clínica en mujeres de EMA con respuesta subóptima a la estimulación de la ovulación en un programa de ICSI, si sólo se considera la transferencia en fresco.

COMUNICACIONES PÓSTER

Tabla I. Tabla de los resultados del laboratorio de reproducción asistida en mujeres de EMA con respuesta subóptima a la estimulación de la ovulación.

	Con asincronía folicular (n=43)	Sin asincronía folicular (n=418)	TOTAL
Número de ovocitos	5,88 ± 1,62 ¹ (4-9) n=43	6,5 ± 1,69 ^a (4-9) n=418	6,44 ± 1,68 (4-9) n=461
% Fecundados	54,73% (52/95) ²	59,4% (1368/2303)	59,21% (1420/2398)
Tasa de desarrollo	89,78 ± 26,76 (0-100) n=31	94,58 ± 14,22 (0-100) n=390	37,46 ± 15,25 (0-100) n=418
% Embriones utilizados	82,97% ² (39/47)	81,19% (1019/1255)	81,25% (1058/1302)

N.S

¹ media ± DS (mínimo-máximo)

² porcentaje (número de casos/total de los casos)

^a p < 0.05

Tabla II. Resultados de calidad embrionaria en mujeres de EMA con una respuesta subóptima a la estimulación de la ovulación.

	Con asincronía folicular (n=43)	Sin asincronía folicular (n=418)	TOTAL
% Calidad embrionaria			
Tipo A	16,07% (9/56) ¹	16,07% (252/1568)	16,07% (261/1624)
Tipo B	17,85% (10/56)	11,09% (174/1568)	11,33% (184/1624)
Tipo C	25% (14/56)	27,42% (430/1568)	27,33% (444/1624)
Tipo D	25% (14/56)	28,12% (441/1568)	28% (455/1624)

N.S

¹ porcentaje (número de casos/total de los casos)

Tabla III. Resultados obstétricos y neonatales en mujeres EMA con respuesta subóptima a la estimulación de la ovulación

	Con asincronía folicular (n=43)	Sin asincronía folicular (n=418)	TOTAL
Tasa de implantación	22,58% (7/31) ¹	20,1% (120/597)	20,22% (127/628)
% Gestación /TE	31,8% (7/22)	36,2% (122/343)	35,34% (129/365)
Evolución de la Gestación			
Aborto	14,28% (1/7)	35,24% (43/122)	34,10% (44/129)
Ectópico	0% (0/7)	1,63% (2/122)	1,55% (2/129)
Parto	85,71% (6/7)	63,11% (77/122)	64,34% (83/129)
Tasa de Parto/TE	27,27% (6/22)	22,44% (77/343)	22,73% (83/365)

EFECTO DEL CULTIVO EN GRUPO DE EMBRIONES HUMANOS SOBRE EL PERFIL OXIDATIVO DEL MEDIO DE CULTIVO

L. Bori Arnal, R. Del Gallego Bonilla, L. Alegre Ferri, I. Hervás Herrero, S. Azaña Gutiérrez, M. Meseguer Escrivá
IVIRMA Global - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

El ambiente en el que se cultivan los embriones *in vitro* afecta a su desarrollo y, con ello, a los resultados de los tratamientos de fecundación *in vitro* (FIV). A pesar de que se ha demostrado que el cultivo en grupo de embriones de mamíferos mejora su desarrollo, debido a la producción de factores paracrinos y autocrinos, en humanos no existe consenso acerca de dicho beneficio. Sin embargo, algunos incubadores time-lapse utilizados en los laboratorios de FIV presentan este tipo de cultivo. Es necesario evaluar las condiciones de cultivo de los embriones humanos *in vitro*, tanto el efecto del cultivo en grupo, como la estrategia de medio de cultivo utilizado (secuencial o medio único) y el estado de oxidación del medio.

OBJETIVO:

Describir el efecto del cultivo en grupo de los embriones humanos sobre el desarrollo embrionario y el perfil oxidativo del medio de cultivo con placas de dos sistemas time-lapse diferentes: EmbryoScope Plus® (ESD+) y Geri®.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se trata de un análisis retrospectivo que incluye 299 tratamientos de FIV desde mayo de 2017 hasta diciembre de 2018. Se midieron 15 µl de medio de cultivo por grupo de embriones, monitorizados con ESD+ (299 grupos) y Geri (114 grupos), mediante el analizador de termoquimioluminiscencia TM o TCL (Carmel Diagnostics, Israel). Se basa en la inducción de la oxidación total de la muestra mediante energía térmica, provocando especies electrónicamente excitadas que producen energía en forma de luz detectada como fotones emitidos por segundo (cps). Los parámetros oxidativos se obtienen a los 55 segundos (H1), 155 segundos (H2) y 255 segundos (H3). Para normalizar los datos se aplicó un algoritmo de corrección (smoothing-sm). Se utilizaron dos estrategias de medio de cultivo en ambos incubadores: medio único en 186 grupos y medio secuencial en 227 grupos. Finalmente, los datos se analizaron estadísticamente con los test ANOVA y Chi-cuadrado (SPSS).

RESULTADOS:

La tasa de ovocitos fecundados correctamente aumentó cuantos más ovocitos se cultivaron por grupo. Sin embargo, no hubo diferencias significativas ($p > .05$) en cuanto a tasa de llegada a blastocisto en día 5 de desarrollo embrionario ($68,4 \pm 32,9$ cps para ≤ 6 embriones [95%CI: 62-75], $67,7 \pm 23,1$ cps entre 7-8 embriones [95%CI: 64-71], $63,4 \pm 24,1$ cps entre 9-12 embriones [95%CI: 57-69] y $63,5 \pm 22,8$ cps para ≥ 13 embriones [95%CI: 58-69]). Respecto al análisis del estrés oxidativo del medio de cultivo, se demostraron niveles significativamente más altos cuantos más ovocitos correctamente fecundados se cultivaron juntos ($p < .05$). La media y la desviación estándar de los parámetros de TCL fueron los siguientes: $92,9 \pm 35,6$ cps para ≤ 4 ovocitos, $87,5 \pm 37,8$ cps entre 5-6 ovocitos, $109,5 \pm 54,9$ cps entre 7-8 ovocitos y $112,1 \pm 33,4$ cps para ≥ 9 ovocitos. Además, las muestras procedentes de cultivo en medio único mostraron valores más altos para los parámetros de oxidación: H1sm(cps)= 93,24 para medio único vs. 98,75 para medio secuencial, H2sm(cps)= 96,51 para medio único vs. 102,57 para medio secuencial y H3sm(cps)= 104,89 para medio único vs 111,09 para medio secuencial.

CONCLUSIONES:

El hecho de que el cultivo en grupo de embriones humanos afecte positivamente al nivel de estrés oxidativo, ensalza la necesidad de estudiar profundamente el impacto del perfil oxidativo del medio de cultivo sobre el desarrollo embrionario.

COMPORTAMIENTO DE LOS INCUBADORES BAJO CONDICIONES EXTREMAS: FALLO DE CORRIENTE Y AUMENTO DE LA TEMPERATURA AMBIENTAL

M. García Jiménez, E. Mestres Gonzalvo, I. Vanrell Barbat, A. Casals Acien, C. Llop Lechuga, Y. Barrueco Torres, N. Costa Borges, G. Calderón de Oya
Embryotools - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

Ocasionalmente, el comportamiento de los incubadores puede verse alterado y comprometer el cultivo de gametos y embriones. La situación más extrema es el fallo eléctrico. Sin embargo, hay otros estresores más frecuentes que pueden pasar desapercibidos y estar afectando el cultivo de manera sustancial. Un claro ejemplo es el aumento de la temperatura ambiental del laboratorio. Frente a un determinado estresor ambiental no todos los incubadores responden igual. El tipo (incubador de gran volumen o mini-incubador) así como el diseño de cada uno de los modelos influye en la capacidad que tienen estos equipos de aislar los cultivos de cambios externos. Es de interés para el embriólogo conocer qué equipo será capaz de mantener mejor la estabilidad del cultivo ante una situación de estrés ambiental.

OBJETIVO:

Valorar la estabilidad de diferentes modelos de incubadores frente a situaciones extremas como serían un fallo de corriente o un aumento de la temperatura ambiental.

MATERIAL Y MÉTODO:

La estabilidad de los incubadores después de un fallo de corriente se simuló apagando los equipos durante 15h. Se monitorizó la temperatura mediante sondas externas (iButtons (precisión $\pm 0,07^\circ\text{C}$), ThermoData) y se midió el pH con un analizador de gases en sangre (Epoc[®], Siemens Healthcare).

La estabilidad de los incubadores bajo condiciones de temperatura ambientales inusuales se estudió imitando un fallo en el sistema de climatización durante 15h. Se monitorizó la temperatura mediante sondas externas (iButtons) colocadas previamente dentro de los diferentes equipos.

Se analizaron siete modelos de mini-incubadores (mini-incubadores 1-7) y un modelo de incubador de gran volumen.

RESULTADOS:

Tras un fallo de corriente, el incubador de gran volumen mantuvo la temperatura durante más tiempo que los mini-incubadores. En los mini-incubadores la temperatura bajó de los 36°C a los 10min, en cambio, en el incubador de gran volumen a los 30min. Sin embargo, el incubador de gran volumen tardó casi 4h en recuperar la temperatura previa al fallo de corriente mientras que los mini-incubadores 1, 2 y 3 necesitaron 1h, 50min y 30min respectivamente. El pH a las 15h se mantuvo dentro de rango en el incubador de gran volumen ($\text{pH}=7.230$), así como en los mini-incubadores 1 y 2 ($\text{pH}=7.307$ y $\text{pH}=7.265$, respectivamente). En cambio, el mini-incubador 3 experimentó una subida de pH mayor ($\text{pH}=7.424$).

Después de apagar el sistema de climatización, la temperatura dentro del laboratorio aumentó 4.7°C . El aumento de temperatura difirió entre incubadores siendo prácticamente nulo en los mini-incubadores 3 y 7 (0.005°C). El mayor aumento se observó en el mini-incubador 5, con una subida de 0.37°C en una de sus cámaras. Los mini-incubadores 1, 2, 4 y 6 experimentaron subidas de 0.18 , 0.14 , 0.19 y 0.25°C respectivamente. En el caso de los incubadores con diseño "sandwichera" aquellos con las tapas calefactadas mantuvieron mejor la temperatura (mini-incubador 2 vs. mini-incubador 5). Incubadores con paredes más gruesas aíslan mejor (mini-incubadores 3 y 7). En el incubador de gran volumen se observó un aumento de 0.21°C .

CONCLUSIONES:

Existe una gran variedad de incubadores en el mercado y no todos tienen la misma capacidad de aislar nuestros cultivos de las condiciones externas. En este estudio hemos comprobado que la temperatura ambiental afecta la temperatura interna de los incubadores en mayor o menor grado dependiendo del diseño del equipo. Es importante monitorizar los incubadores utilizando sondas externas de temperatura, CO_2 , O_2 y pH siempre que sea posible, así como acoplar estas sondas a un sistema de alarma remota (p.e por sms). Asimismo, es imprescindible tener una fuente de alimentación eléctrica ininterrumpida acoplada a un generador para evitar fallos de corriente en equipos críticos como los incubadores. Estos sistemas de seguridad se tienen que revisar periódicamente para asegurar su correcto funcionamiento.

INFLUENCIA DEL FACTOR MASCULINO EN LA MORFOCINÉTICA DEL DESARROLLO EMBRIONARIO

A. Vives Perelló, L. Barrachina Sotillo, G. Arroyo Cardona, B. Carrasco Canal, S. García Martínez, M. Ballester Ferrer, A. Vives Suñé, M. Boada Palà, A. Veiga Lluch
Hospital Universitari Dexeus - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

Es conocido que existe una influencia de los parámetros seminales sobre el desarrollo y la calidad del embrión. En los últimos años la introducción de incubadores con tecnología Time-Lapse ha permitido no solo mejorar el cultivo de los embriones humanos si no también optimizar la selección embrionaria. Esta tecnología permite valorar la secuencia de eventos que tienen lugar durante la activación y la fecundación del ovocito, el ritmo de división de los embriones y la sincronía de estas divisiones.

OBJETIVO:

Valorar la posible influencia de las características seminales con los eventos y timings que tienen lugar en la activación ovocitaria, formación del cigoto y desarrollo embrionario.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo donde se han analizado un total de 3045 embriones procedentes de ciclos de donación de ovocitos con microinyección espermática. Se han analizado los timings de los siguientes eventos: extrusión del 2º corpúsculo polar (2CP), aparición (aPN) y desaparición de pronúcleos (dPN), división embrionaria (t2-t9), compactación (COM), cavitación (CAV), formación (B), expansión (EB) y hatching (BH) del blastocisto en relación con los siguientes parámetros seminales: volumen, concentración, recuento, movilidad y diagnóstico (normozoospermia, astenozoospermia, oligozoospermia y oligoastenozoospermia),

Los parámetros seminales se trataron como variables categóricas divididas en 5 grupos (20%). La mediana (min-máx.) se utilizó para las variables continuas. El test de Kruskal-Wallis se utilizó para la comparación de los timings en las distintas variables. En los análisis estadísticamente significativos, se aplicó el test de Mann-Whitney por parejas.

RESULTADOS:

No se ha observado ninguna influencia de los diferentes parámetros seminales sobre la morfocinética embrionaria, siendo los timings [mediana (min-máx.); horas post-inseminación] de desarrollo embrionario: 2CP 4(0.6-19.8), aPN 7.7(2.9-32), dPN 23.4(7.5-90.1), t2 26.2(17.6-69.7), t3 36.4(20.8-72.4), t4 38.4(21.1-94.4), t5 48.7(23.2-116.3), t6 51(28.9-116.6), t7 53.6(28.9-116.6), t8 57.1(33.7-118.3), t9 67.9(35.5-118.3), COM 91(51.4-140.9), CAV 105(79.1-155.1), B 110.2(84.1-157.6), EB 116.1(88-164.4) y BH 117(97-164.5).

Al estratificar cada parámetro seminal y relacionarlo con los distintos timings de desarrollo, se han observado diferencias estadísticamente significativas entre el volumen del eyaculado y el timing de 2CP, aPN, dPN, t2-t8, y EB, entre la concentración espermática y COM y CAV, entre el recuento espermático y dPN y hatching, y entre la concentración total de espermatozoides móviles y dPN, COM y CAV. Se ha hallado relación entre el porcentaje de espermatozoides móviles 3+ y aPN, t3-t5, y B, entre el porcentaje de espermatozoides móviles 2+ y dPN, t2, t7-t9, y COM, entre el porcentaje de espermatozoides móviles + y aPN y dPN, t2, t6, t9, COM, CAV, B y EB, y hatching. Asimismo, se ha encontrado correlación entre el porcentaje de espermatozoides inmóviles y t7. Las correlaciones halladas no permiten *a priori* una clara interpretación biológica.

CONCLUSIONES:

Se observan correlaciones entre determinados parámetros seminales y la morfocinética del desarrollo embrionario aunque no se puede establecer una clara interpretación de los resultados obtenidos.

EFFECT OF DIFFERENT 6-DIMETHYLAMINOPURINE (6-DMAP) TREATMENTS ON REVERSIBLE ARRESTING OF MONO- AND TRIPRONUCLEAR EMBRYOS AT THE PRONUCLEAR STAGE

A. González Picazo (1), N. Soler Balaguer (2), X. Vendrell Montón (3), M.J. Escribá Pérez (4)

(1) Fundación-IVI - Valencia (Valencia), (2) Universidad de Valencia - Valencia (Valencia), (3) Sistemas Genómicos - Paterna (Valencia), (4) IVIRMA-Valencia - Valencia (Valencia)

INTRODUCTION:

Just before pronuclear fading, zygotes are at the G₂-phase of the cell-cycle. The entry into the M-phase and therefore, progression into mitosis requires the active form of the M-phase promoting factor (MPF). The 6-dimethylaminopurine (6-DMAP) inhibits the cdc25 phosphatase phosphorylation and therefore, it prevents MPF activation.

On the other hand, DNA breaks, naturally and artificially induced, could be naturally repaired by the cytoplasm, depending on the cell-cycle. Therefore, to synchronize zygotes at precise phases of the first cell-cycle would be of major relevance in association to CRISPR technology.

OBJECTIVES:

To determine the optimal concentration of 6-DMAP to synchronize human zygotes at the pronuclear stage (presumably at the G₂-phase) without compromising subsequent in vitro development to the blastocyst stage.

MATERIAL AND METHODS:

Prospective experimental study, approved by CREC. Mono- (MPN; n=580) and tripronuclear (TPN; n=261) zygotes were incubated in 0mM (control), 0.24mM, 0.48mM or 0.60mM 6-DMAP, in GEMS medium (Genea Biomedx) for 6h at 37°C, 6%CO₂ and 5%O₂. Arresting rate was calculated as a percentage of zygotes, still at the pronuclear stage after 6-DMAP incubation. In order to assess the effect of 6-DMAP on subsequent developmental competence, MPN/TPN were cultured in GEMS for 5 days. Blastocyst rate was calculated as a percentage of blastocysts per number of pronuclear-arrested zygotes.

RESULTS:

Concerning MPN zygotes, higher arresting rates were observed in 0.48mM and 0.60mM 6-DMAP groups (averaged: 86.1%) than in 0.24mM (44.4%; p= 0.004). In 0.24mM and 0.48mM 6-DMAP groups, some zygotes exhibited an anomalous pronuclear fragmentation at the end of 6-DMAP treatment (27.8% and 7.1%, respectively). This event was never observed in 0.60mM or control groups. Regardless of 6-DMAP concentration, arrested MPN cleaved (90.9%) and progressed to the blastocyst stages (18.2%) at comparable rates to controls (77.8%; p=0.3 and 18.6%; p=0.96, respectively).

As regards TPN zygotes, they were arrested at the pronuclear stage efficiently (averaged, 92.3%), regardless 6-DMAP concentration. No pronuclear fragmentation was observed at any 6-DMAP concentration or controls. Concerning developmental competence and regardless 6-DMAP concentration, TPN zygotes cleaved (95.8%) and progressed to the blastocyst stage (33.3%) at comparable rates to control (81.7%; p=0.34 and 33.6%; p=0.6, respectively).

CONCLUSIONS:

MPN and TPN zygotes, incubated in 0.6mM 6-DMAP for 6h were efficiently and reversible arrested at the G₂-phase, without compromising subsequent development. This finding could have potential applicability in association to protocols of CRISPR technology, since DNA-repair pathways depend on particular cell-cycle phases.

EM. García Hernández, B. Lledó Bosch, JA. Ortiz Salcedo, R. Morales Sabater, AM. Fabregat Reolid, J. Guerrero Villena, J. Llácer Aparicio, R. Bernabéu Pérez
Instituto Bernabéu - Alicante (Alicante)

INTRODUCTION:

Las aneuploidías embrionarias son la principal causa de fracaso en ciclos de fecundación *in vitro*. Sin embargo, un porcentaje de embriones euploides no consiguen implantar. Una de las causas que podrían explicar dichos fallos de implantación es el mosaicismo embrionario. Se sabe que el mosaicismo es de origen post-mitótico, aunque los factores que pueden inducir su aparición no están bien definidos.

OBJETIVO:

El objetivo del estudio fue evaluar qué factores de origen paterno podrían influir en la tasa de mosaicismo embrionario.

MATERIAL Y MÉTODO:

Para llevar a cabo el objetivo del estudio se utilizaron 1717 embriones, biopsiados en día 5 o día 6, procedentes de 515 ciclos de parejas que se sometieron a un tratamiento de donación de ovocitos con PGT-A, desde septiembre de 2013 a febrero de 2019. Las biopsias de trofoectodermo fueron analizadas por array CGH (Agilent SurePrint) y por NGS (VeriSeq). Las variables analizadas fueron la calidad seminal (OMS, 2010), edad paterna, la fragmentación del DNA (TUNEL) y FISH en espermatozoides (cromosomas estudiados X, Y, 18, 13 y 21). Todos los varones incluidos en el estudio presentaron un cariotipo normal. El análisis estadístico fue realizado mediante regresión logística incluyendo factores de confusión y empleando SPSS (v 20.0).

RESULTADOS:

De los 1717 embriones analizados el 17.9% presentaron mosaicismo. De este porcentaje, el 10.9% presentaron mosaicismo en uno o varios cromosomas completos, el 5.1% presentaron anomalías segmentarias en mosaico (mosaicismo segmentario) y el 1.9% fueron mosaicos combinados. Para valorar el posible efecto de la calidad seminal sobre el porcentaje de mosaicismo embrionario, se diferenciaron distintos grupos de pacientes que presentaban oligozoospermia, criptoospermia, azoospermia, teratozoospermia y astenoospermia, no

observándose diferencias en el porcentaje de mosaicismo de cromosomas completo ni segmentario ($p > 0.05$). Tampoco se observaron diferencias cuando se compararon los pacientes normozoospermicos frente a aquellos que mostraron algún parámetro seminal alterado ($p > 0.05$). En cuanto a la edad paterna, se observó una relación positiva entre la edad del varón y el porcentaje de mosaicismo de cromosoma completo para los siguientes rangos de edad: menor de 21 años 0%, entre 21 y 35 años 6.5%, entre 36 y 40 años 10.9% y 13.1% mayor de 41 años ($p = 0.041$). En cambio, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre la edad del varón y el porcentaje de mosaicismo segmentario ($p > 0.05$). Tras analizar los resultados obtenidos respecto al porcentaje de fragmentación espermática, no se observaron diferencias significativas entre porcentaje de embriones con mosaicismo de cromosoma completo o segmentario y el porcentaje de espermatozoides con DNA fragmentado ($p > 0.05$). Por último, respecto al FISH, no se observó asociación entre el porcentaje de varones con FISH alterado y el porcentaje de mosaicismo de cromosoma completo, ni segmentario ($p > 0.05$). En cambio, cuando realizamos el análisis estadístico por cromosomas independientes, encontramos una relación entre el porcentaje de espermatozoides diploides y el mosaicismo. Los pacientes con un mayor porcentaje de espermatozoides diploides presentan una mayor incidencia de mosaicismo segmentario (4.5% vs 18.8%, $p = 0.004$).

CONCLUSIONES:

Nuestros resultados muestran que ni la calidad seminal, ni la fragmentación espermática afectan al porcentaje de mosaicismo embrionario de cromosoma completo o segmentario. Solo la edad paterna parece tener una relación positiva respecto al mosaicismo embrionario. Por otro lado, los varones con FISH alterado no parecen alterar el porcentaje de mosaicismo de cromosoma completo ni segmentario. Sin embargo, cuando el porcentaje de diploides en el FISH supera el valor normal se observa un incremento en el porcentaje de mosaicismo segmentario.

¿AUMENTAN LAS TASAS DE EMBRIONES ANEUPLOIDES EN LAS PACIENTES CON ENDOMETRIOSIS?

B. Gadea Navarro (1), P. Hernández Vargas (1), V. Legidos López (1), V. Lozoya García (2), M. Muñoz Cantero (1)

(1) IVIRMA Alicante - Alicante (Alicante), (2) Fundación IVIRMA - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN:

La endometriosis es una de las afecciones ginecológicas más frecuentes (entre el 8 y 10 % de mujeres en edad reproductiva) y una de las principales causas de infertilidad femenina. Entre el 40-50% de las pacientes con endometriosis es infértil y acude a técnicas de reproducción asistida (TRA) para tener descendencia con pobres resultados. Existen indicios para pensar que la infertilidad en estas pacientes se relaciona con un efecto deletéreo de la endometriosis sobre la calidad ovocitaria, y se ha propuesto que podría deberse a una mayor propensión de errores meióticos por alteraciones en el huso y, por ende, mayor tasa de embriones aneuploides. Sin embargo, pocos estudios han examinado la carga genética embrionaria con el fin de determinar si los embriones de dichas pacientes presentan mayor riesgo de aneuploidías.

OBJETIVO:

Determinar si existe mayor incidencia de aneuploidías embrionarias en pacientes infértiles con endometriosis frente a pacientes sin la enfermedad.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio multicéntrico retrospectivo de cohortes para comparar las tasas de aneuploidía embrionaria entre pacientes con endometriosis (n=350) y sin endometriosis (n=4000). Nuestro estudio incluye pacientes entre 18 y 42 años de edad que se someten a inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) y test genético preimplantacional para análisis de aneuploidías (PGT-A) entre los años 2012 y 2017. Para descartar el efecto de otras patologías previamente relacionadas con anomalías embrionarias, se excluyeron los casos de factor masculino severo, cariotipos de progenitores alterados o cromosopatías en embriones y/o embarazos previos. Se consideraron sólo aquellos embriones o blastocistos analizados mediante mapeo cromosómico completo empleando arrays de hibridación genómica comparada (CGH) o secuenciación masiva (NGS). Corresponden a un total de 5017 ciclos (417 en mujeres con endometriosis y 4600 en controles). La presencia de endometriosis se comprobó en el momento de la cirugía

abdominal o tras ecografía pélvica o resonancia magnética nuclear. Para los análisis estadísticos, se ha utilizado el software estadístico R (versión 3.5). Se aplicó la prueba de χ^2 para las variables categóricas y un test T-Student para las variables cuantitativas, comparando las características basales de los pacientes entre los grupos. Por último, se emplearon la χ^2 y un modelo de regresión de Poisson para comparar la tasa y el número de embriones aneuploides entre los diferentes grupos, respectivamente.

RESULTADOS:

Se incluyeron 1622 embriones biopsiados de pacientes con endometriosis y 17914 de pacientes control con los criterios anteriormente expuestos, de los que 1577 y 17566 resultaron ser informativos tras PGT-A en los respectivos grupos. De ellos, 1072 presentaban al menos alguna anomalía cromosómica cuando procedían de pacientes con endometriosis, siendo anormales un total de 11997 embriones en el caso del grupo control. En ambos grupos, el número de embriones normales resultaron ser la mitad (505 y 5569 en los grupos de endometriosis y control, respectivamente). No se observaron diferencias significativas al comparar la tasa de aneuploidías entre embriones procedentes de pacientes con o sin endometriosis (68,0 % versus. 68,3%, respectivamente; $p=0.794$). Tras un análisis de regresión de Poisson, ajustando las características basales de la paciente, el número esperado de embriones aneuploides entre ambos grupos tampoco resultó significativo.

CONCLUSIONES:

Aunque se ha propuesto que el problema de las bajas tasas de éxito en las pacientes con endometriosis que se someten a TRA podría radicar en el incremento de errores meióticos y la inestabilidad cromosómica de sus ovocitos, nuestros datos sugieren que no presentan mayor riesgo de aneuploidías embrionarias. Sin embargo, no podemos descartar que el bloqueo del desarrollo embrionario previo a la biopsia pudiera deberse a anomalías cromosómicas no detectadas mediante el PGT-A. Resultará interesante conocer si los resultados obtenidos son similares con independencia del estadio embrionario en que se realiza la biopsia.

EL USO DE PROBIÓTICOS PODRÍA MEJORAR LOS RESULTADOS EN LOS TRATAMIENTOS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA MODULANDO EL PATRÓN DE MICROBIOMA VAGINAL

M. Díaz Martínez, B. Lledó Bosch, J. Ortiz Salcedo, P. Lozano García, V. Ruiz Cámara, J. Ten Morro, J. Llácer Aparicio, R. Bernabéu Pérez, A. Bernabéu García
Instituto Bernabéu - Alicante (Alicante)

INTRODUCCIÓN:

El microbioma vaginal y la conservación de un estado de eubiosis, es fundamental para el mantenimiento de la salud reproductiva de la mujer. Un desequilibrio en la composición de la microbiota vaginal, provocado por una disminución de especies beneficiosas, como las del género *Lactobacillus spp.* o la aparición de ciertas especies bacterianas nocivas, podría provocar una disbiosis a nivel vaginal y/o endometrial, alterando el resultado de los tratamientos de reproducción asistida. Se sabe que los cambios en el contenido genético y metabólico de la microbiota se correlacionan con una amplia gama de patologías. Las técnicas de secuenciación masiva (NGS) junto con genes marcadores, como el rRNA16S, son una herramienta potente para la identificación del microbioma.

OBJETIVO

El objetivo principal de este estudio es determinar si el uso de probióticos puede mejorar las tasas de embarazo clínico en los tratamientos de reproducción asistida en pacientes con y sin diagnóstico de fallo recurrente de implantación (RIF), evaluando las diferencias en los porcentajes relativos de los distintos género y especies analizados del microbioma vaginal de las pacientes, en las criotransferencias previas y posteriores a la administración de óvulos vaginales con probióticos.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se ha llevado a cabo un estudio prospectivo (mayo 2017-mayo 2019). Se incluyeron un total de 45 pacientes, 24 del grupo control y 21 del grupo RIF. Para el análisis de los resultados tras el tratamiento con probióticos, se incluyeron 52 muestras (26 pacientes), de las cuales, 10 pertenecían al grupo control y 16 al grupo RIF. Todas las pacientes fueron sometidas a tratamientos de reproducción asistida incluyendo el análisis mediante PGT-A, vitrificación electiva y criotransferencia de un único embrión euploide. Los probióticos empleados fueron los de la casa comercial Seid (Seidibiotics), administrando 1 óvulo vaginal diario (noche) durante 5 días, tras el último día de menstruación. Las muestras se tomaron el día

de la criotransferencia previa y posterior al tratamiento con probióticos, mediante una torunda seca en fondo de saco vaginal posterior y mediante visualización directa con espéculo. El ADN se extrajo utilizando PureLink Microbiome DNA Purification kit. Se analizó y amplificó la región hipervariable V3V4. La secuenciación y el análisis bioinformático fueron realizados según el protocolo Illumina Metagenomics, NexteraXT library empleando el equipo Miseq. Se analizaron los datos para 10 géneros distintos, 21 especies del género *Lactobacillus spp.*, y 2 especies del género *Ureaplasma spp.*

RESULTADOS:

De forma global, cuando se comparó el porcentaje relativo del género *Lactobacillus spp.* en el microbioma vaginal el día de la transferencia antes y después del tratamiento probiótico se observó un incremento estadísticamente significativo ($68.06\% \pm 34.49$ vs $80.21\% \pm 27.43$; $p=0.016$). Dicha diferencia se mantiene cuando se analiza por grupo: control ($64.43\% \pm 38.40\%$ vs $81.13\% \pm 26.73\%$) y RIF ($65.91\% \pm 39.39\%$ vs $74.76\% \pm 33.99\%$). Así mismo, de forma global, se observa una tendencia a la disminución del género *Gardnerella spp.* ($p=0,19$), y un incremento en algunas especies de *Lactobacillus spp.* Se detecta una relación inversamente proporcional entre el porcentaje del género *Lactobacillus spp.* y *Gardnerella spp.* Respecto a la tasa de beta positiva, se observa una tendencia en la tasa de embarazo en las pacientes del grupo RIF (aumentando de un 42,8% a un 66,7%), pero sin significación estadística ($p=0,1$), no mostrándose esta tendencia en el grupo control.

CONCLUSIONES:

Nuestros resultados muestran un incremento en el porcentaje del género *Lactobacillus spp.* tras el tratamiento con probióticos. Posiblemente, esta mejora en el patrón del microbioma vaginal, se relacione con mejores resultados gestacionales en tratamientos de reproducción asistida. Posiblemente la disminución del género *Gardnerella spp.* pueda colaborar a su vez, con la mejora de los resultados. Se requiere de estudios clínicos randomizados y con mayor tamaño muestral, para alcanzar significación estadística.

EMBRIONES DESEQUILIBRADOS EN CICLOS DE PGT-SR: ¿UNA CUESTIÓN DE GÉNERO?

A. Marsal Olivan, L. Coll Luján, M. Parriego Beltrán, M. Boada Palá, B. Coroleu Lletget, A. Veiga Lluch

Servicio de medicina de la reproducción Dexeus Mujer. Hospital Universitari Dexeus - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

Las translocaciones equilibradas son las anomalías cromosómicas más comunes en humanos, con una prevalencia de 1 de cada 500 nacidos vivos. Su presencia en el cariotipo somático de un individuo da lugar a la formación de apareamientos cromosómicos particulares durante el proceso meiótico, los cuales pueden resultar en la generación de gametos con ganancias y/o pérdidas de fragmentos cromosómicos causando, a menudo, infertilidad.

Es conocido que los procesos de gametogénesis masculina y femenina son muy diferentes, tanto por su duración como por la astringencia de los puntos de control del proceso. Algunos estudios han determinado que el género del miembro portador de la translocación podría tener influencia en el porcentaje de gametos, y por extensión de los embriones anormales que generan estos individuos. Si fuera así, se desconoce si se trataría de una eliminación selectiva de ciertos desequilibrios o sería un mecanismo genérico más o menos efectivo según el género del portador.

OBJETIVO:

Analizar si existen diferencias en la generación de gametos desequilibrados y los tipos de desequilibrios que se generan en función del género del portador a partir de los resultados citogenéticos de embriones procedentes de ciclos de Test Genético Preimplantacional por reordenamientos estructurales (PGT-SR).

MATERIAL Y MÉTODO:

Se analizaron retrospectivamente los datos de ciclos de PGT-SR realizados desde 2015 hasta 2018.

Las biopsias embrionarias se obtuvieron del trofocotodermo de embriones en estadio de blastocisto (D+5-D+7) y el análisis genético se realizó mediante técnicas de análisis cromosómico completo (aCGH o NGS). Los embriones se agruparon en euploides (sin pérdidas ni ganancias de material genético),

desequilibrados (con ganancias y/o pérdidas de material genético asociadas a la translocación), aneuploides (con ganancias y/o pérdidas de material genético no asociadas a la translocación) y equilibrados (conjunto de embriones euploides y aneuploides provenientes de una segregación alternante). Los resultados se analizaron en función del género del portador y del tipo de translocación.

Para el análisis estadístico se utilizó un t-test de dos muestras y un análisis de chi-cuadrado. La significancia estadística se definió a $p < 0,05$.

RESULTADOS:

Se estudiaron 69 ciclos de FIV-ICSI DGP de 42 parejas. Se analizaron 293 blastocistos, de los cuales 274 pudieron ser diagnosticados.

En un 59,5% de las parejas incluidas uno de los miembros era portador de una translocación recíproca (25) mientras que en el resto la indicación era una translocación Robertsoniana (17). En lo referente al género del portador de la translocación, en un 69% de las parejas (29) el hombre era el portador frente al 31% de ellas (13) en que lo era la mujer. El porcentaje global de embriones euploides fue del 23,6%, el 44,5% de los embriones resultaron desequilibrados y el 32,1% restante resultó aneuploide por algún cromosoma no implicado en la translocación. En la Tabla I se detallan los resultados.

Se observó un porcentaje superior de embriones normales o equilibrados en las translocaciones de origen paterno en comparación a las de origen materno (61,4% vs 43,3%). Al subclasificar los resultados según el tipo de translocación, las diferencias no mostraron significación estadística (Tabla II). El porcentaje de embriones equilibrados para portadores de translocaciones Robertsonianas (71,8%) fue superior al observado en el caso de las translocaciones recíprocas (42%).

Cuando se analizaron los resultados en función del tipo de segregación, no se observaron diferencias significativas según el género del portador (Tabla III).

COMUNICACIONES PÓSTER

Tabla I. Número de embriones diagnosticados en función del origen parental y el tipo de translocación.

	Translocaciones recíprocas		Translocaciones Robertsonianas		Total
	Origen paterno	Origen materno	Origen paterno	Origen materno	
Embriones euploides	17	7	31	9	64
Embriones desequilibrados	49	38	22	13	122
Embriones aneuploides	25	14	40	9	88
Total	91	59	93	31	274
Total	150		124		

Tabla II. Dotación cromosómica de los embriones diagnosticados. Los embriones se clasifican en equilibrados o desequilibrados según la segregación de los cromosomas translocados. *p-valor estadísticamente significativo.

		Origen paterno	Origen materno	p-valor
Translocaciones recíprocas	Equilibrados	42/91 (46.2%)	21/59 (35.6%)	0.237
	Desequilibrados	49/91 (53.8%)	38/59 (64.4%)	
Translocaciones Robertsonianas	Equilibrados	71/93 (76.3%)	18/31 (58.1%)	0.066
	Desequilibrados	22/93 (23.7%)	13/31 (41.9%)	
Total	Equilibrados	113/184 (61.4%)	39/90 (43.3%)	0.006*
	Desequilibrados	71/184 (38.6%)	51/90 (56.7%)	

Tabla III. Modos de segregación observados.

		Origen paterno	Origen materno	p-valor
Translocaciones recíprocas	Alternante	42/91 (46.2%)	21/59 (35.6%)	0.237
	Adyacente I	27/91 (29.7%)	15/59 (25.4%)	0.710
	Adyacente II	15/91 (16.5%)	9/59 (15.3%)	1.000
	3:1	5/91 (5.5%)	10/59 (16.9%)	0.590
	Otros	2/91 (2.2%)	4/59 (6.8%)	0.212
Translocaciones Robertsonianas	Alternante	71/93 (76.3%)	18/31 (58.1%)	0.066
	Adyacente	20/93 (21.5%)	11/31 (35.5%)	0.151
	3:0	1/93 (1.1%)	0/31 (0%)	1.000
	Otros	1/93 (1.1%)	2/31 (6.5%)	0.154

CONCLUSIONES:

La proporción de euploidía en los embriones generados por hombres portadores de una translocación es superior a la generada por a mujeres portadoras confirmando una

actuación más efectiva de los puntos de control en la meiosis masculina que resulta en una eliminación más eficaz de gametos desequilibrados. No obstante, el género del portador no parece determinar una eliminación preferencial de ciertos desequilibrios.

TIME-LAPSE VS CULTIVO CONVENCIONAL: ACTUALIZACIÓN DE LAS TASAS DE ÉXITO REPRODUCTIVO DE LOS ÚLTIMOS 5 AÑOS

E. Güell Penas, J. Cura Ruiz, L. Felip Roca, E. Morono Sobral, O. González Barreda, J. Ibarz Batet, R. Ibarz Serrat, J. Ruiz Romero, M. López Rodríguez
Conceptum - Reus (Tarragona)

INTRODUCCIÓN:

La tecnología time-lapse en embriología permite monitorizar los embriones de forma constante y evitar la interrupción diaria del cultivo como sucede sin tecnología time-lapse. Tras 5 años usando esta tecnología en nuestro centro, hemos querido comparar los distintos indicadores del laboratorio de FIV entre los ciclos realizados con y sin time-lapse.

OBJETIVO:

Determinar si el uso del time-lapse influye en la probabilidad de éxito reproductivo.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo en el que se incluyó 596 ciclos de FIV-ICSI, de 440 pacientes, comprendidos entre enero de 2014 y enero de 2019. Se descartaron los con FIV convencional o mixtos FIV-ICSI. Todos los embriones fueron cultivados en incubador convencional (37°C, 6%CO₂). Para el grupo TL (time-lapse) se utilizó el sistema de time-lapse de Primo Vision y se cultivaron de forma ininterrumpida hasta el día de su transferencia o criopreservación. Para el grupo sin-TL, los embriones cultivaron de forma convencional, siendo sacados del incubador y analizados en el microscopio invertido una vez al día según los criterios de valoración morfológica ASEBIR. Se contempló la información propia del ciclo FIV-ICSI (nº oocitos recuperados, nº oocitos maduros microinyectados, nº fecundados, nº embriones transferidos, nº embriones congelados, y tasas de fecundación y de embriones evolutivos). También se contempló la tasa de implantación y la tasa de gestación. Análisis estadístico: R-Software, Prueba U de Mann-Whitney para comparación de medias una vez comprobada la distribución no paramétrica de las variables, y Chi cuadrado para comparación de variables categóricas.

Indicador	TL	no TL	P-Value
nº ciclos	432	81	
nº oocitos recuperados	4550	829	
Media oocitos recuperados	10,53	10,23	NS
nº MII	3126	594	
Media oocitos MII	7,24	7,33	NS
nº fec	2401	476	
Media fecundados	5,56	5,88	NS
Tasa fecundación	76,81%	80,13%	NS
nº embriones congelados	1194	262	
Nº medio embriones congelados	2,76	3,23	NS
nº embriones transferidos	435	95	
Nº medio embriones transferidos	1,84	1,79	NS
nº embr T+C	1629	357	
Embriones evolutivos (respecto recuperados)	35,80%	43,06%	p<0,05
Embriones evolutivos (respecto MII)	52,11%	60,10%	p<0,05
Embriones evolutivos (respecto fecundados)	67,85%	75,00%	p<0,05
nº embriones t	439	96	
nº sacos	112	13	
tasa implantación	25,51%	13,54%	p<0,05
nº transfers	240	53	
nº b+	98	11	
tasa gestación	40,83%	20,76%	p<0,05

COMUNICACIONES PÓSTER

RESULTADOS:

Se encontraron diferencias significativas en la tasa de embriones evolutivos respecto a los oocitos recuperados (35,8% TL vs 43,1% sin-TL), MII (52,1% TL vs 60,1% sin-TL) y fecundados (67,9% TL vs 75% sin-TL). También se observaron diferencias significativas en la tasa de implantación (25,5% TL vs 13,5 sin-TL) y en la tasa de gestación (40,8% TL vs 20,8% sin-TL) (TABLA I).

CONCLUSIONES:

El uso de la tecnología time-lapse ha mejorado las tasas de éxito reproductivo aunque para ello ha tenido que cribar aproximadamente el 8% de los embriones que se consideran como evolutivos sin time-lapse, probablemente por fenómenos morfodinámicos que se detectarían con la monitorización continua). No sabemos hasta qué punto el cultivo ininterrumpido puede influir también, además de la selección embrionaria, en aumentar el potencial implantatorio del embrión, traducido en la mejora observada de la tasa de implantación con time-lapse.

P-104 ▶

CORRELACIÓN ENTRE LOS PARÁMETROS MORFOCINETICOS Y LA PLOIDIA EN BLASTOCISTOS

M. Masip Descals (1), J. Íñiguez Tornero (1), I. Cuevas Sáiz (1), A. De Prados Alonso (1), M. Barea Gómez (1), JJ. López Gálvez (2)

(1) UR IMED VALENCIA - Valencia (Valencia), (2) UR Vistahermosa - Alicante (Alicante)

INTRODUCCIÓN:

El principal objetivo de las técnicas de reproducción asistida, siempre ha sido seleccionar el embrión con mayor potencial de implantación con la consecución de un embarazo que finalice con el nacimiento de un bebé sano. Normalmente, esta selección se ha venido realizando mediante la evaluación morfológica estándar. En la actualidad existen distintas herramientas, tanto invasivas (PGT-A), como no invasivas (Tecnología Time - Lapse , metabólica, proteómica, etc.) que intentan mejorar esta selección superando las limitaciones que presenta la evaluación morfológica clásica.

Por un lado, el PGT-A se ha revelado como una importante herramienta para determinar la ploidía del embrión, consiguiendo así unas mayores tasas de embarazo por transferencia y una disminución en las tasas de aborto. Por el otro lado, la introducción de la tecnología time-lapse nos permite una observación continua del desarrollo del embrión sin alterar las condiciones de cultivo, pudiendo establecer marcadores morfocinéticos que nos permiten una mejor selección embrionaria

OBJETIVO:

El objetivo de este estudio es intentar establecer una relación entre la ploidía de los embriones testeados con PGT-A y su cinética de desarrollo, de acuerdo a las condiciones de nuestro laboratorio y los parámetros morfocinéticos establecidos

MATERIAL Y MÉTODO:

Se realizó un estudio retrospectivo sobre 58 blastocistos cultivados en medio único (GEMS – GERI MEDIUM – GENEAL BIOMEDX MERCK) que se realizó biopsia de trofoectodermo con láser y analizados mediante NGS. Todos los embriones fueron cultivados hasta el estadio de blastocisto (D+5) en el incubador time-lapse (ESCO MEDICAL MIRI TL). La evaluación de los parámetros morfocinéticos se llevó a cabo por la misma persona, señalando los siguientes eventos que serían utilizados para el estudio:

PN2, PN Fading, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, CC2 (T3-T2), S2, CC3 (T5-T3), S3, Morula, Blastocyst.

El análisis estadístico se realizó utilizando el paquete IBM SPSS Statistics 25.0 y empleando el test no-paramétrico de Mann-Whitney, puesto que las variables no seguían una distribución normal (tabla I), y considerando estadísticamente significativo un p-valor < 0,05.

RESULTADOS:

Tras la aplicación del test estadístico, no se observaron diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los parámetros morfocinéticos analizados y la ploidía de los embriones estudiados, tal como se refleja en la Tabla II.

COMUNICACIONES PÓSTER

CONCLUSIONES:

No podemos extrapolar la condición de ploidía embrionaria en base al desarrollo morfocinético con los parámetros estudiados de los embriones analizados. Estos resultados están acorde con lo publicado por otros autores en los que tampoco se encuentran diferencias significativas entre los parámetros morfocinéticos estudiados entre embriones euploides y aneuploides.

Sin embargo, el uso de la tecnología time-lapse y la clasificación morfocinética sigue siendo útil de forma complementaria al screening genético para seleccionar qué embrión transferir cuando dispongamos de más de un embrión euploide.

CORRELACIÓN ENTRE LOS PARÁMETROS MORFOCINÉTICOS Y LA PLOIDÍA EN BLASTOCISTOS

Tablas

HYPOTHESIS TEST SUMMARY				
	Null Hypothesis	Test	Sig.	Decision
1	The distribution of T2 is normal with mean 24.78 and standard deviation 3.772	One Sample Kolmogorov-Smirnov Test	.015 ¹	Reject the null hypothesis
2	The distribution of T3 is normal with mean 35.45 and standard deviation 4.875	One Sample Kolmogorov-Smirnov Test	.046 ¹	Reject the null hypothesis
3	The distribution of T4 is normal with mean 38.55 and standard deviation 4.650	One Sample Kolmogorov-Smirnov Test	.200 ^{1,2}	Retain the null hypothesis
4	The distribution of T5 is normal with mean 47.77 and standard deviation 4.076	One Sample Kolmogorov-Smirnov Test	.012 ¹	Reject the null hypothesis
5	The distribution of T6 is normal with mean 50.18 and standard deviation 5.686	One Sample Kolmogorov-Smirnov Test	.011 ¹	Reject the null hypothesis
6	The distribution of T7 is normal with mean 53.35 and standard deviation 7.840	One Sample Kolmogorov-Smirnov Test	.000 ¹	Reject the null hypothesis
7	The distribution of T8 is normal with mean 55.80 and standard deviation 8.548	One Sample Kolmogorov-Smirnov Test	.003 ¹	Reject the null hypothesis
8	The distribution of MORULA is normal with mean 93.52 and standard deviation 9.658	One Sample Kolmogorov-Smirnov Test	.200 ^{1,2}	Retain the null hypothesis
9	The distribution of BLASTOCYST is normal with mean 107.39 and standard deviation 8.693	One Sample Kolmogorov-Smirnov Test	.200 ^{1,2}	Retain the null hypothesis
10	The distribution of PN2 is normal with mean 11.42 and standard deviation 3.836	One Sample Kolmogorov-Smirnov Test	.061 ¹	Retain the null hypothesis
11	The distribution of PNFADING is normal with mean 22.28 and standard deviation 3.522	One Sample Kolmogorov-Smirnov Test	.001 ¹	Reject the null hypothesis
12	The distribution of CC2 is normal with mean 10.67 and standard deviation 2.395	One Sample Kolmogorov-Smirnov Test	.000 ¹	Reject the null hypothesis
13	The distribution of S2 is normal with mean 1.10 and standard deviation 2.3445	One Sample Kolmogorov-Smirnov Test	.000 ¹	Reject the null hypothesis

Asymptotic significances are displayed. The significance level is .05

Tabla I. Test de Kolmogorov – Smirnov para la determinación de la normalidad de los parámetros analizados.

COMUNICACIONES PÓSTER

HYPOTHESIS TEST SUMMARY				
	Null Hypothesis	Test	Sig.	Decision
1	The distribution of T2 is the same across categories of PGT	Independent Sample Mann Whitney U Test	.382	Retain the null hypothesis
2	The distribution of T3 is the same across categories of PGT	Independent Sample Mann Whitney U Test	.769	Retain the null hypothesis
3	The distribution of T4 is the same across categories of PGT	Independent Sample Mann Whitney U Test	.020	Retain the null hypothesis
4	The distribution of T5 is the same across categories of PGT	Independent Sample Mann Whitney U Test	.930	Retain the null hypothesis
5	The distribution of T6 is the same across categories of PGT	Independent Sample Mann Whitney U Test	.645	Retain the null hypothesis
6	The distribution of T7 is the same across categories of PGT	Independent Sample Mann Whitney U Test	.369	Retain the null hypothesis
7	The distribution of T8 is the same across categories of PGT	Independent Sample Mann Whitney U Test	.422	Retain the null hypothesis
8	The distribution of MORULA is the same across categories of PGT	Independent Sample Mann Whitney U Test	.745	Retain the null hypothesis
9	The distribution of BLASTOCYST the same across categories of PGT	Independent Sample Mann Whitney U Test	.344	Retain the null hypothesis

Asymptotic significances are displayed. The significance level is ,05

Tabla II. Resultados obtenidos comparando cada uno de los parámetros a analizar según la ploidía obtenida en los embriones con el test estadístico de Mann Whitney.

TIME-LAPSE VS CULTIVO CONVENCIONAL: ACTUALIZACIÓN DE LAS TASAS DE ÉXITO REPRODUCTIVO DE LOS ÚLTIMOS 5 AÑOS

E. Toro Toro, D. Campos Rodero, E. Balias Fort, L. Álvarez Gómez, E. García Guixé, M. Sandalinas

Alabert, C. Giménez Sevilla

Reprogenetics Spain - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

El Test Genético Preimplantacional para estudio de enfermedades hereditarias (PGT-M) es una opción para parejas a riesgo de transmitir un trastorno genético severo a la descendencia. La metodología clásica para analizar el material genético del embrión requiere del desarrollo de protocolos específicos para cada pareja. Fundamentalmente se basa en un estudio de segregación de marcadores polimórficos próximos al locus afectado junto con la determinación de la presencia/ausencia de la mutación. La mejora en los procedimientos de amplificación y la aparición de nuevas tecnologías de análisis junto con la evolución en el laboratorio de FIV (cultivo largo, biopsia de trofoectodermo, vitrificación), han abierto un abanico de nuevas estrategias diagnósticas.

OBJETIVO:

Comparar la fiabilidad de tres estrategias diagnósticas en función de la metodología empleada (PCR vs. genotipado de SNPs) y el estadio de biopsia embrionaria (Día+3 vs. blastocisto).

MATERIAL Y MÉTODO

Se estudian un total de 440 ciclos de PGT-M: 335 analizados mediante PCR y biopsia en D+3 (PCR-d3), 42 ciclos analizados mediante PCR y biopsia en estadio de blastocisto (PCR-TE) y 63 ciclos analizados mediante genotipado de SNPs en muestras de trofoectodermo (SNP-TE).

Se evalúan la tasa de embrión amplificado, de embrión diagnosticado (definida como número de embriones diagnosticados/número de embriones a los que se realiza biopsia), el número de marcadores utilizados para el diagnóstico y la tasa de *allele drop-out* (ADO). Los resultados obtenidos se comparan estadísticamente mediante la prueba Chi-Cuadrado.

RESULTADOS:

Si bien no se observaron diferencias estadísticamente significativas en las tasas de amplificación observadas (92,7%, 96,1% y 94,4% para los grupos PCR-d3, PCR-TE y SNP-TE respectivamente), la tasa de embrión diagnosticado fue superior en casos con biopsia de trofoectodermo (93,5% en SNP-TE y 91,2% mediante PCR-TE), en comparación con casos de biopsia en Día+3 (88,6%), mostrando diferencias estadísticamente significativas entre PCR-d3 y SNP-TE ($p=0.0107$).

La tasa de ADO en muestras procedentes de blastocisto fue menor y estadísticamente significativa en comparación con la observada en blastómeros (6,3% en PCR-TE vs. 7,6% en PCR-d3, $p<0.0001$). La tasa de ADO en el genotipado mediante SNPs es irrelevante para el análisis.

En cuanto al número de marcadores, se utilizaron una media de 4,6 marcadores en ciclos de PCR frente a un promedio de 34 mediante genotipado de SNPs.

CONCLUSIONES:

Estos resultados ponen de manifiesto que la biopsia en estadio de blastocisto supone una mayor tasa de embriones amplificados y diagnosticados en comparación con las obtenidas con biopsia en día+3. Por otra parte, la aplicación del genotipado de SNPs en ciclos de PGT-M permite analizar un número muy superior de marcadores genéticos que, al no verse afectado por la presencia de ADO, resulta en un diagnóstico mucho más eficiente aumentando la probabilidad de transferencia en estas parejas.

CARGA MUTACIONAL EN ESPERMATOZOIDES COMO BASE PARA EL ASESORAMIENTO GENÉTICO EN CASOS COMPLEJOS DE PGT-M

D. Campos Rodero, E. Toro Toro, E. García Guixé, O. Martínez Passarell, A. Polo Ramos, M. Sandalinas Alabert, C. Giménez Sevilla

Reprogenetics Spain - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

El desarrollo de nuevas tecnologías ha permitido identificar variantes patogénicas implicadas en trastornos hereditarios que antes resultaban indetectables por estar en mosaico o en regiones intrónicas. Cuando la patología se debe a mutaciones en mosaico, es difícil dar un pronóstico en relación al impacto que dicha variante puede tener en la descendencia, al desconocerse el porcentaje de afectación en la línea germinal. Este hecho dificulta el asesoramiento a los pacientes sobre el riesgo de ocurrencia y de recurrencia de su enfermedad genética hereditaria.

Si además se ha indicado la realización de un PGT para el estudio de la enfermedad, deberá informarse sobre las limitaciones e implicaciones, teniendo en cuenta que generalmente en casos *de novo* la estrategia diagnóstica se basa en la detección directa de la mutación y el establecimiento del haplotipo de riesgo en embriones.

OBJETIVO:

Determinar la carga mutacional en gametos para analizar el grado de afectación de la línea germinal en un paciente que presenta una variante patogénica en mosaico relacionada con esclerosis tuberosa (Phenotype MIM number: 191100). Establecer al mismo tiempo el haplotipo de riesgo en espermatozoides en aras a realizar un PGT-M.

MATERIAL Y MÉTODO:

Paciente portador en mosaico de la variante patogénica c.733C>T (p. Arg245*) en el gen TSC1 (Gene MIM number: 605284) con deseo de gestación libre de la enfermedad. La variante patogénica se detectó en el 10% de las células sanguíneas y en el 20% de células de fibroma ungueal. En la primera fase del estudio se utilizó ADN genómico del paciente (procedente de células sanguíneas y de fibroma ungueal) para el estudio de la variante patogénica y la selección de marcadores STR informativos y colindantes al gen mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR), minisequenciación (para el estudio de la mutación) y análisis mediante electroforesis capilar.

Posteriormente se realizó el estudio en gametos. Para ello se aislaron espermatozoides y se llevó a cabo una amplificación por desplazamiento múltiple (MDA). Se analizaron en los productos de amplificación tanto la variante patogénica como los marcadores STR que habían resultado heterocigotos.

RESULTADOS:

Mediante PCR convencional no se detectó la variante patogénica en el ADN de las células sanguíneas pero sí en el procedente de células de fibroma ungueal. Junto con la variante patogénica, se estudiaron 6 marcadores polimórficos de los cuales 5 resultaron ser heterocigotos en el paciente.

23 espermatozoides se aislaron y amplificaron con éxito. El ensayo de PCR permitió establecer 2 haplotipos: 12 espermatozoides con el haplotipo A, aparentemente no vinculado a la variante patogénica (A-WT), y 11 con el haplotipo B, que podía estar o no vinculado a la variante patogénica (10 resultaron no estar vinculados a la variante patogénica (B-WT) y uno resultó estar vinculado, B-MUT). La tasa de identificación de la variante patogénica fue del 4,3% en los espermatozoides estudiados.

CONCLUSIONES:

Cuando es el varón el portador del mosaicismo, es posible establecer el porcentaje de células afectadas en la línea germinal para estimar el riesgo de transmisión a la descendencia y proporcionar un asesoramiento genético más ajustado a su realidad.

Asimismo, el estudio de los espermatozoides en varones portadores de mutaciones en mosaico permite establecer el haplotipo de riesgo que refuerza el diagnóstico directo en caso de haberse indicado la realización de un PGT-M. No obstante, la posibilidad de *allele drop-out* (ADO) en la detección de la variante patogénica, implica que todos aquellos embriones portadores del haplotipo de riesgo deben considerarse como no transferibles.

A partir de todos los datos recopilados: riesgo observado, riesgo estimado, limitaciones del PGT y considerando su contexto genético y familiar, podremos ofrecer a la pareja las herramientas necesarias para la toma de decisiones informadas.

TRANSFERENCIA DE EMBRIONES EUPLOIDES MOSAICOS: RESULTADOS PRELIMINARES

E. Fernández García (1), S. Gómez García (1), S. García Oro (2), E. Gómez Sánchez (3), S. Cortés Gallego (4), E. Martín Tejedor (1), V. Hellín Gutierrez (1), M. Sánchez Castro (5), A. Gómez Duro (1)

(1) Geniality Diagnostico Genético - Madrid (Madrid), (2) Hospital Quirón Salud A Coruña - A Coruña (A Coruña), (3) THAE Fertilidad - Murcia (Murcia), (4) Clínica Tambre - Madrid (Madrid), (5) Reprogenetics Spain - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

El mosaicismo cromosómico es la co-existencia de varias líneas celulares con distinta dotación cromosómica dentro de un mismo embrión. Alrededor del 10% de los embriones analizados por TGP-A son mosaicos. En las biopsias embrionarias de trofoctoederma (TE), el NGS permite detectar la presencia de mosaicismo con fiabilidad a partir de un 20% de líneas anormales. Los datos publicados hasta el momento muestran una concordancia para embriones euploide y aneuploides del 90% entre el resultado obtenido en el TE y la masa celular interna.

Según las recomendaciones publicadas los embriones mosaico se clasifican:

Tabla I	
NÚMERO CROMOSOMAS IMPLICADOS:	
1-2	Simple
≥3	Complejo
GRADO DE MOSAICISMO OBSERVADO:	
30-40%	Moderado
41-70%	Extenso

Tras más de 500 transferencias, se ha descrito que estos embriones, aunque tienen menor potencial de implantación y mayor riesgo de aborto, pueden dar lugar a embarazos evolutivos y recién nacidos sanos. La transferencia de embriones euploides mosaicos ya es una realidad, pero ¿qué tipo de embrión mosaico se debería primar para transferir según el tipo de mosaicismo y el porcentaje en el que se encuentre?

Embriones con un porcentaje de mosaicismo menor al 50% dan lugar alrededor de un 40% de embarazos con menos de un 10% de aborto. Además, los embriones mosaicos con monosomías obtienen mejores resultados que los que tienen trisomías, los complejos o los segmentados, respectivamente. Según lo descrito, esta sería una propuesta para la transferencia de estos embriones (Tablall):

Tabla II	
Orden de prioridad y tipo de mosaicismo	Porcentaje de mosaicismo
Monosomías únicas o dobles	<50%
Monosomías únicas o dobles	>50%
Complejos y segmentados	<50%
Trisomías únicas y dobles	<50%
Trisomías únicas y dobles	>50%
Complejos y segmentados	>50%

OBJETIVO:

Valorar la transferencia de embriones euploides mosaicos como alternativa en pacientes sin ningún embrión euploide a transferir mediante el TGP-A, y con ello determinar la prioridad de los embriones a transferir y el porcentaje de embarazo evolutivo.

MATERIAL Y MÉTODO:

El presente estudio recoge un total de 10 transferencias de embriones mosaico realizadas desde Diciembre de 2018 hasta Mayo de 2019. El estudio incluye a 9 parejas de seis centros diferentes. Tras someterse a un ciclo de TGP-A, se biopsiaron un total de 46 embriones en estadio de blastocisto (TE) 14 de ellos con resultado de euploide mosaico. Los pacientes que decidieron transferirse embriones mosaicos recibieron asesoramiento genético y se les recomendó realizar un diagnóstico genético prenatal mediante amniocentesis.

Las muestras fueron amplificadas mediante la técnica *whole genome amplification* (Sureplex) y secuenciación por síntesis

COMUNICACIONES PÓSTER

mediante tecnología Illumina (MiSeq (Illumina, San Diego, CA, USA). Las imágenes fueron analizadas con el software BlueFuse 4.2 (BlueGnome, Cambridge UK).

RESULTADOS:

En las diez transferencias se transfirió un único embrión, en cuatro de ellas dieron resultado de embarazo evolutivo (40%) con una tasa de aborto del 0%. Ver tabla III

CONCLUSIONES:

La transferencia de embriones mosaico simple da lugar a embarazo evolutivo.

Aunque el número de transferencias de embriones mosaico hasta el momento es reducido, nuestros resultados coinciden con los publicados.

Tabla III

Nº casos	Número de Embriones a analizar	Resultado del mosaico transferido (% mosaicismo)	Embarazo	Test Prenatal	
1	2	Mosaico simple moderado	2n/mosM 19 (30%)	Positivo	Cariotipo normal
2	7	Mosaico simple moderado	2n/mosdup(22)(q11.1;q12)(54%)	Negativo	-
3	10	Mosaico simple moderado	2n/mosM16(39%)	Positivo	ND
4	8	Mosaico Simple Moderado	2n/mosT5(p13.2-q14.3), M6(q12.6-qter)(30%)	Negativo	
5	3	MOSAICO SIMPLE EXTENSO	2n/mos(M2,TX(p11.3-qter))(49%)	Positivo	Cariotipo normal
6	6	Mosaico Simple Moderado	2n/mosT14(pter-q31.1)(35%)	Positivo	ND
7	2	MOSAICO SIMPLE EXTENSO	2n/mosT17, T19(65%)	Negativo	
8	6	MOSAICO SIMPLE EXTENSO	2n/mosM2(q22.3-qter),T9(45%)	Negativo	
			2n/mosT3(pter-q21.2),T7(pter-p11.2)(35%)	Negativo	
9	2	Mosaico Simple Moderado	2n/Mos (T8,T9,M10,M18,M22)(45%)	Negativo	

P. González Gómez, C. Moyano Ortega, L. Martínez Navarro, B. Romero Guadix

UR Hospital Inmaculada - Granada (Granada)

INTRODUCCIÓN:

Hasta hace relativamente poco tiempo se utilizaba la congelación lenta para la preservación de embriones pero la fisiología del ovocito hacía inapropiada su criopreservación. Gracias a la aparición de la vitrificación en poco tiempo hemos superado esa barrera y podemos preservar ovocitos llegando a tener hasta un 95 % de supervivencia.

El desarrollo embrionario tras la fecundación y la tasa de embarazo clínico cuando hablamos de vitrificación de ovocitos es prácticamente la misma que cuando se utilizan en fresco. Es lo que hemos querido comprobar en este estudio analizando dos grupos: receptoras de ovocitos de donante vitrificados y receptoras de ovocitos de donante en fresco.

La vitrificación de ovocitos ha sido uno de los avances más notables en los últimos años en la reproducción asistida.

Esta técnica nos permite preservar la fertilidad tanto en mujeres que desean retrasar la maternidad como en casos en los que haya indicación médica (enfermedades, acumulación de ciclos, imposibilidad del varón de recoger la muestra, etc...)

Además, este retraso de la maternidad conlleva que cada vez son más las mujeres que recurren a la utilización de óvulos de donante en técnicas de reproducción asistida. Esta elevada demanda ha llevado a la aparición de numerosos bancos especializados en la vitrificación de ovocitos.

Por todo ello nos planteamos optimizar la técnica para poder ofrecer las mejores garantías de éxito a nuestros pacientes.

OBJETIVO:

En el centro realizamos ciclos de ovodonación con ovocitos frescos y con ovocitos vitrificados y nuestro objetivo es analizar si hay diferencias significativas en las tasas de embarazo clínico entre ambos grupos.

Además se analiza las diferencias entre criotransferencias de

embriones vitrificados procedentes de ovocitos vitrificados de donante y criotransferencias de embriones vitrificados procedentes de ovocitos frescos de donante.

MATERIAL Y MÉTODO:

Comparamos los embarazos de un grupo de 43 receptoras de ovocitos de donante frescos y un grupo de 30 receptoras de ovocitos de donante vitrificados, ambos grupos transferimos en fresco.

Por otro lado los comparamos de 31 pacientes en las que transferimos embriones criopreservados procedentes de ovocitos de donante frescos y otro grupo de 16 pacientes en las que transferimos embriones criopreservados procedentes de ovocitos de donante vitrificados.

Los resultados fueron analizados con el programa estadístico SPSS.

RESULTADOS:

En ambos grupos se obtuvieron tasas de embarazo clínico similares (**Tabla I y tabla II**) y tras aplicar el análisis estadístico observamos que no hay diferencias significativas entre las tasas de embarazo de receptoras de ovocitos vitrificados de donante y ovocitos frescos de donante que transferimos en fresco (**Tabla III**)

Tampoco se observaron diferencias significativas entre las tasas de embarazo de criotransferencias de receptoras de embriones procedentes de ovocitos de donantes frescos y vitrificados (**Tabla IV**)

CONCLUSIONES:

Con las técnicas de criopreservación actuales hemos conseguido preservar el ovocito conservando sus características prácticamente intactas hasta su uso y esto nos supone poder mantener las tasas de éxito de embarazo, sea cual sea la procedencia de los ovocitos (frescos o vitrificados)

COMUNICACIONES PÓSTER

Tabla I

Recuento	embarazo		Total
	si	no	
ovocriote f	20	11	31
v	6	10	16
Total	26	21	47

Tabla II

Recuento	embarazo		Total
	si	no	
ovodon f	22	21	43
v	15	15	30
Total	37	36	73

Tabla III

Pruebas de chi-cuadrado					
	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,010 ^a	1	,922		
Corrección por continuidad ^b	,000	1	1,000		
Razón de verosimilitudes	,010	1	,922		
Estadístico exacto de Fisher				1,000	,556
N de casos válidos	73				

0 casillas (,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 14,79.

b. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

Tabla IV

Pruebas de chi-cuadrado					
	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	3,116a	1	,078		
Corrección por continuidad ^b	2,119	1	,145		
Razón de verosimilitudes	3,129	1	,077		
Estadístico exacto de Fisher				,122	,073
N de casos válidos	47				

a. 0 casillas (,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 7,15.

b. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

LA ORIENTACIÓN DE LOS PRONÚCLEOS EN RELACIÓN AL EJE LONGITUDINAL DE LOS CORPÚSCULOS POLARES Y SU IMPLICACIÓN CON LA CALIDAD EMBRIONARIA EN DÍA 3

B. González Soto, I. Molina González, E. Mancha Heredero, A. Muñoz Ledesma, A. Rodríguez Bujez, Y. Pascual Arévalo, M. García-Yuste González, A. Mazariegos Martínez

Hospital Universitario Río Hortega - Valladolid (Valladolid)

INTRODUCCIÓN:

La identificación del embrión con el mayor potencial de implantación es una de las misiones más desafiantes en el campo de la medicina reproductiva, y es un paso fundamental hacia la transferencia de un solo embrión. Uno de los parámetros evaluados durante la selección embrionaria se basa en el análisis de la morfología y la posición de los pronúcleos en relación con los corpúsculos polares. Se ha observado que los pronúcleos eventualmente giran dentro del citoplasma para posicionar su eje hacia el segundo cuerpo polar y lograr una orientación adecuada para la posterior división. Las alteraciones en cualquiera de estos eventos pueden causar anomalías en la división del embrión y conducir a una división desigual o fragmentación. En base a estas consideraciones, la morfología pronuclear se ha propuesto como un parámetro a tener en cuenta dada su correlación con el desarrollo embrionario y el potencial de implantación.

OBJETIVO:

Determinar si la orientación de los corpúsculos polares en relación al eje longitudinal de los pronúcleos en Día 1 tiene relación con la calidad embrionaria observada en Día 3, y por tanto una implicación en el potencial de implantación.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se evaluaron 56 embriones procedentes de ciclos de Fecundación *in vitro* con estimulación ovárica controlada en la Unidad de Reproducción del Hospital Río Hortega de Valladolid. Han sido incluidos ciclos realizados tanto con FIV convencional como con ICSI. El Día 1 se examinaron los cigotos pronucleares y se registró la orientación de los corpúsculos polares en relación al eje longitudinal de los pronúcleos: (α) en el eje longitudinal y (β) perpendicular al eje longitudinal. La calidad de los embriones se evaluó el Día 3 según los criterios de valoración morfológica de Asebir (3ª edición 2015).

RESULTADOS:

Los embriones de calidad óptima, tipo A procedieron de la orientación perpendicular en un 41,67% y en un 58,33% de la orientación longitudinal. Los embriones de calidad B provinieron de la orientación perpendicular en un 70% frente a un 30% de la orientación longitudinal. Los embriones de calidad C fueron obtenidos en un 62,5% de la orientación perpendicular en y en un 37,5% de la orientación longitudinal. En el caso de embriones de baja calidad, tipo D ambas orientaciones dieron lugar al mismo número de embriones.

CONCLUSIONES:

Encontramos una tendencia hacia un mayor número de embriones de calidades B y C en el caso de orientación perpendicular al eje de los pronúcleos. En el caso de la calidad D no se encontró ninguna diferencia entre ambos grupos.

¿INFLUYE EL NÚMERO DE OVOCITOS RECUPERADOS TRAS PUNCIÓN OVÁRICA EN LA CALIDAD EMBRIONARIA EN CULTIVO LARGO?

N. Ruiz Espinosa (1), I. Ochando Sánchez (1), J. Ten Morro (2), JA. Ortiz Salcedo (3), L. Luque Martínez (1), MA. López Rubio (1), R. Bernabe Pérez (2)

(1) Instituto Bernabéu - Albacete (Albacete), (2) Instituto Bernabéu - Alicante (Alicante), (3) Biotech - Alicante (Alicante)

INTRODUCCIÓN:

Existe una estrecha correlación entre el número de ovocitos recuperados durante la punción ovárica y los resultados finales de un ciclo de FIV.

OBJETIVO:

El objetivo de este estudio fue analizar si existe una asociación entre el número de ovocitos recuperados en ciclos con ovocitos propios en fresco y el porcentaje de embriones de buena calidad (A+B) y porcentaje de embriones útiles (embriones transferidos y/o vitrificados) después de un tratamiento de FIV/ICSI.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo entre 2015-2017, en el que se incluyen 372 ciclos FIV/ICSI con ovocitos en fresco de pacientes con una media de edad de 36.65 años. Se excluyeron del estudio ciclos realizados total o parcialmente con ovocitos vitrificados así como ciclos en los que no se realizó cultivo largo de embriones. Sólo se incluyeron aquellos ciclos en los que los ovocitos fueron inseminados o microinyectados con muestras seminales normozoospermicas.

El objetivo primario fue evaluar la calidad de los blastocistos y el número de embriones disponibles para transferir y/o vitrificar de clase A y/o B, según el número de ovocitos obtenidos. Secundariamente se analizaron los resultados clínicos correspondientes a tasa de beta-HCG positiva, tasa de implantación y tasa de aborto clínico y bioquímico.

Las comparaciones univariadas se realizaron utilizando la Chi-cuadrada de Pearsons para datos categóricos y la T-student para medidas continuas. Todos los análisis multivariados fueron ajustados según factores de confusión (edad materna y técnica de reproducción).

RESULTADOS:

La media de ovocitos recuperados en estos 372 ciclos fue de 10.67 y se observó que con menos de 10 ovocitos recuperados el porcentaje de embrión útil en nuestras pacientes fue del 55.04% mientras que con 10 o más ovocitos el porcentaje desciende al 46.39%.

Existe una correlación positiva entre el número de ovocitos obtenidos en la punción y el porcentaje de embriones de buena calidad (clase A+B). Por otro lado, se obtiene una correlación negativa con el porcentaje de embriones útiles (clase A+B+C) aunque no es estadísticamente significativo ($p=0.067$).

Por último, los resultados clínicos no se vieron afectados por el número de ovocitos recuperados.

CONCLUSIONES:

Parece existir una tendencia a que a mayor número de ovocitos recuperados menor es el porcentaje de embrión útil. Ante esta correlación negativa, sería aconsejable ajustar la dosis de gonadotropinas de las pacientes para evitar obtener un alto número de ovocitos. Sin embargo, más estudios prospectivos randomizados son necesarios.

ESTUDIO PRELIMINAR SOBRE LA INFLUENCIA DEL PATRÓN DE COLAPSO/EXPANSIÓN EN BLASTOCISTOS PRE-HATCHING

J. Sarquella Ventura (1), M. Hugas Mulà (1), M. Fernández Reig (1), L. Julià Andrés (1), M. Ferrer Guixeras (1), E. Pinart Nadal (2)

(1) GIROFIV. Clínica Girona - Girona (Girona), (2) Universitat de Girona - Girona (Girona)

INTRODUCCIÓN:

Existen controversias acerca del mecanismo de hatching; en la mayoría de mamíferos estudiados, incluida la especie humana, se ha descrito que antes de la eclosión tiene lugar en el blastocisto un proceso de colapso o contracción seguido de expansión del blastocele.

OBJETIVO:

El objetivo del presente estudio fue determinar la relación entre el origen de los ovocitos y la fragmentación del DNA espermático y el patrón de colapso/expansión de los blastocistos y los parámetros time-lapse en ciclos FIV/ICSI.

MATERIAL Y MÉTODO:

Este estudio incluye 118 embriones de 31 pacientes del programa de Fecundación *in vitro* de GIROFIV entre los años 2016 y 2018, a las que se realizó un estudio de fragmentación del DNA espermático mediante el método COMET. Los embriones se distribuyeron en dos grupos, 1) ovocitos propios (n=85) y 2) ovocitos de donante (n=33). Los embriones fueron incubados en un incubador time-lapse (Embryoscope) a 37°C, 5,5% CO₂ y 7,0% O₂ en medio LifeGlobal® hasta día +6. Las imágenes time-lapse se tomaron a intervalos de 20 min. Para el estudio de los patrones de colapso/expansión de los blastocistos se midió el área en μm^2 de los embriones mediante la función DrowEllipse del EmbryoViewer; las mediciones se llevaron a cabo al inicio y al final del proceso de colapso/expansión. Se establecieron tres patrones de colapso/expansión de los embriones: 1) no visible, 2) colapso/expansión tipo pulsátil con menos de un 40% de la reducción del volumen embrionario y 3) colapso/expansión brusco con más de un 40% de reducción del volumen. El análisis estadístico de los datos se realizó mediante una ANOVA multifactorial con una significación $p > 0.05$, y mediante un análisis de correlación con las variables time-lapse t2, t4, t8 y tiempo de mórula (tM).

RESULTADOS:

El patrón de colapso/expansión de los blastocistos difirió significativamente entre aquellos obtenidos a partir de ovocitos propios y a partir de ovocitos de donante ($p < 0.05$). En el grupo de ovocitos propios, los blastocistos mostraron un patrón de colapso/expansión tipo 2 (pulsátil), que no se vio afectado de forma significativa por la fragmentación del DNA espermático ($p > 0.05$). En el grupo ovocitos de donante, el patrón de colapso/expansión de los blastocistos difirió en función del grado de fragmentación del DNA ($p < 0.05$); así pues, cuando la fragmentación fue inferior o igual al 60%, un 85% de los blastocistos mostraron un patrón de colapso/expansión tipo 1 (no visible), mientras que cuando la fragmentación fue igual o superior al 61% el 47% y el 36% de los blastocistos presentaron un patrón de colapso/expansión tipo 1 (no visible) y tipo 2 (pulsátil), respectivamente. El origen de los ovocitos se correlacionó positivamente con los parámetros t2, t4, t8 y tM ($p < 0.05$), mientras que el patrón de colapso/expansión se correlacionó sólo con t2 ($p < 0.05$) y la fragmentación del DNA con tM ($p < 0.05$).

CONCLUSIONES:

El origen de los ovocitos no solo afecta la cinética embrionaria preimplantacional, como ya ha sido previamente demostrado, sino también el patrón de colapso/expansión de los blastocistos. El efecto de fragmentación del DNA espermático sobre el patrón de colapso/expansión difiere en función del origen de los ovocitos, aunque es necesario ampliar el estudio para determinar el grado de relación entre ambos.

¿PUEDE EL PROCESO DE ESTIMULACIÓN OVÁRICA MODIFICAR EL RIESGO DE ANEUPLOIDÍAS Y MOSAICISMO EN LOS EMBRIONES?

A. Cascales Hernández, JA. Ortiz Salcedo, R. Morales Sabater, F. Lozano García, B. Lledó Bosch, J. Ten Morro, J. Llácer Aparicio, R. Bernabéu Pérez
Instituto Bernabéu - Alicante (Alicante)

INTRODUCCIÓN:

Las anomalías cromosómicas en los embriones son una de las principales causas de fracaso reproductivo, ya que son responsables de la detención del desarrollo embrionario, así como del fallo de implantación y los abortos de repetición. Diferentes estudios han demostrado que la edad materna avanzada es el factor determinante en la aparición de estas alteraciones genéticas en el embrión. Sin embargo, su incidencia también es elevada en pacientes jóvenes que participan en ciclos de FIV, surgiendo así la idea de que el proceso de estimulación ovárica pueda tener relación con la aparición de estas cromosomopatías embrionarias.

OBJETIVO:

El objetivo principal del proyecto ha sido evaluar la relación existente entre el proceso de estimulación ovárica seguido en los ciclos de FIV y la incidencia de aneuploidías y mosaicismo en los embriones.

MATERIAL Y MÉTODO:

Para conseguir nuestro objetivo, se llevó a cabo un estudio retrospectivo. Fueron incluidos 835 blastocistos biopsiados en día 5 ó 6 procedentes de 280 parejas en tratamiento reproductivo con PGT-A en nuestra clínica de fertilidad entre marzo de 2013 y febrero de 2018. En el estudio, únicamente fueron incluidas pacientes menores de 38 años que participaron en ciclos de FIV con ovocito propio. Además, ambos miembros de la pareja presentaban un cariotipo normal y en el caso del varón, tanto el FISH como el test de fragmentación de DNA espermático no estaban alterados.

El análisis genético se realizó por NGS usando la plataforma Veriseq® (Illumina). La asociación entre los diferentes parámetros de la estimulación ovárica con la incidencia de aneuploidías y mosaicismo embrionario se evaluó mediante regresión logística binaria y chi-cuadrado (SPSSv20.0). La edad materna, la calidad del embrión y el día de biopsia se introdujeron como variables de confusión.

RESULTADOS:

La duración media de la estimulación ovárica fue de $9,40 \pm 1,78$ días y la dosis promedio de gonadotropinas administrada fue de $2467,04 \pm 850,02$ UI. El protocolo de estimulación ovárica más utilizado fue el protocolo de antagonistas (71,8%). El tipo de gonadotropina más utilizado durante la estimulación fue la combinación de las urinarias y recombinantes (66,4%), seguida de las urinarias (13,2%). La maduración de los ovocitos se indujo con la administración de hCG recombinante (50,2%), con agonistas de GnRH (33,6%) o mediante la combinación de agonistas de GnRH y hCG (16,2%).

La incidencia de aneuploidías embrionarias no mostró asociación con el tipo de gonadotropina (urinaria: 46,8%, recombinante: 38,0% y urinario+ recombinante: 40,1%; $p = 0,862$), dosis total de gonadotropina administrada ($p = 0,155$), tipo de protocolo de estimulación (largo: 36,4%, corto: 45,0%; antagonista: 42,3%; $p = 0,364$) y el desencadenante de la maduración ovocitaria (hCG: 39,6%, GnRH: 41,0% y GnRH + hCG: 42,6%; $p = 0,269$). La única variable que mostró asociación con la tasa de aneuploidías embrionarias fue la duración del proceso de estimulación ovárica. Los pacientes que requieren más días de estimulación tienen una menor tasa de embriones aneuploides ($p = 0,018$).

Por otro lado, en el caso del mosaicismo embrionario, no se encontró relación estadísticamente significativa con ninguna de las variables estudiadas del protocolo de estimulación.

CONCLUSIONES:

Con nuestros resultados podemos concluir que las pacientes que requieren de más días de estimulación ovárica para lograr una recuperación óptima de ovocitos presentan una menor tasa de embriones aneuploides. El conocimiento de esta información puede ser de gran utilidad para ayudar a disminuir la incidencia de aneuploidías embrionarias y con ello reducir el número de ciclos de FIV que fracasan por esta causa.

M. de las Heras Martínez, O. Gómez Picado, E. Martínez Sanz, G. Barrenetxea Ziarrusta

Reproduccion Bilbao - Bilbao (Vizcaya)

INTRODUCCIÓN:

A pesar de que los embriones humanos pueden mantenerse "in vitro" hasta el día 14 de desarrollo, generalmente inician la implantación el día 8 (d8), por lo que aparentemente, el día 7 (d7) sería el último que podrían permanecer en las condiciones estáticas de cultivo de los laboratorios FIV. Sin embargo, la práctica habitual es el cultivo embrionario como máximo hasta d6. La bibliografía muestra que los blastocistos de d7 poseen menor viabilidad con respecto a los de día 5 (d5) y día 6 (d6), pero que son capaces de implantar dando lugar a niños sanos en casa. Esta menor capacidad de implantación podría deberse a una menor calidad trofocodérmica por un desarrollo más lento o a una degeneración de las células del trofocodermo por un cultivo demasiado largo. Por otro lado, la capacidad de los embriones de formar blastos de buena calidad no garantiza que éstos presenten una dotación cromosómica normal, pudiendo no implantar o dar lugar a abortos. El screening genético preimplantacional PGT-A) en estadio de blastocisto junto con un buen programa de vitrificación ha demostrado mejorar las tasas de niño vivo en casa, permitido así la transferencia de un único embrión (eSET) con una alta tasa de éxito.

OBJETIVO:

Presentar el caso de una paciente que se ha realizado PGT-A con transfer diferido en estadio de blastocisto cuyo único embrión diagnosticado como euploide ha sido un blastocisto de d7, transferido y que ha dado lugar al nacimiento de una niña sana.

MATERIAL Y MÉTODO:

Antecedentes de la paciente

Paciente de 39 años con esterilidad primaria y fallos de FIV previos al tratamiento en nuestra clínica. Anteriormente se había realizado 5 ciclos de ICSI con un total de 9 embriones transferidos en D3 que resultaron en 3 betas negativas, un aborto bioquímico y dos abortos diferidos.

Ciclo en nuestra clínica

Teniendo en cuenta los antecedentes de la paciente se propone realizar un ciclo de PGT-A en estadio de blastocisto con transferencia diferida.

Se obtienen 8 ovocitos maduros en la punción, se microinyectan y se fecundan todos correctamente. El cultivo de los embriones se realiza en el Embryoscope +®, un incubador trígase (5%O₂, 6%CO₂) con tecnología time-lapse que permite mantener las condiciones de cultivo estables. Disponemos de dos embriones biopsiables en d6, uno de ellos es un blastocisto iniciando hatching (BHi) de calidad B según criterios ASEBIR y el otro un blastocisto expandido (BE) de calidad C. En d6 hay un tercer embrión en estadio blastocisto temprano (BT) que se deja a cultivo hasta d7 y es biopsiado en D7. La biopsia en todos los casos se lleva a cabo con láser y la vitrificación de los embriones con medios Kitazato® en cryotop. La determinación de la euploidia se lleva a cabo mediante "next generation sequencing" (NGS) (Illumina®).

RESULTADOS:

De los tres embriones biopsiados, el único diagnosticado como euploide y transferible es el embrión de calidad C de d7, los otros dos resultan aneuploides.

Se transfiere el embrión euploide dando lugar a embarazo y niña sana en casa.

CONCLUSIONES:

El cultivo de blastocisto hasta d7 de desarrollo embrionario ha permitido obtener un embrión euploide y viable que hubiera sido descartado. Cuando el laboratorio dispone de unas buenas condiciones de cultivo y un buen programa de biopsia y vitrificación en estadio de blastocisto, este día extra de cultivo en pacientes seleccionadas les ofrece una oportunidad adicional para el desarrollo embrionario "in vitro" y la obtención de un niño vivo en casa.

En cualquier caso, la llegada de un embrión al estadio de blastocisto no garantiza la euploidía de este, por lo que debería proponerse la biopsia embrionaria de los blastocistos a transferir.

EFFECTIVIDAD DE LAS TÉCNICAS DE SELECCIÓN ESPERMÁTICA EN PACIENTES CON FRAGMENTACIÓN DEL ADN ESPERMÁTICO ALTERADA

M. Ballester Ferrer, S. García Monclús, S. García Martínez, M. Boada Palà, A. Vives Suñe, B. Coroleu Lletget, A. Veiga Lluçh
Dexeus Mujer - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

Existe una asociación inversa entre la fragmentación del ADN espermático y la calidad seminal, la tasa de fecundación, la calidad embrionaria y la tasa de embarazo pudiendo afectar ésta tanto a la tasa de embarazo natural como al éxito de las técnicas de reproducción asistida (TRA). En los últimos años, se están desarrollando nuevos métodos de selección espermática que permiten seleccionar los mejores espermatozoides no sólo en relación a la movilidad y morfología sino también por otras características espermáticas. La técnica MACS® (Magnetic-activated cell sorting) se basa en la eliminación de los espermatozoides apoptóticos que han externalizado la fosfatidilserina mediante columnas de annexina V, mientras que el chip FERTILE®, se basa en un sistema de microfluidos que mimetizan el ambiente que encuentra el espermatozoide en el tracto genital femenino, para realizar una aproximación más fisiológica.

OBJETIVO:

Valorar el uso de espermatozoides seleccionados con gradientes de densidad (GD), MACS® o chip FERTILE® en pacientes con fragmentación del ADN espermático alterada en ciclos de FIV/ICSI.

MATERIAL Y MÉTODO:

Estudio retrospectivo observacional de 137 ciclos de FIV/ICSI con ovocitos propios o donados realizados entre junio de 2017 y marzo 2019 en nuestro centro. El criterio de inclusión en el estudio fue pacientes con fragmentación del ADN espermático alterada. Se usó indistintamente la técnica de GD, MACS® o chip FERTILE® para la selección espermática. En el grupo GD, la fracción final de espermatozoides post capacitación fue la utilizada para el ICSI. En el grupo MACS®, la fracción post capacitación fue procesada mediante MACS® y la fracción no apoptótica fue la utilizada para el ICSI. Finalmente, en el grupo chip FERTILE®, los espermatozoides recuperados de los puertos de salida del dispositivo fueron los usados para el ICSI.

Se consideró embarazo clínico la presencia de un embrión con latido cardíaco por ecografía. Las características demográficas de los pacientes se compararon mediante la prueba ANOVA. El porcentaje y los intervalos de confianza al 95% se utilizaron para calcular las tasas de fecundación y embriones evolutivos. La proporción de ciclos sin embriones evolutivos y las tasas de embarazo se compararon mediante el Test Chi-cuadrado.

RESULTADOS:

De los 137 ciclos de FIV/ICSI con fragmentación del ADN espermático alterada, 38 fueron procesados mediante GD, 25 con MACS® y 74 con chip FERTILE®. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre grupos en cuanto a la edad media de la mujer (38.05 ± 4.03 ; 39.24 ± 4.89 ; 38.77 ± 3.87), índice de masa corporal de la mujer (21.76 ± 4.98 ; 22.96 ± 4.65 ; 22.39 ± 3.53), hormona antimulleriana (2.60 ± 2.54 ; 1.50 ± 1.10 ; 3.05 ± 3.33), recuento de folículos antrales (13.30 ± 7.49 ; 12.67 ± 10.01 ; 14.20 ± 9.64) ni edad del varón (39.66 ± 4.25 ; 41.16 ± 7.01 ; 40.35 ± 5.37).

Las tasas de fecundación de los grupos GD, MACS® y chip FERTILE® fueron 70.5 %, 68.3 % y 63.3% y las tasas de embriones evolutivos fueron 49.8 %, 60.5 % y 53.0 % respectivamente sin diferencias significativas entre grupos. Además se calculó el porcentaje de ciclos sin embriones evolutivos que fue un 13.2% en el grupo de GD, 4.0% en el grupo de MACS® y 13.5% en el grupo de chip FERTILE® sin diferencias estadísticamente significativas (p-valor 0.417). En cuanto a las tasas de embarazo clínico por ciclo iniciado tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas siendo 44.7 %, 56.0 % y 44.6 % respectivamente (p-valor 0.589).

CONCLUSIONES:

En este estudio no se han observado diferencias significativas en los resultados clínicos entre muestras procesadas mediante GD, MACS® o Chip FERTILE® en pacientes con la fragmentación del ADN espermático alterada. Sin embargo, teniendo en cuenta la limitación de los estudios retrospectivos consideramos necesario realizar estudios prospectivos aleatorizados que confirmen estos resultados.

VALIDACION CLÍNICA DE UN MÉTODO PARA PGT-M BASADO NGS CON UN NIÑO NACIDO

LA. Alcaraz Mas (1), P. Brígido Llinares (1), S. González Reig (1), C. Pérez Pelegrín (1), H. Blanca Ordóñez (1), R. Mendoza Tesarik (2), M. Galán Lázaro (2).

(1) Bioarray - Elche (Alicante), (2) Clínica MARGEN - Granada (Granada)

INTRODUCCIÓN:

El diagnóstico genético preimplantacional para la detección de enfermedades monogénicas (PTG-M) está destinado a la selección de embriones no afectados por una determinada patología, para la cual alguno de los progenitores es portador.

Más de 250 mutaciones han sido identificadas en el gen PKD1 como causantes de poliquistosis renal autosómica dominante, cuyas manifestaciones clínicas principales son cistitis renal y hepática y aneurisma intracraneal. Es la enfermedad renal hereditaria más frecuente, con una prevalencia estimada de entre 1:400 y 1:1000 nacidos y no restringida a una etnia exclusivamente.

Recientemente, hemos desarrollado una nueva estrategia para PGT-M, PGD-Seq. Esta es una novedosa herramienta, basada en técnicas de secuenciación masiva, aplicable a estudios genéticos de cualquier familia o etnia. Este nuevo protocolo es capaz de analizar enfermedades monogénicas, reajustes cromosómicos – equilibrados o no – y, a la vez, realizar el estudio de aneuploidías (PGT-A) con una única biopsia y en menos de 12 horas, permitiendo la transferencia en fresco en casos de biopsia en D+3

OBJETIVO:

Validar clínicamente el método desarrollado, comparando los resultados obtenidos durante el PGT-A+M con los obtenidos en una muestra del niño una vez nacido. Se comparará el genotipo esperado y el obtenido finalmente, pudiendo determinar la precisión de la técnica.

MATERIAL Y MÉTODO:

Pareja en la que la paciente de sexo femenino es portadora de una mutación PKD1 que realizan ciclo de IVF y combinando PGT-A con PGT-M, con biopsia en D+3 y transferencia en D+5. Previamente, se diseñó un panel de SNPs para la región del gen a estudiar, bajo un complejo algoritmo que selecciona SNPs potencialmente informativos para cualquier pareja de

cualquier etnia, seleccionado alrededor de 300 polimorfismos, que se aplican PCR multiplex (Ampliseq). Para el estudio de informatividad previo, se contó sólo con ADN de la madre de la paciente, también portadora de la mutación.

Un total de 9 embriones fueron biopsiados y analizados, combinando PGT-A (Rerposeq) y PGT-M (PGD-Seq). Ambas librerías se juntaron y secuenciaron en una única carrera en el secuenciador Ion S5. Los resultados se analizaron con Ion Reporter (PGT-A) y un software específicamente desarrollado para PGD-Seq (PGT-M).

Finalmente, un embrión euploide y sin la mutación fue transferido, con el resultado de un niño nacido. Se obtuvo una muestra de mucosa bucal de este niño, para verificar los resultados del PGT-M, para lo cual se reamplificaron los mismos polimorfismos y se compararon los resultados.

RESULTADOS:

El resultado del PGT-A+M mostró que tan sólo uno de los embriones resultó euploide y no portador de la mutación. De todos los polimorfismos analizados, 24 de ellos resultaron informativos en el embrión seleccionado para la transferencia. Es un número bastante alto, teniendo en cuenta las limitaciones del estudio de informatividad (sólo uno de los familiares estaba disponible para estudio). El ratio de ADO fue entorno al 10%. La concordancia entre el genotipo del niño y el genotipo del embrión fue superior al 90%. No se detectaron discrepancias salvo en los casos donde hubo ADO.

CONCLUSIONES:

Se ha demostrado clínicamente, mediante el estudio de un niño nacido, la posibilidad de combinar PGT-A con PGT-M, con una técnica basada en NGS, capaz de dar resultados en 12 horas, permitiendo así la biopsia en D+3 y transferencia en D+5. El protocolo aquí desarrollado simplifica enormemente el trabajo en un laboratorio de PGT, permitiendo que todo el trabajo se realice en una única plataforma, manejada por un único operador y con posibilidades de automatización.

TRANSPORT OF SIBLING DONOR OOCYTES IN FOLLICULAR FLUID VS ARTIFICIAL BUFFERED MEDIA

E. Rocafort Curià (1), P. Sanz (1), G. Millet (1), R. Noblom (1), A. Busquets (1), I. Saumell (2), MJ. Torelló (1), M. Moragas (1)

(1) Quironsalud - Barcelona (Barcelona), (2) Embryogin - Tarragona (Tarragona)

INTRODUCCIÓN:

Current protocols in the IVF lab require the immediate removal and washing of oocytes from follicular fluid after oocyte retrieval. Some groups have shown that this protocol may cause abrupt changes in the environment of the oocyte being one of the critical parameters the pH of fluids surrounding the oocyte. In fact, it is well known that oocytes are the most fragile stage to cope pH, osmolality and temperature changes, so by transporting them for a prolonged time in buffered media can compromise their viability. Moreover, although artificial media try to mimic nature, the difficulty of measuring the in vivo pH makes it still a remaining question.

Previous studies have shown that follicular fluid has many advantageous properties compared to the artificial media such as many physiological proteins, being a stronger buffer for free radicals, to maintain a more accurate pH among others. Furthermore, there are groups demonstrating that the preincubation of oocytes in follicular fluid can increase fertilization rate, pregnancy rate, and even implantation rate with this modified protocol.

OBJECTIVES:

Our study goal was to examine embryological and clinical effects of transporting sibling donor oocytes in an artificial buffered media compared to a more physiological media such as the follicular fluid of the dominant follicle.

MATERIAL AND METHODS:

From December 2018 to April 2019, ovum pick up was performed in an external collaborator center where oocytes were distributed randomly into the two study groups (artificial buffered media vs. follicular fluid of the dominant follicle). Oocytes were transported within a period of 1h-1:30h between centers. Once they arrived to our lab, temperature was controlled and both tubes were washed and cultured in the

same type of culture media separately and denuded within a period of 30 min-1h. All lab procedures were performed equally between both groups: Culture conditions, media and dish type. Best quality embryo was selected for transfer by ASEBIR criteria independently from the group.

RESULTS:

A total of 251 oocytes were included in the study: 123 transported in a follicular fluid tube and 128 in an artificial buffered media tube. Our data does not show significant differences when comparing maturation (82,9% vs. 90,6% respectively) or fertilization rates (82,4% vs. 84,5%). However, we could find differences ($p < 0.05$) in terms of good quality rate on Day 3 in favor of the follicular fluid group, being 51,2% of the embryos graded as A or B quality compared to 35,7% of the embryos coming from the artificial buffered media. Also, we could observe a greater tendency rate for the follicular fluid group also in terms of utility rate (64,3% compared to 53,1%) and blastocyst rate (72,7% (40/55) vs. 63,3% (31/49)), although without statistical significance. Finally, we could not find significant differences in terms of clinical pregnancy rates (47% (7/15) vs. 50% (8/16)).

CONCLUSIONS:

To use follicular fluid as culture media has been shown to be beneficial for many aspects. Our study shows that by transporting oocytes for a relatively long period (1h aprox.) in this media does not affect maturation and fertilization rates. In fact, has benefits in terms of better Day 3 embryo quality and helps to achieve higher utilization and blastocyst rate. Larger studies are needed in order to confirm these results and see if may have an impact on cumulative pregnancy rates.

FISH COMO TÉCNICA DE ELECCIÓN EN CASOS DE REORGANIZACIONES COMPLEJAS DE DUDOSA RESOLUCIÓN MEDIANTE NGS

E. García Guixé (1), E. Toro Toro (1), D. Campos Rodero (1), M. Sánchez Castro (1), O. Martínez Pasarell (2), A. Polo Ramos (2), C. Giménez Sevilla (1), M. Sandalinas Alabert (1)

(1) Reprogenetics Spain - Barcelona (Barcelona), (2) Fundació Puigvert - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

El test genético preimplantacional (PGT) permite en casos de parejas con alteraciones cromosómicas estructurales o enfermedades genéticas la selección de embriones libres de desequilibrios cromosómicos o de la enfermedad. En algunos casos las parejas son portadoras de una combinación de alteraciones. En otros, además, se pueden presentar con reorganizaciones complejas que requieren de un enfoque diferente al estándar.

Presentamos un caso de una pareja que solicita PGT por ser ella portadora de la variante patológica c.1311C>T (p.R317X) en el gen PAX6 (MIM*607108) causante de aniridia (MIM#106210), heredada vía materna, y él portador de cariotipo con reorganización cromosómica compleja 46,XY,t(4;7)(p13;p12),der(7)t(4;7)inv(7)(p16q22). Edad materna de 40 años.

La técnica de elección en casos de PGT para anomalías cromosómicas estructurales (PGT-SR) es la NGS. En este caso, debido a que los puntos de corte descritos en el cariotipo no permiten caracterizar de forma precisa el tamaño de los segmentos translocados/invertidos, no es evidente la aplicación directa de la NGS para la detección de embriones con una segregación anómala. Se diseñó una estrategia secuencial: FISH para detectar embriones portadores de desequilibrios/recombinantes, seguida de genotipado de SNPs para el diagnóstico de la enfermedad genética y NGS para descartar aneuploidías.

OBJETIVO:

Describir la estrategia de PGT desarrollada para esta pareja y los resultados obtenidos en un primer ciclo de FIV-PGT-M/SR.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se realizó un estudio de informatividad en linfocitos cultivados de sangre periférica del varón para comprobar que la estrategia de sondas diseñada caracteriza adecuadamente la reorganización cromosómica. También se realiza un estudio pre-test mediante genotipado de SNPs con muestras de sangre de la pareja y de los padres de la mujer, para determinar el cromosoma materno a riesgo de transmitir la variante patológica causante de aniridia.

Se realizó ciclo de FIV-ICSI con biopsia de embriones en día+3 y fijación de los blastómeros por el método de Tarkowski modificado para la aplicación de sondas de FISH. Los embriones biopsiados siguieron en cultivo hasta día+5, cuando se realizó biopsia de trofotodermo y criopreservación de los embriones. Se llevó a cabo una amplificación del genoma mediante desplazamiento múltiple (MDA) a partir de la cual se aplica el genotipado de SNPs (Human Karyomap, Illumina) y la NGS (VeriSeq Illumina).

RESULTADOS:

Tras la estimulación, se obtuvieron 13 ovocitos MII de los cuales 9 fecundaron correctamente. Nueve embriones fueron aptos para biopsia en día+3 y se aplicó la técnica de FISH. Cinco embriones resultaron desequilibrados para la reorganización cromosómica.

Uno de los embriones con resultado normal tras FISH alcanzó el estadio de blastocisto en día+5 y se re-biópsió. El resto de embriones no evolutivos fueron intubados para re-análisis.

Tras MDA y genotipado de SNPs, el embrión resultó ser no portador del cromosoma materno asociado al haplotipo de riesgo de aniridia. Tampoco se detectaron anomalías cromosómicas numéricas mediante NGS. Se llevó a cabo ciclo de criotransferencia del embrión, con resultado de beta negativa.

El re-análisis mediante NGS de los embriones desequilibrados permitió definir los puntos de corte de la reorganización cromosómica compleja en el varón. Fue posible detectar embriones desequilibrados por la translocación y recombinantes para la inversión, por lo que en caso que la pareja necesite un nuevo ciclo de FIV-ICSI-PGT solo se realizará biopsia de blastocisto y análisis mediante genotipado de SNPs y NGS.

CONCLUSIONES:

La estrategia empleada en este caso de PGT-M/SR permitió detectar los embriones desequilibrados para la reorganización cromosómica compleja del varón y los portadores del cromosoma a riesgo de transmitir la enfermedad monogénica materna. Con el re-análisis de los embriones diagnosticados como desequilibrados y los no evolutivos ha sido posible re-valorar la estrategia del PGT de cara a posibles futuros ciclos.

EFECTO EN LAS ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS NUMÉRICAS DE LOS ESPERMATOZOIDES SEGÚN LA EDAD DEL VARÓN

J. Íñiguez Tornero (1), M. Masip Descals (1), A. Aragonés Esteve (2), M. Poveda García (2), Y. Pallás Gálvez (2), JM. Moreno García (2), JJ. López Gálvez (2)

(1) UR IMED Valencia - Valencia (Valencia), (2) UR Vistahermosa - Alicante (Alicante)

INTRODUCCIÓN:

El estudio de las aneuploidías espermáticas mediante hibridación *in situ* fluorescente (FISH), se ha revelado como una prueba de especial relevancia para la valoración del factor masculino en infertilidad.

Tradicionalmente se ha asociado el incremento en las aneuploidías embrionarias con el incremento de la edad materna, siendo mayor esta correlación a partir de los 35 años. Por el contrario, aunque la edad paterna se haya podido relacionar con posibles problemas de fertilidad, o con patologías como el autismo, la esquizofrenia e incluso con el Síndrome de Down, los estudios que evalúan esta condición en relación a la frecuencia de aneuploidías en los espermatozoides, presentan resultados controvertidos.

OBJETIVO:

El objetivo de este estudio es intentar determinar si la edad paterna puede ser un factor de riesgo en el incremento de las aneuploidías espermáticas.

MATERIAL Y MÉTODO:

Retrospectivamente, se evaluaron los resultados de FISH de espermatozoides en 82 pacientes comprendidos entre los 29 y los 65 años. Los pacientes fueron divididos en dos grupos tomando como referencia para su establecimiento la edad límite establecida por ley para donantes de semen: Grupo A pacientes ≤ 35 años, Grupo B >35 años.

La técnica FISH en espermatozoides evalúa un total de 5 sondas dirigidas a la región específica de los cromosomas 13, 18, 21, X e Y. Datos controles propios: total disomías cromosomas sexuales (XY): 0,31%; disomías 13: 0,05%; disomías 18: 0,07%; disomías 21: 0,08%; diploidías: 0,21%

Las muestras obtenidas por masturbación, fueron trasladadas en un tubo cónico con un volumen mínimo de 0,5 ml. a

Tª ambiente, mediante mensajería urgente, al laboratorio de genética de referencia. Para cada muestra, se analizaron un mínimo de 5000 espermatozoides.

Los datos fueron analizados utilizando el paquete IBM SPSS Statistics 25.0, aplicando la prueba de Mann-Whitney, siendo considerado estadísticamente significativo un p-valor inferior a 0,05.

RESULTADOS:

Tras analizar los resultados, se extrajo que, de los 82 pacientes analizados, el 62,2% presentaron un resultado dentro del considerado normal para los cromosomas estudiados, mientras que en el 37,8% restante la muestra estaba por encima del rango considerado normal.

En el grupo A (n= 7), el porcentaje de pacientes con alteraciones fue del 46,7%, frente al 35,8 % en el Grupo B (n=24). Tal y como se muestra en la TABLA I.

No se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos (p-valor = 0,436). TABLA II.

CONCLUSIONES:

Según los resultados obtenidos a partir de las muestras seminales analizadas, no se ha podido establecer relación causal entre la edad paterna y variación cromosómica numérica en los espermatozoides, no pudiendo considerar la edad como factor de riesgo para el incremento en las aneuploidías seminales.

Se debería seguir profundizando en el estudio del varón puesto que el retraso en la consecución del embarazo en la sociedad actual, no sólo se ve reflejado en la mujer, si no que cada vez más, también en el varón. Y, por tanto, este hecho podría tener repercusiones negativas asociadas a la edad y de relevancia en la salud del recién nacido como se postula en algunos artículos.

COMUNICACIONES PÓSTER

ESTADÍSTICOS		
FISH		
N	VÁLIDO	82
	PERDIDOS	0

Tabla I. Resultados globales para el FISH de espermatozoides

FISH					
		FRECUENCIA	PORCENTAJE	PORCENTAJE VÁLIDO	PORCENTAJE ACUMULADO
VÁLIDO	NORMAL	51	62,2	62,2	62,2
	ALTERADO	31	37,8	37,8	100,0
	TOTAL	82	100,0	100,0	

Tabla II. Resultados del test U de Mann Whitney.

PRUEBAS NO PARAMÉTRICAS				
Resumen de prueba de hipótesis				
HIPÓTESIS NULA		PRUEBA	SIG.	DECISIÓN
1	La distribución de Rango de edad es la misma entre las categorías de FISH	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	,436	Retener la hipótesis nula

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de ,05.

INFLUENCIA DEL GRADO DE FRAGMENTACIÓN ESPERMÁTICA SOBRE EL METABOLISMO OPIOIDÉRGICO

MV. Aparicio Prieto (1), MV. Rodríguez Gallego (2), J. Hernández Hernández (2), A. Expósito Navarro (1), R. Mendoza Hourtouat (1), L. Casis Sáenz (3)

(1) Hospital Universitario Cruces, Cruces-Baracaldo - Barakaldo (Bizkaia), (2) Hospital San Pedro - Logroño (La Rioja), (3) Euskal Herriko Unibertsitatea - Leioa (Bizkaia).

INTRODUCCIÓN:

La fragmentación del ADN se ha convertido en la última década en un importante marcador de la calidad del espermatozoide en función de su posible relación con diversos parámetros críticos tanto *in vivo* como en reproducción asistida, incluido el desarrollo del cigoto-embrión y la calidad, la implantación, el aborto y la salud del recién nacido. A lo largo de los últimos años se ha venido describiendo el importante papel que desempeñan los péptidos opioides endógenos en la reproducción. Por ello, un aspecto interesante para proporcionar información adicional acerca de la calidad seminal sería comparar si la fragmentación del ADN espermático estaría relacionada con posibles alteraciones en el metabolismo opioidérgico, tanto en el propio espermatozoide como a nivel del líquido seminal que lo cobija.

OBJETIVO:

Determinar si la fragmentación del DNA espermático está relacionada con el metabolismo opioidérgico.

MATERIAL Y MÉTODO:

El número total de pacientes incluidos en este estudio fue de 16, distribuidos en dos grupos: normales (n) y patológicos (p) (daño del DNA superior al 25%) (consentimiento informado, comités de ética). Para determinar el grado de fragmentación espermática empleamos el test SCD y para separar las células apoptóticas utilizamos columnas de anexinas. Cinco enzimas reguladoras de la actividad encefalinérgica fueron ensayadas (en espermatozoide y líquido seminal) por fluorimetría: Endopeptidasa Neutra (NEP), Aminopeptidasa (AP) Neutra (APN/CD13), AP Sensible a Puomicina (PSA), AP Básica (APB) y AP Ácida (APA). La APN/CD13, la NEP, así como los receptores de opioides delta, mu y kappa en las muestras espermáticas fueron determinados semicuantitativa y cuantitativamente por citometría de flujo. La determinación de receptores también se realizó inmunocitoquímicamente y la determinación de proteínas la llevamos a cabo por inmunofluorescencia.

RESULTADOS:

No apreciamos diferencias enzimáticas al comparar ambos grupos en líquido seminal, lo cual no debería ser sorprendente, ya que el líquido seminal que cobija a los gametos no tendría por qué verse afectado por la presencia de espermatozoides con fragmentación. A nivel espermático, no observamos diferencias significativas al ensayar los enzimas por fluorimetría, pero sí al estudiarlas por citometría: tanto la APN/CD13 como la NEP muestran diferencias en la intensidad del marcaje (APN: 70% n vs. 30% p; NEP: 2,5% n vs 35,6% p) (Fig. 1). Al estudiar los receptores inmunohistoquímicamente, no se aprecian diferencias de localización en las diferentes porciones del espermatozoide entre ambos grupos Fig. 2). Tampoco se aprecian diferencias en el porcentaje de gametos que expresan los receptores (mu: 97,7% n vs 94,3% n; delta: 87,8% n vs al 92% p; kappa: 94% n vs 90,7% p), pero sí en la intensidad del marcaje, siendo en todos los casos significativamente inferior en gametos fragmentados (Fig. 3).

CONCLUSIONES:

Independientemente del posible valor como marcador de la técnica de citometría de flujo para predecir la integridad del ADN del espermatozoide, parece claro que la fragmentación en el mismo produce cambios en la intensidad del marcaje. Ello podría conllevar una menor capacidad de respuesta a los péptidos opioides implicados en la regulación de la movilidad/reacción acrosómica.

COMUNICACIONES PÓSTER

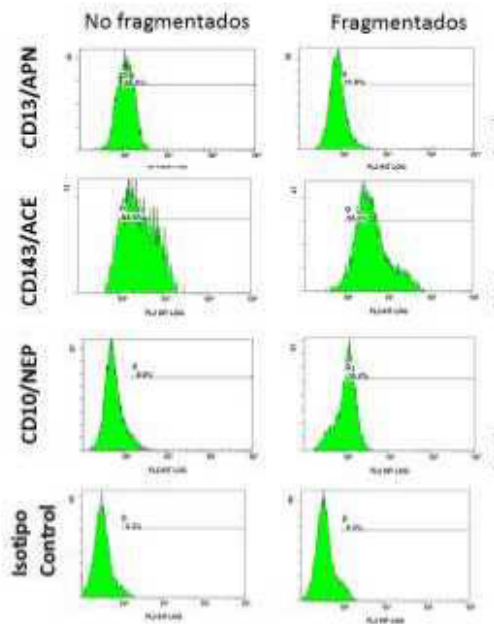


Fig. 1.- Enzimas CD13, CD143 y CD10 por citometría de flujo

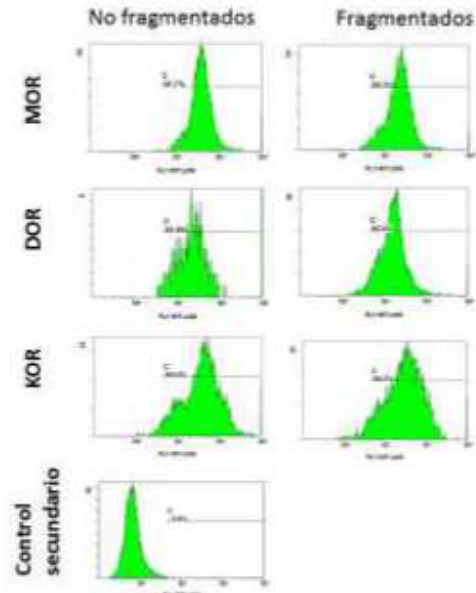


Fig. 3.- Porcentajes e intensidades de los receptores opioides MOR (μ), DOR (d) y KOR (K) en espermatozoides tanto fragmentados como no fragmentados que expresan estos receptores por citometría de flujo.

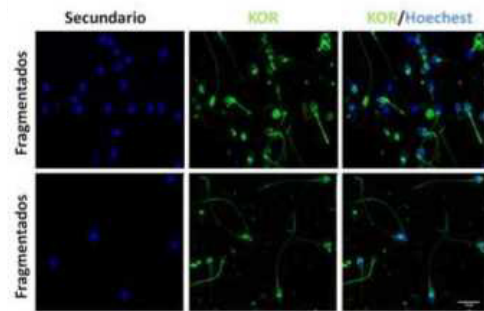
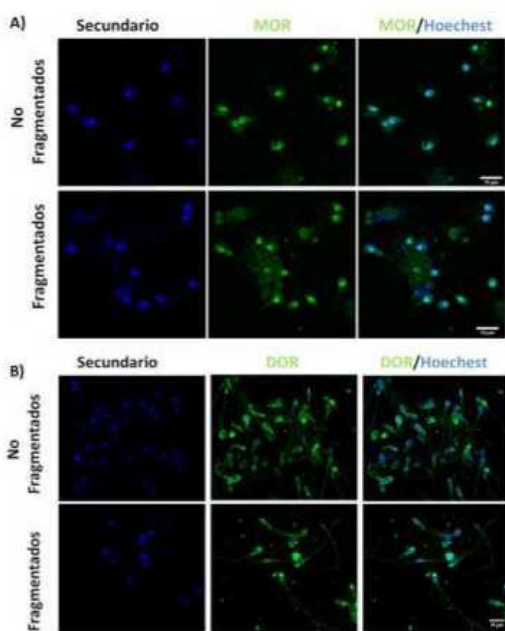


Fig. 2.- MOR (A), DOR (B) y KOR. Inmunocitoquímica

SISTEMA DE VITRIFICACIÓN SEMI-CERRADO: ESTUDIO DE VIABILIDAD Y SEGURIDAD

J. Gómez Blanco, M. López Morató, N. Hernández Rollán, S. Sánchez Mateos, J. Mijares Gordún, B. Pagador Carrasco, FM. Sánchez Margallo

Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón - Cáceres (Cáceres)

INTRODUCCIÓN:

La vitrificación (congelación de material biológico mediante inmersión en Nitrógeno Líquido (NL)) es una de las técnicas de preservación de muestras biológicas en Reproducción Asistida. Existen dos métodos de vitrificación, abierto y cerrado, según si el material biológico se pone en contacto directo con el NL (abierto) o no (cerrado). Cada uno de los métodos tiene sus ventajas e inconvenientes: el sistema abierto permite una mayor tasa de enfriamiento (20.000°C/min), aumentando las probabilidades de éxito del sistema, aunque el riesgo de contaminación cruzada es mayor. Por el contrario, el sistema cerrado disminuye las probabilidades de contaminación, pero compromete el éxito del proceso al ralentizar la tasa de enfriamiento. De la necesidad de obtener una nueva técnica con las ventajas de ambos sistemas surge un nuevo tipo de vitrificación, el sistema semi-cerrado. Este método consistiría en la inmersión de la muestra en NL estéril y en el posterior sellado del recipiente. Sin embargo, con esta técnica se produce un sellado que contiene NL dentro del recipiente, pudiendo originar un fallo si se rompe la cadena de frío, dando como resultado la pérdida del sellado o la rotura del recipiente.

OBJETIVO:

Desarrollar un soporte de vitrificación con el que conseguir un sistema semi-cerrado viable y seguro.

MATERIAL Y MÉTODO:

En el estudio se analizan 3 posibles alternativas de pajuelas, que se someten al nuevo proceso de vitrificado y a desvitrificado. Dado que el problema principal son las complicaciones que puede causar la presencia de NL dentro de la pajuela, las posibles soluciones se enfocan en su extracción. La primera y segunda alternativas consisten en un proceso para retirar el NL de la pajuela previamente al sellado, mediante un sistema de vacío en fase gas y un sistema de vaciado en fase líquida, respectivamente. La tercera alternativa consiste en no extraer el NL de la pajuela y crear un soporte, con zonas débiles deformables, que asegure el mantenimiento de la cadena de frío y

no se rompa. En todos los casos el proceso de sellado se realiza mediante sellado por calor. Dada la importancia del material biológico que se almacena, las pruebas se llevarán al límite de fallo, es decir, se hará un conjunto de pruebas siguiendo el protocolo de vitrificación sin fallos, y otro protocolo rompiendo la cadena de frío.

RESULTADOS:

La primera alternativa no es viable debido a la imposibilidad de extracción del NL en fase gas. En cuanto a la segunda alternativa, el NL en fase líquida se extraía en casi su totalidad y se obtenía el éxito si se seguía estrictamente el protocolo. No obstante, al romper la cadena de frío, se producían fallos en el sellado al mantener la pajuela en vapor de nitrógeno, o la rotura por explosión de la pajuela al mantenerla a temperatura ambiente. La tercera alternativa se comportaba como la segunda, con la salvedad de que se producía una deformación y rotura controlada de la zona débil de la pajuela en caso de fallo.

CONCLUSIONES:

Se concluye que la unión de las alternativas 2 y 3 puede dar lugar a un sistema de vitrificación semi-cerrado con altas posibilidades de funcionar correctamente, además de incluir un sistema de calidad que permite saber si el material almacenado se ha sometido a temperaturas superiores a las óptimas. No obstante, es necesario realizar más estudios para asegurar que el sistema se puede aplicar en clínica sin que haya repercusiones para el material almacenado.

¿CÓMO AFECTA LA VITRIFICACIÓN OVOCITARIA A LOS RESULTADOS DE UN CICLO DE OVODONACION?

C. Urda Muñoz, J. Gijón De la Santa, S. Camacho Fernández-Pacheco, MC. Cañadas Gálvez, M. De la Casa Heras, JA. Gragera Segura, L. Martínez De la Cruz, M. Oter Renom, T. Sánchez Arenas, V. Badajoz Liébana

Ginefiv - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN:

Actualmente, tanto la incorporación de los protocolos de vitrificación en los laboratorios de FIV, como la eficacia obtenida por la técnica, ha hecho que podamos disponer de bancos de ovocitos de donante en los centros. Esto nos permite sincronizar los ciclos de ovodonación de una forma más fácil y dinámica, pudiéndonos ajustar al proyecto reproductivo de cada pareja y/o paciente.

OBJETIVO:

Comparar los resultados clínicos obtenidos en pacientes receptoras de ovocitos frescos y vitrificados, y valorar si se obtienen mejores resultados clínicos en alguno de los grupos.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se analizaron de forma retrospectiva y no randomizada todos los ciclos de ovodonación donde se realizó transferencia de embriones en fresco durante el periodo comprendido entre el 1 de enero y el 31 de diciembre del 2018. Se llevó a cabo un estudio comparativo de los resultados clínicos (número de ovocitos inseminados y fecundados; número de embriones totales; y de la gestación clínica y aborto por transferencia) en función del origen del ovocito microinyectado, si bien era fresco o vitrificado.

RESULTADOS:

Según nuestros resultados, se encontraron diferencias significativas en el número de ovocitos inseminados (ovocitos en fresco=9.81 vs ovocitos vitrificados =10.54; $p<0.01$). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en el resto de los parámetros estudiados ($p>0.05$). Tabla 1.

CONCLUSIONES:

Concluimos, que los procesos de vitrificación y desvitrificación no van a afectar a los resultados clínicos de la primera transferencia en fresco de un ciclo de ovodonación. Sin embargo, sugerimos seguir perfeccionando los protocolos para evitar el coste adicional que tienen que asumir la donantes al someterse a un ciclo de hiperestimulación ovárica cuando vamos a vitrificar los ovocitos, ya que en estos ciclos necesitamos recuperar un número significativamente mayor de óvulos maduros.

	OVOCITOS FRESCOS (N=445)	OVOCITOS VITRIFICADOS (N=152)	P-VALOR
INSEMINADOS	4369 (9.81)	1603 (10.54)	0.001*
FECUNDADOS	3200 (7.19)	1123 (7.38)	0.15
EMBRIONES TOTALES	1756 (3.94)	587 (3.86)	0.29
TRANSFERIDOS	1.43	1.43	
TRANSFER D+3	293 (65.8%)	109 (71.7%)	0.18
TRANSFER D+5	152 (34.2%)	43 (28.3%)	
GESTACION CLÍNICA (%)	43.1	38.8	0.35
ABORTO (%)	7.1	9.2	0.37

FERTILECHIP VS SEMEN DE DONANTE: RESULTADOS CLÍNICOS EN 101 CICLOS DE ICSI

A. Jiménez Macedo (1), O. Hortal Codina (1), J. Carrera Rotllan (1), T. Lacruz Ruiz (2), S. Lara Cerrillo (2), A. García Peiró (2)

(1) UEG - Vic (Girona), (2) CIMAB - Sant Quirze del Vallés (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

Las bases genético-moleculares de algunas formas de infertilidad masculina han sido escasamente definidas. Pese a ello, en los últimos años ha sido de especial interés el estudio de la fragmentación del ADN espermático. Múltiples estudios confirman que individuos con seminogramas alterados suelen tener asociado un mayor porcentaje de espermatozoides con fragmentación en su ADN, los cuales pueden influir negativamente en la efectividad de los tratamientos de reproducción asistida. En algunos de estos casos, incluso es recomendable no utilizar el semen conyugal. De este modo, el uso de semen de donante es una solución habitual, si bien este hecho conlleva la renuncia del legado genético del cónyuge masculino. En algunas parejas esto supone pagar un peaje forzoso para así lograr tener descendencia. Recientemente, la determinación específica de roturas de doble cadena del ADN espermático (dsSDF) mediante el ensayo Cometa neutro en espermatozoides seleccionados para ICSI señala este factor como de alto riesgo de fracaso en ciclos de ICSI. Por otra parte, la aparición del sistema de selección espermática FertileChip, basado en propiedades físicas de fluidos a escala microscópica (microfluídica), permite eliminar un alto porcentaje de espermatozoides con este tipo de roturas.

OBJETIVO:

Determinar si el uso de FertileChip en pacientes con dsSDF medido mediante el test Cometa neutro puede mejorar los resultados reproductivos en ciclos de ICSI, en comparación con ciclos de ICSI en los que se utilizó semen de donante.

MATERIAL Y MÉTODO:

Se estudiaron un total de 101 ciclos de ICSI. Los grupos de estudio establecidos fueron: 1) Semen de donante (n=45) y 2) Semen conyugal con valores elevados de dsSDF usando FertileChip (n=56). El test Cometa neutro se utilizó para el análisis de fragmentación en el grupo 2. El sistema FertileChip

(DxNow, Maryland, USA) se utilizó como método de selección espermática según el protocolo establecido por el fabricante. Las variables de estudio fueron: número de embriones que llegan a blastocisto; número de transferencias por ciclo; embarazo bioquímico por transferencia; embarazo clínico por transferencia y número de abortos por embarazo clínico. Se utilizó el software UNStat4 para determinar la significación estadística, fijando el valor α en 0,05.

RESULTADOS:

Los resultados obtenidos en ciclos con semen de donante (grupo 1) fueron: edad ovocitaria = $32,68 \pm 8,05$; número de blastocistos por total de ciclos = 34 (75.5%); número de transferencias por total de ciclos = 28 (62.2%); número de embarazos bioquímicos por transferencia = 20 (71.4%); número de embarazos clínicos por transferencia = 16 (57.1%) y número de abortos por embarazo clínico = 1 (6.3%).

Los resultados obtenidos en ciclos con semen conyugal con valores alterados dsSDF tratados con FertileChip (grupo 2) fueron: edad ovocitaria = $33,64 \pm 5,91$; número de blastocistos por total de ciclos = 40 (71,4%); número de transferencias por total de ciclos = 30 (53,6%); número de embarazos bioquímicos por transferencia = 21 (70,0%); número de embarazos clínicos por transferencia = 18 (60,0%) y número de abortos por embarazo clínico = 3 (16,7%).

No se observaron diferencias estadísticamente significativas para ninguna de las variables estudiadas entre los dos grupos ($p > 0,05$).

CONCLUSIONES:

No se observan diferencias en los resultados clínicos obtenidos de los dos grupos estudiados. Si bien, más estudios son necesarios incluyendo un grupo de pacientes con valores alterados de dsSDF sin tratamiento de selección espermática con FertileChip para determinar el alcance de estos resultados.

TEST GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL DE ENFERMEDADES GENÉTICAS (PGT-M) DEBIDAS A GRANDES DELECCIONES: SÍNDROME DE MELANOMA-ASTROCITOMA

A. Gómez Duro (1), S. Gómez García (1), D. Cuquerella Fernández-Vázquez (2), E. Martín Tejedor (1), V. Hellín Gutiérrez (1), C. Giménez Sevilla (3), E. Fernández García (1)

(1) Geniality Diagnóstico Genético - Madrid (Madrid), (2) Clínica Rubal - Ciudad Real (Ciudad Real), (3) Reprogenetics Spain - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN:

El Síndrome del Melanoma-Astrocitoma, es una enfermedad genética grave que presenta un modo de herencia autosómico dominante. Las mutaciones del gen CDKN2A (9p21.3) se asocian al Síndrome del Melanoma-Astrocitoma, y, más recientemente, se ha demostrado que deleciones del gen CDKN2A también predisponen al desarrollo de tumores del sistema nervioso incluyendo astrocitoma, meduloblastoma, ependinoma, entre otros. Presentamos un caso de Test Genético Preimplantacional en una pareja en la que la mujer está afectada del Síndrome del Melanoma-Astrocitoma, con amplia historia familiar y portadora de una deleción en la región cromosómica 9p21.3. El análisis genético mediante NGS, MLPA, arrayCGH y secuenciación sanger permitió caracterizar la deleción de 68,5 kilobases en el cromosoma 9: 21937479_22006009delinsCCCT, afectando al gen CDKN2A entre otros. Refiere padre afectado de sarcoma y neurofibromas y hermano fallecido a los 12 años por glioma.

OBJETIVO:

Desarrollo de un protocolo específico previo al PGT-M basado en el análisis de fragmentos, para la detección de la deleción de 68,5 kilobases causante del Síndrome del Melanoma-Astrocitoma y el análisis de STRs colindantes para determinar la segregación de haplotipos.

MATERIAL Y MÉTODO:

El estudio de informatividad se realizó incluyendo muestras de ambos miembros de la pareja y de sus progenitores. Para el análisis directo de la deleción (g.21937479_22006009delinsCCCT), se diseñaron primers específicos internos y externos a la deleción que nos permiten amplificar dicha zona (Figura 1). Se diseñaron marcadores tipo microsatélite (STRs) que flanquean a la deleción (D9S925, D9S1684, D9S162, D9S1846, D9S1870, D9S741, D9S171 y D9S169).

Se llevó a cabo el PGT-M en 6 muestras de trofoectodermo de embriones biopsiados en día 5. Tras la lisis alcalina, se realizó la amplificación mediante "Multiple Displacement Amplification" (Genomiphiv2), las PCRs Multiplex y el análisis de la deleción usando los protocolos validados con anterioridad en el laboratorio.

RESULTADOS:

En el estudio de informatividad se identificaron un total de 3 marcadores informativos, 1 marcador semi-informativo y 4 marcadores no informativos. Sólo los marcadores informativos y semi-informativos se emplearon posteriormente en el PGT-M. En el análisis de la mutación, el diseño elaborado permitió detectar dos fragmentos en los individuos afectados (124/233) y un fragmento en los individuos sanos (124/124). El estudio familiar permitió determinar el haplotipo de riesgo en la familia que se corroboró con el estudio directo diseñado.

En el ciclo de PGT-M se obtuvo resultado en todos los embriones biopsiados. La tasa media de "allele drop-out" (ADO) para las regiones analizadas fue del 3,3%, obteniéndose resultado en todos los amplicones (STRs y mutación). Cuatro de los 6 embriones analizados resultaron afectados, uno presentó una recombinación genética en el haplotipo materno quedando con un diagnóstico no concluyente y el sexto embrión resultó sano para el Síndrome del Melanoma-Astrocitoma. El embrión sano está vitrificado a la espera de la transferencia.

CONCLUSIONES:

El PGT-M debido a grandes deleciones, sólo puede abordarse de manera directa cuando se conoce con exactitud su localización genómica, de lo contrario, obliga a realizar un estudio indirecto basado en haplotipos que segregan con la mutación. Los datos obtenidos nos indican la fiabilidad y robustez de la metodología empleada para el diagnóstico del Síndrome del Melanoma-Astrocitoma y que es aplicable a otras familias portadoras de microdeleciones en las que se conozca las coordenadas genómicas del punto de corte.





CONGRESO
ASEBIR
CÁCERES 2019

ASEBIR

Asociación para el Estudio
de la Biología de la Reproducción

Secretaría ASEBIR C/ Cronos, Nº 20, Bloque 4, 1 Piso, Nº 6 - 28037 Madrid
Tel +34 91 367 89 94 / www.asebir.com / asebir@asebir.com

