



**UNIVERSIDAD DE MURCIA**  
**ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO**

**Factores Pronósticos en FIV**

**D. Jorge Gálvez Pradillo**

2019





**UNIVERSIDAD DE MURCIA**

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO.

## **Factores pronósticos en FIV**

Tesis doctoral presentada por

**D. Jorge Gálvez Pradillo**

Directores

**Dr. Anibal Nieto Diaz**

Catedrático y Doctor en Obstetricia y Ginecología por la Universidad de Murcia

**Dr. Jesús Álvarez Castillo**

Doctor y Profesor Asociado en Obstetricia y Ginecología por la Universidad de Murcia

Murcia , 2019





UNIVERSIDAD DE  
MURCIA

D.ANIBAL NIETO DÍAZ ,Catedrático de Universidad del Área de OBSTETRICIA y GINECOLOGÍA en el Departamento de Cirugía, Pediatría, Obstetricia y Ginecología, AUTORIZA:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada "Factores pronósticos en FIV ", realizada por D.Jorge Gálvez Pradillo , bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

En Murcia, a 12 de Junio de 2019

A handwritten signature in blue ink, consisting of a large, stylized initial 'A' followed by a long horizontal stroke.





UNIVERSIDAD DE  
**MURCIA**

D.JESÚS ÁLVAREZ CASTILLO ,Profesor Asociado de Universidad del Área de OBSTETRICIA y GINECOLOGÍA en el Departamento de Cirugía, Pediatría, Obstetricia y Ginecología, AUTORIZA:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada "Factores pronósticos en FIV ", realizada por D.Jorge Gálvez Pradillo , bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

En Murcia, a 12 de Junio de 2019

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "J. Álvarez", is written over a horizontal line. The signature is stylized and includes a large loop at the top.



## **AGRADECIMIENTOS:**

*En primer lugar agradecer a mis padres, Santiago y María, ya ausentes, que me posibilitaron llegar a este punto de mi vida profesional; estoy seguro que se encontraran muy orgullosos por ello.*

*En segundo lugar, dar las gracias a mi mujer y mi hija, Marga y Elena por el apoyo constante en los momentos buenos y menos buenos que tiene el ejercicio profesional de la ginecología.*

*Por supuesto, agradecer a los Doctores Anibal Nieto Díaz y Jesús Álvarez Castillo que me estimularon para la realización del presente trabajo, pues sin ellos ni siquiera me lo hubiera planteado, y un agradecimiento muy especial al Profesor Manuel Canteras Jordana, Catedrático de Bioestadística de la Universidad de Murcia, pilar fundamental en la realización de la presente tesis.*

*Por último, dar las gracias a todos aquellos que de un modo u otro me han apoyado en el ejercicio de la Medicina en los últimos 38 años. Muchas gracias a todos ellos.*



## Resumen.

En el presente trabajo se han valorado diferentes parámetros o variables de pacientes con esterilidad primaria sometidas a fecundación in vitro (FIV) con transferencia embrionaria en fresco, para determinar su influencia y significación estadística, en el resultado de las técnicas de reproducción asistida (TRA), más concretamente con la consecución de la gestación clínica y evolutiva, cómo paso previo a la obtención de un niño en casa, idealmente único y sano. Las diferentes variables analizadas se han distribuido en tres grupos.

El primero de ellos incluye las **características basales de las pacientes** sometidas a FIV, determinadas previamente a la estimulación ovárica controlada (EOC) : edad, índice de masa corporal (IMC), FSH ( hormona folículo estimulante) basal y estradiol basal.

En este punto, nuestros datos confirman que tanto la edad como el IMC tienen una influencia estadísticamente significativa con la tasa de gestación, de modo inverso, a mayor edad y mayor IMC menor es la probabilidad de gestación.

En segundo lugar, desarrollamos las **características del propio ciclo de estimulación ovárica y técnica de laboratorio**: técnica de inseminación ovocitaria empleada en el laboratorio FIV, tipo de gonadotropina utilizada para la estimulación ovárica, tipo de protocolo de estimulación ovárica usado y clínica concertada donde se lleva a cabo la finalización de la estimulación ovárica, maduración y recuperación ovocitaria , fertilización, control de desarrollo embrionario y transferencia embrionaria en fresco.

Así como las tres primeras características de este grupo de variables, no tienen influencia significativa en la tasa de gestación, en la variable clínica concertada nuestros datos demuestran la gran importancia que tiene el laboratorio FIV en todo proceso de reproducción asistida, alrededor del cual gira el éxito o fracaso del procedimiento de la fecundación in vitro, hasta el punto que los fallos o incidencias en el mismo afectan negativamente a los resultados perseguidos en toda técnica de reproducción asistida.

En el tercer grupo de variables, definidas tras la recuperación ovocitaria, analizamos diversos **parámetros del ciclo FIV pospunción**: número de ovocitos totales recuperados, número de ovocitos maduros metafase II ( MII), número de ovocitos fecundados ( cigotos), número de embriones criopreservados sobrantes, número de embriones transferidos y día de la transferencia embrionaria.

En este punto, nuestros datos refieren la gran importancia de conseguir un número óptimo de ovocitos maduros de calidad para el éxito de la FIV, que podemos establecer a partir de los 10 ovocitos y sin sobrepasar los 19 ovocitos, todo ello encaminado a lograr la gestación sin el debe de las complicaciones inherentes a los altos niveles estrogénicos, como es el cuadro de hiperestimulación ovárica (HSO) así como la afectación en la calidad embrionaria o/y endometrial que disminuirían la posibilidad de gestación tras la transferencia embrionaria en fresco.

Las diferentes variables, tanto cuantitativas como cualitativas, se han sometido a un estudio estadístico descriptivo determinando su significación estadística en relación a la tasa de gestación. La relación entre variables cuantitativas se ha analizado con los coeficientes de correlación lineal de Pearson. La asociación entre variables cualitativas se ha hecho mediante el análisis de tablas de contingencia con el test de la  $X^2$  de Pearson complementado con el análisis de residuos para determinar la tendencia a la asociación. A partir de los datos estadísticos, hemos establecido la comparativa con los estudios publicados definiendo en último lugar las conclusiones respecto a la hipótesis planteada.

En resumen, el objetivo de este trabajo, realizado con la finalidad de obtener el título de Doctor en Medicina en la especialidad de Obstetricia y Ginecología, ha sido valorar qué características basales de las pacientes, del ciclo de estimulación ovárica y del desarrollo del ciclo FIV pospunción pueden predecir la finalidad de toda TRA que es el de lograr un niño en casa, cuyo primer paso es obtener una B-hCG positiva.

## Summary.

In the present work, different parameters or variables of patients with primary infertility submitted to in vitro fertilization (IVF) with fresh embryo transfer were evaluated to determine their influence, statistical significance, in the result of assisted reproduction techniques (TRA), more concretely with the achievement of clinical and evolutionary gestation, as the previous step to obtain a child at home, ideally unique and healthy. The different variables analyzed have been divided into three groups.

The first one includes the **baseline characteristics of the patients** undergoing IVF, previously determined to controlled ovarian stimulation (EOC): age, body mass index (BMI), FSH (follicle stimulating hormone) basal and basal estradiol. At this point, our data confirm that both age and BMI have a statistically significant influence with gestation rate, inversely, at older age and higher BMI is the probability of gestation.

Second, developed the **characteristics of the own cycle os ovarian and technical stimulation laboratory** technique os oocyte insemination used in the laboratory IVF, type of gonadotropin used for ovarian stimulation, type of ovarian stimulation protocol used and concerted clinic where it is carried out the completion of ovarian stimulation, oocyte maturation and recovery, fertilization, embryonic development control and fresh embryo transfer.

As the first three characteristics of this group of variables do not have a significant influence on the gestation rate, in the agreed clinical variable our data demonstrate the great importance that the IVF laboratory has in all assisted reproduction processes, around which the success or failure of the procedure of in vitro fertilization.

In the third group of variables, defined after oocyte retrieval, we analyzed **several parameters IVF cycle postpuncture**: number of recovered total oocytes, number of mature oocytes metaphase II (MII), number of fertilized oocytes (zygotes), number of cryopreserved embryos surplus, number of embryos transferred and day of embryo transfer.

At this point, our data indicate the great importance of obtaining an optimal number of mature oocytes of quality for the success of IVF, which we can establish from 10 oocytes and without exceeding the 19 oocytes, all aimed at achieving gestation without owing to the inherent complications of high estrogen levels, such as the ovarian hyperstimulation (HSO), as well as the involvement in embryonic and / or endometrial quality that would reduce the possibility of gestation after embryo transfer in fresh.

The different variables, both quantitative and qualitative, have been subjected to a descriptive statistical study determining their statistical significance or not in relation to the gestation rate. The relationship between quantitative variables has been analyzed with Pearson's linear correlation coefficients.

The association between qualitative variables has been made through the analysis of contingency tables with the Pearson  $X^2$  test complemented with residue analysis to determine the trend of associations.

From the statistical data, we have established the comparative with the published studies defining last the conclusions regarding the hypothesis raised.

In summary, the objective of this work, carried out with the aim of obtaining the title of Doctor of Medicine in the speciality of Obstetrics and Gynecology, has been to assess the baseline characteristics of the patients, the cycle of ovarian stimulation and the development of the IVF cycle postpuncture can predict the purpose of any ART that is to achieve a child at home, whose first step is to obtain a positive B-hCG.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS.



ÍNDICE de CONTENIDOS.

I.	<b>INTRODUCCIÓN.</b>	1.
1.	Terminología en reproducción.	3.
2.	Esterilidad y Reproducción Asistida: perspectiva histórica.	6.
3.	La fertilidad en España. Estudio demográfico.	14.
4.	Los estudios y tratamientos de la infertilidad.	23.
5.	Técnicas de reproducción asistida.	30.
II.	<b>HIPÓTESIS de TRABAJO. OBJETIVOS.</b>	35.
III.	<b>MATERIAL Y MÉTODOS.</b>	41.
1.	Características basales de las pacientes.	43.
1.1.	Edad.	43.
1.2.	IMC ( Índice de masa corporal).	43.
1.3.	FSH basal.	43.
1.4.	Estradiol basal.	44.
2.	Características del ciclo de estimulación y técnica de inseminación.	44.
2.1.	Tipo de gonadotropina.	44.
2.2.	Tipo de protocolo de estimulación ovárica.	45.
2.2.1.	Protocolo largo con análogos de la GnRH.	45.
2.2.2.1.	Protocolo corto.	46.
2.2.2.2.	Protocolo ultracorto..	47.
2.2.3.	Protocolo con antagonista.	47.
2.2.3.1.	Protocolo fijo.	49.
2.2.3.2.	Protocolo flexible.	49.
2.3.	Tipo de técnica de inseminación en laboratorio FIV.	49.
2.3.1.	FIV.	49.
2.3.2.	ICSI.	49.
2.4.	Clínica concertada.	50.
3.	Características del ciclo tras la recuperación ovárica.	50.
3.1.	Número de ovocitos totales recuperados.	50.
3.2.	Número de ovocitos maduros MII.	50.

3.3. Número de ovocitos fecundados.	50.
3.4. Número de embriones criopreservados sobrantes .	51.
3.5. Número de embriones transferidos.	51.
3.6. Día de transferencia embrionaria..	51.
<b>IV. RESULTADOS.</b>	<b>55.</b>
1. Variables cuantitativas.	57.
1.1. Edad.	57.
1.1.1. Edad y tasa de gestación.	57.
1.1.2. Edad y número de ovocitos totales recuperados.	57.
1.1.3. Edad y número de ovocitos MII.	58.
1.1.4. Edad y número de ovocitos fecundados.	58.
1.1.5. Edad y FSH basal.	59.
1.1.6. Edad y estradiol basal.	59.
1.2. IMC ( índice de masa corporal).	59.
1.2.1. IMC y tasa de gestación.	59.
1.2.2. IMC y número de ovocitos totales recuperados.	60.
1.2.3. IMC y número de ovocitos MII.	60.
1.2.4. IMC y número de cigotos.	61.
1.3. FSH basal.	61.
1.3.1. FSH basal y tasa de gestación.	61.
1.3.2. FSH basal y número de ovocitos totales recuperados.	62.
1.3.3. FSH basal y número de ovocitos MII.	62.
1.3.4. FSH basal y número de cigotos.	63.
1.4. Estradiol basal.	63.
1.4.1. Estradiol basal y tasa de gestación.	63.
1.4.2. Estradiol basal y número de ovocitos totales recuperados.	64.

1.4.3.	Estradiol basal y número de ovocitos MII.	64.
1.4.4.	Estradiol basal y número de cigotos.	64.
2.	Variables cualitativas.	65.
2.1.	Tipo de gonadotropina.	65.
2.2.	Tipo de protocolo de estimulación ovárica.	66.
2.3.	Técnica de inseminación ovocitaria en el laboratorio FIV.	67.
2.4.	Clínica concertada.	67.
2.4.1.	Clínica y tasa de gestación.	67.
2.4.2.	Clínica y técnica de inseminación..	68.
2.4.3.	Clínica y número de ovocitos totales recuperados.	68.
2.4.4.	Clínica y número de ovocitos MII.	69.
2.4.5.	Clínica y número de cigotos.	69.
3.	Tercer grupo de variables, tras la recuperación ovocitaria.	70.
3.1.	Número de ovocitos totales recuperados.	70.
3.1.1.	Número de ovocitos totales recuperados y gestación.	70.
3.2.	Número de ovocitos MII.	70.
3.2.1.	Número de ovocitos MII y gestación.	70.
3.3.	Número de ovocitos fecundados.	70.
3.3.1.	Número de ovocitos fecundados y gestación.	70.
3.4.	Número de embriones criopreservados sobrantes.	71.
3.4.1.	Número de embriones criopreservados sobrantes y gestación.	71.
3.5.	Número de embriones transferidos.	71.
3.5.1.	Número de embriones transferidos y gestación.	71.
3.6.	Día de transferencia embrionaria.	72.
3.6.1.	Día de transferencia embrionaria y gestación.	72.
4.	Análisis de correlación lineal de Pearson de pares de variables cuantitativas.	72.
4.1.	Edad.	72.
4.2.	IMC.	73.

4.3.	FSH.	73.
4.4.	Estradiol(E2).	73.
4.5.	Número de ovocitos recuperados.	73.
4.6.	Número de ovocitos MII.	73.
4.7.	Número de cigotos.	73.
4.8.	Número de embriones criopreservados.	73.
4.9.	Número de embriones transferidos.	73.
5.	Análisis mediante tablas de contingencia de pares de variables cuantitativas en relación con la tasa de gestación.	74.
5.1.	Edad.	74.
5.1.1.	Edad, IMC y tasa de gestación.	74.
5.1.2.	Edad, FSH y tasa de gestación.	75.
5.1.3.	Edad, estradiol y tasa de gestación.	75.
5.1.4.	Edad, número de ovocitos fecundados y tasa de gestación.	75.
5.2.	IMC .	76.
5.2.1.	IMC, número de ovocitos MII y tasa de gestación.	76.
V.	<b>DISCUSIÓN.</b>	77.
1.	Edad.	81.
2.	IMC.	85.
3.	FSH basal.	91.
4.	Estradiol basal.	95.
5.	Tipo de gonadotropina empleada para la estimulación ovárica.	99.
6.	Tipo de protocolo de estimulación ovárica.	105.
7.	Tipo de técnica de inseminación ovocitaria en el laboratorio FIV.	107.
8.	Clínica concertada donde se lleva a cabo la finalización de la estimulación ovárica, maduración y recuperación ovocitaria, fertilización, control embrionario y embriotransferencia.	109.
9.	Número de ovocitos totales recuperados.	115.
10.	Número de ovocitos MII.	119.
11.	Número de ovocitos fecundados ( cigotos).	121.
12.	Número de embriones criopreservados sobrantes.	123.

13. Número de embriones trnsferidos.	125.
14. Día de transferencia embrionaria.	133.
<b>VI. CONCLUSIONES.</b>	<b>141.</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.</b>	<b>145.</b>
<b>ANEXOS.</b>	<b>175.</b>
<b>ABREVIATURAS.</b>	<b>183.</b>



## **I. INTRODUCCIÓN .**



## I. INTRODUCCIÓN.

### 1. *Terminología en reproducción.*

La WAS (World Association for Sexology) define la salud sexual como: “ un estado de bienestar físico, mental y social relacionado con la práctica de la sexualidad del individuo y no ausencia de enfermedad o incapacidad”. Requiere un enfoque positivo de la misma y de las relaciones sexuales, lo que implica la consecución de tener experiencias sexuales placenteras y seguras, libres de coacción y violencia ejercida por terceras personas(1).

La salud reproductiva en el marco de la salud integral, aborda el correcto funcionamiento del aparato reproductor y los mecanismos de procreación del individuo. Implica la total capacidad del individuo de disfrutar tanto de la vida sexual como de la posibilidad de procreación cuándo y como desee en el pleno derecho de la libertad individual.

Ambos conceptos , salud sexual y salud reproductiva fueron desarrollados a partir de la Conferencia Internacional sobre Población y Desarrollo de Naciones Unidas, en 1994 celebrada en El Cairo, todo ello dentro del desarrollo de los derechos humanos, resaltando la gran importancia de la capacidad de la mujer para decidir sobre su sexualidad y su capacidad reproductiva con absoluta libertad y sin coacción alguna (1).

Fecundidad y natalidad son conceptos diferentes desde el punto de vista demográfico.

La natalidad se refiere al número total de nacimientos por el total de la población; la fecundidad alude al número de nacimientos en mujeres en época fértil.

Ambos conceptos, fecundidad y natalidad, están de plena actualidad dada la evolución de los mismos en las últimas décadas en los países de nuestro entorno, países desarrollados.

La fecundidad tiene unas importantes repercusiones económicas, sociales y culturales, con consecuencias comprometedoras en nuestro estado de bienestar, que incluye el sistema público de pensiones , tema de máxima actualidad en nuestra sociedad.

La natalidad es un fenómeno demográfico que tiene una influencia determinante sobre distintos aspectos de nuestra sociedad como la vivienda, la sanidad, la educación, la familia y la educación(2).

La fecundabilidad es definida por la ESRHE ( Sociedad Europea de Embriología y Reproducción Humana) como: “la probabilidad de conseguir la gestación por ciclo en una pareja sin uso de métodos anticonceptivos”.

La tasa de embarazos obtenidos tras el primer mes sin anticoncepción alguna representa una estimación de la fecundabilidad (3).

La fecundidad es dar a luz un hijo, tener un hijo. Es el producto del estado del embarazo; noción individual o de pareja, cuya tasa está determinada por la duración de la etapa fértil del individuo.

La ESRHE, define la fecundidad como: “la capacidad para conseguir un feto vivo y viable en un ciclo menstrual con exposición al coito sin utilización de anticoncepción” (3).

El concepto de infecundidad es la ausencia de nacidos para un hombre, una mujer o una pareja durante un tiempo determinado. Puede ser voluntaria o involuntaria, con problemas de esterilidad o no.

Demográficamente, la población fértil es aquella que ha tenido hijos, por el contrario, en medicina de la reproducción, por fertilidad entendemos la capacidad de una pareja para tener hijos (4).

La fertilidad es la posibilidad o capacidad de concebir. Se trata de una posibilidad individual o de pareja. Es condición necesaria pero no suficiente para la fecundidad, conseguir el hijo.

Sobre la fertilidad actúan las técnicas de reproducción asistida (TRA), con el fin de lograr la fecundidad. Se trata de primero concebir para llegar a parir.

Al contrario que la fecundidad, que puede objetivarse, consecución de un feto viable, la fertilidad no puede medirse. Se valora por la fecundabilidad, capacidad de concebir en un ciclo, con una media del 20% en una población fértil (3).

La ESHRE define la fertilidad como: “la capacidad para conseguir un embarazo tras un año de relaciones sexuales regulares sin uso de método anticonceptivo”.

La esterilidad es definida como la incapacidad de una pareja de lograr el embarazo, es el negativo de la fertilidad.

Se completa el término de esterilidad con la esterilidad primaria o total, que está referido a la situación en que no se ha procreado nunca habiendo existido exposición y con ausencia de anticonceptivos.

La esterilidad secundaria o parcial es la que ocurre tras un nacimiento, es decir, la pareja consigue un primer hijo y no el segundo.

La esterilidad puede clasificarse como definitiva o temporal.

La Sociedad Americana de Medicina de la Reproducción (ASRM), la Sociedad Española de Fertilidad (SEF) y la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGÓ), consideran estéril a las parejas que no consiguen la gestación tras un año de relaciones sexuales sin métodos anticonceptivos, mientras que otras sociedades científicas como la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia (FIGO), la Sociedad Europea de Embriología y Reproducción Humana (ESHRE) y la propia Organización Mundial de la Salud (OMS) requieren al menos 24 meses (5).

La SEF considera la esterilidad como enfermedad, porque existe un síntoma que es la ausencia de embarazo, consecuencia de una disfunción en el aparato reproductor de uno o de ambos cónyuges.

El término infertilidad, en el mundo anglosajón es sinónimo de esterilidad. Sin embargo, en el medio hispano, se entiende como infertilidad la incapacidad de lograr una gestación evolutiva hasta la viabilidad fetal. Este concepto engloba diferentes procesos como: aborto de repetición, parto inmaduro, muerte fetal intraparto y otras. Actualmente, se prefiere el concepto “pérdida gestacional recurrente” para designar a los procesos anteriores.

El Diccionario de la Real Academia de la Lengua Española (RAE) define esterilidad como: “enfermedad caracterizada por la falta de aptitud para fecundar en el macho y de concebir en la hembra”. La RAE propone sinónimos esterilidad e infertilidad.

Por último, vamos a distinguir entre la esterilidad absoluta y la subfertilidad. La esterilidad absoluta corresponde a parejas en las que hay un impedimento absoluto para conseguir la gestación. Tal como ocurre en las obstrucciones tubáricas completas bilaterales en las mujeres o en las azoospermias en los varones.

La esterilidad relativa o subfertilidad corresponde a parejas en las que hay un impedimento parcial para conseguir la gestación o existe algún problema que determina que su fecundidad sea más baja de lo habitual pero no nula (4).

La ESRHE define la subfertilidad como: “la capacidad para conseguir la gestación sin ayuda médica pero en un periodo superior a un año”.

## ***2. Esterilidad y Reproducción Asistida: perspectiva histórica.***

A lo largo de la historia de la humanidad y sus diferentes civilizaciones, la mujer ha sido considerada símbolo de la fertilidad. En la prehistoria hay multitud de pinturas y figuras femeninas redondeadas, que representan a “venus” invocando la fertilidad.

En el lado opuesto, la infertilidad ha sido un gran problema médico desde los inicios de la humanidad, pues ello implica una amenaza para la supervivencia del grupo y por ello de la especie. La fertilidad representa la transmisión del poder con el mantenimiento de las estructuras sociales.

En el Antiguo Egipto el estatus de la mujer era similar al del hombre, que tenía una posición predominante en las civilizaciones más antiguas.

En Egipto, las parejas eran prolíficas y la infertilidad era un problema real, no se consideraba un castigo divino, por lo que debía intentar diagnosticarse y tratarse como una enfermedad más.

Los papiros son fuente de la transmisión del conocimiento de la medicina Egipcia.

Entre ellos, el papiro de Kahoun ( 1900 a.c.) puede considerarse el primer tratado de ginecología y el papiro de Ebers ( 1550 a.c.) el texto médico más famoso de aquella época. papiros son nuestra fuente de conocimiento acerca de la medicina Egipcia. El papiro Kahoun, texto médico Egipcio más antiguo conocido (1900 a.c.), puede considerarse el primer tratado de ginecología y el papiro de Ebers ( 1550 a.c.) , texto médico más famoso de la época.

Los egipcios tenían un conocimiento médico y anatómico somero y no utilizaban más allá de unos pocos centenares de términos anatómicos, en el tracto genital femenino se referían: útero, vulva, cérvix y labios (6).

Los Egipcios desarrollaron una técnica para el diagnóstico temprano del embarazo, a partir de los granos de trigo y cebada, que se ponían en contacto con la orina de la mujer que pudiera estar gestante, de modo que si los granos germinaban, la mujer estaba embarazada por efecto de la hCG presente en la orina. Este método, preciso en un 40%, fue adoptado por Hipócrates y llegó hasta el siglo XIX en algunos lugares (7).

En Egipto se desarrollaron métodos diagnósticos para las mujeres infértiles, sin olvidar la infertilidad masculina.

Los Egipcios se basaban en el concepto de que los genitales internos femeninos estaban en continuidad con el resto del cuerpo, singularmente con el tracto digestivo si eran fértiles. Esto se mantuvo hasta la Edad Media.

En resumen, la medicina Egipcia se preocupó del problema de la infertilidad aunque sin tratamiento satisfactorio alguno.

Posteriormente, en la civilización Hebrea, cuya fuente de conocimiento es la Biblia, predomina el pecado original y las mujeres presentan sus derechos muy disminuidos (8). En este ambiente, la infertilidad es considerada un castigo divino, que afecta únicamente a la mujer, sin considerar la infertilidad masculina. Dios privaba de descendencia a una pareja para castigarles por haber pecado. Como el caso de Conías que llegó a ser rey de Judea (Jeremías 22,30).

El embarazo es un regalo del Señor. En el Antiguo Testamento se cuentan varios casos de mujeres que concibieron gracias a Dios: Sara , mujer de Abraham ( Génesis 20,18) o Rebeca , mujer de Isaac ( Génesis 25,21). También en el Nuevo Testamento se refiere el embarazo de Isabel, la mujer de Zacarías y prima de la Virgen María ( Lucas 1,5-24) (9).

En resumen, en la Biblia la infertilidad se asimila como castigo De Dios, reflejando una posición sumisa de la mujer en la Sociedad Judía, y el embarazo como un don de Dios, idea que perdura en algunos grupos de nuestra sociedad hasta hoy.

La Medicina Occidental tiene sus bases en la Grecia Antigua. En Grecia, el cambio importante acontece con la escuela de Hipócrates, que nace en la isla de Cos en el año

460 a.c. El rompe con la medicina que se practicaba, cercana a la magia más que a la observación.

Varios tratados se ocupan de patologías obstétricas y ginecológicas: “The Book of Women’s Diseases”, “The Book on the Nature of Women” o “The Excisión of the Fetus”(10).

Hipócrates se ocupaba de la infertilidad basado en textos egipcios. El proponía varias causas: mala posición del cérvix, debilidad de la cavidad uterina congénita o adquirida, así como la obstrucción del orificio uterino debido a diferentes causas como una amenorrea o flujo menstrual excesivo.

Proponía diferentes tratamientos al contrario que la Medicina Egipcia, como abrir el orificio interno si estaba demasiado cerrado.

En la civilización Romana y Bizantina, el papel de los dioses era como en la época Griega. Uno de los más grandes ginecólogos de la Antigüedad fue Sorano de Efeso ( 98-177 d.c.). Formado en la escuela de Alejandría practicó la medicina en Roma, siendo griego. Él inició una formación adecuada y estructurada a las comadronas, enseñando fisiología, anatomía y patología gineco-obstétrica de modo reglado (11).

Después de Hipócrates, Galeno fue un gran médico ( 129-199 d.c.); cuyos estudios anatómicos en animales y observaciones sobre el cuerpo humano dominaron la práctica y teoría médica hasta el Renacimiento.

Entre el año 700 y 1200 d.c. se desarrolla la medicina árabe, el médico más afamado en esta época es Avicena (980-1037) cuyos tratados médicos “Canones”, dominaron la práctica médica de dicha época.

Para Avicena, la infertilidad estaba relacionada con una anomalía de los “espermatozoides” producidos por la mujer y el hombre. También podía deberse a una anomalía del tracto genital e incluso a la melancolía.

Al igual que Hipócrates , Avicena se basa en los textos egipcios para proponer sus tratamientos. La escuela árabe tiene el mérito de haber conservado los textos médicos griegos que llegaron hasta entonces.

En la Edad Media, la procreación se consideraba necesaria, uno de sus máximos representantes Santo Tomás de Aquino ( 1225-1274), el mayor teólogo cristiano del

siglo XIII dijo : “la naturaleza busca la generación de descendientes para preservar el bien de las especies”.

Los médicos de la Edad Media utilizaron recetas egipcias para diagnosticar la infertilidad, como la de introducir un diente de ajo en la vagina, de forma que si el olor se transmitía a la boca , la mujer era fértil, siguiendo la teoría de la continuidad del aparato genital con el tubo digestivo en las mujeres fértiles, descrito en los párrafos anteriores. Ello fue utilizado por el médico valenciano Arnau de Vilanova (1240-1311).

Una vez realizado el diagnóstico, se buscaba la causa: en la obesidad, “ la grasa asfixia la semilla del hombre”. También el calor excesivo o la humedad podían ser motivo, “ la gran humedad en la madre puede asfixiar el esperma que recibe... y cuando está muy caliente, quema dicho esperma por lo que no puede concebir, igualmente”.

También podían causar infertilidad la desproporción de los órganos genitales, como un orificio uterino estrecho o muy abierto (12).

En la Edad Media como en muchos aspectos socio-economico-culturales de la época, hubo un estancamiento del conocimiento, así como de la situación social de la mujer. Los tratamientos sobre la infertilidad estaban cercanos a la superstición, y no fue hasta el Renacimiento cuando se progresó en los estudios anatómicos y en los estudios médicos en general.

El Renacimiento marca un progreso científico indiscutible , siendo Italia uno de los centros del mismo. Allí desarrollaron sus estudios Vesalio (1514-1564) o Leonardo da Vinci (1452-1519).

Vesalio publica en 1543 su “*Humani Corporis Fabrica*”, el cual incluye secciones anatómicas del aparato genital femenino. Su discípulo Bartolomeo Eustachio dibujó el útero y sus vasos. Eustaquio recomendaba tras el coito meter los dedos en la vagina para favorecer la concepción, lo que podemos considerar como precursor de la idea de la inseminación artificial.

Ambroise Paré (1517-1590) cirujano real en Francia , era partidario de la dilatación del cérvix uterino para el tratamiento de la infertilidad y fue el primero en realizar la sección de un septo vaginal en una mujer infértil.

Gabriel Falopio (1523-1562) anatomista italiano, afincado en Padua, describió la placenta, la vagina, las trompas y el clítoris.

El anatomista inglés William Harvey (1578-1657) presentó una novedosa teoría sobre el desarrollo embrionario humano. Anteriormente, se pensaba que el futuro bebé preexistía como un ser diminuto preformado, un pequeño hombre dentro del gameto del varón, llamado homúnculo. Es la teoría llamada preformacionismo.

Harvey siguiendo a Aristóteles, pretende que las estructuras especializadas que un individuo desarrolla paso a paso proceden de otras estructuras no especializadas teniendo estas origen en el gameto femenino, el ovocito. Teoría llamada epigénesis, “ex ovo omnium” (todo procede del huevo).

A lo largo del siglo XVII siguieron publicándose más trabajos sobre la infertilidad, en 1609 Jean Hucher (1570-1630) edita “De Sterilitate Utriusque Sexus”(13).

Años más tarde, en 1672, Reignier De Graaf ( 1641-1673) publicó “De Mullerium Organis”, en el que describe el ovario y el ciclo folicular (14).

En el siglo XVIII comienza a desarrollarse la verdadera metodología científica, lo que supone una completa transformación en el razonamiento médico conocido hasta entonces.

El científico Van Leeuwenhoek (1632-1723) en 1677, y Hamm, ayudante del primero, fueron los primeros que visualizaron los espermatozoides , a los que denominaron “animálculos”, a partir de la creación de lentes con 270 aumentos, pensando que ellos portaban los embriones ya formados prácticamente (15).

Martin Naboth (1675-1721), anatomista alemán , en 1707 escribió su tratado de infertilidad “De Sterilitate”, describiendo que la esclerosis ovárica y las obstrucciones de las trompas podrían ser causa de infertilidad (16).

William Smellie (1697-1763), padre de la tocología inglesa, en 1752, es el primero que describe el proceso de la fecundación y sugiere que la secreción vaginal anómala, la leucorrea puede ser motivo de infertilidad en la mujer infértil (17).

A pesar de los indudables avances en este siglo, la infertilidad se seguía atribuyendo básicamente a la mujer, era muy raro que se hiciera referencia al varón.

En 1769, Giovanni Battista Morgani (1682-1771) añade otras posibles causas a la infertilidad como: agenesia o ausencia de folículos en el ovario, anomalías vaginales, hipoplasia uterina o alteraciones en los genitales externos (18).

En 1784, Lázaro Spallanzan (1729-1799) médico italiano, realizó la primera inseminación con éxito en mamíferos, concretamente en el perro (19).

En 1785, John Hunter (1728-1793), cirujano escocés comienza a realizar los primeros intentos de inseminación artificial en el hombre, consiguiendo el nacimiento de un niño sano. El caso era de un hombre que presentaba hipospadias, al que se le indica recoger la muestra seminal y a través de una jeringa caliente inyectarla en la vagina de la mujer (20).

En el siglo XIX los avances para el desarrollo del estudio de la esterilidad fueron muy importantes para el desarrollo futuro del mismo.

Marion Sims (1813-1883), gran ginecólogo americano, publicó su tratado: “ Clinical Notes on Uterine Surgery with Special Reference to the Management of the Steril Condition” en 1866 (21). En dicho texto Sims explica que la dismenorrea y la esterilidad tienen en la estenosis cervical un mismo origen; por lo que recomienda la dilatación cervical bien quirúrgica o con dilatadores como tratamiento de la infertilidad.

Así mismo, aconseja el uso de pesarios para tratar la mala posición uterina que relacionaba con la esterilidad.

El mismo Sims, publica en 1868: “The Microscope as an Aid in the Diagnosis and Treatment of Sterility” donde refiere el importante papel que tiene el examen bajo el microscopio de la calidad espermática del varón en el estudio de la esterilidad (22).

En 1884, William Pancoast llevó a cabo la primera inseminación artificial con semen de donante (IAD) en Filadelfia (EEUU), en el Jefferson Medical College (23).

En el año 1891 Walter Heape fue el primero en recuperar un embrión antes de implantarse mediante el lavado del oviducto en una coneja, que tras ser transferido a otra coneja receptora continuó su desarrollo intraútero (24). El trabajo de este científico sirvió a la comunidad científica para el desarrollo de los cultivos embrionarios en el laboratorio, punto crucial para el desarrollo posterior de la reproducción humana asistida, que tendrá lugar décadas después.

Durante las dos primeras décadas del siglo XX se inició el desarrollo de la endocrinología reproductiva y se empezaron a utilizar las gonadotrofinas para las estimulaciones ováricas (25).

A partir de entonces se produce una cascada incesante e imparable de avances en el campo de la medicina reproductiva que aún no ha terminado (26).

En Estados Unidos (EEUU) en la década de los 30, se desarrollaron métodos de diagnóstico de la esterilidad, como el test de insuflación tubárica para diagnosticar obstrucciones tubáricas de Rubin (27).

En EEUU se crea la Asociación Americana de Medicina Reproductiva (ASMR) en 1944 y el grupo de John Rock en Harvard comunica por vez primera la fecundación in vitro (FIV) de ovocitos humanos, un avance fundamental en el campo de la medicina reproductiva (26,28,29). Estos embriones no llegaron a ser transferidos al útero materno, pero fue el primer hito de la fecundación in vitro en EEUU.

En el año 1951, tiene lugar la primera transferencia de embriones bovinos de modo satisfactorio (30), se desarrolla la capacitación espermática (31,32), se publican numerosos trabajos sobre la fecundación in vitro y el desarrollo embrionario en los conejos (33).

En la misma década, en el año 1958 se administran extractos de gonadotropinas pituitarias humanas que contienen la hormona folículo-estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH), consiguiendo inducciones ováricas muy satisfactorias (34). Además, se comienza a utilizar el citrato de clomifeno por vía oral como inductor de la ovulación (35).

En el año 1966, se realiza por vía laparoscópica la recuperación de los primeros ovocitos humanos con control de la ovulación (36).

Al mismo tiempo se dan los primeros pasos en la micromanipulación sobre los gametos en este caso de hámster (37,38).

El nacimiento de Lousie Brown el 25 de Julio de 1978, constituye un hecho histórico en el desarrollo de la medicina reproductiva, al ser la primera niña del mundo que nace tras un procedimiento de FIV y embriotransferencia (39).

Más tarde, en 1983 se obtienen las primeras gestaciones de ovocitos donados. Al principio, se utilizaba la fecundación in vitro, consiguiendo los cigotos tras lavado uterino, transfiriendo los mismos a la mujer receptora (40). Algo más tarde se consigue la primera gestación de ovocitos donados mediante fecundación in vitro y embriotransferencia (41).

Al mismo tiempo en Australia se obtiene el primer embarazo tras congelación-descongelación embrionaria (42).

En el año 1984, se introduce la técnica conocida como GIFT ( gamete intrafallopian transfer ) por el equipo de Asch en la Universidad de Texas, que consiste en la transferencia de uno o más ovocitos mezclados con espermios previamente lavados y capacitados directamente en la trompa de Falopio mediante una laparoscopia (43).

En 1986 se publica el primer embarazo, con una técnica en la que se transfieren los ovocitos ya fecundados en las trompas, esta técnica se llama ZIFT ( zygote intrafallopian transfer) (44).

El mismo año, se publica el primer nacido tras congelación-descongelación de óvulos humanos y posterior transferencia embrionaria (46).

Un año después, 1987, se da a conocer una nueva técnica para la recuperación ovocitaria, que aúna la ecografía transvaginal y una guía de biopsia, dejando a un lado la laparoscopia como técnica auxiliar para la obtención ovocitaria(45).

Al inicio de los años 90, en 1992 ocurre una auténtica revolución en el campo de la reproducción asistida con la introducción de la microinyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI). Esta técnica consiste en la inyección intraovocitaria de un solo espermatozoide que permite la posibilidad del embarazo en varones con graves deficiencias en el recuento espermático que hasta entonces no era posible (47).

En la década de los 90 se unen dos ramas científicas, por un lado las técnicas de reproducción asistida y por otro la biología molecular, para dar origen a una nueva área biomédica, el diagnóstico genético preimplantacional (DGP).

En la actualidad, la sección de DGP de la Asociación Europea de Medicina Reproductiva (ESHRE) (48) distingue los DGP en dos clases: PGD de alto riesgo que se indica en pacientes con alto riesgo de transmitir alteraciones cromosómicas ( translocaciones, inversiones, ...) o génicas ( atrofia medular espinal, fibrosis quística, ...) a los descendientes ; y por otro lado el DGP de bajo riesgo, denominado screening genético preimplantacional o screening de aneuploidías ( SGP) que está indicado en pacientes con esterilidad que realizan una FIV con la finalidad de aumentar la tasa de éxito , en casos de edad materna avanzada, fallos de implantación o abortos recurrentes.

En este grupo, se incluirían la selección embrionaria con compatibilidad para el HLA ( Complejo Mayor de Histocompatibilidad) (49) o el DGP para enfermedades de aparición tardía como la predisposición al cáncer, Síndrome de Lynch, portadores de BRCA, poliposis adenomatosa familiar , poliquistosis renal autosómica dominante entre otras.

En los últimos años las técnicas de reproducción asistida están permitiendo unos cambios en los esquemas sociales y posibilitando nuevos modelos de familia , como familias monoparentales, hijos de familias homoparentales , hijos de mujeres de edad avanzada así como el nacimiento del llamado niño medicamento, que posibilite el tratamiento y curación a un hermano enfermo. Todo ello está suponiendo unos cambios en nuestra sociedad cuyas consecuencias están por descubrir en los próximos decenios. La esterilidad como hemos podido observar a lo largo de este capítulo ha sido y sigue siendo un tema de atención tanto en la praxis médica como en el plano social, ético y filosófico.

La fertilidad ha sido motivo para la existencia de la pareja como medio para la procreación y ésta como símbolo de la continuidad de la tribu, grupo o comunidad, por el contrario la infertilidad se ha considerado sinónimo de separación o ruptura.

### ***3. La fertilidad en España. Análisis demográfico.***

La demografía analiza los acontecimientos que ocurren entre los individuos de una población a lo largo de su vida, los mide y los explica a través de la historia, la economía o la biología , aunque la terminología que utiliza no es la misma que la empleada por la medicina reproductiva, como hemos descrito en el apartado 1, referido a la terminología en la reproducción.

La sociedad y sus modelos de fecundación se van modificando con el paso del tiempo; en primer lugar , las nuevas formas de unión junto al matrimonio tradicional hombre-mujer dan cada vez mayor peso a los nacidos de madres no casadas y en segundo término, las parejas deciden posponer el nacimiento de los hijos con lo que la edad media a la maternidad (EMM) se va incrementando de modo sostenido.

Cuando se hacen estudios de fertilidad no se valora si la esterilidad o infertilidad es la consecuencia del deseo voluntario de no tener hijos , lo que llamamos infertilidad voluntaria, o si es consecuencia de una disfunción reproductiva, infertilidad involuntaria. La capacidad de un hombre , de una mujer o de la pareja para procrear un recién nacido vivo se llama fecundidad.

También puede usarse para denominar la capacidad de concebir, por el contrario, la falta de fecundidad se denomina esterilidad o infecundidad(2).

A la demografía le interesa la dinámica poblacional, es decir, el crecimiento o decrecimiento de una población determinada, su movilidad y las causas que favorecen o coartan estos procesos.

Los incrementos poblacionales proceden de los nacimientos e inmigrantes y los decrementos de la población de las defunciones y emigrantes. La preocupación actual gira en torno al “nivel de reemplazo de la población”.

Si por algo se ha caracterizado el siglo XX ha sido por el creciente control de la fecundidad, es decir, los individuos deciden tener hijos o no y cuando tenerlos.

El desarrollo de los métodos anticonceptivos ha posibilitado el control de la natalidad. Por otro lado, el desarrollo de la medicina preventiva y curativa, permite que los procesos reproductivos sean cada vez más exitosos.

Las técnicas de reproducción asistida (TRA), han posibilitado el nacimiento de individuos en parejas que en años anteriores habrían sido estériles absolutas y definitivas.

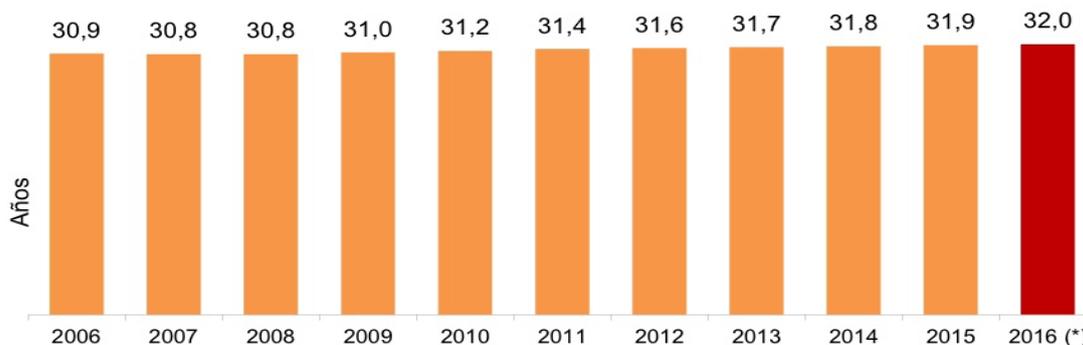
El desplazamiento o retraso de la edad media a la maternidad (EMM) ha llevado a que ella recaiga en etapas de la vida en las que la mujer es menos fecunda , aumentando la frecuencia de parejas con dificultad para concebir o llevar a cabo una gestación a término y lograr un recién nacido sano.

En España, desde los años ochenta y noventa, las parejas han decidido retrasar la fecha del nacimiento de tener sus hijos, lo que ha supuesto un incremento en la EMM.

En el año 1975 la EMM estaba por debajo de los 29 años , disminuyendo hasta alcanzar valores mínimos a finales de los años setenta y primeros ochenta llegando a los 28,2 años de media. A partir de entonces se iniciaría un constante incremento de dicha edad.

Entre 1990-1995 el incremento fue de más de 1 año. Entre 1995-2000 llega casi a los 31 años, que se supera en 2010 alcanzando los 31,7 años de media en 2013 y los 32 años en 2016, datos publicados por el Instituto Nacional de Estadística (INE). **Gráfico 1.**

### Edad Media a la maternidad 2006-2016



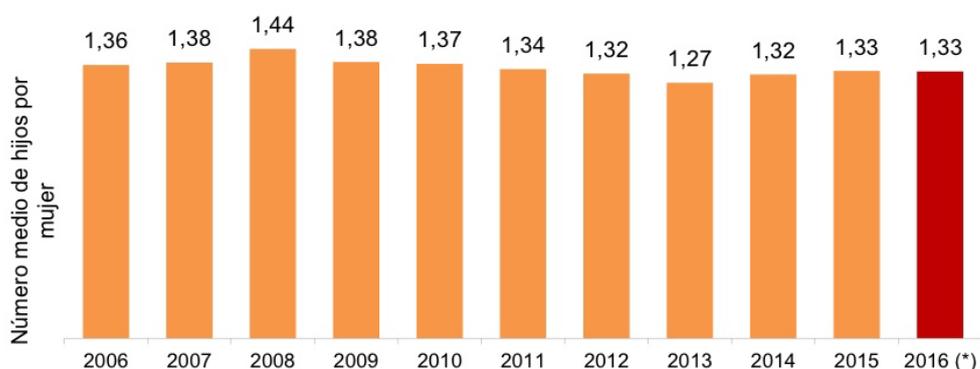
### Gráfico 1. Edad media a la maternidad en España ( 2006-2016).

( Instituto Nacional de Estadística.INE.2016).

Respecto a la fertilidad en España, el indicador coyuntural de la fertilidad (ICF) al comienzo del siglo XX, estaba por encima de los 4 hijos por mujer. La baja esperanza de vida era la responsable de que el crecimiento poblacional fuera moderado. En los años 30 la guerra civil española provocó un brusco descenso de la población en España. Pasada la guerra, en la posguerra se produce una intensa, aunque corta recuperación. Los esfuerzos por recuperar los nacimientos perdidos durante la contienda, eran neutralizados por las pésimas condiciones económicas y de salubridad, y de ello dejó testimonio la irregular evolución que tuvo la fecundidad hasta la mitad de los años 50. A partir de la mitad de los años cincuenta y hasta principios de los setenta, ésta iniciará un largo periodo de recuperación, conocido como el “babyboom”, que llegará a España diez años después con respecto a otros países de nuestro entorno europeo, que sufrió la II Guerra Mundial, al tiempo que en España se vivía la posguerra. Este periodo de recuperación de la fecundidad en España, coincide con un significativo descenso de la misma en los países del norte y centroeuropeos (2).

A partir de 1975, comenzaría en España un brutal descenso de la fecundidad que acabó reduciendo en 25 años el indicador coyuntural de fecundidad (ICF) en dos niños, pasando de 3,3 hijos en 1974 a 1,3 al final del siglo XX y situándolo por debajo del índice de reemplazo generacional (IRG) que es de 2,1 hijos por mujer. Este descenso se mantuvo constante hasta el año 1998 en que el ICF llegó a su punto más bajo de solo 1,15 hijos por mujer. A partir de aquí se iniciará un proceso de lenta recuperación, con 1,33 hijos por mujer en 2016, por debajo del 2,1 aconsejable. **Gráfico 2.**

### Indicador Coyuntural de Fecundidad 2006-2016



**Gráfico 2. Índice coyuntural de fecundidad (2006-2016).**

(Instituto Nacional de Estadística. INE.2016).

Esta evolución de la fecundidad en España se corresponde con la descrita por la teoría de la transición demográfica, que demuestra el descenso de la fecundidad como consecuencia de una mejora en la eficacia del sistema reproductivo de la población, con disminución de la mortalidad y de la fecundidad, todo ello fruto de la modernización y mejora en las condiciones económicas, y que finaliza con un equilibrio demográfico con un crecimiento poblacional cercano a cero.

Dicha teoría expresa que tras una primera fase de declive poblacional, por diferentes causas, se produce una segunda fase de rápido crecimiento compensador y por último, una fase más eficiente y con un fuerte potencial de crecimiento marcado por la evolución de la mortalidad y fecundidad.

Como es evidente la primera fase es la que se corresponde a los inicios del siglo XX, cuando la vida media en España y Europea era apenas de 40 años y la mortalidad infantil estaba entre el 10 y el 20%. La consecuencia a esta situación era una respuesta

compensadora con alta natalidad por la muerte de los primogénitos durante la primera infancia. A las parejas sólo les importaba el número de hijos que sobrevivían a las pésimas condiciones socioeconómicas, de ahí que el número medio de hijos por mujer era de 4.

La segunda fase, ocurre tras la posguerra, cuando mejora la economía y por ende las condiciones de vida y salubridad de la población. Ello causa un período prolongado de descenso de la mortalidad que origina un fuerte crecimiento poblacional, a la que se suma una alta natalidad. La restricción de los natalicios quedó compensada por una mejora de la supervivencia infantil.

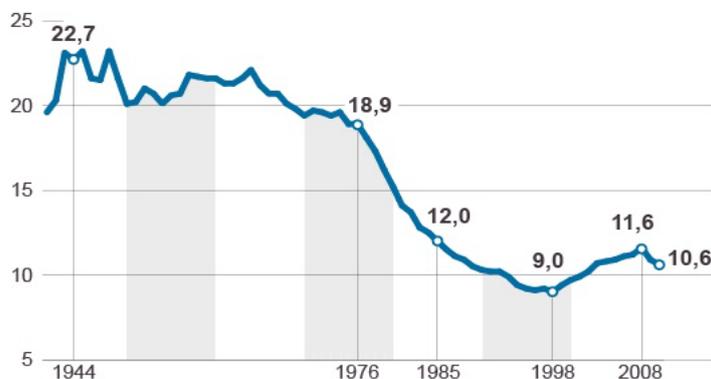
La tercera fase postransicional, reproductivamente más eficaz, debería haber alcanzado una situación de equilibrio poblacional, a expensas de bajos niveles de fecundidad y de mortalidad. Sin embargo, esa situación de equilibrio poblacional no se produjo tras la finalización de la segunda fase, y de hecho a finales de los años setenta se habla de la necesidad de un nuevo cuadro teórico, que se ha denominado “segunda transición demográfica”.

Las condiciones socio-políticas en la España de la dictadura, con un férreo control sobre los cambios sociales, retrasó la transformación hacia el nuevo modelo de fecundidad existente en el resto de Europa, más desarrollada, pero cuando se produjo, el descenso ocurrió con una mayor intensidad y rapidez (2).

La natalidad fue el principal responsable del período de crecimiento poblacional en unas 100.000 personas entre 1950 y 1964. Durante esta etapa se produjo un incremento mantenido del número de nacimientos y un equilibrio en el número de defunciones. Entre 1964 y 1976, los natalicios disminuyen de modo suave al principio para estabilizarse después. **Gráfico 3.**

### EVOLUCIÓN DE LA NATALIDAD EN ESPAÑA

Nacimientos por cada 1000 habitantes

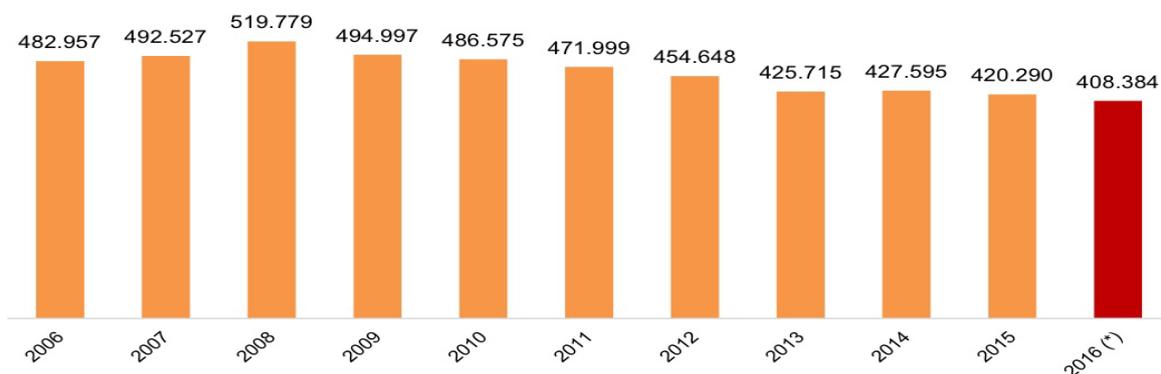


**Gráfico 3. Tasa bruta de natalidad en España ( 1944-2009).**

(Libro Blanco Sociosanitario.SEF.2012).

Entre 1975 y 1996 el número absoluto de natalicios en España cayó dramáticamente de 669.378 a 362.626, un decremento de más de 306.000 que representó un desplome de más del 45% respecto al nivel del año 1975. Aunque en el año 1998 se iniciaría una leve recuperación, en 2009 aún había casi 175.000 nacimientos menos que en 1975. Esta disminución se mantiene constante en los últimos años, exactamente 408.384 nacimientos en 2016, lo que conlleva a un crecimiento vegetativo negativo y una tasa bruta de natalidad de apenas 8,8.

Desde 2008, cuando se contabilizaron 519.779 nacimientos (el máximo en 30 años), el número de nacimientos se ha restringido un 21,4%. **Gráfico.4.**



**Gráfico 4. Evolución de la natalidad en España ( 2006-2016).**

(Instituto Nacional de Estadística.INE.2016)

El grupo de edad más afectado en esta disminución de la natalidad en España ha sido el de mujeres por debajo de los 30 años (disminución del 73% entre las mujeres de 20 a 24 años de edad) y del 54% entre las de 25 a 29 años de edad.

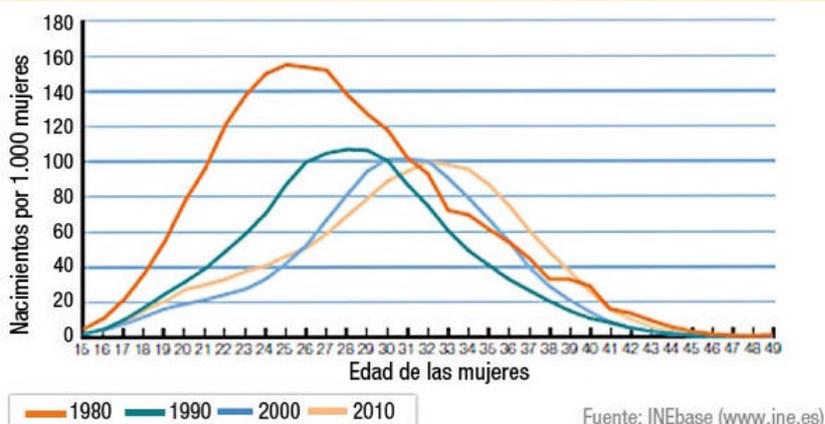
El incremento de la maternidad entre las mujeres de 30 a 39 años, con un incremento del 150% respecto al año 1975, sólo logra compensar el 38% del decremento en el grupo de mujeres menores de 30 años.

Otro aspecto a considerar en la disminución de la natalidad es respecto al comportamiento del número de nacimientos en función del orden al nacer (primer hijo, segundo, tercer y sucesivos) para conocer si ésta ocurrió de modo generalizado (sin distinguir el orden del nacimiento) o fue más intensa en determinados órdenes respecto a otros (2).

Los datos del Instituto Nacional de Estadística (INE) muestran claramente un descenso muy importante del número de familias numerosas durante las dos últimas décadas del siglo pasado consecuencia de las caídas más pronunciadas en el número de nacimientos de orden superior (más de 2 hijos).

El número total de natalicios entre los años 1975-2000 en España ha disminuido más del 40%, a expensas de los nacimientos de órdenes por encima de dos. Se registran descensos de 71%, 87,4% y 93,1% respecto a los órdenes de tres, cuatro o más.

Los descensos en los nacimientos de primer orden y segundo orden, fueron más moderados, del 16,8% y 28,4% respectivamente.



(Instituto Nacional de Estadística.INE)

### Gráfico 5. . Tasas específicas de fecundidad por edad de la madre (1980-2010).

En el **gráfico 5**, observamos como a medida que nos acercamos a 2010, disminuyen los niveles de fecundidad y se desplaza la curva hacia la derecha , hacia las madres de más edad.

Debemos considerar como datos más sobresaliente en el gráfico:

- Desplazamiento de la fecundidad máxima a edades más avanzadas.

La mayor intensidad de la fecundidad que en 1975 se daba en el grupo de madres de 25-29 años, en el 2010 correspondía al de 30-34 años. La diferencia cada vez menor entre el grupo de edad de 25-29 respecto al de 35-39 años ( 67,60 vs 61,30 nacidos por cada mil mujeres de esa edad), le sitúa a éste último como candidato a relevar en los próximos años al grupo de madres de 25-29 años (2).

- Disminución de la intensidad máxima de la fecundidad.

El valor correspondiente a la máxima intensidad en el año 2010 lleva asociado unas tasas específicas que son casi la mitad de las existentes en 1975. Mientras que en 1975 la fecundidad máxima era de 189 nacimientos por cada mil mujeres (en el grupo de 25-29 años) , en el año 2010 era solo de 101 nacidos ( grupo 30-34 años) (2).

En resumen , las mujeres tienen menos hijos y los tienen a edades más tardías.

Gracias a los elevados índices de fecundidad hasta 1976 la población en edad de tener hijos es todavía lo bastante importante como para compensar la escasa fecundidad media. Sin embargo, esta situación no se va a prolongar. Hace ya tiempo que las mujeres

nacidas tras 1976 llegaron a la edad de ser madres, con lo que el efecto de ello en la estructura poblacional será negativo y ello necesitará un aumento de la fecundidad media para compensar dicho crecimiento poblacional negativo.

En las últimas décadas se ha producido un aumento en la edad media a la maternidad, la edad a la que se tiene el primer hijo, de casi cuatro años.

Los límites fijos que propone la fisiología femenina para poder ser madre y el hecho del aumento de la edad materna a la que se produce el nacimiento del primer hijo, acortan el período de tiempo en el que se producen los nacimientos en la vida de las mujeres.

Por otro lado, un punto fundamental en el tema que estamos tratando es el de la migración, factor clave en la evolución demográfica de cualquier comunidad y por supuesto de nuestro país, cuya evolución en las últimas décadas no puede entenderse sin evaluar dicho fenómeno.

La intensidad de las inmigraciones en las últimas décadas, con mayor fuerza en los últimos años, ha sido responsable de que, a pesar de un discreto crecimiento poblacional en nuestro país, se haya producido el mayor incremento poblacional de su historia, cuyo número se reducirá en los próximos años según proyecciones del INE.

El Instituto Nacional de Estadística (INE) ha realizado una proyección hasta mitad de siglo XXI, en el que afirma que el flujo de inmigración extranjera se reducirá a una media de 300.000-350.000 a partir del año 2018, tras la drástica reducción en el año 2008.

Por otro lado, Europa ha recuperado durante la primera década del presente siglo la tasa de fecundidad, pasando de 1,46 hijos por mujer en el año 2000 a 1,60 en el año 2008, media que se ha mantenido con ligeras variaciones en la década presente, contribuyendo a ella los países del norte y centroeuropeos.

El mapa europeo de la fecundidad, se ha invertido respecto a la situación del mismo en el año 1975, siendo los países del norte de Europa los que presentan las mayores tasas de fecundidad. En el año 2008, Irlanda y Francia con 2,1 y 2 hijos por mujer respectivamente, eran los dos únicos países que no bajaban de dos hijos por mujer, cumpliendo con el índice de reemplazo generacional óptimo. Noruega y Reino Unido con 1,96 y Suecia y Dinamarca con 1,91 están en un segundo escalón en tasa de fecundidad.

Entre los países menos fecundos se encuentra Alemania y Portugal con 1,36 y 1,31 e Italia con 1,42 en 2008, y España con 1,39 en el año 2009. Alrededor del año 1975, los países del norte de Europa invierten la tendencia que habían mantenido en la década de los sesenta de nacimientos a edades más tardías, situación que se establece algunos años después en el sur de Europa, con España e Italia a la cabeza (2).

#### **4. Los estudios y tratamientos de la infertilidad.**

La esterilidad se define como la imposibilidad de uno o de ambos miembros de la pareja para la concepción natural en un período de tiempo razonable. Se acepta que el estudio para valorar la causa de la esterilidad se inicie al año de tener relaciones sexuales frecuentes con dicho fin. Ese período de tiempo no se ha elegido de modo aleatorio, sino que está basado en un estudio clásico que evalúa la posibilidad de embarazo de las parejas fértiles (50).

Según, el citado estudio la posibilidad de embarazo en el primer mes de relaciones sexuales sin método anticonceptivo alguno de una pareja fértil es de un 20%, llegando al 93% la posibilidad acumulada de embarazo en el primer año de relaciones.

La fertilidad tiene una relación directa con la edad de la mujer; un estudio de 1986, publicado en Science, afirmaba que la frecuencia de esterilidad del 10% en una mujer entre 20 y 29 años pasaba al 25% en el rango de entre 30 y 39 años de edad y al 50% en mujeres por encima de los 40 años. La fertilidad masculina también está afectada por la edad, de modo que disminuye un 23% anual a partir de los 35 años (2).

Según la OMS, alrededor de 80 millones de personas están afectadas por la infertilidad en el mundo. En España, es cerca del millón de parejas las que necesitan acudir a técnicas de reproducción asistida (TRA).

La demografía sólo describe las parejas sin hijos sin tener en cuenta la voluntariedad o involuntariedad lo que conlleva un sesgo en la valoración de la misma infertilidad.

España es líder europeo en el número de ciclos de reproducción asistida y a nivel mundial el tercero tras EEUU y Japón. En el año 2015 se han registrado por la Sociedad Española de Fertilidad (SEF) unos 54.000 ciclos, número subestimado pues no todos los centros de reproducción envían sus datos al Registro de la SEF (77).

No obstante, se debe iniciar el estudio de esterilidad antes del año establecido e incluso inmediatamente según ciertas circunstancias, siendo la más importante si la mujer tiene por encima de los 35 años de edad.

La prevalencia de la infertilidad se sitúa alrededor del 14%, aproximadamente una de cada siete parejas en edad fértil va a tener dificultades para tener un hijo.

Las causas de esterilidad se distribuye de la forma siguiente: 30% de causa femenina, 30% de causa masculina, 25% de causa mixta y el 15% restante no se identifica causa, es la llamada causa de origen desconocido (EOD) o sin causa aparente. Todo ello implica que deben estudiarse a ambos miembros de la pareja a la vez.

Las pruebas diagnósticas para el estudio de la infertilidad se han ido simplificando con los años, pues algunas eran imperfectas, demoraban el inicio del tratamiento encareciendo el mismo. Con los avances en las técnicas de reproducción, son los mismos tratamientos los que van a aportar una información más veraz de las posibles causas de la esterilidad (51).

El estudio de la mujer con disfunción reproductiva se debe iniciar con una anamnesis completa, bien orientada junto a una exploración física y ginecológica adecuada.

Para valorar si el ovario tiene una función correcta es suficiente preguntar sobre el ciclo menstrual. Una mujer con reglas cada 26-36 días ovulará regularmente.

A medida que aumenta la edad de la mujer, disminuye la cantidad de folículos con capacidad de desarrollo y maduración, es lo que se denomina el "pool folicular", pero también disminuye la calidad del folículo, que va unida a la edad de la mujer. Ello sin embargo, no siempre es así, pues hay pacientes jóvenes que se comportan como mujeres añosas y viceversa, mujeres añosas que se comportan funcionalmente como jóvenes.

Para poder establecer el potencial reproductivo de la mujer que presenta infertilidad es fundamental establecer lo que se denomina la reserva ovárica, que es la capacidad del ovario para responder al tratamiento de estimulación ovárica que derivará en una posibilidad de gestación tras los procedimientos adecuados e indicados (52).

La determinación de los niveles de la hormona folículo estimulante (FSH), el estradiol y la hormona luteinizante (LH) en los tres primeros días del ciclo menstrual, ha sido una prueba diagnóstica determinante para poder establecer la reserva ovárica y predecir la respuesta a los tratamientos de reproducción y en menor medida, la probabilidad de conseguir la gestación (53).

Se han buscado otros marcadores indirectos de reserva ovárica y en la actualidad son más importantes el recuento folicular antral (RFA) realizado por ecografía transvaginal y la determinación de la hormona anti-mülleriana (AMH).

El RFA es relativamente sencillo, reproducible, no dependiente del ciclo menstrual, aunque es aconsejable realizarlo al inicio del mismo, que se debe hacer de modo sistemático para predecir la respuesta ovárica a los tratamientos de reproducción (54).

Los niveles de AMH parece que constituyen un reflejo más fiel de la cantidad de folículos restantes del ovario, lo que hemos denominado reserva ovárica.

Según estudios más recientes la AMH parece constituir el principal marcador de la reserva ovárica (55).

En cuanto a la valoración del cérvix y cuerpo uterino existen diferentes técnicas:

- La entrada de la cánula de transferencia embrionaria en la prueba de transferencia, nos permite valorar el canal cervical. La imposibilidad o dificultad en dicho paso, nos debe llevar a realizar una cervico-histeroscopia diagnóstica para valorar el mismo y dar solución al problema existente.

En cuanto a la valoración del cuerpo uterino, la morfología uterina:

- La ecografía transvaginal y la histerosonografía: la primera nos permite comprobar la morfología anatómica del útero. Ante la presencia ecográfica de alguna anomalía en la propia cavidad se debe ampliar el estudio con una histerosonografía (56).
- Ante la sospecha de patología en la cavidad endometrial, la prueba diagnóstica indicada es la histeroscopia, que nos permite una visión directa del útero por dentro y realizar la cirugía necesaria.
- La laparoscopia nos permite la visión directa del contorno uterino, fundamental en sospecha de malformaciones uterinas.

La permeabilidad de las trompas uterinas puede comprobarse mediante el uso de sustancias líquidas que con ayuda de los métodos de exploración habituales, demuestran el paso de dicho contraste desde la cavidad uterina hacia la cavidad pélvica. Normalmente se han usado la histerosalpingografía (HSG) y la laparoscopia (LPC).

La HSG tiene un 93% de sensibilidad y un 90% de especificidad para el diagnóstico de la obstrucción tubárica (57) respecto a la laparoscopia, lo cual demuestra la validez de la histerosalpingografía como prueba diagnóstica.

La detección en suero de los antígenos frente a Clamydia, puede ser una alternativa en pacientes en las que no sea recomendable la realización de la HSG, al ser agente responsable de gran parte de la patología tubárica en nuestro medio.

En el varón, la prueba básica diagnóstica, es el seminograma, se considera normal una concentración > 15 millones por ml, una movilidad A+B mayor o igual al 39% , o una movilidad progresiva del 32% o mayor y una morfología estricta (ME) igual o superior al 4% (58). Si se detecta alguna anomalía en alguno de los parámetros referidos , se realizará un segundo seminograma con la valoración del recuento de espermatozoides móviles (REM). En función de los resultados obtenidos se valorará el tratamiento de reproducción que mejor posibilidad de embarazo ofrezca.

En resumen, el conjunto de pruebas diagnósticas van encaminadas a:

- Demostrar que la mujer ovula, para lo que es suficiente comprobar que tiene una menstruación cada 28 +/- 7 días. En mujeres mayores de 35 años se determina de forma basal la FSH y el estradiol, y se realizará el recuento de folículos antrales para valorar la reserva ovárica. Si los niveles de FSH son superiores a 15, se completará el estudio con otras pruebas para evaluar la reserva ovárica (AMH, inhibina B).
- Constatar que el semen es normal con la realización de un seminograma.
- Demostrar la normalidad del aparato genital femenino, para lo cual basta una ecografía transvaginal que explore el útero y los ovarios, que complementaremos con una histerosonografía en caso de sospecha de anomalía endometrial y con histeroscopia si fuera necesaria.
- En casos en los que la historia reproductiva de la mujer y el semen lo permita se realizará una histerosalpingografía para valorar el factor tubárico.

En este punto, se define el tratamiento para la pareja o se realizan exploraciones complementarias si el estudio básico lo requiere.

En función del diagnóstico, tres grandes grupos de tratamiento son posibles:

- Inseminación artificial (IA).
- Fecundación in vitro (FIV).
- Donación de ovocitos .

La inseminación artificial (IA) es la técnica que permite depositar el semen previamente capacitado en la cavidad uterina.

Para poder realizar la IA es necesaria la permeabilidad tubárica, al menos una de las trompas, un canal genital normal, y un seminograma por parte del varón con un recuento de espermatozoides móviles (REM) mayor a 3 millones (59).

Como paso previo a la inseminación propiamente dicha, la mujer es estimulada mediante gonadotropinas con la finalidad de obtener 1 o 2 folículos de tamaño adecuado (60).

La inseminación se realiza con una cánula intrauterina que permite el depósito del semen capacitado en la cavidad del útero.

El número de inseminaciones a realizar en cada ciclo, en cada intento, suele ser de una o dos veces.

El número total de ciclos de inseminación que se suelen realizar es de un máximo de 4 en el caso de IA con semen de pareja y hasta 6, en caso de realizar la inseminación con semen de un banco de donantes (61).

La fecundación in vitro (FIV) es la técnica de reproducción asistida mediante la cual la unión de los gametos (ovocito y espermatozoide) ocurre en el laboratorio FIV. Los embriones resultantes son transferidos al útero para obtener la gestación.

El éxito de las técnicas de reproducción asistida se incrementó cuando se introdujeron los fármacos que permitieron la estimulación ovárica de modo controlado aumentando la respuesta ovárica y evitando una ovulación extemporánea.

La estimulación ovárica puede realizarse mediante la combinación de varios tipos de fármacos, que vamos a enumerar:

- Análogos de la GnRH (hormona liberadora de gonadotropina): antagonistas o agonistas (62,63,64).
- Diferentes tipos de gonadotropinas: FSH recombinante o urinaria, HMG, hormona luteinizante (LH). (65,66,67).
- Con inductores de la ovulación: como letrozol o citrato de clomifeno (68,69).

En pacientes con baja respuesta o de avanzada edad con respuesta escasa a la estimulación ovárica, pueden obtenerse los óvulos en un ciclo natural sin medicación, o bien con un ciclo natural con medicación a baja dosis , lo que se conoce como ciclo natural modificado (70).

La dificultad técnica para poder congelar los óvulos, de igual forma que con el semen, condicionó durante largo tiempo los resultados de las técnicas de reproducción.

Aquellos casos de alta respuesta al tratamiento o bien era cancelado o se continuaba asumiendo los riesgos de la hiperestimulación ovárica de la paciente.

Con la llegada de la vitrificación ovocitaria (técnica de laboratorio que permite la congelación de los ovocitos y almacenarlos largo tiempo sin perjuicio) se ha optimizado la estimulación ovárica y logrado uno de los grandes avances en el campo de la medicina de la reproducción.

La vitrificación ovocitaria se realiza hoy día en: (71)

- En la alta respuesta para evitar el síndrome de hiperestimulación ovárica.
- En las bajas respuestas para conseguir un número de ovocitos adecuado, tras varias recuperaciones ovocitarias, para aumentar la posibilidad de gestación.
- En las pacientes que desean posponer el tratamiento de reproducción (pacientes oncológicas, sin pareja y otros motivos que impiden realizar el tratamiento en el momento presente).
- En aquellos casos que presentan alteraciones hormonales durante la estimulación ovárica que pueden afectar el resultado del ciclo y desaconsejan la transferencia en fresco (luteinización precoz, endometrio inadecuado,etc).

Por tanto, cuando se va a realizar un ciclo de FIV/ICSI, los ovocitos pueden proceder de un ciclo en fresco o bien haber sido vitrificados en estimulaciones previas, realizando

posteriormente la transferencia embrionaria con las mismas posibilidades de éxito, gracias a la vitrificación que permite un mantenimiento excelente de los ovocitos.

Una vez realizada la inseminación ovocitaria, bien convencional (FIV) o mediante ICSI, tenemos los embriones resultantes que serán posteriormente transferidos en diferentes estadios de desarrollo:

- Embriones en estadio de células ( día 2 o día 3 de desarrollo) ( D2-D3).
- Embriones en estadio de blastocisto ( día 5 o día 6 de desarrollo) ( D5-D6).

En algunos casos, los embriones son sometidos a manipulación en día 3 o día 5 de desarrollo para poder biopsiar una o varias células embrionarias y analizarlas mediante FISH y/o PCR. Estas técnicas permiten el diagnóstico genético preimplantacional de los embriones susceptibles de anomalías génicas o cromosómicas antes de la embriotransferencia (72).

La donación de ovocitos es la técnica de reproducción asistida en la que los ovocitos proceden de una mujer distinta a la que va a gestar (receptora) (73).

A la vez que proporciona los mejores resultados de todas las técnicas de reproducción, actualmente está ampliando sus múltiples indicaciones (74).

Para realizar la donación ovocitaria es necesario los siguientes pasos:

- Estimulación ovárica de la mujer donante.
- Cuando los óvulos son recuperados mediante la punción folicular, son inseminados por el semen de la pareja de la mujer receptora. Ello se denomina "ovodonación".
- Preparación endometrial por parte de la receptora de los embriones para conseguir un adecuado endometrio con capacidad de implantación. Ello se puede conseguir en ciclo natural sin medicación alguna, aprovechando el ciclo menstrual de la receptora o en ciclo sustituido con estrógenos y uso de análogos de la GnRH ( tanto antagonistas como agonistas) para que no haya interferencia por parte del ovario que permita mantener un endometrio receptivo durante un largo período de tiempo (75).

La incorporación de la vitrificación ovocitaria en donantes ha permitido la creación de un banco de ovocitos lo que posibilita la mejor sincronización entre donantes y receptoras, aumentando sin lugar a dudas la calidad del programa de donación; permitiendo una mejor programación, disminuyendo la espera de entrada a dicho programa y la tasa de cancelación en las receptoras (76).

##### **5. Técnicas de reproducción asistida.**

En las técnicas de reproducción asistida (TRA) , y más concretamente, en los ciclos de fecundación in vitro (FIV) la prioridad es la obtención de un número suficiente de ovocitos maduros, de calidad , que tras ser fertilizados conseguir embriones de la mejor calidad para transferir e intentar conseguir un embarazo y por último, un niño sano, preferiblemente a término y único en casa.

Desde hace más 40 años, la primera niña conseguida mediante FIV, Lousie Brown, nace en 1978, los avances en el campo de la medicina reproductiva han sido indudables , con la mejoría en los fármacos, con la introducción de la FSH-recombinante conseguida mediante ingeniería genética, introducción de los análogos de la GnRH, especialmente con el uso de los antagonistas de la GnRH, evolución de los protocolos de estimulación, mejoría en el laboratorio FIV , en medios de cultivo, vitrificación, sin embargo, a pesar de ello la tasa de gestación por transferencia embrionaria no pasa del 40-45% en el mejor de los casos, hablando de transferencia embrionaria en fresco con ovocitos propios.

En el registro SEF ( Sociedad Española de Fertilidad) del años 2015, la tasa de gestación por transferencia es de un 36,4% (77).

Por ello la predicción del resultado de un ciclo FIV ha sido objeto de investigación clínica durante estos años. Varios marcadores o variables se han utilizado para intentar predecir las posibilidades de embarazo mediante FIV.

Marcadores:

- 1.- FSH basal, hormona folículo estimulante , determinada en la fase folicular precoz (entre el 2º y 4º día del ciclo menstrual) (78).
- 2.- Estradiol basal, determinado en la fase folicular precoz. (79).
- 3.- Niveles de Inhibina A y B (80).
- 4.- Tipo y duración de la esterilidad.
- 5.- Número de ovocitos recuperados.
- 6.- Método de fertilización.
- 7.- Número de embriones transferidos.
- 8.- Calidad embrionaria (81).
- 9.- Recuento de folículos antrales que informa de la reserva ovárica funcional, FSH dependiente (81).
- 10.-Hormona anti-mülleriana (AMH) que refleja la reserva ovárica intermedia, independiente a la FSH (82).
- 11.-Edad de la mujer (84).

Se ha descrito que estos marcadores tienen un aceptable poder predictivo del resultado del ciclo FIV , pero a veces dichos resultados han sido contradictorios (85,86).

Otras veces, se han manejado diferentes variables de modo conjunto, observando un mayor poder predictivo con ello (87,88).

En un metaanálisis publicado en 2010 (81), que incluye 14 estudios aleatorizados controlados ( EAC) , se encuentra una asociación negativa entre el embarazo y la edad de la mujer, con el tiempo de esterilidad y la FSH basal, y asociación positiva con el número de ovocitos recuperados y la calidad embrionaria, ello de modo no significativo.

No se encontró asociación significativa con el tipo de esterilidad y método de fecundación.

Dicho trabajo concluye con la necesidad de plantear nuevos estudios para determinar los factores predictivos de éxito en la fecundación in vitro.

Bajo esa premisa, el objetivo del presente trabajo, que presentamos para la obtención del grado de doctor, es predecir las probabilidades de gestación en pacientes con esterilidad primaria a las que se les va a realizar FIV-ICSI ( Fecundación in vitro- Inseminación espermática intracitoplasmática) como técnica de reproducción asistida (TRA) con transferencia en fresco, usando diferentes variables:

1.- Características basales de la paciente, determinadas previamente a la estimulación ovárica controlada ( EOC):

1.1. Edad.

1.2. IMC (índice de masa corporal).

1.3. FSH basal.

1.4. Estradiol basal.

2.- Segundo grupo de variables, estimulación ovárica y técnica de laboratorio:

2.1. Tipo de gonadotropina empleada para la estimulación ovárica.

2.2. Tipo de protocolo de estimulación ovárica.

2.3. Tipo de técnica de inseminación ovocitaria en el laboratorio FIV.

2.4. Clínica concertada donde se lleva a cabo la finalización de la estimulación ovárica, maduración y recuperación ovocitaria, fertilización, control de desarrollo embrionario y transferencia embrionaria en fresco.

3.- Tercer grupo de variables, definidas tras la recuperación ovocitaria:

3.1. Número de ovocitos totales recuperados.

3.2. Número de ovocitos MII.

3.3. Número de ovocitos fecundados ( cigotos).

3.4. Número de embriones criopreservados sobrantes.

3.5. Número de embriones transferidos.

3.6. Día de transferencia embrionaria.

Con todo ello, trataremos de valorar qué variables de las descritas, pueden predecir el objetivo de toda técnica de reproducción asistida, que es conseguir un niño a término

sano en casa, y cuyo primer paso es la obtención de una B-hCG positiva, confirmando la gestación por ecografía transvaginal a partir de la 7ª semana.

Este trabajo, es un estudio retrospectivo de mujeres, con diagnóstico de esterilidad primaria, sometidas a un ciclo de FIV-ICSI, en número de 1631 pacientes, con un total de 2008 ciclos FIV-ICSI con transferencia en fresco realizados en la Unidad de Reproducción Asistida ( URA) del Servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca ( HCUVA) , hospital público de referencia de la Región de Murcia, entre enero de 2009 hasta octubre de 2013.

A partir, del estudio estadístico, realizado por el Dr. Manuel Canteras Jordana, catedrático de Estadística de la Universidad de Murcia ( UMU), estableceremos cuál de las variables consideradas, pueden predecir la posibilidad de gestación antes de realizar el ciclo FIV-ICSI.



## **II. HIPÓTESIS de TRABAJO .**

### **OBJETIVOS.**



## II. HIPÓTESIS de TRABAJO.

La predicción del resultado de un ciclo FIV ha sido objeto de investigación clínica durante años y por diversos autores. Varios marcadores o variables se han utilizado para intentar predecir las posibilidades de embarazo mediante FIV.

Marcadores utilizados:

- 1.- FSH basal, hormona folículo estimulante , determinada en la fase folicular precoz ( entre el 2º y 4º día del ciclo menstrual) (78).
- 2.- Estradiol basal, determinado en la fase folicular precoz. (79).
- 3.- Niveles de Inhibina A y B (80).
- 4.- Tipo y duración de la esterilidad.
- 5.- Número de ovocitos recuperados.
- 6.- Método de fertilización.
- 7.- Número de embriones transferidos.
- 8.- Calidad embrionaria (81).
- 9.- Recuento de folículos antrales ( RFA) que informa de la reserva ovárica funcional, FSH dependiente (81).
- 10.-Hormona Antimulleriana (AMH) que refleja la reserva ovárica intermedia, independiente a la FSH (82).
- 11.-Edad de la mujer (84).

Se ha descrito que estos marcadores tienen un aceptable poder predictivo del resultado del ciclo FIV , pero a veces dichos resultados han sido contradictorios(85,86).

Otras veces, se han manejado diferentes variables de modo conjunto, observando un mayor poder predictivo con ello (87,88).

En un metaanálisis publicado en 2010 (81), que incluye 14 estudios aleatorizados controlados ( EAC) , se encuentra una asociación negativa entre el embarazo y la edad de la mujer, con el tiempo de esterilidad y la FSH basal, y asociación positiva con el número de ovocitos recuperados y la calidad embrionaria, ello de modo no significativo.

No se encontró asociación significativa con el tipo de esterilidad y método de fecundación.

Dicho trabajo concluye con la necesidad de plantear nuevos estudios para determinar los factores predictivos de éxito en la fecundación in vitro.

Basado en lo descrito anteriormente, definimos la siguiente **hipótesis de trabajo**:

“ Intentar pronosticar el resultado de un ciclo FIV , fecundación in vitro, con transferencia embrionaria en fresco con ovocitos propios , a partir de determinadas variables tanto de las propias pacientes sometidas a tratamiento de reproducción, definidas antes de iniciar el ciclo de estimulación, como de las propias características del ciclo FIV en su desarrollo y técnica de laboratorio y de las características del ciclo tras la recuperación ovocitaria”.

### **OBJETIVO PRINCIPAL.**

Valorar si las diferentes características de las pacientes con diagnóstico de esterilidad primaria sometidas a FIV, con transferencia en fresco con ovocitos propios, así como las características del ciclo de estimulación y del desarrollo del mismo pospunción, pueden pronosticar la consecución de la gestación clínica y evolutiva, como paso previo a lograr un niño sano en casa, finalidad de toda técnica de reproducción asistida (TRA). En total se van a analizar un total de 14 variables , divididas en tres grupos:

1º.- **Características basales de la paciente**, determinadas previamente a la estimulación ovárica controlada ( EOC):

1. Edad.
2. IMC ( Índice de masa corporal).
3. FSH basal.
4. Estradiol basal.

**2º. Características del propio ciclo de estimulación ovárica y técnica de laboratorio:**

5. Tipo de gonadotropina empleada para la estimulación ovárica.
6. Tipo de protocolo de estimulación ovárica.
- 7.. Tipo de técnica de inseminación ovocitaria en el laboratorio FIV.
- 8.. Clínica concertada donde se lleva a cabo la finalización de la estimulación ovárica, maduración y recuperación ovocitaria, fertilización, control de desarrollo embrionario y transferencia embrionaria en fresco.

**3º. Características del ciclo FIV postpunción, definidas tras la recuperación ovocitaria:**

9. Número de ovocitos totales recuperados.
10. Número de ovocitos maduros metafase II (MII).
11. Número de ovocitos fecundados ( cigotos).
- 12.. Número de embriones criopreservados sobrantes.
13. Número de embriones transferidos.
14. Día de transferencia embrionaria.

Con todo ello, trataremos de valorar qué variables de las descritas, pueden predecir el objetivo de toda técnica de reproducción asistida, que es conseguir un niño a término sano en casa, y cuyo primer paso es la obtención de una B-hCG positiva, confirmando la gestación por ecografía transvaginal a partir de la 7ª semana.

Este trabajo, es un estudio retrospectivo de mujeres, con diagnóstico de esterilidad primaria entre los 21 y 40 años de edad , sometidas a un ciclo de FIV-ICSI, en número de 1631 pacientes, con un total de 2008 ciclos FIV-ICSI con transferencia en fresco realizados en la Unidad de Reproducción Asistida ( URA) del Servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca ( HCUVA) , hospital público de referencia de la Región de Murcia, entre enero de 2009 hasta octubre de 2013.

## **OBJETIVOS SECUNDARIOS.**

Analizar las características basales de las pacientes: edad, IMC, FSH basal y estradiol basal.

Analizar las características del ciclo de estimulación ovárica que incluye: protocolo de estimulación, gonadotropina utilizada, técnica de inseminación ovocitaria usada y clínica concertada donde se ha realizado la última fase del ciclo FIV.

Analizar las características del ciclo postpunción que incluye: número de ovocitos totales recuperados, número de ovocitos MII , número de cigotos, número de embriones criopreservados sobrantes, número de embriones transferidos y día de la transferencia.

Análisis estadístico de las distintas variables , estudio estadístico, dirigido por el Dr. Manuel Canteras Jordana, catedrático de Estadística de la Universidad de Murcia ( UMU), enfocado en la asociación con significación estadística o no en relación a la tasa de gestación, para establecer qué variables son factores predictivos de gestación en mujeres que van a someterse a FIV-ICSI, objetivo final del presente trabajo,

### **III . MATERIAL Y MÉTODOS.**



### III. MATERIAL Y MÉTODOS.

Estudio retrospectivo de 2008 ciclos de FIV-ICSI realizados en 1631 pacientes, mujeres entre 21 y 41 años de edad sometidas a FIV-ICSI con transferencia en fresco tras diagnóstico de esterilidad primaria, tratadas en la Unidad de Reproducción Asistida (URA) del Servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca de Murcia, hospital público de referencia de la Región de Murcia, entre enero de 2009 y octubre de 2013.

Se seleccionan los ciclos de la base de datos de la URA, correspondientes a parejas sometidas a FIV-ICSI con semen de pareja y transferencia en fresco, sin considerar los ciclos de criotransferencia, ovodonación e ICSI-DGP.

Se consideran las siguientes variables:

1.- Características basales de la paciente:

1.1. **Edad:** dividido en 3 grupos, establecidos por la SEF (77):

- <35 años
- 35 a 39 años
- 40 o mayores.

1.2. **IMC (índice de masa corporal):** dividido en los 5 grupos establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (89).

- <18,5 (delgadez),
- 18,5 a 24,9 (normopeso)
- 25 a 29,9 (sobrepeso)
- 30 a 34,9 (obesidad)
- $\geq 35$  (obesidad severa).

1.3. **FSH basal** determinada en fase folicular precoz, definido en UI/L, dividido en 4 rangos:

- $\leq 10$
- > 10 a 12
- > 12 a 15
- > 15.

1.4 **Estradiol basal** determinada en fase folicular precoz , definido en pg/ml, dividido en 4 rangos:

- $\leq 70$
- $> 70$  a  $80$
- $> 80$  a  $100$
- $> 100$ .

2.- Características del ciclo de estimulación y técnica de laboratorio:

2.1. **Tipo de gonadotropina** utilizada, para la estimulación ovárica.

La hormona folículo estimulante (FSH) es una gonadotropina de origen hipofisario que actúa sobre las células de la granulosa ovárica.

Su función principal es el reclutamiento, desarrollo folicular.

El tratamiento exógeno con FSH permite el desarrollo de múltiples folículos en un ciclo de estimulación ovárica en reproducción asistida.

Existen diferentes tipos de FSH en el mercado, con diferentes características entre ellas. Podemos diferenciar básicamente la FSH de origen urinario y la FSH recombinante.

La gonadotropina más antigua que continúa utilizándose, la gonadotropina menopáusica humana (hMG), se obtuvo en los años 70. Se recoge de la orina de mujeres menopáusicas. Se trata de una combinación de FSH y hormona luteinizante (LH) en una proporción 1:1. Posteriormente, fueron apareciendo otras gonadotropinas también de origen urinario, como la FSH purificada ( FSH-P) y la FSH altamente purificada ( FSH-HP) (92).

En los inicios de los años 90, el desarrollo de la tecnología recombinante de ADN permitió la síntesis de una FSH recombinante (rFSH). En 1999, se lanza al mercado la Beta-Folitropina, que presenta las ventajas de una gran pureza, menor variabilidad interproducto y libre de todo contaminante proteínico, lo que la hace menos inmunógena y evitando la posible transmisión de priones.

En cuanto a la indicación médica, del uso de uno u otro tipo de gonadotropina, en el año 2011, la Cochrane realizó una revisión (93) que buscaba homogeneizar los resultados previos, comparando la rFSH con las gonadotropinas urinarias (hMG,

FSH-P, FSH-HP), incluyéndose en dicha revisión 42 ensayos clínicos con un total de 9606 pacientes. La conclusión general fue que no había diferencias significativas entre hormonas recombinantes y urinarias.

La alta potencia estadística de los resultados de dicha revisión hace innecesario la recomendación de otros estudios comparativos, de modo que la elección de un tipo u otro de gonadotropina dependerá de la preferencia del clínico, disponibilidad y coste.

A pesar de factores pronósticos bien estudiados en la respuesta al tratamiento con gonadotropinas, existen pacientes con respuestas más bajas a las predecibles. Estas variaciones parecen deberse a la variabilidad genética individual<sup>(124,125)</sup>.

La variación genética más estudiada a día de hoy en relación a la diferente respuesta al tratamiento con FSH son los polimorfismos en el receptor de la FSH (94).

Por ejemplo, pacientes con el alelo S680 requieren una mayor cantidad de FSH exógena para el desarrollo folicular. El polimorfismo del gen FSH-recombinante en la posición 680 está asociado a diferentes respuestas en la estimulación ovárica controlada.

## **2.2. Tipo de protocolo de estimulación ovárica** empleado, tres tipos:

protocolo largo con análogos, protocolo corto/ultracorto y protocolo con antagonista.

### **2.2.1. Protocolo largo con análogos de la GnRH ( fig.1).**

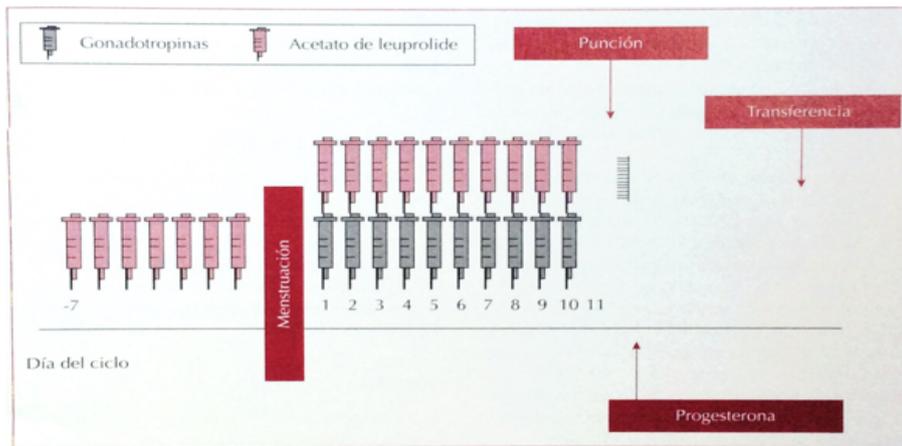
Los agonistas de la GnRH son moléculas derivadas de la sustitución de aminoácidos en la secuencia de GnRH, en posiciones 6 o 10. Tienen un efecto inicial, de liberación masiva de gonadotropinas en la hipófisis, efecto flare up o llamarada y posteriormente, un efecto a largo plazo, entre 1 y 3 semanas, que causa desensibilización hipofisaria con bloqueo temporal de su función.

La utilización de los agonistas de la GnRH fue uno de los avances en los protocolos de estimulación ovárica, evitando el pico de LH y la ovulación espontánea, permitiendo un desarrollo sincrónico folicular.

El protocolo largo, consiste en iniciar la administración del agonista en la mitad de la fase lútea del ciclo previo ( día 18-22) y continuar hasta el inicio de la

menstruación, cuando comienza la estimulación con gonadotropinas, reduciendo en este momento, la dosis del análogo a la mitad hasta el día de la descarga ovulatoria (bolo de hCG).

El objetivo es conseguir un crecimiento folicular coordinado y una maduración folicular simultánea. Además, permite programar el ciclo en cuanto a decidir cuándo empezar la estimulación.

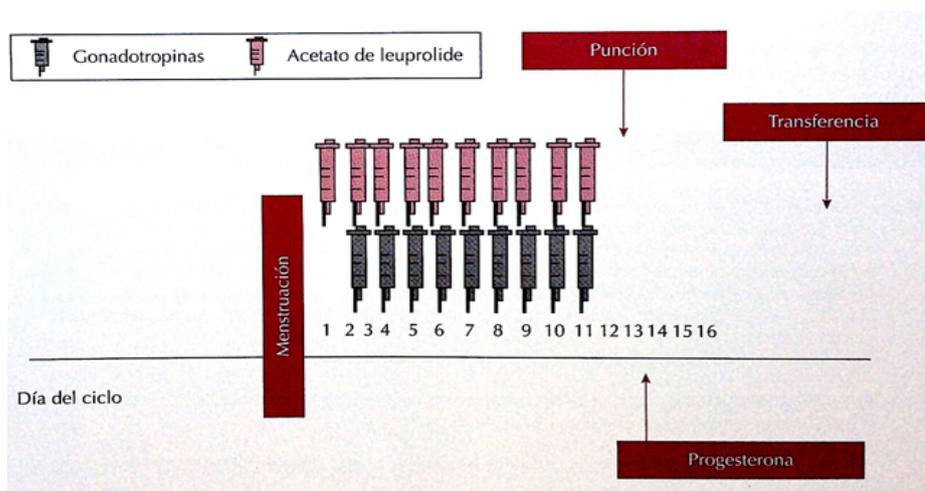


### Protocolo largo con agonistas ( fig.1).

#### 2.2.2.1. Protocolo corto ( fig.2).

Consiste en iniciar el agonista los días 1º o 2º del ciclo, y administrarlo hasta la descarga ovulatoria con hCG.

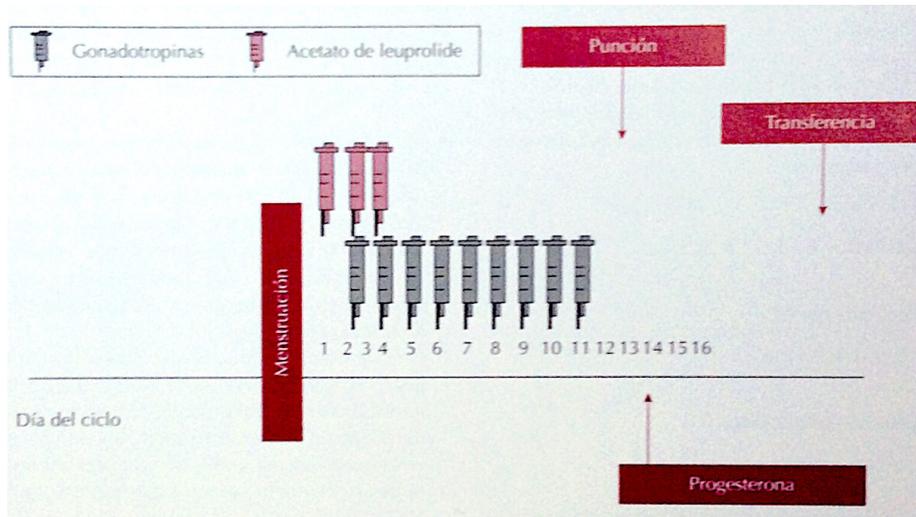
El objetivo es utilizar el fenómeno “ flare up” o llamarada para reclutar el mayor número de folículos posibles. Indicado en bajas respondedoras.



### Protocolo corto ( fig.2).

### 2.2.2.2. Protocolo ultracorto ( fig.3).

En este caso, los agonistas se administran sólo los tres primeros días del ciclo. Se indica en pacientes con baja respuesta.



### Protocolo ultracorto (fig.3).

### 2.2.3.. Protocolo con antagonista (fig.4).

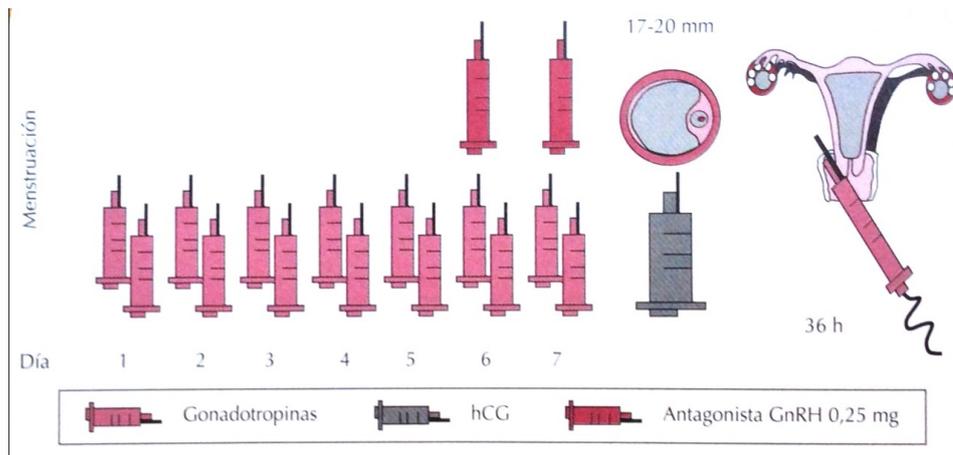
Los antagonistas de la GnRH son análogos de la molécula original de la GnRH, con modificaciones de aminoácidos en las posiciones 1,2,3,6 y 10.

Los antagonistas se unen competitivamente a los receptores de GnRH hipofisarios sin activarlos, generando un bloqueo inmediato y persistente, evitando la acción de la GnRH endógena. Con ello se induce una inhibición inmediata y rápida de la secreción de FSH y LH, sin efecto “ flare up”.

Al mismo tiempo la secreción de gonadotropinas se recupera rápidamente en cuanto cesa su administración.

Tienen una vida media plasmática más breve que los agonistas, alcanzando niveles máximos en sangre entre 1 y 2 horas desde su administración subcutánea, con una supresión máxima de la producción de LH a las 4 horas.

Los antagonistas de la GnRH administrados durante la fase folicular permite evitar la descarga endógena de LH.



#### Protocolo con antagonista( fig.4).

Las ventajas frente a los agonistas de la GnRH son:

1. No producen efectos por deprivación estrogénica post flare up.
2. Menor duración de los ciclos, con menor consumo de gonadotropinas y menor coste.
3. Mayor tolerancia.
4. Menor incidencia de Síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO), pues es posible la descarga ovulatoria con agonistas de la GnRH en ciclos de riesgo.
5. Tasas de embarazo comparables.

Como desventaja:

1. Hay una mayor posibilidad de asincronía folicular.

El antagonista de la GnRH puede administrarse en dosis única o múltiple.

El protocolo de dosis única consiste en administrar una dosis de 3 mg ( Cetorelix) en día 7-8 del ciclo, que será efectiva durante tres días. Si al 4º día no se han alcanzado los criterios para la descarga ovulatoria, se debe continuar con la dosis diaria de 0,25 mg/ día hasta el día de la descarga.

En el caso de dosis múltiple, se administra desde el inicio una dosis diaria de 0,25 mg hasta el día de la descarga ovulatoria.

Existen dos opciones en este segundo caso:

**2.2.3.1: Protocolo fijo.**

A partir del día 6 de la estimulación, se implementa la administración diaria del antagonista hasta la descarga ovulatoria.

**2.2.3.2: Protocolo flexible.**

La administración del antagonista de GnRH se inicia ante la presencia de un folículo dominante de 14 mm, y se continúa hasta el día de la descarga ovulatoria, que se determina cuando el folículo alcanza los 17-18 mm, y se induce con hCG recombinante o con bolo de 0,2 mg de agonistas GnRH en riesgo de SHO.

**2.3. Tipo de técnica de inseminación ovocitaria:** se distinguen tres tipos: FIV convencional, ICSI o mixta ( FIV-ICSI).

2.3.1. La **FIV** es la técnica en la que la fecundación se produce extracorpóreamente, en el laboratorio de FIV.

En su origen el término era inequívoco y se refería a la TRA en la que tras la recuperación ovocitaria y preparación seminal, la inseminación se efectuaba en una placa de Petri ( in vitro), y allí ocurría la fecundación. Es lo que llamamos FIV clásica o convencional o simplemente FIV.

Entre las 4 a 6 horas tras la recuperación ovocitaria se inseminan los ovocitos, cada uno con unos 100.000 espermatozoides móviles durante 17 a 20 horas, tras las cuales se evalúan los ovocitos en busca de signos de fecundación ( aparición de 2 pronúcleos y 2 corpúsculos polares) (90).

A los 2-3 días después de la fecundación se realiza la transferencia embrionaria, aunque ésta puede realizarse en estadio de blastocisto, día 5-6 de desarrollo embrionario.

2.3.2.. La **ICSI** consiste en la microinyección de un espermatozoide en el interior de un ovocito, previamente decumulado, desprovisto de las células de la granulosa, y orientado. Esta técnica rebaja enormemente el número de espermatozoides requerido para lograr la fecundación, consiguiendo aumentar el número de ovocitos fertilizados frente a la FIV convencional.

El requerimiento mínimo suficiente es obtener tantos espermatozoides vivos como ovocitos se precise fecundar, ya que en la ICSI los parámetros espermáticos clásicos, como recuento, movilidad y morfología, no predicen el resultado.

En caso de factor masculino grave sólo la ICSI ofrece buenos resultados.

Los pobres resultados de ICSI en el fallo de fecundación suele estar relacionado con una mala calidad ovocitaria; por lo que la ICSI no es la solución para una mala calidad ovocitaria, el planteamiento estaría en una donación de gameto femenino.

2.4. **Clínica concertada**, en número de cinco, donde se lleva a cabo la finalización de la estimulación ovárica, maduración y recuperación ovocitaria, fertilización, control de desarrollo embrionario y transferencia embrionaria intraútero en fresco.

3.- Características del ciclo tras recuperación ovocitaria:

3.1. **Número de ovocitos totales recuperados**, dividido en 5 rangos:

- <5
- 5-9
- 10-14
- 15-19
- 20 o más.

3.2. **Número de ovocitos maduros MII**, dividido en 5 rangos:

- <5
- 5-9
- 10-14
- 15-19
- 20 o más.

3.3. **Número de ovocitos fecundados ( cigotos)**, dividido en 5 rangos:

- <5
- 5-9
- 10-14
- 15-19
- 20 o más.

**3.4. Número de embriones criopreservados sobrantes, dividido en 5 rangos:**

- 0
- 1-2
- 3-4
- 5-9
- 10 o más.

**3.5. Número de embriones transferidos, dividido en 3 grupos:**

- 1
- 2
- 3

**3.6. Día de embriotransferencia, 3 grupos:**

- D2
- D3
- D5.

Las variables descritas, se relacionan con la tasa de gestación tras determinar la B-hCG en sangre y realización de una ecografía a partir de la semana 7ª gestacional para confirmar y clasificar la gestación en evolutiva (única o múltiple), aborto, gestación ectópica o heterotópica.

De esta forma estableceremos que variable o conjunto de variables son factor o factores predictivos de gestación en mujeres sometidas a FIV-ICSI.

El análisis estadístico del presente trabajo va estar enfocado en la asociación con significación estadística o no de las diferentes variables descritas en relación a la tasa de gestación.

Las diferentes variables, podemos agruparlas en dos tipos a efectos estadísticos, variables cuantitativas y variables cualitativas.

**Variables cuantitativas ( tabla 1):**

1. Edad.
2. IMC.
3. FSH basal.
4. Estradiol basal.
5. Número de ovocitos recuperados postpunción ovárica.
6. Número de ovocitos MII.
7. Número de cigotos.
8. Número de embriones criopreservados sobrantes.
9. Número de embriones transferidos.

**Variables cualitativas:**

1. Tipo de gonadotropina utilizada.
2. Tipo de protocolo de estimulación ovárica.
3. Técnica de inseminación ovocitaria.
4. Clínica concertada donde se realiza el final de la fase de estimulación y se completa el ciclo FIV-ICSI.
5. Día de la embriotransferencia.

Se realiza una estadística descriptiva de cada variable, obteniendo las distribuciones de frecuencias absolutas y relativas.

En el caso de las variables cuantitativas se han calculado parámetros característicos: media, desviación típica, máximo y mínimo. **Tabla 1.**

La relación entre las variables cuantitativas se ha analizado con los coeficientes de correlación lineal de Pearson. **Tabla 34.**

La asociación entre variables cualitativas se ha realizado mediante el análisis de tablas de contingencia con el test de la  $X^2$  de Pearson complementado con el análisis de residuos para determinar la tendencia a las asociación.

Para el análisis estadístico se usó el paquete estadístico: SPSS Statistics 21.0.

	<b>rango</b>	<b>media</b>	<b>desviación típica</b>
<b>Edad</b>	20-41	34,20	3,746
<b>IMC</b>	17-40	24,181	3,9986
<b>FSH</b>	1,70-40	7,7496	3,32548
<b>Estradiol</b>	5-449	53,358	33,6634
<b>Nºovocitos recuperados</b>	1-34	9,21	5,491
<b>Nº MII</b>	1-33	7,43	4,642
<b>Nº cigotos</b>	1-28	5,28	3,515
<b>Nºembriones criopreservados</b>	0-15	1,14	1,892
<b>Nºembriones transferidos</b>	1-4	1,90	0,447

**Tabla 1.** Características de las variables cuantitativas, definidas en los 2008 ciclos, en 1631 pacientes.



## **IV. RESULTADOS.**



#### IV. RESULTADOS.

##### 1.- Variables cuantitativas.

##### 1.1. Edad.

Analizando, la asociación de la edad de la paciente, dividida en los 3 grupos de edad establecidos por la SEF, con la tasa de gestación y con diferentes variables cuantitativas, hemos obtenido los siguientes resultados:

##### 1.1.1. Edad y tasa de gestación ( **Tabla 2**).

Asociación directa con  $P=0,003$  ( significativa) para mujeres de < 35 años y gestación única y doble. Tasa de gestación: 38,87% (estadísticamente significativo) ( ES).

Asociación directa con  $P= 0,003$  ( significativa) para mujeres de 35 a 39 años de edad con la no gestación. Tasa de gestación: 31,51% (ES).

Asociación directa con  $P= 0,003$  ( significativa) para mujeres de 40 años y mayores de edad con la no gestación. Tasa de gestación: 17,65% (ES).

En resumen, las mujeres sometidas a FIV-ICSI con esterilidad primaria de 34 años o más jóvenes tienen una mayor probabilidad, estadísticamente significativa , de lograr la gestación frente a mujeres de 35 años o mayores.

Edad ( años)	<35	35-39	40 o >	Total
Gestación	391 ( P= 0,003)	305	6	702
No gestación	615	663 (P=0,003)	28 (P=0,003)	1306
Total	1006	968	34	2008

**Tabla 2.** Relación Edad / Gestación ( Significación Estadística (SE):  $P < 0,05$ ).

##### 1.1.2. Edad y número de ovocitos totales recuperados ( **Tabla 3**).

Se observa una asociación directa significativa ,  $P= 0,0005$ , en el grupo de edad de < 35 años con el número de ovocitos obtenidos de 10 ovocitos o más.

Por contra, se aprecia de modo significativo ,  $P= 0,0005$ , en el grupo de 35 a 39 años de edad asociación con el grupo de < 10 ovocitos recuperados.

Edad ( años)	<35	35-39	40 o >	Total
<5	156	230	9	395
5-9	375	413(P=0,0005)	16	804
10-14	270 (P=0,0005)	210	7	487
15-19	136 (P=0,0005)	78	2	216
20 o >	69 (P=0,0005)	37	0	106

**Tabla 3.** Relación Edad/ Número de ovocitos recuperado (SE: P<0,05).

#### 1.1.3. Edad y número de ovocitos MII ( **Tabla 4**).

Se aprecia una relación directa significativa , P= 0,0005, años con el grupo de mujeres < 35 años con el grupo de 15 MII y más.

Al mismo tiempo, se aprecia una asociación significativa ,P=0,0005, entre el grupo de 35 a 39 años y el grupo de < 5 ovocitos MII.

Edad ( años)	<35	35-39	40 o >	Total
<5	243	347(P=0,0005)	15	605
5-9	438	401	15	854
10-14	214	176	3	393
15-19	80 (P=0,0005)	35	1	116
20 o >	31 (P=0,0005)	9	0	40

**Tabla 4.** Relación Edad/ Número de ovocitos MII ( SE: P<0,05).

#### 1.1.4. Edad y número de ovocitos fecundados ( cigotos) ( **Tabla 5**).

Se observa una asociación significativa ,P= 0,0005, entre el grupo de <35 años y los cuatro grupos de cigotos por encima de 5.

Por el contrario, la asociación significativa , P=0,0005, entre el grupo de edad de 35 a 39 años se establece con el grupo de < 5 ovocitos fecundados.

Edad ( años)	<35	35-39	40 o >	Total
<5	448	537(P=0,0005)	18	1003
5-9	410(P=0,0005)	344	13	767
10-14	117(P=0,0005)	78	3	198
15-19	19 (P=0,0005)	7	1	27
20 o >	12. (P=0,0005)	1	0	13

**Tabla 5.** Relación Edad/ Número de cigotos ( SE: P<0,05).

Resumiendo, se observa en mujeres más jóvenes una mayor recuperación ovocitaria inicial y en sucesivos estadios, lo cual es estadísticamente significativo.

#### 1.1.5. Edad y FSH basal ( **Tabla 6**).

Existe una asociación significativa , $P=0,003$ , entre el grupo de < 35 años y un nivel de FSH de 10 UI/l o menor, y el grupo de 35-39 años con una FSH de 12 a 15 UI/l, igualmente significativa.

FSH( UI/l)	<35 años	35-39 años	40 o >	Total
<=10	863 (P=0,003)	771	23	1657
>10-12	65	83	4	152
>12-15	30	55(P=0,003)	1	86
>15	29	39	3	71

**Tabla 6.** Relación Edad/ FSH basal ( SE:  $P < 0,05$ ).

#### 1.1.6. Edad y estradiol basal ( **Tabla 7**).

En este caso, hay una asociación no significativa,  $P= 0,164$ , entre el grupo de edad de <35 años y un nivel de estradiol de 70 pg/ ml o menor.

Estradiol(pg/ml)	<35 años	35-39 años	40 o >	Total
<=70	793( P=0,164)	741	24	1558
>70-80	55	62	0	117
>80-100	51	49	3	93
>100	48	64	3	115

**Tabla 7.** Relación edad/ estradiol basal (  $P < 0,05$ ).

## 1.2. IMC.

La relación de la variable, índice de masa corporal, dividido en los 5 grupos establecidos por la OMS , con la tasa de gestación y con diferentes variables cuantitativas muestran los siguientes resultados:

#### 1.2.1. IMC y tasa de gestación ( **Tabla 8**).

En la relación IMC y la tasa de gestación, con una  $P= 0,011$  ( significativa), se observa una asociación entre mujeres con normopeso ( IMC de 18,5 a 24,9) y gestación única y aborto, apreciando al mismo tiempo, una relación significativa entre el grupo de mujeres con sobrepeso y la no gestación.

La tasa de gestación en mujeres con normopeso es de 38,41% ( ES).

La tasa de gestación en mujeres con sobrepeso es de 29,75% ( ES).

Las mujeres con normopeso tienen una mayor probabilidad de embarazo, y ello es estadísticamente significativo.

De modo anecdótico, de las 5 gestaciones triples referidas en el estudio, dos de ellas han ocurrido en mujeres con obesidad severa, sin significado estadístico.

IMC	<18,5	18,5-24,9	25-29,9	30-34,9	35 o >
Gestación	8	464(P=0,011)	155	44	16
No gestación	16	744	366(P=0,011)	105	44
Total	24	1208	521	149	60

**Tabla 8.** Relación IMC / Gestación. ( SE: P<0,05).

### 1.2.2. IMC y número de ovocitos totales recuperados ( **Tabla 9**).

Hay una asociación significativa en el grupo de mujeres con normopeso y el rango de 10 a 14 ovocitos recuperados frente al grupo de mujeres con sobrepeso donde se obtienen menos de 5 ovocitos totales, P= 0,002. A mayor IMC menor número de ovocitos totales recuperados.

IMC	<18,5	18,5-24,9	25-29,9	30-34,9	35 o >
<5	4	204	125(P=0,002)	35	14
5-9	8	477	212	60	33
10-14	5	318(P=0,002)	104	38	9
15-19	3	142	56	10	2
20 o >	4	67	24	6	2

**Tabla 9.** Relación IMC / Número de ovocitos totales recuperados ( SE: P< 0,05).

### 1.2.3. IMC y número de ovocitos MII ( **Tabla 10**).

Hay una asociación fuertemente significativa , P= 0,0005, entre mujeres con normopeso y el grupo de 10 a 14 ovocitos MII obtenidos, frente a mujeres con sobrepeso y obesidad que consiguen < 5 ovocitos MII.

IMC	<18,5	18,5-24,9	25-29,9	30-34,9	35 o >
<5	8	312	188(P=0,0005)	57(P=0,0005)	24
5-9	7	534	198	64	31
10-14	8	255(P=0,0005)	99	31	7
15-19	1	80	26	7	1
20 o >	0	27	10	2	0

**Tabla 10.** Relación IMC / Número de ovocitos MII ( SE:P< 0,05).

#### 1.2.4. IMC y número de cigotos ( **Tabla 11**).

En este punto, hay una asociación estadísticamente significativa , $P= 0,036$ , entre el grupo de mujeres con normopeso y el rango de 10 a 14 ovocitos fecundados, mientras que en el grupo de mujeres con sobrepeso y obesidad la asociación significativa es con el grupo de <5 cigotos.

IMC	<18,5	18,5-24,9	25-29,9	30-34,9	35 o >
<5	12	562	281( $P=0,036$ )	91( $P=0,036$ )	34
5-9	10	480	188	45	25
10-14	2	142( $P=0,036$ )	42	10	1
15-19	0	14	8	2	0
20 o >	0	10	2	1	0

**Tabla 11.** Relación IMC / Número de cigotos ( SE:  $P < 0,05$ ).

Considerando, los resultados anteriores, observamos que a menor IMC ,sin llegar a la delgadez, la respuesta ovárica es mayor, tanto en ovocitos recuperados como en estadios posteriores y ello estadísticamente significativo.

Por otro lado, nuestros datos no establecen relación estadísticamente significativa entre IMC y niveles tanto de FSH basal como de estradiol basal.

### 1.3. FSH basal.

#### 1.3.1. FSH y tasa de gestación ( **tabla 12**).

El estudio estadístico entre los niveles de FSH y tasa de gestación, no muestra significación estadística ,  $P= 0,279$ .

Sin embargo, existe una asociación entre niveles bajos de FSH ( 10 UI/l o <) y la gestación doble y el aborto, y la no gestación con niveles de FSH > 15.

La tasa de gestación en mujeres con FSH  $\leq 10$  UI/l es de 35,61% (nS).

La tasa de gestación en mujeres con FSH >10-12 UI/l es de 37,5% (nS).

La tasa de gestación en mujeres con FSH >12-15 UI/l es de 30,23% (nS).

La tasa de gestación en mujeres con FSH >15 UI/l es de 16,90% (nS).

FSH basal (UI/l)	≤10	>10-12	>12-15	>15
Gestación	590(P<0,279)	57	26	12
No gestación	1067	95	60	59(P<0,279)
Total	1657	152	86	71

**Tabla 12.** Relación FSH basal/ Gestación ( SE: P< 0,05).

### 1.3.2. FSH y número de ovocitos totales recuperados ( **tabla.13**).

La relación entre los niveles de FSH y el número de ovocitos totales recuperados, muestra una asociación fuertemente significativa, entre los bajos niveles de FSH y la obtención de 10 o más ovocitos , P= 0,0005.

En el caso de FSH de >10-12 hay una recuperación de <10 ovocitos. Para el rango de FSH >12 y >15 , la recuperación es de < 5 ovocitos para ambos casos.

FSHbasal(UI/l)	<5	5-9	10-14	15-19	20 o >
≤10	253	658	437(P=0,0005)	207(P=0,0005)	102(P=0,0005)
>10-12	50(P=0,0005)	75(0,0005)	23	3	1
>12-15	39(P=0,0005)	38	8	1	0
≥15	40(P=0,0005)	28	3	0	0

**Tabla 13.** Relación FSH / Número de ovocitos recuperados ( SE: P< 0,05).

### 1.3.3. FSH y número de ovocitos MII ( **tabla 14**).

El estudio estadístico, significativo como en casos anteriores, P= 0,0005, establece una asociación entre el grupo de pacientes con FSH de ≤10 y el rango de 5-9 ovocitos MII recuperados, frente a una recuperación de <5 ovocitos en el grupo de mujeres con FSH > 10.

FSHbasal(UI/l)	<5	5-9	10-14	15-19	20 o >
≤10	415	733(P=0,0005)	356	114	39
>10-12	68(P=0,0005)	68	13	2	1
>12-15	54(P=0,0005)	27	5	0	0
≥15	54(P=0,0005)	16	1	0	0

**Tabla 14.** Relación FSH / Número de ovocitos MII ( SE: P<0,05).

### 1.3.4. FSH y número de cigotos ( tabla 15).

Los datos que hemos obtenido, en la relación de la variable FSH basal y número de cigotos conseguidos , reflejan una asociación significativa,  $P= 0,0005$ , entre el grupo de mujeres con  $FSH \leq 10$  y el rango de 5-9 ovocitos fecundados y entre los grupos de  $FSH > 10$  y menos de 5 cigotos conseguidos.

FSHbasal(UI/l)	<5	5-9	10-14	15-19	20 o >
$\leq 10$	755	678( $P=0,0005$ )	188	23	13
>10-12	96( $P=0,0005$ )	49	5	2	0
>12-15	72( $P=0,0005$ )	14	0	0	0
$\geq 15$	63( $P=0,0005$ )	8	0	0	0

**Tabla 15.** Relación FSH / Número de cigotos ( SE:  $P < 0,05$ ).

En resumen, a menos FSH basal, mayor recuperación ovocitaria, tanto total como en MII y mayor número de ovocitos fecundados, y ello estadísticamente significativo.

## 1.4. Estradiol basal.

### 1.4.1. Estradiol basal y tasa de gestación ( tabla 16).

Nuestros datos sometidos a estudio estadístico, no ofrece significación estadística entre la variable estradiol basal y tasa de gestación,  $P= 0,111$ .

La tasa de gestación en mujeres con nivel de estradiol de  $\leq 70$  pg/ml es de 33,89% (nS).

La tasa de gestación en mujeres con estradiol >70-80 pg/ml es de 46,15% (nS).

La tasa de gestación en mujeres con estradiol >80-100 pg/ml es de 38,71% (nS).

La tasa de gestación en mujeres con estradiol >100 pg/ml es de 29,57% (nS).

Estradiol(pg/ml)	$\leq 70$	>70-80	>80-100	>100
Gestación	528	54	36	34
No gestación	1030	63	57	81
Total	1558	117	93	115

**Tabla 16.** Relación estradiol basal/ Gestación ( SE:  $P < 0,05$ ).

1.4.2. Estradiol y número de ovocitos recuperados ( **tabla 17**).

La relación entre el nivel de estradiol basal y el número de ovocitos totales recuperados, estadísticamente significativa,  $P= 0,004$ , se observa una recuperación de 20 o más ovocitos con un nivel de 70 pg/ml o menor, para un nivel de  $> 100$ , se obtienen  $< 5$  ovocitos.

Estradiol(pg/ml)	<5	5-9	10-14	5-19	20 o >
$\leq 70$	280	623	384	179	92( $P=0,004$ )
>70-80	28	43	25	16	5
>80-100	21	44	22	5	1
>100	32( $P=0,004$ )	56	19	6	2

**Tabla 17.** Relación estradiol basal/ Número de ovocitos recuperados ( ES:  $P<0,05$ ).

1.4.3. Estradiol basal y número de ovocitos MII ( **tabla 18**).

El estudio estadístico de la relación de estas dos variables muestra una asociación significativa,  $P= 0,02$ , entre un nivel de estradiol de 70 o  $<$  y una recuperación de 10-14 y 15-19 ovocitos MII.

Por contra, un nivel de  $> 100$  pg/ml obtiene  $< 5$  ovocitos, de modo significativo.

Estradiol(pg/ml)	<5	5-9	10-14	5-19	20 o >
$\leq 70$	445	662	313( $P=0,02$ )	104( $P=0,02$ )	34
>70-80	38	51	18	7	3
>80-100	33	44	15	1	0
>100	46( $P=0,02$ )	52	15	1	1

**Tabla 18.** Relación estradiol basal / Número de ovocitos MII ( SE:  $P< 0,05$ ).

1.4.4. Estradiol basal y número de cigotos ( **tabla 19**).

El estudio de la relación entre estas dos variables, no establece significación estadística,  $P= 0,225$ .

Estradiol(pg/ml)	<5	5-9	10-14	5-19	20 o >
$\leq 70$	765	591	167	22	13
>70-80	61	45	9	2	0
>80-100	47	37	9	0	0
>100	66	46	3	0	0

**Tabla 19.** Relación estradiol basal / Número de cigotos ( ES:  $P< 0,05$ ).

Según nuestros datos, un nivel de 70 pg/ml o menor marca el límite para la obtención de un número aceptable de ovocitos totales y MII. En el caso del número de cigotos la estadística no muestra significación.

Una vez descritas las relaciones de las características basales de nuestras pacientes con la tasa de gestación y otras variables cuantitativas, vamos a describir los resultados de las variables cualitativas para valorar si hay diferencias en las tasas de gestación entre ellas y si ésta es estadísticamente significativa.

## 2.- Variables cualitativas.

### 2.1. Tipo de gonadotropina empleada para la estimulación ovárica.

Las diferentes gonadotropinas utilizadas para la estimulación ovárica controlada, no muestran diferencias significativas en relación a la tasa de gestación en nuestras pacientes,  $P=0,520$ . **Tabla 20.**

Fármacos	FSH.LHr	FSH-u	FSH-r	FSHr.HMG	FSHu.HMG	HMG	FSHu.FSHr
Gestación	196	21	211	199	6	61	5
No gesta.	451	36	281	400	5	123	8
Frecuencia	647	57	492	599	11	184	13
Porcentaje	32,2	2,8	24,5	29,8	0,5	9,2	0,6

**Tabla 20.** Relación gonadotropinas/ Gestación ( SE:  $P < 0,05$ ).

En el estudio estadístico, se aprecia una asociación, no significativa, entre la FSH-LH recombinante y la no gestación y entre la FSH recombinante con la gestación única y doble.

Ello podría llevarnos a pensar que en la estimulación de un ciclo FIV-ICSI, el uso de la FSH recombinante tiene mejor resultado que el uso de FSH-r asociada a la LH recombinante, cuya explicación podría estar en el uso de la FSH recombinante en pacientes con buen pronóstico, añadiendo la LH-r en pacientes con peor pronóstico, baja reserva ovárica, pacientes añosas, ciclo FIV previo fallido o baja respuesta en ciclo previo.

## 2.2. Tipo de protocolo de estimulación ovárica.

En el análisis de esta variable, observamos una significación estadística ,  $P= 0,001$ , entre protocolo de estimulación y tasa de gestación. **Tabla 21.**

Prot. Estimulación	Largo	Antagonista	Corto/Ultracorto
Gestación	193(P=0,001)	476	33
No gestación	263	910	132(P=0,001)
Frecuencia	456	1386	165
Porcentaje	22,7	69,1	8,2

**Tabla 21.** Relación protocolo de estimulación/ Gestación ( SE:  $P<0,05$ ).

La tasa de gestación en las pacientes a las que se les ha aplicado el protocolo largo es de 42,32% ( SE).

La tasa de gestación en pacientes a las que se aplicó el protocolo corto/ultracorto es de 20% (SE).

La tasa de gestación en pacientes sometidas a protocolo antagonista es de 34,34% ( no significación estadística) (nS).

En el protocolo largo, con uso de agonistas de la GnRH desde la fase lútea media del ciclo previo a la estimulación para el frenado hipofisario e impedir la luteinización precoz, tenemos una asociación significativa , entre dicho protocolo y la gestación única. Por contra, el protocolo corto/ultracorto, que consideramos en un mismo grupo, con inicio de los agonistas de la GnRH con la menstruación y aplicado en pacientes con baja respuesta, la asociación significativa es con la no gestación.

En cuanto a los resultados que obtenemos con el protocolo con antagonistas, nuestros datos no muestran asociación significativa con la gestación. Protocolo aplicado en mujeres con baja respuesta a la estimulación ovárica, indicación que hoy día está en desuso.

### 2.3. Técnica de inseminación ovocitaria en el laboratorio FIV.

La relación entre las diferentes técnicas de inseminación ovocitaria ( FIV convencional, ICSI o mixta, llamada así cuando se emplean las dos técnicas en un mismo ciclo) y la tasa de gestación no muestra según nuestros datos diferencias significativas,  $P= 0,572$ .

**Tabla 22.**

Tec. Inseminación	FIV	ICSI	FIV-ICSI ( mixta)
Gestación	57	573	72
No gestación	82	1069	155
Frecuencia	139	1642	227
Porcentaje	6,9	81,8	11,3

**Tabla 22.** Relación Técnica de inseminación/ Gestación ( SE:  $P<0,05$ ).

La tasa de gestación en las pacientes sometidas a FIV : 41% (nS).

La tasa de gestación en las pacientes a las que se le ha realizado ICSI: 34,90% (nS).

La tasa de gestación en las pacientes con la técnica mixta, FIV-ICSI: 31,72% (nS).

Aunque en casi el 82% de los ciclos, se ha utilizada la ICSI como técnica de inseminación, las diferencias en tasa de embarazo no son significativas para ninguna de las técnicas utilizadas.

2.4. **Clínica concertada** donde se lleva a cabo la finalización de la estimulación ovárica, maduración y recuperación ovocitaria, fertilización, control del desarrollo embrionario y embriotransferencia en fresco.

#### 2.4.1. Clínica y tasa de gestación (Tabla 23).

En este caso, los resultados entre las clínicas, en número de cinco, y la tasa de gestación muestra diferencia significativa , $P= 0,03$ , a favor de la clínica número 3 y las demás.

Clinica	1	2	3	4	5
Gestación	162	136	176( $P=0,03$ )	178	50
No gestación	324( $P=0,03$ )	292( $P=0,03$ )	277	320( $P=0,03$ )	93( $P=0,03$ )
Frecuencia	486	428	453	498	143
Porcentaje	24,2	21,3	22,6	24,8	7,1

**Tabla 23.** Relación Clínica / Gestación ( SE:  $P< 0,05$ ).

La tasa de gestación en la clínica 3 es de 38,85% ( SE).

La tasa de gestación en la clínica 1 es de 33,33% (SE).

La tasa de gestación en la clínica 2 es de 31,78% (SE).

La tasa de gestación en la clínica 4 es de 35,74% (SE).

La tasa de gestación en la clínica 5 es de 34,97% (SE).

#### 2.4.2. Clínica y técnica de inseminación (**Tabla 24**).

Se aprecian diferencias significativas,  $P=0,0005$ , entre las técnicas de inseminación y las diferentes clínicas.

Técnica de inseminación	FIV	ICSI	Mixta
1	70( $P=0,0005$ )	367	49
2	2	403( $P=0,0005$ )	23
3	9	364	80( $P=0,0005$ )
4	57( $P=0,0005$ )	388	53
5	1	120	22

**Tabla 24.** Relación Clínica / Técnica de inseminación ( SE:  $P<0,05$ ).

Las clínicas 1 y 4 utilizan proporcionalmente, con mayor frecuencia la FIV convencional, por contra la clínica 2 realiza la ICSI con mayor frecuencia de modo significativo, y la clínica 3, que tiene la mayor tasa de gestación significativamente, utiliza la técnica mixta con mayor frecuencia respecto a las otras.

#### 2.4.3. Clínica y número de ovocitos totales recuperados ( **Tabla 25**).

El estudio de estas variables nos muestra diferencias significativas en el número de ovocitos recuperados totales entre las diferentes clínicas,  $P= 0,0005$ .

Nº ovocitos	<5	5-9	10-14	15-19	20 o >
1	82	194	121	54	35( $P=0,0005$ )
2	120( $P=0,0005$ )	191( $P=0,0005$ )	85	27	5
3	76	167	127( $P=0,0005$ )	49	34( $P=0,0005$ )
4	82	196	122	69( $P=0,0005$ )	29
5	35	56	32	27	3

**Tabla 25.** Relación Clínica / Número de ovocitos recuperados ( SE :  $P<0,05$ ).

2.4.4. Clínica y número de ovocitos MII ( **Tabla 26**).

Los datos muestran igualmente diferencias significativas ,  $P= 0,0005$ , entre las diferentes clínicas y el número de ovocitos MII obtenidos.

Nº ovocitos	<5	5-9	10-14	15-19	20 o >
1	119	215	97	35	20( $P=0,0005$ )
2	171( $P=0,0005$ )	191	54	11	1
3	129	179	110( $P=0,0005$ )	26	9
4	135	215	106	35	7
5	51	54	26	9	3

**Tabla 26.** Relación Clínica / Número de ovocitos MII ( SE:  $P < 0,05$ ).

2.4.5. Clínica y número de cigotos ( **Tabla 27**).

Nuestros datos muestran diferencias significativas entre las diferentes clínicas y el número de cigotos obtenidos,  $P= 0,0005$ .

Nº ovocitos	<5	5-9	10-14	15-19	20 o >
1	232	184	57	7	6
2	245( $P=0,0005$ )	159	23	0	1
3	235	158	49	8	3
4	218	209( $P=0,0005$ )	62( $P=0,0005$ )	6	3
5	75	57	7	4	0

**Tabla 27.** Relación clínicas / Número de cigotos ( SE:  $P < 0,05$ ).

A continuación , valoraremos estadísticamente, el tercer grupo de variables, definidas tras la recuperación ovocitaria y su relación con la tasa de gestación, comprobando su significación estadística si la hubiera.

3.- Tercer grupo de variables, tras la recuperación ovocitaria.

### 3.1. Número de ovocitos totales recuperados.

3.1.1. Número de ovocitos totales recuperados y gestación ( **tabla 28**).

Nuestros datos muestran una alta significación estadística para esta variable y la tasa de gestación,  $P= 0,0005$ , para el rango de  $<5$ , la relación significativa se da con la no gestación y el rango de 15-19 ovocitos recuperados con la gestación doble y el aborto.

Número de ovocitos totales	<5	5-9	10-14	15-19	20 o >
Gestación	107	280	184	90( $P=0,0005$ )	41
No gestación	288( $P=0,0005$ )	524	303	126	65

**Tabla 28.** Relación número de ovocitos totales recuperados / Gestación ( SE:  $P < 0,05$ ).

### 3.2. Número de ovocitos MII.

3.2.1. Número de ovocitos MII y gestación (**Tabla 29**).

Nuestros datos muestran una alta significación estadística con la tasa de gestación,  $P= 0,0005$ . Mujeres con  $<5$  ovocitos MII, tienen una asociación significativa con la no consecución de la gestación, y para el grupo de 10-14 hay una relación significativa con la gestación doble y el aborto, para el grupo de 15-19 la relación significativa es con la gestación doble.

Número de ovocitos MII	<5	5-9	10-14	15-19	20 o >
Gestación	164	315	163( $P=0,0005$ )	46( $P=0,0005$ )	14
No gestación	441( $P=0,0005$ )	539	230	70	26

**Tabla 29.** Relación número de ovocitos MII / Gestación ( SE:  $P < 0,05$ ).

### 3.3. Número de ovocitos fecundados.

3.3.1. Número de ovocitos fecundados ( cigotos) y gestación ( **Tabla 30**).

En este caso encontramos una asociación muy significativa,  $P= 0,0005$ , entre el grupo  $< 5$  cigotos con la no consecución de la gestación, para los grupos de 5-9, 10-14 y 15--19 la asociación es con la gestación doble.

Número de cigotos	<5	5-9	10-14	15-19	20 o >
Gestación	292	304(P=0,0005)	86(P=0,0005)	14(P=0,0005)	6
No gestación	713(P=0,0005)	463	112	11	7

**Tabla 30.** Relación número de cigotos/ Gestación ( SE: P< 0,05).

### 3.4. Número de embriones criopreservados sobrantes.

#### 3.4.1. Número de embriones criopreservados sobrantes y gestación ( tabla 31).

El estudio estadístico de nuestros datos, con una P= 0,0005, nos muestra una relación estadísticamente muy significativa entre la gestación y la consecución de algún embrión para criopreservar , en los grupos: 1-2, 3-4 y 5-9.

Hay una relación significativa con la no consecución de la gestación en el grupo con ningún embrión sobrante ( grupo: 0).

En el grupo donde se han criopreservado 10 o más embriones, no hay relación significativa con la gestación por tener una “n” pequeña ( 10 ciclos únicamente).

Nº embriones criopreservados	0	1-2	3-4	5-9	10 o >
Gestación	371	143( P=0,0005)	123(P= 0,0005)	60(P= 0,0005)	5
No gestación	911( P=0,0005)	190	145	55	5

**Tabla 31.** Relación número de embriones criopreservados / Gestación ( SE: P< 0,05).

### 3.5. Número de embriones transferidos.

#### 3.5.1. Número de embriones transferidos y gestación ( tabla 32).

El estudio estadístico de esta variable nos muestra una alta significación estadística, P< 0,001, en dos apartados, con la no consecución de la gestación en la transferencia de un solo embrión y con la consecución de la gestación en el caso de la transferencia de dos embriones, con una tasa de gestación doble del 21%, frente al 0% en transferencia única.

Nº emb.transferidos	1	2	3
Gestación	57	604(P=0,001)	41
No gestación	247(P=0,001)	993	68

**Tabla 32.** Relación número de embriones transferidos / Gestación ( SE:P<0,05).

### 3.6. Día de la transferencia .

#### 3.6.1. Día de la transferencia y gestación ( tabla 33).

El estudio estadístico de la variable día de la embriotransferencia, muestra una relación significativa,  $P= 0,02$ , entre la no consecución de la gestación y la transferencia en día 2 y la consecución de la gestación con la transferencia en día 3 , y una asociación positiva, no significativa con la transferencia en día 5.

Día transferencia	D2	D3	D5
Gestación	166	444(P=0,02)	92
No gestación	390(P=0,02)	768	148
Frecuencia	556	1212	240
Porcentaje	27,7	60,4	12

**Tabla 33.** Relación día de embriotransfer/ Gestación ( SE:  $P<0,05$ ).

#### 4. Análisis de correlación lineal de Pearson de pares de variables cuantitativas.

Bajo el análisis de correlación lineal de Pearson vamos a estudiar la relación directa o inversa de pares de las variables cuantitativas descritas. **Tabla 34.**

El análisis de correlación, relaciona dos variables cuantitativas, calcula el coeficiente de correlación de Pearson ( $r$ ), donde “  $r$  ” mide el grado de dependencia.

“ $r$ ” puede ser 0, indicando independencia de las dos variables consideradas. Si “ $r$ ” es  $> 0$   $< 1$ , indica dependencia directa, si “  $r$  ” es  $< 0$  significa dependencia inversa de las dos variables consideradas.

##### 4.1. Edad.

Cuando correlacionamos la edad con las distintas variables cuantitativas, observamos una correlación significativa directa , “ $r$ ”  $> 0$ , con la FSH (  $P=0,0005$ ) y con el estradiol (  $P= 0,001$ ), es decir, la mayor edad de la paciente sometida a FIV-ICSI, se asocia de modo estadísticamente significativo a unos mayores niveles de FSH y estradiol en sangre, que significa una menor reserva folicular cuantitativa.

De forma inversa, se aprecia una correlación inversa, “  $r$  ”  $< 0$  con el número de ovocitos totales recuperados, número de ovocitos MII, número de cigotos y número de

embriones criopreservados sobrantes, todo ello estadísticamente significativo,  $P=0,0005$ .

Ello en consonancia con lo referido, a mayor edad menor reserva folicular y por tanto, menor desarrollo ovocitario cuantitativo.

#### **4.2. IMC.**

El análisis de correlación de la variable IMC, en sus diferentes grupos descritos por la OMS , muestra una correlación inversa , “ $r$ ”  $<0$ , con las diferentes variables: FSH, estradiol, número de ovocitos totales, ovocitos MII, cigotos y embriones criopreservados, todo ello estadísticamente significativa,  $P=0,0005$ .

#### **4.3. FSH.**

El análisis de correlación para la variable FSH, define una correlación inversa y altamente significativa,  $P=0,0005$  para las siguientes variables: estradiol, número de ovocitos obtenidos, ovocitos MII, cigotos y embriones criopreservados.

#### **4.4. Estradiol (E2)**

Para esta variable, el análisis de correlación es inversa para el número de ovocitos recuperados, ovocitos MII y fecundados, altamente significativo , $P=0,0005$ .

#### **4.5. Número de ovocitos recuperados (Recup.).**

Tras la punción ovárica, el número de ovocitos obtenidos, presenta una correlación directa, con el número de ovocitos MII, fecundados y embriones criopreservados, con una  $P=0,0005$ .

#### **4.6. Número de ovocitos MII (MII).**

El análisis de correlación del número de ovocitos MII, aprecia una correlación directa con el número de cigotos y embriones criopreservados, estadísticamente significativo,  $P=0,0005$ .

#### **4.7. Número de cigotos.**

El análisis de correlación establece una correlación directa con el número de embriones criopreservados,  $P=0,0005$ .

#### **4.8. Número de embriones criopreservados ( Criop.).**

#### **4.9. Número de embriones transferidos ( Transfer.).**

**Tabla 34.** Correlaciones de las variables cuantitativas. Se expresan los coeficientes de correlación de Pearson y la significación.

	Edad	IMC	FSH	E2	Recup.	MII	Cigotos	Criop.	Transf.
<b>Edad</b>	1	,039	,137	,077**	-,183**	-,178**	-,155**	-,102**	-,004
		,086	,000	,001	,000	,000	,000	,000	,857
<b>IMC</b>	,039	1	-,079**	-,086**	-,104**	-,121**	-,126**	-,109**	,002
	,086		,001	,000	,000	,000	,000	,000	,912
<b>FSH</b>	,137	-,079**	1	-,094**	-,301**	-,277**	-,247**	-,142**	-,137**
	,000	,001		,000	,000	,000	,000	,000	,000
<b>E2</b>	,077**	-,086**	-,094**	1.	-,094**	-,085**	-,071**	-,034	-,023
	,001	,000	,000		,000	,000	,000	,138	,321
<b>Recup.</b>	-,183**	-,104**	-,301**	-,094**	1	,910**	,802**	,486**	,152**
	,000	,000	,000	,000		,000	,000	,000	,000
<b>MII</b>	-,178**	-,121**	-,277**	-,085**	,910**	1	,883**	,538**	,168**
	,000	,000	,000	,000	,000		,000	,000	,000
<b>Cigotos</b>	-,155**	-,126**	-,277**	-,071**	,802**	,883**	1	,617**	,214**
	,000	,000	,000	,002	,000	,000		,000	,000
<b>Criop.</b>	-,102**	-,109**	-,142**	-,034	,486**	,883**	,617**	1	,013
	,000	,000	,000	,138	,000	,000	,000		,557
<b>Transf.</b>	-,004	,002	-,137**	-,023	,152**	,168**	,617**	,013	1
	,857	,912	,000	,321	,000	,000	,000	,557	

\*\* . La correlación es significativa en el nivel 0,05( bilateral).

5.Análisis mediante Tablas de Contingencia de pares de variables cuantitativas en relación con la tasa de gestación para valorar si hay significación estadística.

### 5.1. Edad.

#### 5.1.1. Edad, IMC y tasa de gestación ( tabla 35).

El estudio estadístico no muestra significación estadística entre las variables edad cronológica, IMC y la tasa de gestación,  $P=0,98$ .

No obstante, hay una tendencia positiva con la gestación, en mujeres de menos de 35 años de edad y con IMC normal.

IMC / Edad	<35 años	35-39 años	40 o > años
<18,5	6	2	0
18,5-24,9	254	205	5
25-29,9	87	67	1
30-34,9	27	17	0
35 o >	9	7	0

**Tabla 35.** Relación edad / IMC / Gestación ( SE:  $P < 0,05$ ).

#### 5.1.2. Edad, FSH y tasa de gestación ( **tabla 36**).

El estudio estadístico, muestra una asociación positiva, no significativa,  $P = 0,05$ , para el grupo con FSH de 10 UI/ l o menor y menos de 35 años de edad.

FSH basal / Edad	<35 años	35-39 años	40 o > años.
10 o <	341	245	4
>10-12	27	29	1
>12-15	10	15	1
>15	4	8	0

**Tabla 36.** Relación edad / FSH basal/ Gestación ( SE:  $P < 0,05$ ).

#### 5.1.3. Edad, estradiol basal y tasa de gestación ( **tabla 37**).

El estudio estadístico de estas variables, nos muestra una asociación no significativa,  $P > 0,05$ , en el grupo de < 35 años de edad y nivel de estradiol < o igual a 70 ug/ ml.

Estradiol basal/ Edad	<35 años	35-39 años	40 o > años.
70 o <	304	219	5
>70- 80	26	28	0
>80-100	15	20	1
>100	13	21	0

**Tabla 37.** Relación edad / Estradiol basal / Gestación ( SE:  $P < 0,05$ ).

#### 5.1.4. Edad, número de ovocitos fecundados y tasa de gestación ( **tabla 38**).

Cuando relacionamos edad de la paciente con el número de cigotos obtenidos y la tasa de gestación, se aprecia una asociación positiva, estadísticamente significativa,  $P < 0,05$ , en el grupo de menos de 35 años de edad con el grupo de al menos 10 ovocitos fecundados.

Nº cigotos/ edad	<35 años	35-39 años	40 o < años,
<5 ovocitos	156	133	3
5-9	163	140	1
10 o más	72 ( $P < 0,05$ )	32	1

**Tabla 38.** Relación edad / Número de cigotos / Gestación ( SE:  $P < 0,05$ ).

## 5.2.IMC .

### 5.2.1. IMC , número de ovocitos MII y tasa de gestación ( **tabla 39**).

Si relacionamos el IMC de la paciente con el número de ovocitos MII obtenidos y la tasa de gestación, con el fin de valorar la calidad ovocitaria en relación al índice de masa corporal , el análisis estadístico, con una  $P=0,10$  , nos niega esa relación. Es decir cantidad ovocitaria no equivale a calidad ovocitaria, concepto que viene determinado por la edad cronológica de la mujer sometida a TRA.

Nº MII/ edad	<18,5	18,5-24,9	25-29,9	30-34,9	35 o >
< 5	2	91	49	12	5
5-9	3	217	60	19	10
10 o >	3	156	46	13	1

**Tabla 39.** Relación IMC / número de ovocitos MII / Gestación ( SE:  $P < 0,05$ ).

## V. DISCUSIÓN.



## V. DISCUSIÓN.

El principal objetivo de las técnicas de reproducción asistida (TRA) es la obtención de un embarazo como paso previo a la consecución de un niño sano en casa, preferiblemente, único y a término. En el caso de los ciclos de FIV-ICSI, las tasas de gestación por transferencia en fresco oscilan alrededor del 40%, con un ligero incremento en los últimos años.

La identificación de factores que pudieran predecir, al inicio y a lo largo del tratamiento, el resultado de un ciclo FIV-ICSI sería de gran valor para ayudar a decidir los mejores procedimientos y las actuaciones médicas más adecuadas para lograr el fin perseguido. Durante los últimos años, la investigación clínica se ha centrado en la evaluación de diferentes marcadores predictivos como la FSH basal (78), estradiol basal(79), número de folículos antrales(81), hormona antimulleriana (82) y edad de la mujer (84) antes del inicio de la estimulación ovárica, con el objetivo de predecir las posibilidades de embarazo mediante FIV-ICSI.

En otras ocasiones, se ha analizado la posibilidad de predecir el resultado del ciclo FIV-ICSI durante la fase de estimulación ovárica.

En el trabajo “ Predictive factors in vitro fertilization IVF: a systematic review and metaanalysis”, publicado en 2010 (5), se encuentra una asociación negativa entre el embarazo y la edad de la mujer, la duración de la fertilidad y los niveles de FSH basal. Se encuentra una asociación positiva con el número de ovocitos recuperados y con la calidad embrionaria, en este caso de modo no significativo.

No se encontró asociación significativa para el tipo de esterilidad y método de inseminación ( FIV clásica o ICSI).

El citado artículo concluye en que la edad de la mujer, la duración de la esterilidad, la FSH basal y el número de ovocitos recuperados son predictores de embarazo en mujeres sometidas a FIV-ICSI. Finaliza, animando a realizar estudios centrados en la calidad embrionaria para predecir el éxito de las TRA.

En nuestro trabajo vamos a analizar diferentes variables, determinadas previamente a la estimulación ovárica, durante la estimulación y tras la recuperación ovocitaria para valorar su influencia en la consecución de la gestación en mujeres tratadas mediante FIV-ICSI.

## 1.- Edad.

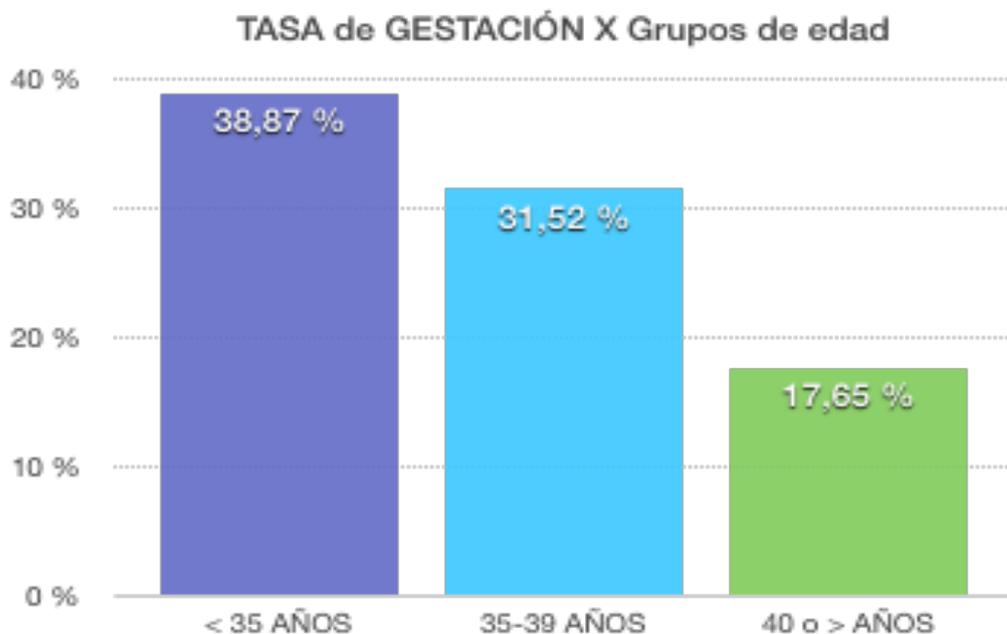
La primera variable que hemos analizado es la edad de la mujer sometida a FIV-ICSI, resolviendo que existe una asociación significativa en el grupo de menos de 35 años y la consecución de la gestación.

La tasa de gestación ( TG) en < 35 años es de 38,87%.

La TG en mujeres entre los 35-39 años es de 31,52%.

La TG en mujeres > 40 años es de 17,65%.

Nuestro trabajo demuestra una correlación inversa estadísticamente significativa entre edad y tasa de gestación evolutiva.



**Gráfico 6.**Tasa de gestación / Edad.

Ello está de acuerdo con la literatura científica al respecto, la fecundidad de las mujeres decrece gradualmente, comenzando significativamente a los 32 años y decreciendo más rápidamente después de los 37 años de edad(95).

Por ello las mujeres mayores de 35 años deben ser evaluadas y someterse a tratamiento si tras 6 meses de intento de gestación no lo logra o antes si hay indicación clínica.

En mujeres de 40 años la evaluación y el tratamiento debe ser inmediato (95).

El número de ovocitos en los ovarios disminuye naturalmente y progresivamente a través de un proceso de atresia, lo que causa un agotamiento folicular de modo permanente.

El número máximo de ovocitos es de 6-7 millones, a las 20 semanas de gestación en el feto femenino. El número de ovocitos disminuye a 1-2 millones al nacimiento, a entre 300.000 y 500.000 en la pubertad, a 25000 a los 37 años y a 1000 a los 51 años, edad promedio de la menopausia en EEUU (96,97,98).

Los principales mecanismos y el momento en que tantos millones de células germinales degeneran a lo largo de la vida de la mujer son tres:(99).

1. La necrosis de origen vascular, por pérdida o disminución de la red vascular perifolicular (100).
2. La autólisis y fagocitación, acontece cuando no existe la capa de células de la granulosa que los rodea completamente. De alterarse ésta el ovocito degenera y es fagocitado. Incluye las causas inmunológicas y genéticas, como las disgenesias gonadales.
3. Migración de los ovocitos a la superficie ovárica donde saltan y desaparecen. Es el mecanismo más importante en la vida intrauterina y continúa meses después del nacimiento.

La fecundidad de las mujeres decrece gradualmente pero significativamente comienza a los 32 años y más rápidamente aún a partir de los 37 años, lo que refleja un descenso en la calidad ovular junto a un aumento en los niveles de FSH, al tiempo que un descenso en los niveles de la hormona antimulleriana (AMH) e inhibina B.

Por tanto, la edad por sí sola tiene un efecto sobre la fertilidad.

En poblaciones que no utilizan métodos anticonceptivos, la tasa de fertilidad disminuye con el incremento de la edad de la mujer.

Una tendencia similar se ha observado en programas FIV en EEUU.

El porcentaje de RNV por ciclo iniciado de FIV, es del 41,5% en <35 años, 31,9% entre los 35-37 años, 22,1% entre los 38-40 años, 12,4% entre los 41-42 años, 5% entre los 43-44 años y 1% en >44 años. (101).

A medida que la edad aumenta, el riesgo de otros trastornos que pueden afectar a la fertilidad como leiomiomas, enfermedad tubárica, endometriosis y otras también aumentan.

El incremento de la edad se acompaña igualmente de un incremento en las tasas de aborto espontáneo por aneuploidías (102).

La trisomía autosómica es el hallazgo más frecuente y está relacionada, al menos en parte, con los cambios en el huso meiótico (103) que predispone a la no disyunción (104). Incluso, para embriones morfológicamente normales seleccionados para su transferencia en los ciclos FIV, la prevalencia de aneuploidías es alta en mujeres de edad reproductiva avanzada (105).

Con el paso de los años disminuye tanto la calidad como la cantidad ovocitaria.

La edad por si sola es mejor factor predictivo independiente de potencial de embarazo que la FSH basal (102).

La edad materna es un marcador clínico relevante relacionado, de modo inverso con la reserva ovárica y el mejor indicador aislado de fertilidad (102).

El hecho de que la edad es el factor predictivo más importante de respuesta y gestación en los tratamientos de reproducción asistida, ha sido demostrado en numerosos trabajos (95,102,106,107,108).

Cada año que aumenta la edad materna, disminuye un 7% la tasa de gestación (109).

La edad de la mujer es uno de los factores de predicción más importantes para el éxito con la FIV. La disminución de la fecundidad se presenta después de los 30 años, con un marcado descenso después de los 35 años, tanto para las gestaciones espontáneas como tras FIV.

La explicación biológica de ello está en una disminución de la reserva ovárica, tanto en cantidad como en calidad ovocitaria, que conduce a una mala respuesta a la terapia gonadotrópica y una menor posibilidad de embarazo (110).

Del mismo modo, verificamos que a menos edad conseguimos mayor número de ovocitos recuperados, maduros y fecundados, hay una relación inversa significativa

entre la edad de la mujer sometida a FIV-ICSI y el número de ovocitos recuperados, ovocitos MII y cigotos, lo que conlleva una mayor probabilidad de gestación.

Estableciendo el corte en los 10 ovocitos fecundados, se observa una asociación significativa entre las mujeres de menos de 35 años y la gestación, es decir, mujeres de menos de 35 años en las que obtenemos 10 o más cigotos tienen una mayor probabilidad de gestación.

La combinación edad e IMC demuestra una tendencia no significativa entre mujeres < 35 años y mujeres con normopeso, para la consecución de la gestación mediante FIV-ICSI, TG: 36,18%.

Si la combinación de variables es la edad con la FSH basal, la estadística nos habla de una asociación del grupo de < 35 años y nivel basal de 10 o menos UI/l. Es decir, a menor edad, la FSH es menor, lo que implica una mayor reserva ovárica cuantitativa.

El uso combinado de edad y FSH basal mejora significativamente el poder predictivo para estos parámetros por separado (84).

Al contrario, una edad reproductiva avanzada, > 35 años de edad y una FSH elevada se asocia significativamente con un número menor de ovocitos recuperados, fertilizados y embriones conseguidos para transferir.

Las mujeres de 40 años o mayores con una FSH elevada ( >10 UI/l) deberán ser informadas de la escasa posibilidad de gestación(84) , que nuestros datos reafirman.

En cuanto a la relación de la variable edad con los niveles de estradiol basal, nuestro estudio, establece de forma no significativa, una asociación entre el grupo de < 35 años y un nivel de estradiol de 70 pg/ ml o menor, lo que implica una mayor reserva ovárica cuantitativa en estas mujeres y por ende una mayor probabilidad de gestación.

## 2.- IMC ( índice de masa corporal).

Los resultados tras el estudio de la variable IMC , nos llevan a afirmar que mujeres con normopeso (IMC: 18,5-24,9) tienen una mayor probabilidad de gestación frente a mujeres con sobrepeso y ello estadísticamente significativo.

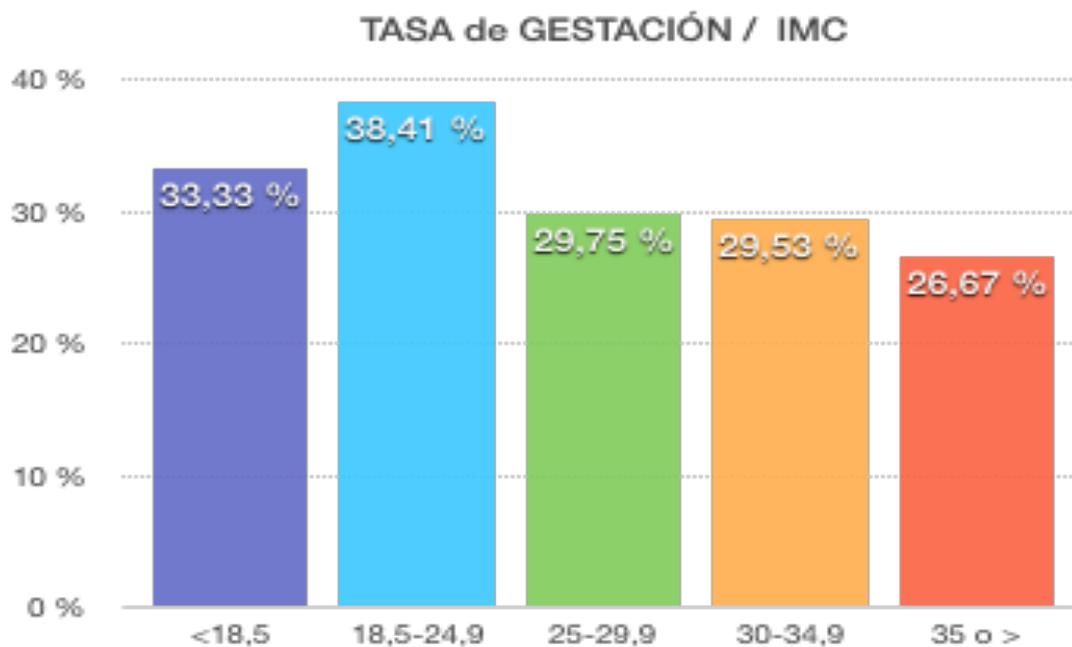
La tasa de gestación (TG) en IMC < 18,5 es de: 33,33%.

La TG en IMC >= 18,5 -24,9, mujeres en normopeso es de 38,41%.

La TG en IMC >= 25-29,29 , mujeres con sobrepeso es de 29,75%.

La TG en IMC >= 30-34,9, mujeres con obesidad es de 29,53%.

La TG en IMC >= 35 , mujeres con obesidad severa es de 26,67%.



**Gráfico 7.** Tasa de gestación / IMC

Podemos afirmar de acuerdo con lo publicado (118), que la respuesta ante la estimulación ovárica en mujeres sometidas a FIV-ICSI es mejor en mujeres con normopeso frente a mujeres con sobrepeso u obesidad, siendo esta menor cuanto mayor es el IMC, y ello se demuestra con nuestros datos.

Remarcar que mujeres delgadas, ofrecen igualmente una menor tasa de gestación.

El IMC aumentado, se asocia con resultados adversos del embarazo tras FIV-ICSI, incluyendo tasa de embarazo y tasa de RNV, presentes tanto en mujeres con sobrepeso como en obesas, en comparación con mujeres con normopeso ( IMC < 25).

Igualmente, el IMC aumentado se asocia a mayor tasa de aborto (111).

Las mujeres con sobrepeso y obesidad pueden requerir dosis más altas de gonadotropinas en los ciclos FIV. Por tanto, se puede esperar una respuesta menor (subóptima) en la recuperación ovocitaria.

Las mujeres con sobrepeso tienen significativamente menos ovocitos maduros MII que mujeres con normopeso (112).

No obstante, el efecto de un IMC aumentado sobre los resultados de las técnicas de reproducción asistida ( TRA) es un tema controvertido.

Algunos autores, ponen en duda el efecto deletéreo en la calidad innata de los ovocitos o en el ambiente uterino.

Tras ajustar por edad y otros factores de confusión, la tasa de gestación no mostró diferencias significativas entre los diferentes grupos de IMC (113).

En otro estudio, las mujeres obesas no requirieron dosis significativamente más elevadas de gonadotropinas para la estimulación ovárica controlada ( EOC) que las mujeres con normopeso, así como la no diferencia significativa en tasa de embarazo clínico y tasa de RNV tras FIV (114).

No hubo diferencias significativas entre las diferentes categorías de IMC en cuanto a número de ovocitos recuperados totales, ovocitos MII, ovocitos fecundados, embriones disponibles para transferir y tasa de cancelación.

Se describe una tasa de embarazo clínico y aborto espontáneo comparable entre mujeres con peso normal, sobrepeso y obesidad.

Las mujeres obesas podrían requerir una dosis significativamente mayor de gonadotropinas y duración mayor de la EOC sin afectar los resultados posteriores (115).

Sin embargo, la mayoría de los autores, acorde a nuestros datos, relacionan el sobrepeso y la obesidad con menores tasas de RNV en mujeres sometidas a FIV-ICSI.

Por ello, la pérdida de peso se relaciona con una mayor recuperación ovocitaria total y de ovocitos MII, lo que implica una mayor probabilidad de gestación (116).

La tasa de implantación, gestación y RNV es menor cuanto mayor es el IMC en mujeres receptoras de embriones de donantes con normopeso, lo que implica una alteración de la receptividad uterina en aquellas mujeres (117).

En nuestro estudio, el grupo de mujeres con normopeso, que constituyeron el 60,16% de los ciclos, obtuvieron el 66,09 % del total de embarazos.

Las mujeres con normopeso tienen una mayor probabilidad de gestación frente a las mujeres con sobrepeso y ello es estadísticamente significativo.

En esta línea nuestros datos relacionan , el grupo de normopeso ( IMC entre 18,5-24,9) con una mayor recuperación ovocitaria total, número de ovocitos MII y consecución de cigotos, lo que conlleva a una mayor posibilidad de gestación.

Hay una correlación inversa, estadísticamente significativa, entre la obesidad y el número de ovocitos recuperados.

La obesidad está asociada con una menor posibilidad de recién nacido vivo ( RNV) tras FIV-ICSI y respuesta anómala a la estimulación ovárica controlada(118).

La menor tasa de RNV es debida a una mayor riesgo de aborto precoz (119).

El efecto deletéreo de la obesidad en la reproducción es un hecho constatado desde Hipócrates:.” Las mujeres obesas no pueden ser prolíficas y la grasa es la culpable”; ello se constata en las mujeres que buscan la gestación espontáneamente como en el peor pronóstico que presentan aquellas que se someten a TRA (120), como nuestros datos remarcan.

Los factores que median esta relación son de índole diversa e incluyen las alteraciones orgánico-funcionales del eje hipotálamo-hipófisis-ovárico con amenorrea o/y oligomenorrea y anovulación o disovulación o el efecto deletéreo directo sobre el desarrollo folicular, el ovocito, el embrión y el endometrio (118).

El tejido graso constituye el órgano endocrino más extenso del cuerpo humano e interviene en diferentes sistemas y entre ellos en la función reproductiva. Ello ocurre a través de las adipoquinas, sustancias sintetizadas en el tejido graso que en exceso o defecto perjudican el proceso reproductivo (105). Entre ellas la leptina, cuyo aumento en la obesidad altera la folículoogénesis (121,123).

Las adipoquinas son hormonas de regulación energética: leptina, adiponectina, resistina y ghrelina.

La leptina es una proteína de 167 aminoácidos, sintetizada en los adipocitos, que regula la conducta alimentaria y el equilibrio energético. En condiciones fisiológicas actúa sobre el hipotálamo disminuyendo la sensación de apetito e incrementando el gasto energético (122). Su concentración elevada en la mujer obesa se ha relacionado con alteraciones en la producción de GnRH, en la folículoogénesis, en la maduración ovocitaria y alteraciones en la implantación embrionaria por defectos endometriales. Inhibe igualmente, el efecto de la FSH sobre las células de la granulosa del folículo en crecimiento lo que conlleva a la anovulación (123).

La adiponectina, disminuida en la obesidad, se relaciona con la disminución de la sensibilidad a la insulina, agravando la insulinorresistencia factor principal de la obesidad.

En cuanto al sistema endocannabinoide, las endorfinas elevadas en la obesidad, inhiben la pulsatilidad de la GnRH, que suprime a su vez la LH, lo que contribuye a la anovulación referida (123).

El hiperinsulinismo en la obesidad, inhibe la síntesis de la SHBG ( globulina transportadora de hormonas sexuales) en el hígado y aumenta la secreción de andrógenos en la teca y estroma ovárico: androstendiona, testosterona y dihidrotestosterona, causando hiperandrogenismo (124,125). Este hiperandrogenismo ovárico, inhibe la ovulación por medio de una atresia folicular prematura.

Los últimos estudios, se han centrado en el efecto de la obesidad a nivel del complejo cúmulo-ovocito (COC) y su ambiente más próximo (ambioma), líquido folicular y células de la granulosa. Una elevada o reducida concentración de glucosa en dicho complejo podría afectar a la competencia ovocitaria, alterando su calidad, maduración y capacidad de desarrollo posfecundación (126). Del mismo modo, el exceso de lípidos, puede ser tóxico para la competencia ovocitaria.

Resumiendo, la alteración endocrina asociada a la obesidad podría alterar la función del cuerpo lúteo, el desarrollo embrionario inicial y la receptividad endometrial (118,119). Como confirman nuestros datos, a mayor obesidad, menor número de ovocitos recuperados y fecundados, con una menor calidad ovocitaria cuyas causas han sido descritas.

La interacción del IMC y la edad afecta de modo significativo a la tasa de embarazo clínico.

Para terminar, dado el incremento progresivo de la obesidad en la mujer occidental, auténtica pandemia del siglo XXI, se debe aconsejar la reducción del peso mediante dieta y ejercicio, antes de buscar la gestación o plantear tratamientos de reproducción asistida para mejorar tanto los resultados de las TRA como los gestacionales y perinatales(127).



### 3.- FSH basal.

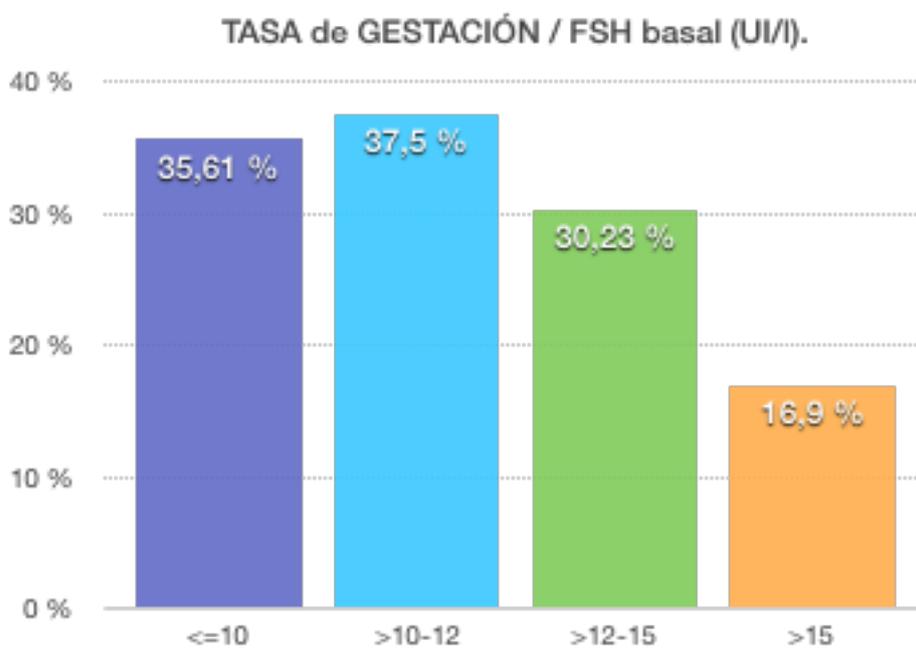
Nuestros datos, no encuentran significación estadística, entre el nivel de FSH basal y tasa de gestación.

La tasa de gestación ( TG) de mujeres con FSH  $\leq 10$  UI/l es de 35,61%.

La TG en mujeres con FSH  $>10-12$  UI/l es de 37,5%.

La TG en mujeres con FSH  $>12-15$  UI/l es de 30,23%.

La TG en mujeres con FSH  $> 15$  UI/l es de 16,90%.



**Gráfico 8.** Tasa de gestación /FSH basal (UI/l).

Sin embargo, hay una asociación no significativa entre los bajos niveles de FSH y la gestación, el 84% de las gestaciones presentan una FSH  $\leq 10$  UI/l.

En el otro extremo, podemos afirmar que mujeres con FSH  $> 15$  UI/l tendrán dificultad en conseguir la gestación, aunque no hay significación estadística.

En este punto, apreciamos una correlación inversa significativa entre el nivel de FSH y número de ovocitos totales recuperados, ovocitos MII y fecundados.

Mujeres con una FSH > 10 UI/l tienen una menor recuperación ovocitaria, ovocitos MII, ovocitos fecundados y embriones disponibles para transferir, y todo ello estadísticamente significativo.

El test ideal para predecir con seguridad la respuesta a la estimulación con gonadotropinas sería aquel que informara del pool de folículos primordiales y de la calidad ovocitaria ( reserva ovárica verdadera), aunque ello actualmente no es posible con las herramientas disponibles. Hoy día, los test de reserva ovárica disponibles más fiables son el recuento de folículos antrales ( RFA) y la hormona antimulleriana (AMH) y ellos no valoran la reserva ovárica verdadera.

El RFA nos proporciona una evaluación de los folículos antrales reclutables bajo el influjo de la FSH, lo que llamamos reserva ovárica funcional. Habitualmente, hay una buena correlación entre la reserva ovárica verdadera y la reserva ovárica funcional; en algunos casos, como en la resistencia a las gonadotropinas no ocurre de esa forma y la mujer a pesar de una reserva ovárica verdadera conservada presenta una baja respuesta ovárica.

La AMH, es producida por las células de la granulosa de los folículos primordiales primarios y antrales pequeños, hasta los 6 mm, por lo que nos aporta una valoración de la reserva ovárica intermedia formada por los folículos que habiendo iniciado su desarrollo aún no son sensibles a la FSH(128).

Por tanto, se puede obtener una valoración aproximada de la reserva ovárica midiendo directamente los productos de las células de la granulosa ( AMH) o mediante el estudio de la capacidad de respuesta ovárica ( FSH y estradiol).

La elevación de la FSH basal en fase folicular precoz , entre 2º y 5º día del ciclo, es un marcador de envejecimiento ovárico.

La FSH en fase folicular precoz se eleva como consecuencia de la disminución de la retroalimentación negativa producida por la inhibina B, al disminuir la cohorte de folículos preantrales y antrales dependientes de la FSH (129). Se produce un incremento de los niveles de FSH en la fase folicular precoz que provocaría un reclutamiento folicular

acelerado que explicaría el nivel elevado de estradiol basal y el acortamiento de la fase folicular.

La utilidad de la FSH basal como factor pronóstico de respuesta a la estimulación ovárica con gonadotropinas ha sido ampliamente estudiado, el metaanálisis de Bancsi en 2003, (130), demostró que tiene una capacidad predictiva moderada para la respuesta ovárica y baja para la probabilidad de embarazo. Esto ha sido confirmado en una revisión posterior (131).

La gran variación de la FSH basal de un ciclo a otro y las grandes diferencias de valores umbrales de normalidad hace que actualmente se encuentre en entredicho su utilidad clínica como marcador de reserva ovárica(132).

No obstante, la edad sigue siendo el mejor indicador de calidad ovocitaria y por tanto, de gestación. Una FSH elevada,  $> 10$  UI/ l, en mujer de menor edad, tiene menor valor pronóstico que una FSH elevada en mujer de edad reproductiva avanzada.

El nivel de FSH basal, no debe ser utilizado para seleccionar a las pacientes para el tratamiento de reproducción, sino para informar a las mismas de las posibilidades de éxito.

Un nivel  $> 20$  UI / l en mujer de menos de 35 años, sugiere un fallo ovárico oculto y baja respuesta a la estimulación ovárica y por tanto, mal pronóstico reproductivo.

El aumento de la FSH basal indica disminución de la cantidad folicular, de la reserva ovárica funcional, no de calidad ovocitaria.

La tasa de fertilización en las pacientes con FSH elevada, no está disminuida y la tasa de aborto no está aumentada, ello refleja calidad ovocitaria.

La reducción en la tasa de gestación, que remarcan nuestros datos, es el resultado del menor número de ovocitos obtenidos, y por tanto, menor posibilidad de selección embrionaria previo a transferencia en fresco.

La tasa de RNV se relaciona con la edad de la paciente y número de ovocitos reclutados, y no con el nivel de FSH basal(133).

El rendimiento de la FSH basal como test predictor de muy pobre respuesta ovárica o no embarazo tras FIV-ICSI es muy decepcionante.

Una tasa de falsos positivos cercanos a 0 es prerequisite. Solo sería posible aplicarlo en un grupo minoritario de pacientes, con una FSH muy elevada, por encima de 20 UI/l(130).

Podemos, reseñar en función de nuestros datos, que aunque no hay una significación estadística entre los niveles de FSH y tasa de gestación, dado que la mayoría de las pacientes que lograron la gestación tenían una FSH basal de 10 o menor, mujeres con este nivel tendrían “a priori” una mejor respuesta y un mejor pronóstico.

#### 4.- Estradiol basal.

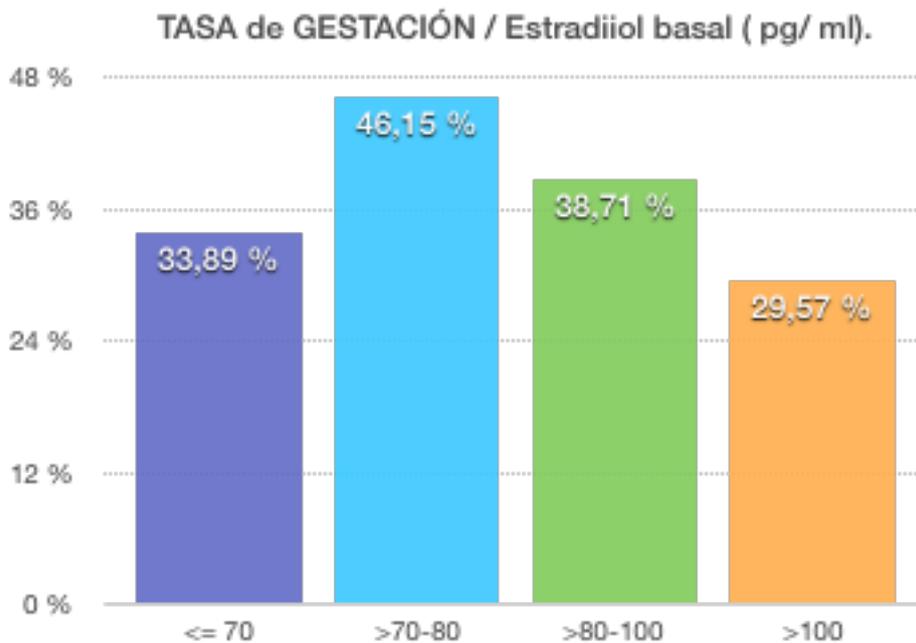
Al igual que ocurre con la FSH basal, el análisis de la variable estradiol basal, determinado en la fase folicular precoz, no muestra una relación estadísticamente significativa con la tasa de gestación.

La tasa de gestación (TG) en mujeres con nivel de estradiol basal de  $\leq 70$  pg/ml es de 33,89%.

La TG en mujeres con nivel de estradiol  $>70-80$  pg/ml es de 46,15%.

La TG en mujeres con nivel de estradiol de  $>80-100$  pg/ml es de 38,71%.

La TG en mujeres con nivel de estradiol de  $>100$  pg/ml es de 29,57%.



**Gráfico 9.** Tasa de gestación / Estradiol basal ( pg/ml).

De modo ,paralelo a la FSH , la mayor parte de las gestaciones han ocurrido en mujeres con niveles basales bajos de estradiol, el 75,21% de las mismas, se han dado en pacientes con un estradiol de  $\leq 70$  pg/l.

En relación con el número de ovocitos recuperados, el nivel de 70 pg/ml, marca el límite para la obtención de un número óptimo de ovocitos MII, de 10 o más, para la consecución de la gestación, aunque esta asociación no es significativa.

El estradiol basal mejora la información predictiva aportada por la FSH basal.

El aumento de sus niveles basales asociado a la reducción de la reserva ovárica se deben al reclutamiento folicular precoz que, a su vez, es debido al incremento de los niveles de FSH, ello se traduce en un desenlace desfavorable en la FIV-ICSI, baja respuesta a la estimulación ovárica y baja tasa de embarazo.

En una revisión realizada,por Broekmans (129), se concluye que la utilidad clínica del estradiol basal antes de un ciclo FIV-ICSI es nula para predecir tanto la baja respuesta, como la posibilidad de embarazo.

Actualmente, no se utiliza como marcador de reserva ovárica y de resultado en TRA.

Los valores que se manejan habitualmente son:

Niveles de 70-80 pg/ml pueden corresponder a baja respuesta a la estimulación y reserva folicular comprometida (134).

En nuestro caso, los niveles comprometidos lo establecemos a partir de los 70 pg/ml, donde se observa una menor recuperación a partir de ese nivel, especialmente a partir de los 100 pg/ ml, donde de modo significativo se obtienen menos de 5 ovocitos totales.

Aún con resultados más pobres, niveles altos de estradiol, que en nuestro caso hemos establecido por encima de los 70 pg/ml, no son motivo para cancelar y no intentar la estimulación en estas pacientes.

Lo que cuenta es la respuesta ovárica ante la estimulación ovárica controlada ( EOC) durante el ciclo de FIV-ICSI, los datos basales previos a la estimulación sólo son orientativos en cuanto a protocolo y dosis de gonadotropinas a aplicar.

Dentro de cada grupo de edad, la tasa de gestación (TG) y respuesta ovárica (número de ovocitos recuperados) decrece linealmente con el aumento del nivel de FSH y estradiol.

Hay una relación con la edad, mujeres de menos de 35 años de edad con niveles altos de FSH y estradiol, tuvieron una TG del 26%, mayor que mujeres de 40 años o mayores con niveles menores de FSH y estradiol, cuya TG es de 19%.

A misma edad, niveles altos de FSH y estradiol empeoran el pronóstico (135).

En la misma línea se comportan nuestros resultados, a menores niveles de FSH y estradiol mayor tasa de gestación, aunque sin ser estadísticamente significativos.

Todo ello nos debe servir para aconsejar a las pacientes y presuponer resultados, pero no desaconsejar el tratamiento de fertilidad.

Una prueba de reserva ovárica desfavorable, sea RFA, AMH, FSH basal o estradiol basal tiene un alto valor predictivo para no gestación, pero no definitivo, de igual modo la normalidad de la prueba no asegura el resultado positivo, aunque el pronóstico será mejor (136).

Pese a la utilidad de los marcadores de reserva ovárica para predecir la respuesta a la estimulación en ciclos FIV-ICSI, ninguno de ellos predice la posibilidad de gestación.

El mejor indicador de la probabilidad de embarazo sigue siendo la edad. Por ello, los marcadores de reserva ovárica no deberían usarse como pruebas excluyentes para tratamientos que conlleven estimulación ovárica, sobre todo en mujeres jóvenes.

Podemos afirmar, que no existe ninguna prueba capaz de predecir de manera fiable la respuesta ovárica, la prueba definitiva la constituye la propia respuesta ovárica a la estimulación.

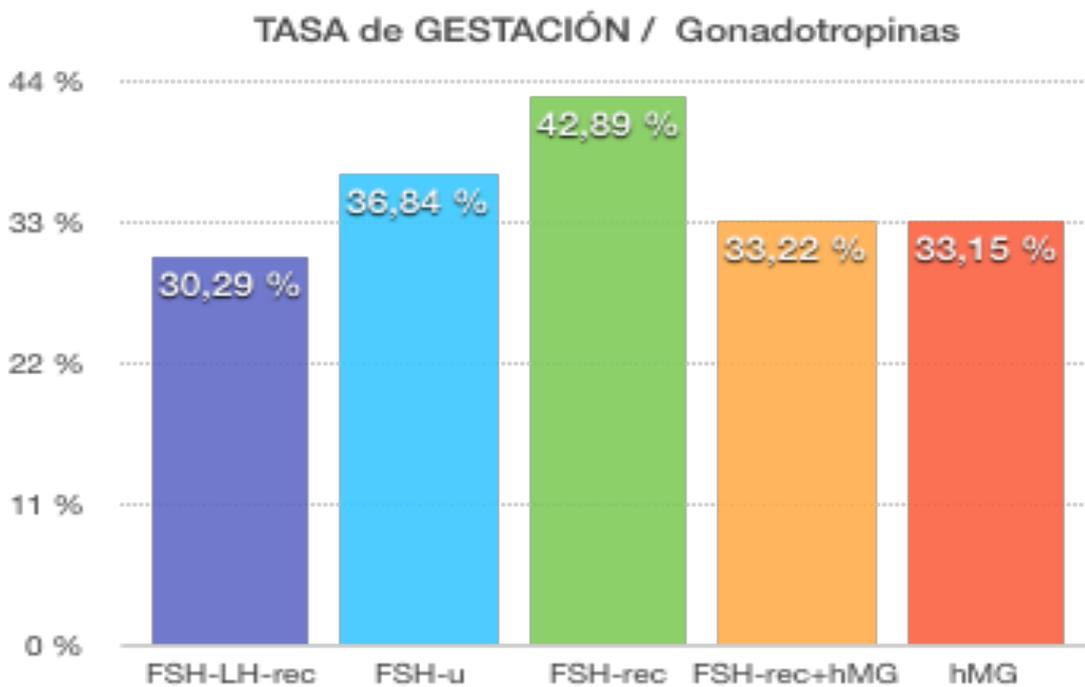
Ninguna de las pruebas disponibles en cuanto a valorar reserva ovárica y respuesta ovárica es superior a la propia respuesta ovárica a la estimulación con gonadotropinas.

Existen muchos factores como la edad, calidad embrionaria, técnica de transferencia y receptividad endometrial que determinan la posibilidad de conseguir un embarazo. Sin embargo, la edad es el mejor indicador aislado de fertilidad, porque refleja el efecto que sobre la probabilidad de embarazo tiene, tanto en reserva folicular como en calidad genética ovocitaria.



### 5.- Tipo de gonadotropina empleada para la estimulación ovárica.

Las diferentes gonadotropinas utilizadas en los 2008 ciclos analizados para la estimulación ovárica, no presentan significación estadística en cuanto al resultado de la tasa de gestación de las pacientes estudiadas.



**Gráfico 10..** Tasa de gestación / Gonadotropinas.

La literatura referida a las diferentes gonadotropinas en cuanto a tasa de gestación no muestra diferencias estadísticamente significativas en tasa de gestación ni en RNV.

La revisión Cochrane de 2011 de Van Wely<sup>(93)</sup>, que compara gonadotropina recombinante con la urinaria purificada, con independencia del protocolo de estimulación utilizado y tras estudiar 9606 parejas (42 estudios), llega a la conclusión de que no hay diferencias significativas entre ambos tipos de gonadotropinas.

Los estudios incluyeron pacientes no mayores a 35 años normorrespondedoras. Ello debe tenerse en cuenta para no extrapolar estos resultados a toda la población susceptible de tratamiento.

La alta potencia estadística y correcta metodología del metaanálisis no hace necesaria la recomendación de otro estudio comparativo, de modo que la elección de un tipo u otro de gonadotropina dependerá del criterio del clínico en función de la disponibilidad, preferencia y costo.

En los últimos años se han publicado diversos estudios que relacionan la presencia de polimorfismos en los receptores de las gonadotropinas con la respuesta a la estimulación ovárica.(137-146).

Se llama polimorfismo genético a la existencia de distintos alelos en un mismo gen, lo cual implica cambios en la secuencia genética entre los integrantes de una determinada población; para hablar de polimorfismo, dicha variación debe aparecer al menos en el 1% de dicha población.

El gen FSHR (receptor de la FSH) está localizado en el cromosoma 2 y codifica el receptor de la FSH.

Se han descrito polimorfismos en el gen FSHR asociados con cambios en la sensibilidad a la FSH.

Uno de los más estudiados en relación a la respuesta en la estimulación ovárica controlada (EOC) es el polimorfismo p. N680S, localizado en el exón 10, que produce la sustitución del aminoácido asparagina (N) por serina (S) en el dominio intracelular del receptor de FSH. Este cambio de serina por asparagina da lugar a una proteína FSHR menos activa.

Diversos estudios (137-141) han relacionado el alelo S (presencia del aminoácido serina) en el polimorfismo p. N680S como uno de los factores que determinarían los niveles basales de FSH y la respuesta ovárica a la FSH exógena.

Este receptor sería menos sensible a la FSH, requiriendo dosis mayores para obtener múltiples folículos tras la estimulación ovárica.

De Castro , F en 2003, ya refiere un aumento en los ciclos cancelados por baja respuesta, hasta un 25%, en mujeres homocigotas para el polimorfismo p. Ser680 en comparación con Ser/Asn y Asn/Asn. (137).

La Marca,A en 2013, añade que el genotipo Ser680 es un factor de resistencia relativa a la estimulación con FSH, mostrando algún potencial de la estimación farmacogenética en la dosis a emplear en la EOC. (138).

Lledó, B, en 2013, indica que la aplicación prospectiva del genotipo del FSHR, en el tratamiento de la EOC con FSH mejora los resultados en cuanto al número de ovocitos recuperados.(139).

En 2016,Lledo,B, tras investigar en ciclos de ovodonación, determina lo siguiente:

- Pacientes portadoras del genotipo NN, supuestamente normorrespondedoras pueden ser estimuladas con dosis bajas de FSH, entre 100 y 150 UI/ día, sin diferencias entre la HP- FSH y la FSH recombinante, obteniendo los mejores resultados en cuanto al número de folículos, número de ovocitos totales, ovocitos MII y embriones conseguidos.
- Pacientes portadoras del genotipo SS tratadas con HP-FSH obtuvieron más ovocitos totales.
- Pacientes portadoras del genotipo NS tratadas con FSH recombinante obtuvieron más ovocitos totales.(141).

Se observó que, a pesar de no haber diferencias en los niveles de AMH en los 3 grupos(142), las pacientes con genotipo Asn/Asn (N/N) requirieron menos dosis de FSH durante la estimulación ovárica y las portadores del genotipo Ser/Ser (S/S) fueron las que más dosis requirieron (142).

Un 10-15% de mujeres normorrespondedoras muestran una respuesta subóptima a la estimulación ovárica controlada (EOC), por lo que requieren mayor dosis de FSH(143).

Se han descrito diversos polimorfismos en receptores de la FSH (144,145).

El polimorfismo del gen N608S RFSH afecta a la eficacia de la HP-FSH (gonadotropina ultrapurificada) o de la FSH- recombinante.

Para el genotipo SS, se asocia una mayor respuesta con la HP-FSH frente a la FSH-recombinante.

Para el genotipo NS, se observa una mayor respuesta con la FSH-recombinante frente a la HP-FSH.

Para el genotipo NN, no se aprecia diferencia significativa entre ambas gonadotropinas<sup>(141)</sup>.

La conclusión final refiere que el polimorfismo N680S del gen FSHR es un factor determinante en el pronóstico de la EOC y en el tipo gonadotropina a utilizar. <sup>(141)</sup>.

Huang X, en 2015 concluye en la misma línea, que las pacientes con genotipo NS y SS, es decir, portadoras heterocigotas u homocigotas del alelo S, muestran mayor riesgo de baja respuesta, del 23,8% frente al 11,9%, que mujeres con genotipo NN, ello estadísticamente significativo (  $P < 0,001$ ).<sup>(140)</sup>.

El polimorfismo p.N680S es un factor determinante de la respuesta óvarica a la FSH en mujeres por debajo de los 35 años de edad, esta asociación podría no ser relevante en mujeres en edad reproductiva avanzada y en situaciones con una FSH basal muy elevada como en mujeres menopáusicas o en fallo ovárico precoz.<sup>(139)</sup>.

Es decir, el polimorfismo descrito tiene validez en mujeres jóvenes con buena reserva ovárica. <sup>(141)</sup>.

También, se han observado polimorfismos en receptores de la LH, en mujeres que requirieron altas dosis de FSH<sup>(146)</sup>.

El estudio MERIT ( Menotrophin vs Recombinant FSH in vitro Fertilization Trial), que compara la hMG-HP ( hormona urinaria ultrapurificada) con la FSH recombinante en protocolo largo, no observa diferencias estadísticamente significativas en los resultados en tasa de gestación y RNV<sup>(147)</sup>.

El estudio MEGASET , que compara hMG-HP con la FSH recombinante en protocolo antagonista, no aprecia diferencias estadísticamente significativas en tasa de embarazo y RNV <sup>(148)</sup>.

Hay una diferencia entre el 6% en protocolo largo y el 3% en protocolo antagonista en tasa de RNV a favor de la HMG-HP, aunque sin significación estadística.

En cuanto al uso de la LH bien recombinante o como actividad LH con el uso de hMG-HP, está indicado en pacientes con peor pronóstico , como mujeres bajas respondedoras, en baja reserva ovárica, ciclo previo fallido sin uso de LH, en edad reproductiva avanzada(149).

El mecanismo de acción por el cual puede obtenerse un beneficio en estos casos, podría deberse, por un lado, a la adecuación del microambiente folicular, - lo cual mejoraría la calidad ovocitaria y embrionaria-, y por otro lado, podría mejorar la receptividad endometrial, al asociarse con menores niveles de progesterona al final de la estimulación.

Un reciente metaanálisis de 40 estudios aleatorios controlados, muestra una mejora en la obtención de ovocitos, y también un incremento en las tasas de embarazo cuando se añade LH a la FSH, comparando con la estimulación con sólo FSH en bajas respondedoras (150).



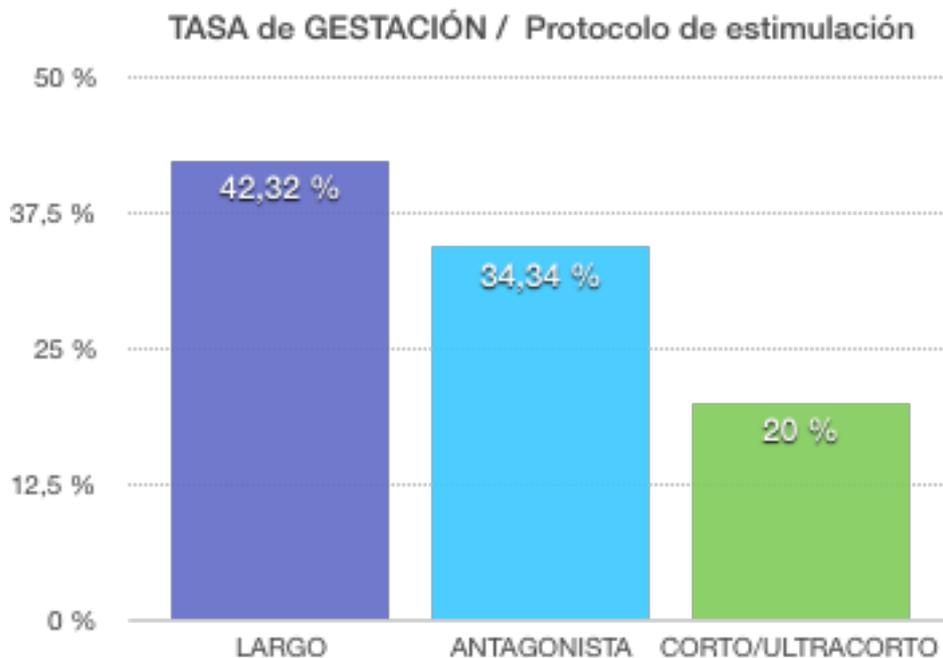
## 6.- Tipo de protocolo de estimulación ovárica.

El análisis estadístico de los diferentes protocolos aplicados a nuestras pacientes, determinan una diferencia estadísticamente significativa entre los mismos y la tasa de gestación.

La tasa de gestación ( TG) para las pacientes sometidas al protocolo largo con análogos es de 42,32%.

La TG en pacientes tratadas mediante el protocolo corto/ ultracorto es de 20%.

La TG en pacientes tratadas mediante el protocolo con antagonista es de 34,34%.



**Gráfico 11.** Tasa de gestación / Protocolo de estimulación.

Nuestros datos muestran una asociación significativa del protocolo largo con la gestación única y triple.

El protocolo corto ( incluye también el protocolo ultracorto) se asocia significativamente con la no consecución de la gestación.

El protocolo con antagonista no se asocia de modo significativo ni con la gestación ni con la no consecución de la misma.

Esta conclusión, se explica en cuanto que el protocolo largo con agonistas se ha aplicado esencialmente a mujeres con buen pronóstico reproductivo, normorrespondedoras, mientras que el protocolo corto/ultracorto se ha aplicado a mujeres bajas respondedoras.

Del mismo modo, el protocolo con antagonista se ha aplicado a mujeres con mal pronóstico reproductivo. Hoy día esta distinción no tiene cabida, de modo que básicamente se emplean ambos protocolos en cualquier tipo de paciente.

La introducción de los análogos de la GnRH en el ámbito de la medicina reproductiva ocurre en los años 80, incrementando con ello las tasas de gestación. Dos décadas después se inicia el uso de los antagonistas de la GnRH.

Para algunos autores, no hay diferencias significativas en la tasa de embarazo entre el protocolo largo con agonistas y protocolo con antagonistas en bajas respondedoras.

Si hay diferencia significativa en número de ovocitos recuperados entre el protocolo largo y el protocolo corto con agonistas , a favor del primero (151).

El número de ovocitos obtenidos, así como el número de embriones de calidad fueron significativamente mayores en el grupo de protocolo largo frente al protocolo corto, en mujeres de edad avanzada ( 33,67% frente a 15,96%,  $p < 0,05$ ) (152).

La mayor duración de la estimulación en el protocolo largo, parece reducir la tasa de gestación en ciclos con transferencia en fresco así como en el número de embriones para criopreservar, reduciendo la tasa de gestación en un 13% y en un 16% la consecución de los embriones para criopreservar , por cada día adicional de estimulación (153).

Aunque la tasa de cancelación global fue mayor en el grupo antagonista en comparación con el grupo de agonista, la diferencia no es significativa, así como la tasa de embarazo clínico por transferencia ( 42,3% frente al 33,1%,  $p = NS$ ) en bajas respondedoras.

Aunque las tasas de embarazo por transferencia entre ambos protocolos son comparables, la mayor tasa de cancelación observada en el grupo antagonista sugiere el protocolo largo como la primera opción para estimulación ovárica en dichas pacientes (154).

### 7.- Tipo de técnica de inseminación ovocitaria en el laboratorio FIV.

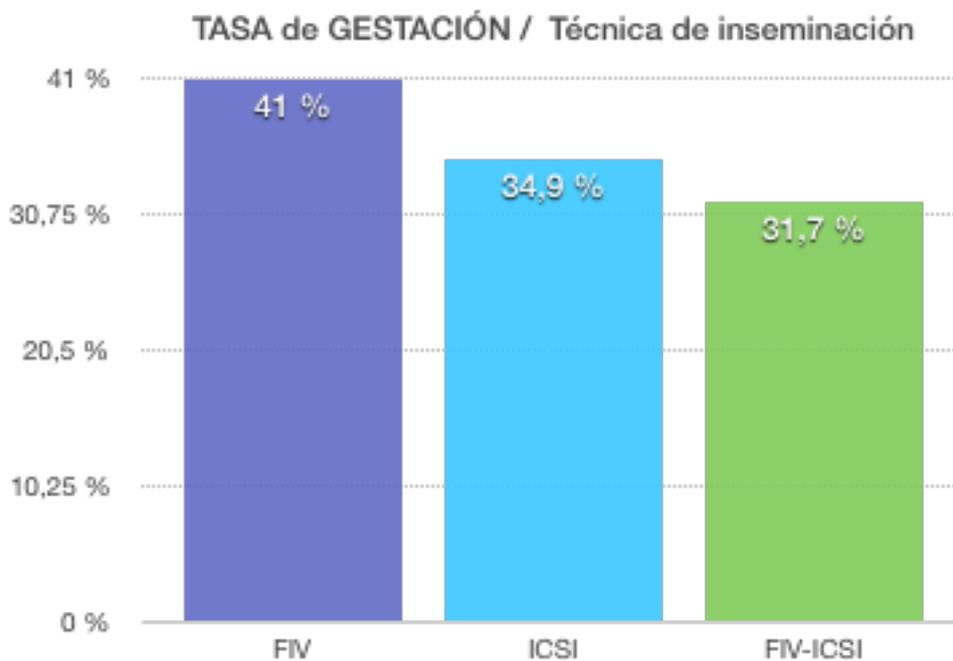
La relación entre la técnica de inseminación ovocitaria ( FIV convencional, ICSI o mixta) no presenta diferencias estadísticamente significativas en tasa de embarazo.

La tasa de gestación (TG) en FIV clásica es de 41%.

La TG en ICSI es de 34,90%.

La TG en técnica mixta, en la que se ha empleado las dos técnicas en el mismo ciclo es de 31,70%.

La técnica más empleada, en más del 81% de los ciclos analizados en el presente trabajo es del 81%. En el registro SEF del año 2015, la técnica de inseminación ICSI es utilizada en un 89,2 % de los casos (77).



**Gráfico 12.** Tasa de gestación / Técnica inseminación.

7.1. Los dos motivos más frecuentes para indicar una FIV , como técnica de inseminación en el laboratorio son el factor tubárico y la endometriosis.

Los factores tubáricos representan el 14% de las causas de esterilidad.

En cuanto a la endometriosis, debemos contemplar los siguientes supuestos:

- En las pacientes con endometriosis severa el tratamiento con análogos de la GnRH tres meses antes previos a la FIV incrementa la posibilidad de éxito.
- En ausencia de dolor, no se recomienda tratamiento quirúrgico antes de la FIV.
- El pronóstico de la FIV empeora en la endometriosis avanzada.
- Debe evitarse en la recuperación ovocitaria la punción de los endometriomas..

#### 7.2. Las indicaciones de FIV-ICSI (técnica mixta) es:

- Fracaso de la inseminación intrauterina de pareja ( IAC). En caso de ausencia de patología tubárica u ovulatoria, se recomienda realizar ICSI.
- En caso de baja respuesta, no se aprecian diferencias significativas entre las tasas de gestación cuando se utiliza FIV o ICSI para esterilidades que no incluyan el factor masculino(155).
- Factor masculino leve-moderado(156).

#### 7.3. Las indicaciones de ICSI:

- Diagnóstico preimplantacional: la mayoría de los centros realizan ICSI para asegurar la fecundación. La ICSI no produce más anomalías cromosómicas numéricas que la FIV convencional (157).
- Fallo de fecundación en ciclo FIV previo.
- La ICSI es mejor para el tratamiento de esterilidad por causa masculina.
- Los parámetros seminales habituales no se asocian a los resultados de ciclos de ICSI.
- La calidad ovocitaria suele ser la responsable de los malos resultados en ICSI tras fallo de fecundación.
- Factor masculino severo.

**8.- Clínica concertada donde se lleva a cabo la finalización de la estimulación ovárica, maduración y recuperación ovocitaria, fertilización, control embrionario y embriotransferencia.**

Los resultados entre las diferentes clínicas y la tasa de gestación de cada una de ellas presentan diferencias estadísticamente significativas.

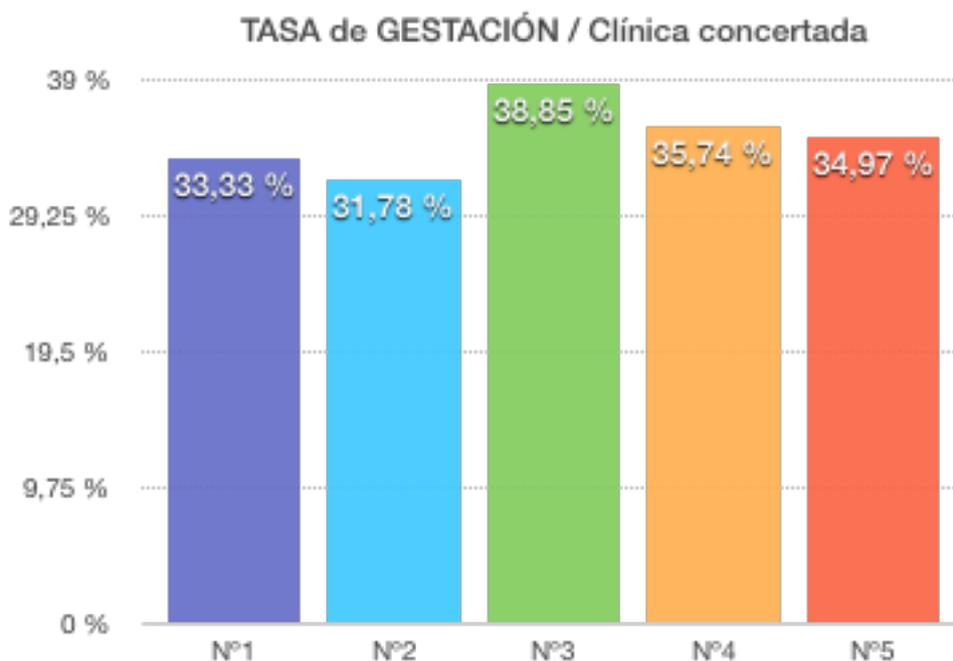
Tras el análisis estadístico , se aprecia una mayor tasa de gestación en la clínica N° 3, cuya tasa de gestación es de 38,,85%, que es significativa.

La tasa de gestación ( TG) de la clínica nº1 es de 33,33%.

La TG de la clínica nº2 es de 31,78%.

La TG de la clínica nº4 es de 35,74%.

La TG de la clínica nº5 es de 34,97%.\*



**Gráfico 13.** Tasa de gestación / clínica concertada.

La clínica nº 5\* está concertada con el servicio público de salud desde el año 2012, de ahí el menor número de ciclos realizados por ella.

Esta diferencia significativa en la tasa de gestación, sin sesgo en la selección de pacientes que son sometidas a FIV-ICSI, sin diferencia en los fármacos utilizados, ni en los protocolos de estimulación empleados, nos conduce a pensar que la diferencia está en la propia clínica y más exactamente, en el laboratorio FIV (LFIV) uno de los ejes principales alrededor del cual gira el éxito o fracaso de un procedimiento de reproducción asistida y más concretamente de un ciclo FIV-ICSI.

Además de un buen equipo de laboratorio, es imprescindible una buena coordinación entre los miembros del equipo de reproducción asistida (clínicos, biólogos y personal auxiliar). Es preciso garantizar el correcto funcionamiento del incubador/es (temperatura, pH, atmósfera) y el estado de cultivo y material fungible empleado.

El personal del laboratorio suele estar compuesto por biólogos y personal técnico, siendo la experiencia del mismo un punto determinante en los resultados finales.

Las funciones que deberá desarrollar dicho equipo será la incubación, vigilancia y valoración de los ovocitos, manteniendo y vigilando los medios para evitar el deterioro ovocitario. En el momento indicado, efectuarán la inseminación in vitro de los mismos o la ICSI según proceda, la comprobación de la fecundación y posterior calidad embrionaria, para finalmente, seleccionar los que serán transferidos en fresco y criopreservar los sobrantes si procede.

La introducción de programas de control de calidad perfectamente implementados en los laboratorios FIV (LFIV) y la ayuda de sistemas automáticos de control y medición de los parámetros críticos del laboratorio, ha supuesto un gran avance en los LFIV, dando consistencia y regularidad a los mismos (158).

A pesar de todo ello, los resultados clínicos publicados internacionalmente ponen de manifiesto una gran variabilidad entre los distintos centros, como demostramos con nuestros datos.

Este hecho demuestra que las condiciones de cultivo en los LFIV afectan directamente a la consistencia de los resultados debido al gran impacto en el desarrollo embrionario (158).

Por ello tan importante como los programas de control de calidad y sistemas de control son las condiciones del cultivo, para conseguir los mejores resultados.

La falta de un buen programa de control de calidad bien implementado y analizado en el LFIV y la falta de marcadores de calidad para cada una de las técnicas utilizadas

pueden llevar a unos resultados insatisfactorios, sin olvidar las condiciones de cultivo y el manejo de las muestras (158).

Por otro lado, los incubadores son piezas clave en el LFIV, en ellos se desarrolla el cultivo embrionario y deben ser capaces de mantener lo más estable posible la temperatura, pH, tensión de oxígeno y osmolaridad del sistema de cultivo. Su control y monitorización constante tiene un impacto directo en el desarrollo embrionario y optimización de los resultados. Mínimas variaciones del pH en gametos y embriones alteran su desarrollo in vitro, siendo necesario un control estricto del mismo (158).

En los centros de reproducción asistida se trabaja para dar solución a los problemas de fertilidad de las parejas que acuden a ellos. Cada centro se dota en mayor o menor medida de los recursos materiales, humanos y de conocimientos necesarios para solucionar dichos problemas.

Los procedimientos que se realizan en estos centros cada vez son más complejos, requiriendo más tiempo, dedicación y especialización, por lo que la planificación de los mismos es cada día más importante; pues una mala planificación del trabajo puede influir en los resultados, al poder sobrepasar la capacidad de las instalaciones y del personal que trabaja en el propio centro.

Los sistemas de gestión de calidad pueden amortiguar los efectos perjudiciales de las sobrecargas de trabajo, introduciendo las herramientas y medios necesarios para hacer cumplir los protocolos de trabajo, permitir la trazabilidad y mantener la calidad asistencial, pero son vulnerables a las sobrecargas de trabajo, ya que al no ser ilimitados los recursos disponibles, estos pueden verse desbordados (159).

Otro aspecto a considerar es la complejidad del tratamiento de reproducción asistida. Muchos procesos dependen de técnicas manuales, si uno de los pasos es subóptimo y afecta a la calidad de los gametos o embrionaria, no hay nada que hacer para mejorarla, es incorregible. Este es otro factor que hace aún más necesario un férreo programa de gestión de calidad en el LFIV (160).

La gestión de la calidad no es proceso intuitivo, debe estar reglado en algún tipo de sistema de gestión de calidad. La certificación según la norma ISO9001-2008 es reflejo de que una organización ha instaurado un sistema de gestión de calidad. Otra certificación más específica para el LFIV es la norma española UNE179007, que es una aplicación específica de la ISO9001-2008 al ámbito de la reproducción asistida.

Aquella ha sido elaborada por AENOR en colaboración con ASEBIR ( Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción) (161).

Los indicadores son las herramientas que necesitamos para valorar y comparar los distintos aspectos de la gestión de calidad.

Se distinguen indicadores de programa, que serían los relacionados con el control de calidad y los indicadores de laboratorio, procedimiento o rendimiento que serían indicadores de aseguramiento de calidad.

Los indicadores de programa miden el control de calidad propiamente dicho, el producto o servicio que se ofrece. Entre ellos se incluye:

- Tasa de gestación por transferencia, por punción o ciclo iniciado.
- Tasa de recién nacido vivo (RNV) por transferencia, punción o ciclo iniciado, que recoge el éxito real del tratamiento.

Estas tasas reflejan cómo va la organización y tienen la ventaja de detectar si el programa mejora o empeora, pero no indican por sí solos dónde está la causa de la variación, ya que afecta todos los pasos de la organización, dentro y fuera del LFIV (160).

Los indicadores de laboratorio tampoco apuntan al motivo de la variación. Pero reflejan procesos exclusivos del laboratorio y, por ello, sirven para acotar el lugar que es susceptible de mejora. Indicadores de este grupo serían:

- Tasa de fecundación .
- Tasa de bloqueo embrionario.
- Tasa de blastocisto.
- Tasa de cancelación de transferencia por mala calidad embrionaria.
- Tasa de embriones viables ( transferidos o criopreservados) por ciclo.
- Grupos de calidad embrionaria (160).

Los indicadores de procedimiento son los más útiles para detectar en qué proceso están ocurriendo desviaciones o errores. Están influidos sobre todo por un único procedimiento de laboratorio.

Algunos ejemplos:

- Porcentaje de movilidad tras la capacitación.
- Tasa de supervivencia ovocitaria o embrionaria tras desvitrificación.
- Tasa de ovocitos degenerados tras ICSI (160).

Los indicadores de rendimiento reflejan directamente los aspectos más técnicos del LFIV. Engloban todos los indicadores del programa de mantenimiento y control de los equipos del LFIV:

- Comprobaciones visuales diarias de temperatura y porcentaje de CO<sub>2</sub>.
- Comprobaciones con aparatos de medida de temperatura y porcentaje de CO<sub>2</sub>.
- Comprobación de pH de medios de cultivo.
- Control exhaustivo de aparatos críticos: incubadores, contenedores de criopreservación y neveras, donde se almacenan los medios de cultivo(160).

La norma UNE179007 propone un ejemplo de frecuencias, rango y criterios de aceptación para estos indicadores de rendimiento (161).

La monitorización del laboratorio o el uso de indicadores de rendimiento es lo que entendemos como control de calidad. Tener incorporados al sistema de gestión un número suficiente de estos indicadores y que se encuentren en el rango de normalidad permite descartar graves errores en el LFIV ante la caída de resultados y estimar que la causa es ajena al mismo, siendo probablemente debida al azar o a un cambio en la población atendida.

Un sistema de gestión de calidad es imprescindible para dar estabilidad y mejorar los resultados clínicos de un LFIV y la gestión de sus recursos (160).

Para garantizar un correcto funcionamiento y optimización de los recursos en el laboratorio FIV sería muy útil empezar por los sistemas de calidad, lo que permitirá obtener un buen control de laboratorio para ajustar todos los parámetros y conseguir los mejores resultados clínicos, con una inversión económica suficiente, logrando un laboratorio optimizado y controlado.

En resumen, el laboratorio FIV, tanto en la vertiente humana como material, desempeña un papel fundamental y crucial en el proceso de la FIV- ICSI, por lo que sus fallos o incidencias afectarán indudablemente en la consecución del objetivo final de todo proceso de reproducción asistida.

### 9.- Número de ovocitos totales recuperados.

Nuestro estudio muestra una alta significación estadística en la relación del número de ovocitos totales recuperados y la tasa de gestación. Para el grupo de < 5 ovocitos la asociación significativa es con la no consecución de la gestación y para el grupo de 15-19 la asociación significativa es con la gestación doble y el aborto.

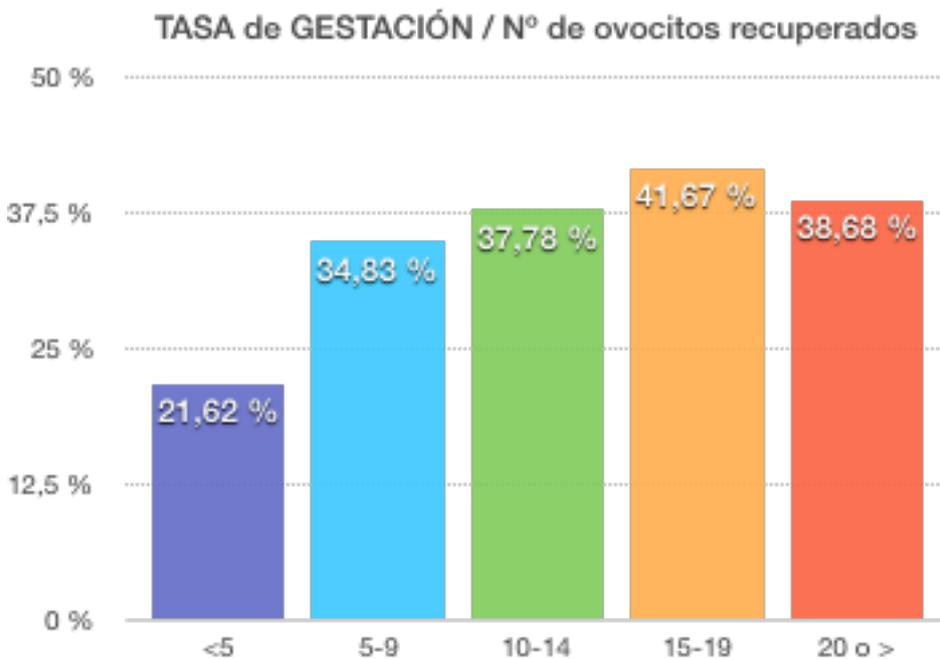
La tasa de gestación ( TG) para el grupo <5 es de 21,62%.

La TG para el grupo 5-9 es de 34,83%.

La TG para el grupo 10-14 es de 37,78%.

La TG para el grupo 15-19 es de 41,67%.

La TG para el grupo >= 20 es de 38,68%.



**Gráfico 14.** Tasa de gestación/ número de ovocitos totales recuperados.

El número ideal de ovocitos recuperados para el logro de la gestación clínica ha sido objeto de debate en los últimos años. Uno de los primeros estudios, publicado en 2006, sugirió que el número óptimo era 13 (162).

Posteriormente, en 2009, un metaanálisis publicado demostró que el número óptimo de ovocitos debe ser de 10, dado que un número inferior resultó en un efecto perjudicial sobre el embarazo, mientras que un número mayor no aumentó la tasa de embarazo<sup>(162)</sup>.

Sunkara en 2011, sugiere que el número ideal de 15 ovocitos maximiza la tasa de RNV en todos los grupos de edad <sup>(163)</sup>.

La mayoría de autores están de acuerdo en que más de 15 ovocitos totales recuperados, independientemente de la edad y otros factores asociados, no aumentan la tasa de recién nacido vivo (RNV), al contrario aumentan la posibilidad del síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO) contribuyendo a una menor receptividad endometrial al aumentar los niveles de estradiol en sangre, en caso de llegar a la transferencia embrionaria en fresco<sup>(164)</sup>.

Para Sunkara SK <sup>(163)</sup>, el número de ovocitos totales recuperados necesarios para maximizar la tasa de RNV es de 15 ovocitos, para cualquier grupo de edad.

La tasa de RNV para los grupos de edad: 18-34, 35-37,38-39 y 40 o más fue de 40,36,27 y 16% respectivamente<sup>(163)</sup>.

A partir de los 15 ovocitos recuperados, las probabilidades de RNV se estabilizan y luego disminuyen<sup>(163)</sup>.

La clave del éxito de la FIV es la obtención de un número suficiente de embriones de calidad, lo cual a veces se consigue con más o menos ovocitos <sup>(165)</sup>.

En el trabajo de Sunkara SK<sup>(163)</sup> no hay diferencias significativas en la probabilidad de gestación clínica y tasa de RNV en los tres grupos de ovocitos obtenidos : <7, 7-14 y 15 o más.

La recuperación de más de 15 ovocitos incrementa significativamente el riesgo de SHO sin mejorar la tasa RNV. Por tanto, se deben realizar protocolos adecuados para evitar cuadros de hiperrespuesta y costes innecesarios, optimizando resultados<sup>(164)</sup>.

En nuestro caso, se observa una curva ascendente en la tasa de gestación hasta los 19 ovocitos totales recuperados; aunque sin significación estadística, si se aprecia una asociación significativa entre el grupo < 5 ovocitos y la no consecución de la gestación.

La respuesta subóptima, concepto novedoso, se define a la recuperación entre 4 y 9 ovocitos, con una menor posibilidad de RNV, entre un 20-30% menor en comparación con mujeres normorrespondedoras, entre 10-15 ovocitos recuperados(162).

Clasificando a las pacientes en 4 grupos según, número de ovocitos recuperados. Grupo A ( 1-3 ovocitos), grupo B ( 4-9, respuesta subóptima), grupo C ( 10-15, normorrespuesta) y grupo D ( >15 ovocitos, hiperrespuesta), se observó una mayor tasa de RNV significativa entre los grupos B,Cy D frente al A (166).

Varios estudios publicados por la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología ( ESHRE), resumen que “ 15 ovocitos es el número perfecto” y sugieren dicho número como óptimo para lograr un embarazo en un ciclo FIV;con un porcentaje que llega al 37% cuando se recuperan los 15 ovocitos.(167).

En casos de más de 16 ovocitos recuperados, la tasa de embarazo disminuye lentamente, pero el riesgo de hiperestimulación ovárica (HO) aumenta drásticamente. Por ello, todos los autores coinciden en que la seguridad y salud de las pacientes es lo más importante y el riesgo de síndrome de hiperestimulación ovárica ( SHO) debe ser evaluado con cuidado y reducido al mínimo (168).



### 10.- Número de ovocitos maduros MII.

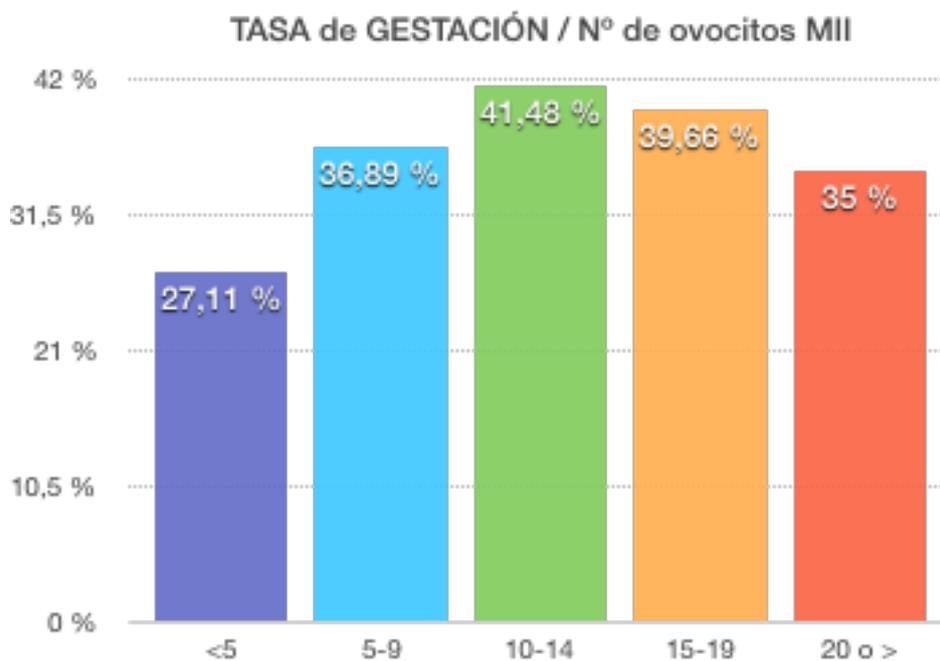
En el análisis de nuestros datos, encontramos una asociación muy significativa entre el número de ovocitos maduros MII y la tasa de gestación. Encontramos asociación significativa entre el grupo < 5 ovocitos MII y la no consecución de la gestación con una tasa de gestación ( TG) del 27,11%.

La TG para el grupo 5-9 es de 36,89%.

La TG para el grupo 10-14 es de 41,47%.

La TG para el grupo 15-19 es de 39,66%.

La TG para el grupo 20 o más es de 35%.



**Gráfico 15.** Tasa de gestación / número de ovocitos MII.

Como podemos observar en el **gráfico 15**, se aprecia una curva ascendente en la tasa de gestación hasta los 14 ovocitos MII conseguidos, en la variable número de ovocitos totales recuperados la curva ascendente llegaba hasta los 19 ovocitos, lo cual significa que la obtención de un mayor número de ovocitos , bien totales o maduros MII, no

implica una mayor tasa de embarazo, sino al contrario, cuyo origen está en los efectos adversos que la hiperestimulación ovárica a través de los altos niveles de estradiol en sangre tiene tanto sobre la calidad ovocitaria como endometrial, factores fundamentales para la consecución del éxito de las TRA.

De acuerdo con un amplio estudio de cohorte, el recuento de ovocitos totales recuperados no es tan importante como el número de ovocitos maduros metafase II (MII), con una media de 9 ovocitos MII recolectados (169).

Algunos autores encuentran una mayor tasa de gestación por transfer (30,8%) cuando se dispone entre 11-15 ovocitos MII para ICSI con transferencia posterior de un único embrión (170).

El número ideal de ovocitos MII obtenidos para una mayor probabilidad de gestación estaría entre los 6 y 15 ovocitos MII, incluso no hay ventajas en la obtención de más de 10 ovocitos frente al grupo de 6-10 (171).

La tasa de RNV es del 30,4% en el grupo de 6-9 ovocitos recuperados frente a la tasa de 29% en el grupo de 10-14 ovocitos, diferencia no significativa.

En el grupo de 15 o más la tasa es de 24,6%. En el grupo de 5 ovocitos o menos, la tasa de RNV fue de 16,1% (estadísticamente significativa) (171).

En este estudio, solo se obtuvo significación estadística en el grupo de 5 ovocitos o menos, igual que en nuestros datos.

### 11.- Número de ovocitos fecundados ( cigotos).

En esta variable lo que valoramos es la capacidad del ovocito para ser fecundado en el laboratorio FIV.

Consideramos ovocito fecundado cuando a las 17-20 desde la la FIV convencional aparecen los dos pronúcleos, unas horas antes si se realiza ICSI.

La tasa de gestación ( TG) en el grupo de < 5 cigotos es de 29,05%.

La TG en el grupo de 5-9 cigotos es de 39,63%.

La TG en el grupo de 10-14 cigotos es de 43,43%.

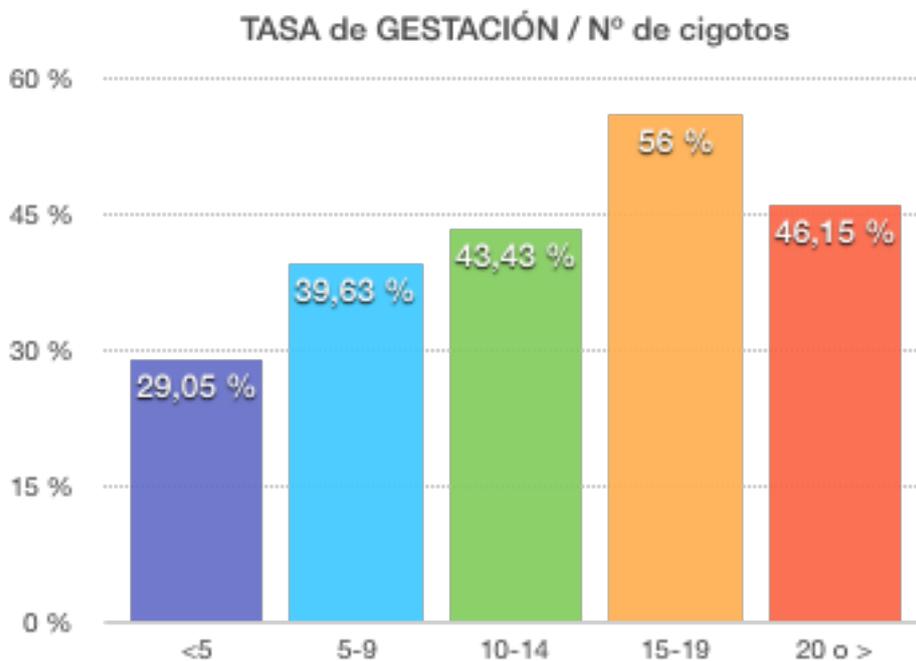
La TG en el grupo de 15-19 cigotos es de 56%.

La TG en el grupo de 20 o más es de 46,15%.

Se observa significación estadística en el grupo de < 5 cigotos.

En el grupo de 5-9 cigotos la asociación significativa es con la gestación doble y el aborto.

En el grupo de 20 o más cigotos conseguidos no se aprecia significación estadística.



**Gráfico 16.** Tasa de gestación / número de cigotos.

Vamos a comparar nuestros datos con los datos publicados en el registro SEF del año 2015 (77). **Tabla 40.**

	Tasa de fecundación	Tasa de utilización ovocitaria	Tasa de calidad embrionaria
SEF 2015	67,93 %	59,59%	32,22%
Nuestros datos	71%	57,58%	21,51%

**Tabla 40.** Tasa de fecundación . Tasa de utilización ovocitaria. Tasa de calidad embrionaria.

En el registro SEF del año 2015 (77) la **tasa de fecundación**, relación entre número de ovocitos fecundados ( cigotos) y número de ovocitos inseminados o microinyectados , ha sido del 67,93 % frente al 71% de nuestra casuística. La tasa de fecundación es algo mayor en FIV convencional 67,57 % frente al 67,35 % en ICSI o mixta.

La tasa de calidad ovocitaria es equivalente a la tasa de fecundación.

La **tasa de utilización ovocitaria** es la relación entre número de embriones evolutivos y número de cigotos disponibles.

La **tasa de calidad embrionaria** es la relación entre el número de embriones criopreservados y el número de cigotos disponibles.

Recapitulando, los datos mostrados en el estudio de las tres últimas variables, constatamos que la obtención de < 5 ovocitos totales, MII o fecundados, tiene una alta probabilidad de no gestación, estadísticamente significativa.

Por contra, la obtención de un número entre 5 a 19 ovocitos en sus diferentes estadios ofrece una alta probabilidad de gestación, aunque sin significación estadística, en línea con lo publicado por diversos autores (163,164,165,171).

## 12.- Número de embriones criopreservados sobrantes.

El análisis de esta variable, muestra una relación estadísticamente muy significativa entre la gestación y la obtención de algún embrión para criopreservar.

La no obtención de ningún embrión sobrante se relaciona estadísticamente con la no consecución de gestación.

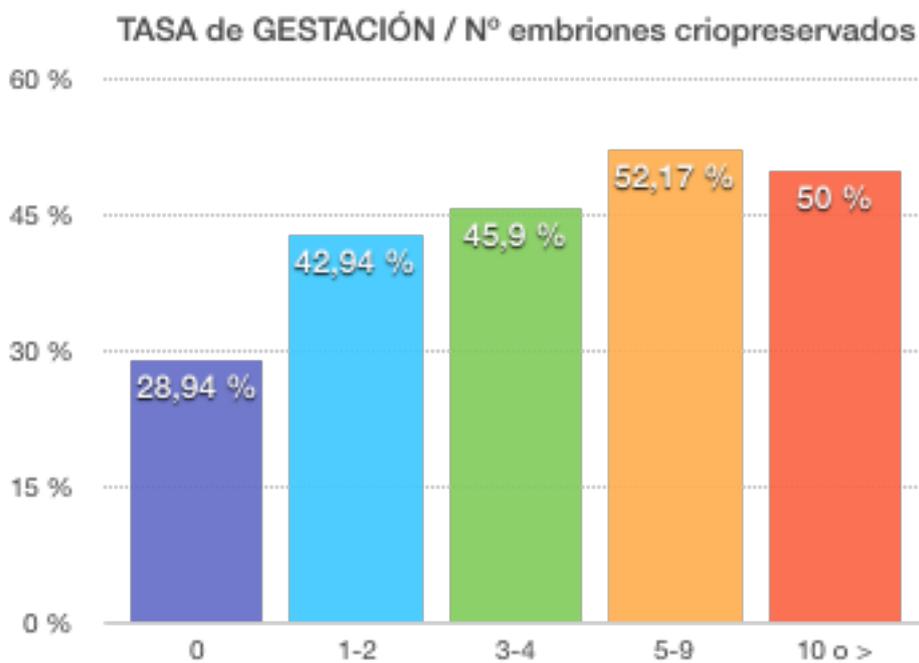
La tasa de gestación ( TG) del grupo 0 es de 28,94%.

La TG del grupo 1-2 es de 42,94%.

La TG del grupo 3-4 es de 45,90%.

La TG del grupo 5-9 es de 52,17%.

La TG del grupo 10 o más es de 50%.



**Gráfico 17.** Tasa de gestación / número de embriones sobrantes.



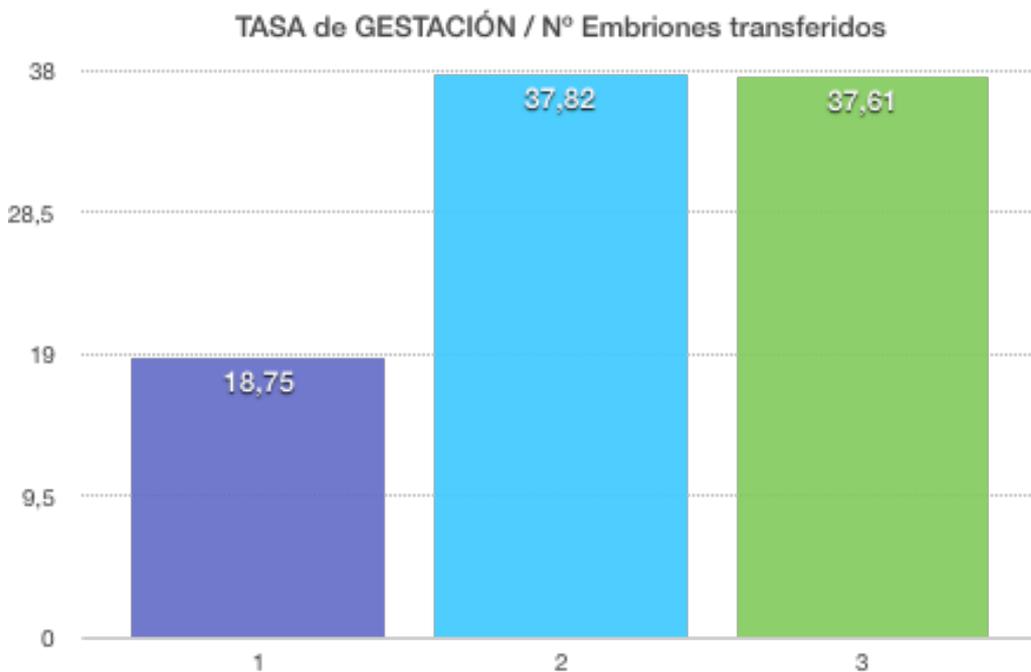
### 13.- Número de embriones transferidos.

El análisis de la variable número de embriones transferidos en fresco, muestra una alta significación estadística en la no consecución de la gestación con la transferencia de un único embrión y la consecución de la gestación con la transferencia de 2 embriones.

La tasa de gestación ( TG) en transferencia de 1 embrión es de 18,75%.

La TG en transferencia de 2 embriones es de 37,82%.

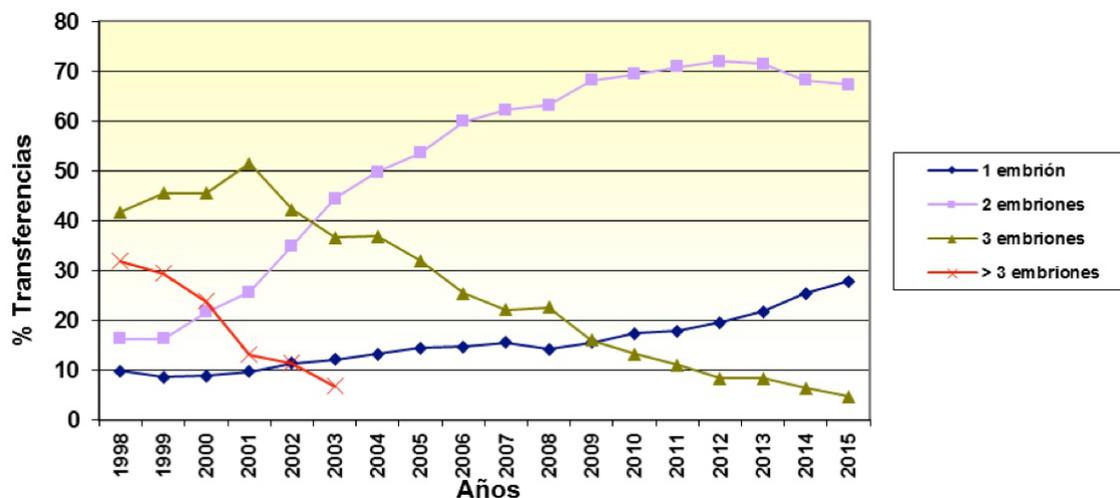
La TG en transferencia de 3 embriones es de 37,61%.



**Gráfico 18.**Tasa de gestación / Número de embriones transferidos.

Tradicionalmente, se ha realizado y sigue haciéndose la transferencia de embriones múltiples, maximizando la posibilidad de embarazo, pero al mismo tiempo con una tasa de embarazo múltiple ( 20,4% de gestación doble en registro SEF de 2015 (77)).

**Gráfico 19. Evolución de la transferencia embrionaria en España(1998-2015).**  
(Registro SEF. 2015).



Se puede apreciar en el **gráfico 19** un estancamiento en la transferencia de 2 embriones que supone el 67 % del total y un repunte en la transferencia de 1 único embrión que supone alrededor del 28 % en el 2015. Se sigue manteniendo la transferencia triple que supone apenas un 5 % del total. El porcentaje de transferencia de un único embrión llega al 31,5% en el año 2016 confirmando su constante crecimiento desde 2010 ( 17,4%).

Los porcentajes en nuestro caso han sido, para la transferencia de 1 único embrión el 15,14%, para la transferencia de 2 embriones el 79,54% y para la transferencia triple el 5,32%.

En nuestra casuística, la tasa de gestación en transferencia de un único embrión, “ single embryo transfer”, (SET) en día 5 ( blastocisto) es del 28,12%, lo que es estadísticamente significativo (  $P < 0,05$ ) frente a la SET en día 3 y día 2 , cuya tasa de gestación es del 21,91% y 9,57% respectivamente. **Tabla 41.**

	D2	D3	D5
Tabla de gestación (SET)	9,57%	21,91%	28,12% ( $P < 0,05$ ).

**Tabla 41.** Tasa de gestación de SET.

Desde sus inicios las TRA, se han asociado a un incremento iatrogénico de las gestaciones múltiples, constituyendo actualmente el principal problema de las mismas (172).

Su importancia radica en que los embarazos múltiples conllevan un incremento significativo del riesgo materno ( mortalidad, preeclampsia, incidencia de cesáreas, etc) y fetal ( mortalidad neonatal, prematuridad con sus secuelas, etc)(173).

En cuanto a las complicaciones gestacionales y perinatales, , un artículo publicado en 2015(174) con un seguimiento de 249 gestaciones clínicas tras FIV-ICSI durante el primer año de vida, muestra mayor patología gestacional (58%) y un 6% en malformaciones congénitas mayores, no asociadas a factores de confusión, lo que lo relaciona con las propias técnicas de reproducción asistida.

En dicha serie se ha descrito un caso de Síndrome de Beckwith-Wiedemann, defecto de impronta genómica.

La tasa de prematuridad ( 20%), y retraso psicomotriz grave (3,7 %) están relacionadas con la gestación múltiple y no con las TRA, lo que apoyaría la transferencia electiva de un único embrión.

La tasa de gestación múltiple ha sido del 24%.

La cardiopatía congénita fue la más frecuente dentro de las malformaciones congénitas mayores.(174).

La ESHRE considera aceptable una tasa de embarazo cercana al 30% y no más del 10% de gestaciones gemelares (175).

El tratamiento de reproducción asistida ideal es aquel que tiene como resultado el nacimiento de un neonato sano a término (171). Sin embargo, las parejas que se someten a técnicas de reproducción asistida no ven como indeseable una gestación múltiple, a pesar del mayor riesgo materno-fetal y de la mayor carga económica y psicológica.

Por ello algunos países y sociedades científicas han decidido limitar el número de embriones a transferir o estableciendo unas recomendaciones disminuyendo de ese modo la tasa de gestaciones múltiples derivadas de los tratamientos de fertilidad (177).

Entre las estrategias para reducir el mencionado problema, la transferencia embrionaria única ( SET) constituye la mejor alternativa (172), especialmente en pacientes de buen pronóstico.

La SET reduce de modo significativo las gestaciones múltiples si se compara con la “double embryo transfer” (DET), transferencia embrionaria doble, pero también se asocia a un descenso por ciclo en las tasas de nacido vivo (178).

Dada la reducción en la tasa de gestación por ciclo que supone la transferencia única, ésta debería ofrecerse a aquellas pacientes con buen pronóstico reproductivo y a aquellas en las que exista indicación médica para la SET.

Los factores pronósticos empleados son entre otros, la edad, número de embriones disponibles en el momento de la transferencia o número de ciclos previos de FIV realizados.

Las complicaciones fetales y/o neonatales , derivan de la mayor incidencia de parto prematuro con el aumento de la morbi-mortalidad neonatal secundaria(175).

Así mismo, se ha observado una mayor frecuencia de bajo peso al nacer y retraso de crecimiento intrauterino con elevación de la incidencia de secuelas a largo plazo, especialmente en grandes prematuros.

Todo ello supone un mayor costo hospitalario, que se ha calculado en el doble en caso de una gestación gemelar y en el triple en caso de gestación triple.

En lo que se refiere a las complicaciones maternas, se ha descrito mayor incidencia de anemia gestacional, enfermedad hipertensiva del embarazo y diabetes gestacional, así como una mayor tasa de cesárea con los riesgos que conlleva (175).

En los ciclos de FIV-ICSI hay varios factores a tener en cuenta respecto al riesgo de tener como resultado una gestación múltiple. El primero de éstos es la edad materna que, como se sabe, es un factor de riesgo para la aparición de gestaciones múltiples espontáneas al tiempo que es una de las indicaciones más habituales para recurrir a las TRA.

Otro elemento a valorar es el número de embriones fecundados, así como la calidad de los embriones obtenidos. A mayor calidad mayor posibilidad de gestación múltiple.

El día en que se realiza la transferencia también se ha postulado como posible factor de riesgo de gestación múltiple. Inicialmente, el cambio de la transferencia de día 2 (D2) a

día 3 (D3), por la evolución en los medios de cultivo, permitió la transferencia de menos embriones sin afectar la tasa de gestación y reduciendo la tasa de gestaciones múltiples. Otra alternativa para la selección embrionaria con objeto de aumentar la tasa de embarazo la constituye el cultivo embrionario hasta el estadio de blastocisto (179,180).

El inconveniente de ello radica en el incremento del número de ciclos cancelados por no disponer de blastocistos para transferir, que si habrían sido objeto de transferencia en día 3 (D3), que el estudio MEGASET estima en un 7% (148). así como en el de menor número de blastocistos disponibles para la criopreservación en comparación con la criopreservación embrionaria en día 2-3 ( etapa de división).

Sin embargo, ello tiene sus riesgos como son la posibilidad de la mayor tasa de gestaciones monocoriales con los riesgos inherentes (181), la posibilidad de efectos epigenéticos de la prolongación del cultivo in vitro, el potencial incremento de cancelaciones por pérdida de embriones antes del D5; y la sospecha de un posible desbalance en la proporcionalidad de sexo de los embriones a favor del masculino (182). La única técnica que ha demostrado efectividad para reducir la tasa de gestaciones múltiples es la llamada transferencia selectiva de un solo embrión (SET).

Un meta-análisis de 2013 que incluyó 14 estudios randomizados que comparaban la transferencia de uno y dos embriones, concluyó que no había diferencias significativas en las tasas de gestación entre ambos grupos ( 40% en una transferencia de dos embriones vs 30-42% en dos transferencias selectivas de un solo embrión) evidenciándose una reducción significativa entre los dos grupos, de un 15% a un 2% en la tasa de gestaciones múltiples(183).

La tasa de gestación y RNV no fue significativamente diferente en SET en estadio de blastocisto y transfer de dos blastocistos ( DBT), independientemente de la edad (184).

Otro aspecto a considerar, es que aunque los riesgos de las gestaciones únicas conseguidas mediante SET son evidentemente menores que los de las gestaciones múltiples, sigue habiendo un mayor riesgo de complicaciones tales como la placenta previa, amenaza de parto prematuro o gestación extrauterina que el que tienen las gestaciones únicas espontáneas, cuya causa se deba a los factores implicados en la esterilidad o derivados de las técnicas de reproducción asistida (183).

La indicación de SET debe tener en cuenta, la edad de la paciente, número de embriones y su calidad basada en parámetros biológicos embrionarios bien definidos:

- Número y regularidad de las blastómeras
- Tasa de fragmentación (<15%)
- Morfología de los pronúcleos
- Presencia o ausencia de multinucleación

todo ello determina la calidad embrionaria (185).

La transferencia sucesiva de los embriones criopreservados sobrantes hace que la tasa de RNV por punción sea comparable a la transferencia de más de un embrión (186,187).

Hay que recordar en este punto, que la vitrificación ha permitido obtener una gran mejoría en la tasa de supervivencia embrionaria tras la descongelación y un incremento en las tasas de gestación, permitiendo la política de SET, al superarse la barrera que constituían los pobres resultados obtenidos con la técnica de congelación lenta(188,189).

El Grupo de Interés de Salud Embrionaria de la Sociedad Española de Fertilidad (SEF) ha elaborado una guía de recomendación de número de embriones a transferir (2005).**Tabla 42.**

Edad mujer	Nº embriones a transferir	Excepciones
< 30 años	1 o 2	Ninguna
30-37	1 o 2	A partir 3er ciclo: valorar transferir 3 si no hay embrión de buena calidad
>38	2	A partir 3er ciclo: valorar transferir 3 si no hay embrión de buena calidad
Donación ovocitos	1 o 2	Ninguna

**Tabla 42.** Guía de Recomendaciones de la SEF. Grupo “ Salud Embrionaria”2005.

La transferencia sucesiva de embriones congelados ( vitrificados) sobrantes del mismo ciclo hace que la tasa de RNV por punción sea comparable (190,191) e incluso superior a

la transferencia DET (178), siempre que haya embriones para criopreservar, por lo que este dato es fundamental para considerar la SET.

La vitrificación consiste en la exposición del material biológico a altas concentraciones de crioprotector de manera ultrarrápida y a una temperatura de -196° C para evitar la formación de cristales de hielo en el interior de la célula, que si ocurre con la congelación lenta, lo que daña a la célula.

La vitrificación es una técnica con probada eficacia para la criopreservación de gametos y embriones.

Tiene un papel crucial en las estrategias de SET, ya que posee una alta tasa de supervivencia tras la descongelación y reduce el riesgo de cancelación del ciclo por no supervivencia embrionaria.

Los resultados en tanto tasa de gestación y resultados perinatales son comparables a los ciclos FIV-ICSI con transferencia en fresco.

Los mejores resultados obtenidos tras la transferencia de embriones desvitrificados se deben a la mejor sincronización entre el embrión y el desarrollo endometrial.

La receptividad endometrial puede verse alterada por los protocolos de estimulación ovárica(192,193).

En cuanto a los resultados perinatales, no se hayan diferencias entre embriones congelados de D3 y embriones transferidos en fresco, en términos de prematuridad y bajo peso al nacer (194).

Lo mismo se demuestra entre blastocistos transferidos en fresco y desvitrificados (195).

En definitiva, la vitrificación es una técnica segura de criopreservación y fundamental para la realización de la SET.

Por otro lado, las parejas aceptarían la transferencia de un único embrión siempre que ello no reduzca las posibilidades de gestación (196).

En 2004 se publicó un trabajo aleatorio, prospectivo y doble ciego, donde los resultados muestran que la transferencia de un solo embrión era significativamente menor que cuando se transferían dos embriones ( 28% frente a 43%).

Sin embargo, tras considerar la contribución de la transferencia de un embrión congelado , encontramos que no hay diferencias en la tasa acumulada de gestación(197).

Existen otros 3 meta-análisis que combinan diferentes resultados de estudios aleatorios que llegan a la conclusión anterior (190,191,198).

En definitiva, existe evidencia científica de que cuando se incluye la contribución de las transferencias de embriones congelados, la tasa acumulada de gestación es similar a la transferencia de dos embriones ( DET) (172).

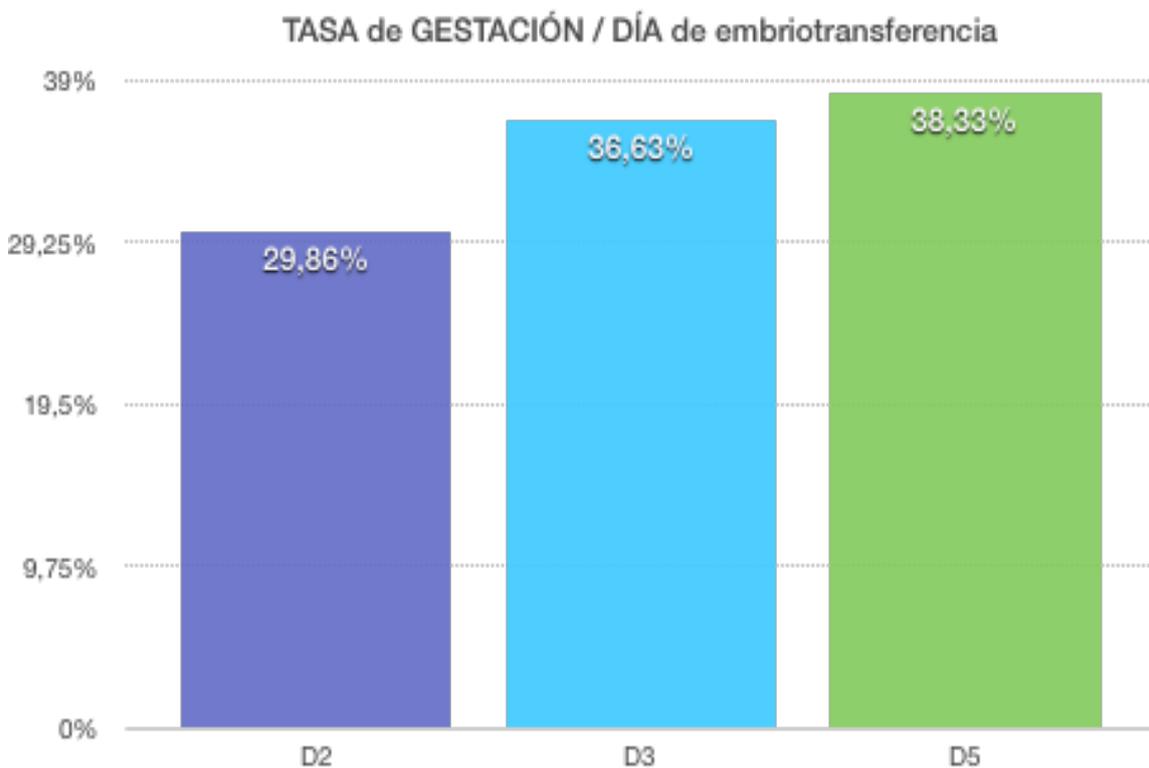
#### 14.- Día de transferencia embrionaria.

El estudio estadístico de la variable día de la transferencia embrionaria, nos establece una asociación estadísticamente significativa entre la transferencia en día 2 (D2) con la no consecución de la gestación y la consecución de la gestación con la transferencia en día 3 (D3) estadísticamente significativa y una asociación no significativa con la transferencia en día 5 (D5).

La tasa de gestación (TG) en transfer de D2 es de:29,86%.

La TG en transfer en D3 es de: 36,63%.

La TG en transfer en D5 es de: 38,33%.



**Gráfico 20.** Tasa de gestación / día de transferencia embrionaria.

Desde los inicios de las técnicas de reproducción asistida (TRA), hace más de 40 años, el esfuerzo de todos los laboratorios FIV, se ha centrado en la obtención del embrión más viable para conseguir el nacimiento de un niño sano.

Para la consecución de este objetivo, se han desarrollado diferentes métodos y sistemas de cultivo que favorezcan el desarrollo correcto de los embriones, permitiendo la selección de aquellos con la mayor capacidad de implantación.

Tradicionalmente, la transferencia de los embriones se realizaba dos días después de la recuperación ovocitaria, cuando los embriones están en la etapa de 2 a 8 células o estadio de segmentación o división.

El día 2 de desarrollo es el momento más temprano para realizar una clasificación morfológica de los embriones, pudiendo seleccionar los mejores para la transferencia. Sin embargo, el desarrollo en los medios de cultivo han hecho posible que los embriones se mantengan más tiempo in vitro, posibilitando una mejor valoración morfológica embrionaria y acercarse algo más a la situación natural en que el embrión llega al útero de 4 a 5 días posovulación.

Entre los diversos factores con influencia en las tasas de implantación y gestación evolutiva, la calidad embrionaria es uno de los factores pronósticos más importantes. Sin embargo, la elección del embrión con el mayor potencial de implantación para transferir sigue siendo uno de los puntos críticos dentro del laboratorio FIV, para ello los parámetros morfológicos siguen siendo los criterios utilizados por los embriólogos.

Los avances en los medios de cultivo embrionario han permitido el cultivo de los embriones hasta el estadio de blastocisto. Ello teóricamente mejoraría la sincronía entre el ambiente uterino y desarrollo embrionario al tiempo que permite la selección de los embriones más viables. A ello ha contribuido en los últimos años métodos basados en la captación de imágenes a tiempo real, el time lapse imaging - embrioscope - (188) que permite la selección mediante parámetros morfológicos dinámicos de embriones de mejor calidad y por tanto, con mayor potencial de implantación, a la vez que minimiza los cambios en las condiciones de cultivo embrionario al no ser preciso sacar éste del incubador para su evaluación (188) y las tecnologías "ómicas"(189,199) que evalúan la actividad metabólica embrionaria.

El time-lapse, captación de imágenes a tiempo real, indica que no sólo son importantes los tiempos de división, sino el tiempo entre cada una de las divisiones(188).

El desarrollo embrionario es un proceso dinámico en el que la morfología del embrión puede cambiar significativamente durante el paso del tiempo (horas). Mediante esta tecnología, time-lapse, se estudian parámetros que pueden identificar aquellos

embriones con mayor potencial implantatorio, basado en los tiempos de división, estudiados de una manera continua y no sólo mediante una observación puntual.

Existen numerosos estudios que muestran una relación entre los parámetros morfocinéticos y la capacidad de implantación de los embriones, y por tanto, una mejora en los resultados clínicos mediante el uso de time-lapse (200,201,202).

Existen otros autores que no encuentran esta relación y plantean dudas sobre su uso (203).

Tras llegar al estadio de 8 células (D3), los blastómeros comienzan a mostrar adhesión entre ellos, se inicia la compactación de las blastómeras. Al quinto día de desarrollo embrionario, tras la compactación celular, empieza a formarse una cavidad denominada blastocele y se inicia la diferenciación celular. Esta nueva morfología embrionaria recibe el nombre de blastocisto.

Los parámetros de clasificación embrionaria, determinados por la ASEBIR (Asociación para el estudio de la Biología de la Reproducción), se basan en el grado de expansión del blastocele, tamaño, forma y compactación de la masa celular interna (MCI) y la estructura y número de células del trofoectodermo.

La MCI dará lugar al embrión y el troectodermo a la placenta.

Los blastocistos con una gradación óptima según, dichos parámetros muestran las mejores tasas de implantación y gestación.

El tiempo y grado de expansión del blastocisto se ha identificado como un importante factor predictivo de implantación.

Aunque la transferencia en blastocisto no puede asegurar la ausencia de anomalías cromosómicas se ha observado un descenso de estas, del 58% en embriones de D3 al 35% en blastocistos en mujeres mayores de 36 años de edad (204).

Se hace necesario establecer qué grupos de pacientes se beneficiarían de dicho transfer en D5, reduciendo al máximo la posibilidad de cancelación del ciclo por no embriones disponibles, favoreciendo la transferencia electiva de un embrión (205).

No todos los embriones son capaces de llegar a la fase de blastocisto. Entre el 40-60% de los ovocitos fecundados in vitro alcanzan este estadio, y ello en relación con mujeres jóvenes, con paridad previa, FIV convencional y baja dosis de gonadotrofinas durante la estimulación ovárica (206).

La mayoría de los embriones que tienen un desarrollo correcto alcanzan la fase de blastocisto el quinto día de desarrollo ( 112-120 horas posinseminación), pero algunos se diferencian 24 horas más tarde, en día 6 (D6), en estos últimos la tasa de implantación es menor.

Se ha comprobado que la transferencia de blastocistos expandidos en día 6 (D6) se relaciona con peores tasas de embarazo que la transferencia en D5, lo que sugiere una menor viabilidad embrionaria en un desarrollo más lento.

Algunos estudios observan una menor tasa de blastulación con ICSI, como técnica de inseminación, si bien no queda claro si es por la propia técnica ICSI o por el factor seminal que lo indica (186).

La transferencia en blastocisto da lugar a una mayor tasa de implantación ( nº de sacos observados / nº de embriones transferidos) , aunque no significativa estadísticamente (186).

Hay una mayor tasa de gestación en la transferencia de blastocisto en fresco frente a un embrión en D2-D3 ( estadio de división), sin embargo, no hay evidencia en la tasa acumulada de gestación entre ambos casos (207).

La tasa de criopreservación es mayor en embriones tempranos.

La tasa de cancelación por no embriones disponibles para transferir ni criopreservar es mayor en estadio de blastocisto.

La disminución en el porcentaje de abortos con transferencia en D5 , no estadísticamente significativa, no sólo se relaciona con una mejor selección embrionaria, sino con la mejor receptividad uterina.

La transferencia de blastocistos podría ser ventajosa porque permite una sincronización más fisiológica de la exposición del embrión con el medio ambiente uterino y permite la selección del embrión después de la activación del genoma embrionario en el día 3.

La evidencia actual no muestra superioridad del blastocisto frente a un embrión en fase de división en la práctica clínica. Son necesarios estudios adicionales bien diseñados para establecer conclusiones sólidas (208).

La implantación de modo fisiológico, ocurre en un periodo de tiempo que va desde el día 5 hasta el día 7 posfecundación , conocido como ventana de implantación.

El tiempo ideal para la implantación sería con un día como máximo de asincronía entre el embrión y el endometrio.

La contractilidad uterina disminuye a medida que avanzan los días desde la recuperación ovárica, al tiempo que en casos de cifras muy altas de estradiol en suero junto con elevación prematura de la progesterona, dejaría de ser perjudicial en transferencia en estadio de blastocisto, por lo que el endometrio 5 días postpunción parece ser el óptimo para la implantación embrionaria(192,209,210).

Altos niveles de estradiol el día de la administración de la hCG ( triggering), día de la maduración ovocitaria, disminuyen la tasa de gestación. Se postula un efecto negativo en la receptividad endometrial, mientras la calidad ovocitaria, la tasa de fecundación y calidad embrionaria se mantienen normales.

La transferencia en estadio de blastocisto en casos de niveles de E2 > 3000 pg/mL mejora las tasas de embarazo y RNV, deduciéndose una mejora en la receptividad endometrial entre los días 5-6.

Por otro lado, hay una relación entre los altos niveles de estradiol y la elevación de la progesterona el día de la administración de hCG. Un elevado número de folículos y, en consecuencia, un exceso de proliferación de células de la granulosa, puede dar lugar a un aumento en la producción de progesterona.

Varios estudios dan 1,5 mg/mL de progesterona como valor de corte, a partir del cual se observa una notable disminución en la tasa de embarazo en pacientes con transferencia en D2-D3.

Esta disminución en la tasa de embarazo no se observa en pacientes que se transfieren en estadio de blastocisto, lo que sugiere que en el quinto día lúteo, el endometrio se ha recuperado del impacto negativo de las altas concentraciones de estradiol a las que ha sido expuesto (211).

Por otro lado, la transferencia electiva de un único embrión ( SET) en estadio de blastocisto está siendo utilizada para reducir los embarazos múltiples tras FIV.

No obstante, muchas parejas son reacias a transferir un único embrión debido a la percepción de que ello disminuye las probabilidades de éxito con el esfuerzo económico, físico y psicológico que ello conlleva (212).

La tendencia mundial es a la transferencia electiva de un único embrión, en Australia y Nueva Zelanda por encima del 50%, en Europa un 20% y España en un 25,4% (77).

La ASRM ( American Society for Reproductive Medicine) recomienda la transferencia de un único embrión en menores de 35 años, con más de un embrión de calidad, con un ciclo de FIV previo exitoso y en receptoras de óvulos.

De todos modos, la tasa de gestación gemelar sigue constante en Europa y en España por encima del 20%, en España, 20,9% (77), demostrando que la mayoría de las embriotransferencias son de dos embriones, en España el 68,2 % en el año 2014, con significativo descenso en los últimos años (77).

En relación, a los factores a considerar para valorar la SET, se han identificado varios predictores de éxito, que afectan directamente a la obtención de un RNV sano, como la obesidad, el tabaquismo y la edad (213).

El tabaquismo tiene un efecto perjudicial en los resultados FIV.

Las mujeres fumadoras alcanzan la menopausia antes, tienen un mayor riesgo de gestación ectópica, presentan una menor reserva ovárica, con menor número de ovocitos recuperados en un ciclo FIV.

También se relaciona con complicaciones obstétricas: parto prematuro, bajo peso del recién nacido, desprendimiento prematuro de placenta normoinsertada, y por tanto, mayor morbilidad perinatal.

Los factores obesidad y edad, ya han sido valorados en el presente trabajo de modo extenso, sólo referir que la incidencia de gestación múltiple aumenta en mujeres mayores de 35 años, con mayores riesgos obstétrico como riesgo de preeclampsia, desprendimiento de placenta y placenta previa así como riesgo de parto prematuro en mayores de 40 años de edad.

Este hecho debe hacernos replantearnos la inclusión de estas pacientes en edad reproductiva avanzada en los programas de transferencia de un único embrión (214).

Este mismo investigador (214), ha estudiado el impacto económico de la transferencia de dos embriones respecto a uno sólo con sus correspondientes ciclos de criotransferencia, concluyendo, que la transferencia de un único embrión es más efectiva y más económica, incluyendo el coste del tratamiento del ciclo FIV-ICSI, medicación y gastos hospitalarios derivados del parto (214).

Argumentos en contra del cultivo a blastocisto es la mayor frecuencia de cancelación por bloqueo en el desarrollo embrionario y el menor número de embriones disponibles para criopreservar. Lo que no conocemos es si este bloqueo en el desarrollo embrionario desde el día 3 a día 5 in vitro también sucedería de haber sido transferidos en estadio más temprano; es decir, no sabemos si el bloqueo es debido a factores embrionarios intrínsecos o al efecto deletéreo del cultivo prolongado (215).

Otro de los argumentos en contra del cultivo a blastocisto incluye una mayor incidencia de gemelos monocigóticos y una alteración del sex ratio a favor de los varones (216).

En este punto no todos los autores están de acuerdo.

La incidencia de gemelos monocigóticos en la población general es 1 de cada 330 aproximadamente, y en los ciclos de reproducción asistida del 1%.

El cultivo largo se ha relacionado con el aumento en esta tasa, aunque otros lo refieren a las condiciones del cultivo, como los elevados niveles de glucosa en el medio, que favorecen la producción de más radicales libres, especies reactivas de oxígeno (ROS), que favorecerían la partición precoz del embrión.

Un estudio de 2010, niega dicha relación (216).

La transferencia en día 5-6 (D5-D6), se ha relacionado con un mayor índice de malformaciones congénitas mayores, especialmente cardiopatía, lo que podría sugerir al cultivo largo como factor predisponente. Son necesarios más estudios aleatorizados controlados más amplios para confirmar tales resultados (174).

En resumen, se debe establecer en qué grupo de pacientes la transferencia en blastocisto representaría una mejora en los resultados del ciclo reduciendo al máximo la posibilidad de cancelación del ciclo por no embriones disponibles viables.

El grupo de pacientes en los que estaría indicado dicha transferencia electiva de un único embrión ( SET) en estadio de blastocisto sería:

- < 35 años de edad
- 4 o más embriones de buena calidad en D3 (212).

En este grupo de pacientes, la transferencia de un blastocisto podría mejorar la selección embrionaria, dando lugar a una mayor sincronía con el ambiente endometrial y con

menor contractilidad uterina, que contrarrestaría el posible efecto perjudicial del cultivo largo en el embrión.

Al mismo tiempo, en casos donde se obtienen cifras muy elevadas de estradiol, junto con la elevación prematura de la progesterona, la transferencia en estadio de blastocisto resultaría beneficiosa, compensando los efectos perjudiciales de aquellos sobre el endometrio.

## **VI. CONCLUSIONES.**



## VI.CONCLUSIONES.

Las principales conclusiones del presente trabajo son:

- Las mujeres menores de 35 años sometidas a FIV-ICSI tienen una mayor probabilidad de gestación, y ello es estadísticamente significativo, frente al grupo de 35 años o mayores. A menos edad se obtiene un mayor número de ovocitos, con mayor calidad ovocitaria y mayor capacidad de fecundación, todo ello encaminado a una mayor posibilidad de gestación y apoyado en la significación estadística.
  
- Las mujeres con normopeso ( IMC : 18,5-24,9) tratadas mediante FIV-ICSI tienen una mayor probabilidad de gestación frente a mujeres con sobrepeso y ello es estadísticamente significativo. La respuesta ovárica de mujeres sometidas a FIV-ICSI es menor cuanto mayor es el IMC y ello se demuestra estadísticamente con nuestros datos.
  
- De las variables relacionadas con el desarrollo del ciclo FIV , solo la variable “clínica concertada” tiene significación estadística en la consecución de la gestación , lo que remarca la importancia del funcionamiento del laboratorio FIV en la consecución del resultado perseguido al realizar un ciclo de fecundación in vitro.
  
- El número de ovocitos totales recuperados, ovocitos MII y fecundados necesarios para la obtención de la gestación, debe ser al menos de 5, aunque la significación estadística sólo nos lleva a concluir que un número menor a cinco en cualquiera de los casos se asocia a la no obtención de la gestación.

- Pacientes en las que se obtuvieron embriones sobrantes para criopreservar tras ser sometidas a FIV-ICSI, tienen una mayor probabilidad de gestación frente a las que no se ha logrado ningún embrión sobrante para criopreservar, y ello apoyado en la significación estadística.
  
- Nuestros datos, asocian de modo significativo tanto la transferencia de al menos 2 embriones como la embriotransfer en día 3 y día 5 ( D3- D5), con la consecución de la gestación. En el caso de la transferencia en D5, la asociación positiva no tiene significación estadística, dado el tamaño de la muestra.

Futuros trabajos deben continuar en la senda del análisis de aquellos factores que determinan y tienen influencia en el éxito de la fecundación in vitro y llegar a comprender qué ocurre en el diálogo embrión- endometrio, hecho fundamental para lograr el éxito en la reproducción asistida y desafío actual en el estudio de la reproducción humana.

Dado que las probabilidades de embarazo dependen de dos factores fundamentales: viabilidad embrionaria y receptividad endometrial, los esfuerzos deben focalizarse en las mejoras de laboratorio que impliquen, por un lado, una mejora de la viabilidad de los embriones y, por otro, en métodos de selección embrionaria. Sin olvidar, las inversiones necesarias para implementar sistemas de gestión de calidad y mejora continua en los centros de reproducción asistida.

## **BIBLIOGRAFÍA.**



## **BIBLIOGRAFÍA.**

1.- Mazarrasa Alvear L, Gil Tarragatos S. Salud sexual y reproductiva. In: Ministerio de Sanidad y Consumo. Observatorio de Salud de la Mujer, ed. by. Programa de formación de formadores en perspectiva de género y Salud. 1st ed. Madrid: Universidad Complutense de Madrid; 2006.

2.- López Villaverde V. La fertilidad en España. Análisis de la evolución de los indicadores demográficos recogidos en España. In: Matorras R, Coroleu B, Romeu A, Pérez Milán F, ed. by. Libro Blanco Sociosanitario “ La infertilidad en España: Situación Actual y Perspectivas”. 1st ed. Madrid: Matorras R; 2011. p. 53-70.

3.- Ohannessian A, Gamberre M, Agostini A. Epidemiología de la fertilidad. EMC-Ginecología-Obstetricia 2014;50(3):1-8.

4.- Matorras R. Fertilidad e infertilidad humanas. In: Matorras R, Coroleu B, Romeu A, Pérez Milán F, ed. by. Libro Blanco Sociosanitario “ La infertilidad en España: Situación Actual y Perspectivas. 1st ed. Madrid: Matorras R; 2011. p. 31-40.

5.- Ballesta Ballester FJ. El equívoco de la esterilidad : ¿ enfermedad o manipulación? Revista de Bioética y Derecho. 2011;23: 21-34.

6.- Lefebvre G. Tableau des parties du corps humain mentionnées par les Egyptiens. Annales du Service des Antiquités d' Egypte. 1952; 25-26: 51-53.

7.- Ghalioungui P, Khalil SH, Ammar R. On an ancient Egyptian method of diagnosing pregnancy and determining foetal sex. Med Hist. 1963; 7: 241-246.

8.- La Sagrada Biblia. Versión de Casiodoro de Reina (1569). Madrid: Sociedad Bíblica; 2001.

9.- Dumont M. La gynécologie et l'obstétrique dans la Bible. J Ginecol Obstet Biol Reprod. 1990;19:9-17.

10.- Hipócrates. Trad. Lourdes Sanz. Tratados Hipocráticos (IV). Sobre las enfermedades de las mujeres. Madrid: Editorial Gredos; 1988.

11.- Brabkin I. Soranus and his system of medicine. Bull Hist Med. 1951;25:503-518.

12.- De Villeneuve A. Le tresor des pauvres qui parle des maladies qui peuvent venir au corps humain. París: Trepperel and Jehannot; 1512.

13.- Hucher J. De Sterilitate Utriusque Sexus. París;1609.

14.- De Graaf R. De Mullerium Organismo. Lyon;1672.

15.- Van Leeuwenhoek A. De natis è semine genitali animalcules. R Soc Lond Philos Trans. 1678;12:1040-1043.

16.- Naboth M. De Sterilitate. Lipsiae;1707.

17.- Smellie W. A treatise on the theory and practice of midwifery. London: D. Wilson; 1752.

18.- Morgani G. The seats and Causes of Diseases. London; 1769.

19.- Spallanzani L. Dissertations relative to the natural history of animals and vegetables. Trans. by T. Beddoes in Dissertations Relative to the Natural History of Animals and Vegetables. 2nd ed. London: J.Murray; 1784.

20.- Hanson F, Rock J. Artificial insemination with husband's sperm. Obstetrical & Gynecological Survey. 1951;6(6):899-900.

21.- Sims J. Clinical notes on uterine surgery with special reference to the management of the sterile condition. London: R. Hardwicke; 1866.

22.- Sims J. The microscope as an aid in the diagnosis and treatment of sterility. Br Med J. 1868;2:465.

23.- Hard AD. Artificial impregnation. Med Wordl. 1909;27:163.

24.- Heape W. Preliminary note on the transplantation and growth of mammalian ova within a uterine foster-mother. Proc R Soc. 1891;48:457.

25.- Ascheim S, Zondek B. Insulated prolactin B from the uterine of pregnant women. They managed to stimulate and induce ovulation using gonadotrophins. Klin Wschr. 1928;7:8-9.

26.- Chen S, Wallach E. Five decades of progress in management of the infertile couple. Fertility and Sterility. 1994;62(4):665-685.

27.- Rubin I. Nonoperative Determination of Patency of Fallopian Tubes in Sterility. JAMA. 1983;250(17):2358.

28.- Rock J, Hertig A. Information regarding the time of human ovulation derived from a study of 3 unfertilized and 11 fertilized ova. American Journal of Obstetrics and Gynecology. 1944;47(3):343-356.

29.- Bavister B. Early history of in vitro fertilization. Reproduction. 2002;124(2):181-196.

30.- Willet E, Black W, Casida L, Stone W, Buckner P. Successful Transplantation of a Fertilized Bovine Ovum. Science. 1951;113(2931):247-247.

31.- Austin C. Observations on the Penetration of the Sperm into the Mammalian Egg. Australian Journal of Biological Sciences. 1951;4(4):581.

32.- Chang MC. Fertilizing Capacity of Spermatozoa deposited into the Fallopian Tubes. Nature. 1951;168(4277):697-698.

33.- Chang MC. Fertility and Sterility as Revealed in the Study of Fertilization and Development of Rabbit Eggs. Fertility and Sterility. 1951;2(3):205-222.

34.- Gemzell CA, Diczfalusy E and Tillinger KG.: Clinical effect of human pituitary follicle-stimulating hormone. J Clin Endocrinol Metab 1958; 18: 1333.

35.- Greenblatt RB, Barfield WE, Jungck ED and Ray AW. Induction of ovulation with MRL/41. J Am Med Assoc 1961; 178(2): 101-104.

36.- Edwards R, Donahue R, Baramki T, Jones H. Preliminary attempts to fertilize human oocytes matured in vitro. American Journal of Obstetrics and Gynecology. 1966;96(2):192-200.

37.- Yanagimachi R, Chang M. Fertilization of Hamster Eggs in vitro. Nature. 1963;200(4903):281-282.

38.- Uehara T, Yanagimachi R. Microsurgical Injection of Spermatozoa into Hamster Eggs with Subsequent Transformation of Sperm Nuclei into Male Pronuclei. Biology of Reproduction. 1976;15(4):467-470.

39.- Steptoe P, Edwards R. birth after the reimplantation of a human embryo. The Lancet. 1978;312(8085):366.

40.- Buster J, Bustillo M, Thorneycroft I, Simon J, Boyers S, Marshall J et al. Non-surgical transfer of in vivo fertilised donated ova to five infertile women: report of two pregnancies. The Lancet. 1983;322(8343):223-224.

41.- 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(5947):174-175.

42.- Trounson A, Mohr L. Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. *Nature*. 1983;305(5936):707-709.

43.- Asch R, Balmaceda J, Ellsworth L, Wong P. Preliminary experiences with gamete intrafallopian transfer (GIFT)\*\*Recipient of the 1985 Squibb Award. Presented at the Forty-First Annual Meeting of The. American Fertility Society, September 28 to October 2, 1985, Chicago, Illinois. *Fertility and Sterility*. 1986;45(3):366-371.

44.- Devroey P, Braeckmans P, Smits J, Waesberghe L, Wisanto A, Steirteghem A et al. Pregnancy after translaparoscopic zygote intrafallopian transfer in a patient with sperm antibodies. *The Lancet*. 1986;327(8493):1329.

45.- Russell J, DeCherney A, Hobbins J. A new transvaginal probe and biopsy guide for oocyte retrieval. *Fertility and Sterility*. 1987;47(2):350-352.

46.- Chen C. Pregnancy after human oocyte criopreservation. *The Lancet*. 1986;327(8486):884-886.

47.- Palermo G. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *The Lancet*. 1992;340(8810):17-18.

48.- Thornhill A, deDie-Smulders C, Geraedts J, Harper J, Harton G, Lavery S et al. ESHRE PGD Consortium 'Best practice guidelines for clinical preimplantation genetic diagnosis (PGD) and preimplantation genetic screening (PGS)'. *Human Reproduction*. 2005;20(1):35-48.

49.- Verlinsky Y. Preimplantation HLA Testing. *JAMA*. 2004;291(17):2079-2085.

50.- Maruani P, Schwartz D. Sterility and fecundability estimation. *Journal of Theoretical Biology*. 1983;105(2):211-219.

51.- Balasch J. Investigation of the infertile couple: Investigation of the infertile couple in the era of assisted reproductive technology: a time for reappraisal. *Human Reproduction*. 2000;15(11):2251-2257.

52,- Alviggi C, Humaidan P, Howles C, Tredway D, Hillier S. Biological versus chronological ovarian age: implications for assisted reproductive technology. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2009;7(1):101.

53.- Muasher S, Oehninger S, Simonetti S, Matta J, Ellis L, Liu H et al. The value of basal and/or stimulated serum gonadotropin levels in prediction of stimulation response and in vitro fertilization outcome. *Fertility and Sterility*. 1988;50(2):298-307.

54.- Chang M.D. M, Chiang M.D. C, Hsieh M.D. T, Soong M.D. Y, Hsu Ph.D. K. Use of the Antral Follicle Count to Predict the Outcome of Assisted Reproductive Technologies. *Fertility and Sterility*. 1998;69(3):505-510.

55.- La Marca A, Sighinolfi G, Radi D, Argento C, Baraldi E, Arnesio AC, Stabile G, Volpe A. Anti-Mullerian hormone ( AMH) as a predictive markers in assisted reproductive technology ( ART). *Human Reproduction Update*. 2010; 16(2): 113-30.

56.- Bonilla-Musoles F, Simón C, Serra V, Sampaio M, Pellicer A. An assessment of hysterosalpingosonography (HSSG) as a diagnostic tool for uterine cavity defects and tubal patency. *Journal of Clinical Ultrasound*. 1992;20(3):175-181.

57.- Chen YM, Ott DJ, Pittaway DE, et al. Efficacy of hysterosalpingography in evaluating tubal and peritubal disease in 200 patients with infertility. In *Radiological Society of North America 73rd scientific assembly and anual meeting (1987)*; 13: 27-32.

58.- World Health Organization ( WHO). *Laboratory manual for the examination and processing on human semen*. Fifth edition. 2010.

59.- Van Waart J. Predictive value of normal sperm morphology in intrauterine insemination (IUI): a structured literature review. *Human Reproduction Update*. 2001;7(5):495-500.

60.- Isaza V, Requena A, García Velasco JA et al. Recombinant vs urinary follicle stimulating hormone in couples undergoing intrauterine insemination. A randomized study. *Journal Reproduction Medicine*. 2003;48:112-118.

61.- Sánchez I, Amorós D, Lucco F, González S, Ballesteros A, Pellicer A. Inseminación artificial. *Práctica de esterilidad y reproducción humana*. 3rd ed. Madrid: Ed.Mc Graw-Hill; 2007. p. 123-138.

62.- Filicori M, Cognigni G, Arnone R, Carbone F, Falbo A, Tabarelli C et al. Role of different GnRH agonist regimens in pituitary suppression and the outcome of controlled ovarian hyperstimulation. *Human Reproduction*. 1996;11(suppl 3):123-132.

63.- Franco J. GnRH agonists versus GnRH antagonists in poor ovarian responders: a meta-analysis. *Reproductive BioMedicine Online*. 2006;13(11):618-627.

64.- Olivennes F. The use of GnRH antagonists in ovarian stimulation. *Human Reproduction Update*. 2002;8(3):279-299.

65.- van Wely M, Westergaard L, Bossuyt P, van der Veen F. Effectiveness of human menopausal gonadotropin versus recombinant follicle-stimulating hormone for controlled ovarian hyperstimulation in assisted reproductive cycles: a meta-analysis. *Fertility and Sterility*. 2003;80(5):1086-1093.

66.- Andersen A, Devroey P, Arce J. Clinical outcome following stimulation with highly purified hMG or recombinant FSH in patients undergoing IVF: a randomized assessor-blind controlled trial. *Human Reproduction*. 2006;21(12):3217-3227.

67.- Daya S. Updated meta-analysis of recombinant follicle-stimulating hormone (FSH) versus urinary FSH for ovarian stimulation in assisted reproduction. *Fertility and Sterility*. 2002;77(4):711-714.

68.- Garcia-Velasco J. Aromatase inhibitors in ovarian stimulation. *Reproductive BioMedicine Online*. 2006;13(6):906.

69.- Nasser S, Ledger W. Clomiphene citrate in the twenty-first century. *Human Fertility*. 2001;4(3):145-151.

70.- Edwards R. IVF, IVM, natural cycle IVF, minimal stimulation IVF – time for a rethink. *Reproductive BioMedicine Online*. 2007;15(1):106-119.

71.- Cobo A, Vajta G, Remohí J. Vitrification of human mature oocytes in clinical practice. *Reproductive BioMedicine Online*. 2009;19:85-103.

72.- Munne S, Magli C, Adler A, Wright G, de Boer K, Mortimer D et al. Treatment-related chromosome abnormalities in human embryos. *Human Reproduction*. 1997;12(4):780-784.

73.- Remohí J, Gartner B, Gallardo E, Yalil S, Simón C, Pellicer A. Pregnancy and birth rates after oocyte donation. *Fertility and Sterility*. 1997;67(4):717-723.

74.- Budak E, Garrido N, Soares S, Melo M, Meseguer M, Pellicer A et al. Improvements achieved in an oocyte donation program over a 10-year period: sequential increase in implantation and pregnancy rates and decrease in high-order multiple pregnancies. *Fertility and Sterility*. 2007;88(2):342-349.

75.- Remohi J, Gallardo E, Guanes P, Simon C, Pellicer A. Donor-recipient synchronization and the use of gonadotrophin-releasing hormone agonists to avoid the premature luteinizing hormone surge in oocyte donation. Human Reproduction. 1995;10(suppl 2):84-90.

76.- Cobo A, Kuwayama M, Pérez S, Ruiz A, Pellicer A, Remohí J. Comparison of concomitant outcome achieved with fresh and criopreservados donor oocytes vitrified by the Cryotop method . Fertility and Sterility.2008; 89(6): 1657-64.

77.-Registro Sociedad Española de Fertilidad ( SEF) 2015. [www.sefertilidad.com](http://www.sefertilidad.com).

78.- Scott R, Toner J, Muasher S, Oehninger S, Robinson S, Rosenwaks Z. Follicle-stimulating hormone levels on cycle day 3 are predictive of in vitro fertilization outcome. Fertility and Sterility. 1989;51(4):651-654.

79.- Licciardi FL, Liu HC, Rosenwaks Z. Day 3 estradiol serum concentrations as prognosticators of ovarian stimulation response and pregnancy outcome in patients undergoing in vitro fertilization. Fertility and Sterility.1995; 64 ( 5): 991-994.

80.- Hofmann GE, Danforth DR, Seifer DB. Inhibin B;the physiologic basis of the clomiphene citrate challenge test for ovarian reserve screening. Fertility and Sterility.1998; 69 (3): 474-477.

81.- van Loendersloot L, van Wely M, Limpens J, Bossuyt P, Repping S, van del Veen F. Predictive factors in in vitro fertilization (IVF): a systematic review and meta-analysis. Human Reproduction Update. 2010;16(6):577-589.

82.- Ficioglu C, Kutlu T, Baglam E, Bakacak Z. Early follicular antimullerian hormone as an indicator of ovarian reserve. Fertility and Sterility.2006, 85(3): 592-596.

83.- Hull MG, Fleming CF, Hughes AO, et al. The age-related decline in female fecundity a quantitative controlled study of implanting capacity and survival of individual embryos after in vitro fertilization. *Fertility and Sterility*.1996; 65(4). 783-790.

84.- Chuang C, Chen C, Chao K, Chen S, Ho H, Yang Y. Age is a better predictor of pregnancy potencial than basal FSH levels in women undergoing in vitro fertilization. *Fertility and Sterility*. 2003; 79(1):63-68.

85.- Scott RT, Hofmann GE, Oehninger S, Muasher SJ: Intercycle variability of day 3 follicle-stimulating hormone levels and its effect on stimulation quality in in vitro fertilization. *Fertility and Sterility*.1990; 54(2):297-302.

86.- Ocal P,Aydin S,Cepni J,Idil M, Uzun H, Benian A. Follicular fluid concentrations of vascular endothelial growth factor, inhibin A, inhibin B in IVF cycles: are they markers for ovarian response and pregnancy outcome. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* .2004; 115(2): 194-199.

87.- Srouji SS, Mark A, Levin Z, Betensky RA, Horstein MD, Ginsburg ES. Predicting in vitro fertilization live birth using stimulation day 6 estradiol, age and follicle stimulating hormone. *Fertility and Sterility*.2005; 84(3): 795-797.

88.- Carrera-Rotllan J, Estrada-García L, Sarquella-Ventura J. Prediction of pregnancy in IVF cycles on the fourth day of ovarian stimulation. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2007;24(9):387-394.

89.- Obesity: preventing and managing the global epidemic. Geneva: World Health Organization; 2000.

90.- Farquhar C, Rishworth JR, Brown J, Nelen WL, Marjoribanks J. Assisted reproductive technology: an overview of Cochrane Reviews. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2015;.

- 91.- Huang J. Assisted reproductive techniques. *Methods Mol Biol.* 2014;1154:171-231.
- 92.- L. Rodríguez- Tabernero , M<sup>a</sup> A. Manzanares, N. Mendoza, *Farmacoterapia en Medicina de la Reproducción.* Sociedad Española de Fertilidad. Editorial Médica Panamericana;2014.p.1-11.
- 93.- Van Wely M, Kwan I, Burt A, Thomas J, Val A et al. Recombinant versus urinary gonadotrophin for ovarian stimulation in assisted reproductive technology cycles. *Cochrane Database of Systematic Reviews.*2011;.
- 94.- Lledo B, Guerrero J, Turienzo A, Ortiz J, Morales R, Ten J et al. Effect of follicle-stimulating hormone receptor N680S polymorphism on the efficacy of follicle-stimulating hormone stimulation on donor ovarian response. *Pharmacogenetics and Genomics.* 2013;23(5):262-268.
- 95.- Female age-related fertility decline. *Fertility and Sterility.*2014;101(3):633-634.
- 96.- Baker T. A quantitative and cytological study of germ cells in human ovaries. *Obstetrical & Gynecological Survey.* 1964;19(4):700-701.
- 97.- Block E. Quantitative morphological investigations of the follicular system in women. *Cells Tissues Organs.* 1952;14(1-2):108-123.
- 98.- Faddy M, Gosden R, Gougeon A, Richardson S, Nelson J. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. *Human Reproduction.* 1992;7(10):1342-1346.
- 99.- Bonilla-Musoles F, Renau J, Hernandez-Yago J, Torres y. How do oocytes disappear?. *Archiv Gynaekol.* 1975;218(3):233-241.

100.- Pellicer A, Ballester M, Serrano M, Mir A, Serra-Serra V, Remohi J et al. Aetiological factors involved in the low response to gonadotrophins in infertile women with normal basal serum follicle stimulating hormone levels. *Human Reproduction*. 1994;9(5):806-811.

101.- Centers for Disease Control and Prevention, American Society for Reproductive Medicine Society for Assisted Reproductive Technology. 2010 assisted reproductive technology fertility clinic success rates report. Atlanta (GA) CDC; 2012. Available at: [http://www.cdc.gov/art/ART2010/PDFs/ART\\_2010\\_Clinic\\_Report-Full.pdf](http://www.cdc.gov/art/ART2010/PDFs/ART_2010_Clinic_Report-Full.pdf).

102.- Balasch J, Gratacós E. Delayed Childbearing: Effects on Fertility and the Outcome of Pregnancy. *Fetal Diagnosis and Therapy*. 2011;29(4):263-273.

103.- Battaglia D, Goodwin P, Klein N, Soules M. Fertilization and early embryology: Influence of maternal age on meiotic spindle assembly oocytes from naturally cycling women. *Human Reproduction*. 1996;11(10):2217-2222.

104.- Pellestor F, Andres B, Arnal F, Humeau C, Demaille J. Maternal aging and chromosomal abnormalities: new data drawn from in vitro unfertilized human oocytes. *Human Genetics*. 2003; 112:195-203.

105.- Munné S, Alikani M, Tomkin G, Grifo J, Cohen J. Embryo morphology, developmental rates, and maternal age are correlated with chromosome abnormalities\*\*Presented at the 50th Annual Meeting of The American Fertility Society, San Antonio, Texas, November 4 to 9, 1994, where it was awarded the prize paper of the Society for Assisted Reproductive Technology. *Fertility and Sterility*. 1995;64(2):382-391.

106.- Gielchinsky Y, Bogoch Y, Rechavi G, Jacob-Hirsch J, Amariglio N, Shveiky D et al. Gene expression in women conceiving spontaneously over the age of 45 years. *Fertility and Sterility*. 2008;89(6):1641-1650.

107.- Peñarrubia J, Carreras O, Fabregues F, Tur R. Concepto de reserva ovárica. Valoración endocrinológica y ecográfica. In: Callejo J, Coroleu B, ed. by. Fallo ovárico prematuro. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2008. p. 77-95.

108.- Broekmans F, Knauff E, te Velde E, Macklon N, Fauser B. Female reproductive ageing: current knowledge and future trends. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2007;18(2):58-65.

109.- Devine K, Mumford S, Goldman K, Hodes-Wertz B, Druckenmiller S, Propst A et al. Baby budgeting: oocyte cryopreservation in women delaying reproduction can reduce cost per live birth. *Fertility and Sterility*. 2015;103(6):1446-1453.e2.

110.- van Loendersloot L, Repping S, Bossuyt P, van der Veen F, van Wely M. Prediction models in in vitro fertilization; where are we? A mini review. *Journal of Advanced Research*. 2014;5(3):295-301.

111.- Rittenberg V, Seshadri S, Sunkara S, Sobaleva S, Oteng-Ntim E, El-Toukhy T. Effect of body mass index on IVF treatment outcome: an updated systematic review and meta-analysis. *Reproductive BioMedicine Online*. 2011;23(4):421-439.

112.- Christensen M, Ingerslev H, Degn B, Kesmodel U. Effect of Female Body Mass Index on Oocyte Quantity in Fertility Treatments (IVF): Treatment Cycle Number Is a Possible Effect Modifier. A Register-Based Cohort Study. *PLOS ONE*. 2016;11(9):e0163393.

113.- Sarais V, Pagliardini L, Rebonato G, Papaleo E, Candiani M, Viganò P. A Comprehensive Analysis of Body Mass Index Effect on in Vitro Fertilization Outcomes. *Nutrients*. 2016;8(3):109.

114.- Legge A, Bouzayen R, Hamilton L, Young D. The Impact of Maternal Body Mass Index on In Vitro Fertilization Outcomes. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*. 2014;36(7):613-619.

115.- Ozekinci M, Seven A, Olgan S, Sakinci M, Keskin U, Akar M et al. Does obesity have detrimental effects on IVF treatment outcomes?. *BMC Women's Health*. 2015;15(1).

116.- Chavarro J, Ehrlich S, Colaci D, Wright D, Toth T, Petrozza J et al. Body mass index and short-term weight change in relation to treatment outcomes in women undergoing assisted reproduction. *Fertility and Sterility*. 2012;98(1):109-116.

117.- Bellver J, Pellicer A, García-Velasco J, Ballesteros A, Remohí J, Meseguer M. Obesity reduces uterine receptivity: clinical experience from 9,587 first cycles of ovum donation with normal weight donors. *Fertility and Sterility*. 2013;100(4):1050-1058.e2.

118.- Zeng X, Pang H, Li X, Luo S, Jin S, Li S. Impact of obesity on endometrial blood flow in women without polycystic ovarian syndrome during intracytoplasmic sperm injection. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2013;11(1):57.

119.- Góngora J, Romero B, Martínez L, Fontes J, Mozas J. Influencia del índice de masa corporal en los resultados de técnicas de reproducción asistida. *Medicina Reproductiva y Embriología Clínica*. 2016;3(1):17-23.

120.- Gosman G, Katcher H, Legro R. Obesity and the role of gut and adipose hormones in female reproduction. *Human Reproduction Update*. 2006;12(5):585-601.

121.- Messinis I. Leptin in human reproduction. *Human Reproduction Update*. 1999;5(1):52-63.

122.- Vázquez M, Romero-Ruiz A, Tena-Sempere M. Roles of Leptin in Reproduction, Pregnancy and Polycystic Ovary Syndrome: Consensus Knowledge and Recent Developments. *Metabolism*. 2015;64(1):79-91.

123.- Gammon C, Freeman G, Xie W, Petersen S, Wetsel W. Regulation of Gonadotropin-Releasing Hormone Secretion by Cannabinoids. *Endocrinology*. 2005;146(10):4491-4499.

124.- Pasquali R, Casimirri F, Platè L, Capelli M. Characterization of Obese Women with Reduced Sex Hormone-Binding Globulin Concentrations. *Hormone and Metabolic Research*. 1990;22(05):303-306.

125.- Poretsky L, Cataldo N, Rosenwaks Z, Giudice L. The Insulin-Related Ovarian Regulatory System in Health and Disease. *Endocrine Reviews*. 1999;20(4):535-582.

126.- Sutton-McDowall M, Gilchrist R, Thompson J. The pivotal role of glucose metabolism in determining oocyte developmental competence. *Reproduction*. 2010;139(4):685-695.

127.- Palomba S, Falbo A, Valli B, Morini D, Villani M, Nicoli A et al. Physical activity before IVF and ICSI cycles in infertile obese women: an observational cohort study. *Reproductive BioMedicine Online*. 2014;29(1):72-79.

128.- Rodriguez-Taberneró Martín L, Gobernado Tejedor JA, Barrero Real L , et al. *¿Aportan algo los tratamientos coadyuvantes en la estimulación de la mujer con baja reserva ovárica?*. *Cuadernos de Medicina Reproductiva*. 2014;(3)20:70-71.

129.- Broekmans F, Kwee J, Hendriks D, Mol B, Lambalk C. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Human Reproduction Update*. 2006;12(6):685-718.

130.- Bancsi L. Performance of basal follicle-stimulating hormone in the prediction of poor ovarian response and failure to become pregnant after in vitro fertilization: a meta-analysis. *Fertility and Sterility*. 2003;79(5):1091-1100.

131.- La Marca A, Giulini S, Tirelli A, Bertucci E, Marsella T, Xella S et al. Anti-Müllerian hormone measurement on any day of the menstrual cycle strongly predicts ovarian response in assisted reproductive technology. *Human Reproduction*. 2006;22(3):766-771.

132.- La Marca A, Sunkara S. Individualization of controlled ovarian stimulation in IVF using ovarian reserve markers: from theory to practice. *Human Reproduction Update*. 2013;20(1):124-140.

133.- Ji J, Liu Y, Tong X, Luo L, Más J, Chen Z. The optimum number of oocytes in IVF treatment an analysis of 2455 cycles in China. *Human Reproduction*.2013;28(10):2728-2734.

134.- Fratarelli. Evaluation of basal estradiol levels in assisted reproductive technology cycles. *Fertility and Sterility*. 2000;.

135.- Frazier L, Grainger D, Schieve L, Toner J.FSH and estradiol levels independently predict the success of assisted reproductive technology treatment. *Fertility and Sterility*. 2004;82(4):834-840.

136.- Scott R, Hofmann G.*Prognostic assessment of ovarian reserve\*\** The opinions expressed in this paper are those of the authors and do not reflect the policy of the Department of Defense or the United States Government. *Fertility and Sterility*.1995;63(1):1-11.

137.- De Castro F, Ruiz R, Montoro L, Pérezhernández D et al. Role of follicle-stimulating hormone receptor Ser680Asn polymorphism in the efficacy of follicle-stimulating hormone. *Fertility and Sterility*. 2003;80(3):571-576.

138.- La Marca A, Sighinolfi G, Argento C, Grisendi V, Casarini L, Volpe A et al. Polymorphisms in gonadotropin and gonadotropin receptor genes as markers of ovarian reserve and response in in vitro fertilization. *Fertility and Sterility*. 2013;99(4):970-978.e1.

139.- Lledo B, Guerrero J, Turienzo A, Ortiz J, Morales R, Ten J et al. Effect of follicle-stimulating hormone receptor N680S polymorphism on the efficacy of follicle-stimulating hormone stimulation on donor ovarian response. *Pharmacogenetics and Genomics*. 2013;23(5):262-268.

140.- Huang X, Li L, Hong L, Zhou W, Shi H, Zhang H et al. The Ser680Asn polymorphism in the follicle-stimulating hormone receptor gene is associated with the ovarian response in controlled ovarian hyperstimulation. *Clinical Endocrinology*. 2014;82(4):577-583.

141.- Lledó B, Dapena P, Ortiz J, Morales R, Llacer J, Bernabeu R. Clinical efficacy of recombinant versus highly purified follicle-stimulating hormone according to follicle-stimulating hormone receptor genotype. *Pharmacogenetics and Genomics*. 2016;26(6):288-293.

142.- Alviggi C, Humaidan P, Ezcurra D. Hormonal, functional and genetic biomarkers in controlled ovarian stimulation: tools for matching patients and protocols. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2012;10(1):9.

143.- Alviggi C, Conforti A, Caprio F, Gizzo S, Noventa M, Strina I et al. In Estimated Good Prognosis Patients Could Unexpected "Hyporesponse" to Controlled Ovarian Stimulation be Related to Genetic Polymorphisms of FSH Receptor?. *Reproductive Sciences*. 2016;23(8):1103-1108.

144.- Lledo B. Recombinant or urinary FSH? Is receptor genotype key when choosing the FSH?. Presentation presented at; 2016.

145.- Llácer J, Ortiz JA, Lledo B, Morales R y Bernabeu R. Relevance of single nucleotide polymorphism on Polg and Exo1 in patients with low ovarian reserve. Presentation presented at; 2016.

146.- Alviggi C, Clarizia R, Pettersson K, Mollo A, Humaidan P, Strina I et al. Suboptimal response to GnRHa long protocol is associated with a common LH polymorphism. *Reproductive BioMedicine Online*. 2011;22:S67-S72.

147.- 9. Ziebe S, Lundin K, Janssens R, Helmggaard L, Arce J. Influence of ovarian stimulation with HP-hMG or recombinant FSH on embryo quality parameters in patients undergoing IVF. *Human Reproduction*. 2007;22(9):2404-2413.

148.- Devroey P, Pellicer A, Nyboe Andersen A, Arce J. A randomized assessor-blind trial comparing highly purified hMG and recombinant FSH in a GnRH antagonist cycle with compulsory single-blastocyst transfer. *Fertility and Sterility*. 2012;97(3):561-571.

149.- Hill M, Levens E, Levy G, Ryan M, Csokmay J, DeCherney A et al. The use of recombinant luteinizing hormone in patients undergoing assisted reproductive techniques with advanced reproductive age: a systematic review and meta-analysis. *Fertility and Sterility*. 2012;97(5):1108-1114.e1.

150.- Lehert P, Kolibianakis E, Venetis C, Schertz J, Saunders H, Arriagada P et al. Recombinant human follicle-stimulating hormone (r-hFSH) plus recombinant luteinizing hormone versus r-hFSH alone for ovarian stimulation during assisted reproductive technology: systematic review and meta-analysis. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2014;12(1):17.

151.- Sunkara S, Coomarasamy A, Faris R, Braude P, Khalaf Y. Long gonadotropin-releasing hormone agonist versus short agonist versus antagonist regimens in poor responders undergoing in vitro fertilization: a randomized controlled trial. *Fertility and Sterility*. 2014;101(1):147-153.

152.- Ou J, Xing W, Li T, Li Y, Xu Y, Zhou C. Short versus long gonadotropin-releasing hormone analogue suppression protocols in advanced age women undergoing IVF/ICSI. *Gynecological Endocrinology*. 2016;32(8):622-6

153.- Dunne C, Lawrence C, Albert A, Havelock JC. Longer ovarian stimulation reduces embryo number and clinical pregnancy rate in long GnRH agonist cycles. *Minerva ginecologica*.2017;69(2):135-140.

154.- Prapas Y, Petousis S, Dagklis T, Panagiotidis Y, Papatheodorou A, Assunta I et al. GnRH antagonist versus long GnRH agonist protocol in poor IVF responders: a randomized clinical trial. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2013;166(1):43-46.

155.- van Rumste M, Evers J, Farquhar C. Intra-cytoplasmic sperm injection versus conventional techniques for oocyte insemination during in vitro fertilisation in couples with non-male subfertility. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2003;.

156.- Elizur S, Levron J, Seidman D, Kees S, Levran D, Dor J. Conventional in vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection for sibling oocytes in couples with mild oligoteratoasthenozoospermia and couples with normal sperm. *Fertility and Sterility*. 2004;82(1):241-243.

157.- Munné S. Chromosome Abnormalities in Embryos Obtained After Conventional In Vitro Fertilization and Intracytoplasmic Sperm Injection. *Fertility and Sterility*. 1998;69(5):904-908.

158.- Calderon G. Importancia del tipo de cultivo y día de transferencia. *Cuadernos de Medicina Reproductiva*. 2017;1(23):10-14.

159.- Aguado D. Efecto de una buena programación clínica en los resultados clínicos de un laboratorio de reproducción asistida. *Cuadernos de Medicina Reproductiva*. 2017;1(23):67-79.

160.- Prados N. Repercusión de controles de calidad de un laboratorio de FIV en los resultados clínicos. *Cuadernos de Medicina Reproductiva*. 2017;1(23): 81-90.

161.- AENOR.Sistemas de gestión de la calidad para laboratorios de reproducción asistida. 2013.

162.- Polyzos N, Sunkara S. Sub-optimal responders following controlled ovarian stimulation: an overlooked group?. Human Reproduction. 2015;30(9):2005-2008.

163.- Sunkara S, Rittenberg V, Raine-Fenning N, Bhattacharya S, Zamora J, Coomarasamy A. Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment cycles. Human Reproduction. 2011;26(7):1768-1774.

164.- Oocyte number as a predictor for ovarian hyperstimulation syndrome and live birth: is more always better?. Fertil Steril, 2011.

165.- Connell M, Richter K, Tucker M, Graham J, DeCherney A, Hill M et al. Retrieval of larger oocyte cohorts maximizes in vitro fertilization (IVF) birth rates per cycle. Fertility and Sterility. 2016;106(3):e34-e35.

166.- Drakopoulos P, Blockeel C, Stoop D, Camus M, de Vos M, Tournaye H et al. 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?. Human Reproduction. 2016;2(31):370-376.

167.- Milachich T, Shterev A. Are there optimal numbers of oocytes, spermatozoa and embryos in assisted reproduction?. JBRA Assisted Reproduction. 2016;20(3):142-149.

168.- Sousa M, Cunha M, Teixeira da Silva J, Oliveira C, Silva J, Viana P et al. Ovarian hyperstimulation syndrome: a clinical report on 4894 consecutive ART treatment cycles. Reproductive Biology and Endocrinology. 2015;13(1):66.

169.- Bals-Pratsch M, Bühler K, Krüssel J, Wendelken M Dahncke W, Kupka MS. Extended Analyses of the German IVF Registry ( DIR): Andrological Aspects, Medical-Economical Assumptions Related to the Shift from IVF to ICSI and Stimulation with Gonadotropins J. Reproduktionsmed Endokrinol. 2010;7:40-4.

170.- Steward R, Lan L, Shah A, Yeh JS, Price TM, Goldfarb JM, Muasher SJ. Oocyte number as a predictor for ovarian hyperstimulation syndrome and live birth: an analysis of 256.381 in vitro fertilization cycles. Fertility and Sterility.2014;101(4): 967-973.

171.- Mc Avey, Zapantis A, Jindal S, Lieman H et al. How many eggs are needed to produce an assisted reproductive technology baby: is more always better?. Fertility and Sterility.2011;96(2):332-335.

172.- ESHRE Campus Course Report . Prevention of twin pregnancies after IVF/ICSI by single embryo transfer. Human Reproduction.2001;16(4):790-800.

173.- Pinborg A. IVF/ICSI twin pregnancies: risks and prevention. Human Reproduction Update. 2005;11(6):575-593.

174.- Sanchez Soler M. Major congenital malformations and neonatal complications in a cohort of Spanish children born after assisted reproductive techniques and associated factors”. Presentation presented at; 2015; European Journal of Human Genetics.

175.- Embarazo múltiple. Estudio y tratamiento de la Pareja Estéril. Recomendaciones de la Sociedad Española de Fertilidad. 2007; 395-400.

176.- Multiple gestation associated with infertility therapy: an American Society for Reproductive Medicine Practice Committee opinion. Fertility and Sterility. 2012;97(4):825-834.

177.- Ricciarelli E. Marco de actitud ante las gestaciones múltiples: Legislaciones y recomendaciones. Recomendación del Grupo de Interés de Salud Embrionaria de la Sociedad Española de Fertilidad. *Rev Iberoam Fert* 2007; 24 (6): 405-410.

178.- Roberts S, McGowan L, Hirst W, Brison,, D, Vail A, Lieberman, B. Towards single embryo transfer? Modelling clinical outcomes of potential treatment choices using multiple data sources: predictive models and patient perspectives. *Health Technology Assessment*. 2010;14(38):1-237.

179.- Khalaf Y, El-Toukhy T, Coomarasamy A, Kamal A, Bolton V, Braude P. Selective single blastocyst transfer reduces the multiple pregnancy rate and increases pregnancy rates: a pre- and postintervention study. *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2008;115(3):385-390.

180.- Styer A, Wright D, Wolkovich A, Veiga C, Toth T. Single-blastocyst transfer decreases twin gestation without affecting pregnancy outcome. *Fertility and Sterility*. 2008;89(6):1702-1708.

181.- Dickey R. Strategies to reduce multiple pregnancies due to ovulation stimulation. *Fertility and Sterility*. 2009;91(1):1-17.

182.- Chang H, Lee J, Jee B, Suh C, Kim S. Impact of blastocyst transfer on offspring sex ratio and the monozygotic twinning rate: a systematic review and meta-analysis. *Fertility and Sterility*. 2009;91(6):2381-2390.

183.- Grady R, Alavi N, Vale R, Khandwala M, McDonald S. Elective single embryo transfer and perinatal outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Fertility and Sterility*. 2012;97(2):324-331.e8.

184.- Eum J, Park J, Kim S, Paek S, Seok H, Chang E et al. Clinical outcomes of single versus double blastocyst transfer in fresh and vitrified-warmed cycles. *Clinical and Experimental Reproductive Medicine*. 2016;43(3):164-168.

185.- Sifer C, Sermondade N, Poncelet C, Hafhouf E, Porcher R, Cedrin-Durnerin I et al. Biological predictive criteria for clinical pregnancy after elective single embryo transfer. *Fertility and Sterility*. 2011;95(1):427-430.

186.- Pandian Z, Marjoribanks J, Ozturk O, Serour G, Bhattacharya S. Number of embryos for transfer following in vitro fertilisation or intra-cytoplasmic sperm injection. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2013;.

187.- Gelbaya T, Tsoumpou I, Nardo L. The likelihood of live birth and multiple birth after single versus double embryo transfer at the cleavage stage: a systematic review and meta-analysis. *Fertility and Sterility*. 2010;94(3):936-945.

188.- Meseguer M, Herrero J, Tejera A, Hilligsoe K, Ramsing N, Remohi J. The use of morphokinetics as a predictor of embryo implantation. *Human Reproduction*. 2011;26(10):2658-2671.

189.- Assou S, Boumela I, Haouzi D, Anahory T, Dechaud H, De Vos J et al. Dynamic changes in gene expression during human early embryo development: from fundamental aspects to clinical applications. *Human Reproduction Update*. 2010;17(2):272-290.

190.- Pandian Z, Marjoribanks J, Ozturk O, Serour G, Bhattacharya S. Number of embryos for transfer following in vitro fertilisation or intra-cytoplasmic sperm injection. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2013;.

191.- Gelbaya T, Tsoumpou I, Nardo L. The likelihood of live birth and multiple birth after single versus double embryo transfer at the cleavage stage: a systematic review and meta-analysis. *Fertility and Sterility*. 2010;94(3):936-945.

192.- Papanikolaou E, Bourgain C, Kolibianakis E, Tournaye H, Devroey P. Steroid receptor expression in late follicular phase endometrium in GnRH antagonist IVF cycles is already altered, indicating initiation of early luteal phase transformation in the absence of secretory changes. *Human Reproduction*. 2005;20(6):1541-1547.

193.- Boomsma C, Kavelaars A, Eijkemans M, Fauser B, Heijnen C, Macklon N. Ovarian stimulation for in vitro fertilization alters the intrauterine cytokine, chemokine, and growth factor milieu encountered by the embryo. *Fertility and Sterility*. 2010;94(5):1764-1768.

194.- Wennerholm U, Söderström-Anttila V, Bergh C, Aittomäki K, Hazekamp J, Nygren K et al. Children born after cryopreservation of embryos or oocytes: a systematic review of outcome data. *Human Reproduction*. 2009;24(9):2158-2172.

195.- Kato O, Kawasaki N, Bodri D, Kuroda T, Kawachiya S, Kato K et al. Neonatal outcome and birth defects in 6623 singletons born following minimal ovarian stimulation and vitrified versus fresh single embryo transfer. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2012;161(1):46-50.

196.- Leese B, Denton J. Attitudes towards single embryo transfer, twin and higher order pregnancies in patients undergoing infertility treatment: a review. *Human Fertility*. 2010;13(1):28-34.

197.- Thurin A, Hausken J, Hillensjö T, Jablonowska B, Pinborg A, Strandell A et al. Elective Single-Embryo Transfer versus Double-Embryo Transfer in in Vitro Fertilization. *New England Journal of Medicine*. 2004;351(23):2392-2402.

198.- McLernon D, Harrild K, Bergh C, Davies M, de Neubourg D, Dumoulin J et al. Clinical effectiveness of elective single versus double embryo transfer: meta-analysis of individual patient data from randomised trials. *BMJ*. 2010;341(dec21 2):c6945-c6945.

199.- Hardarson T, Ahlstrom A, Rogberg L, Botros L, Hillensjo T, Westlander G et al. Non-invasive metabolomic profiling of Day 2 and 5 embryo culture medium: a prospective randomized trial. *Human Reproduction*. 2011;27(1):89-96.

200.- Meseguer M, Herrero J, Tejera A, Hilligsoe K, Ramsing N, Remohi J. The use of morphokinetics as a predictor of embryo implantation. *Human Reproduction*. 2011;26(10):2658-2671.

201.- Basile N, Nogales M, Bronet F, Florensa M, Riqueiros M, Rodrigo L et al. Increasing the probability of selecting chromosomally normal embryos by time-lapse morphokinetics analysis. *Fertility and Sterility*. 2014;101(3):699-704.e1.

202.- Petersen B, Boel M, Montag M, Gardner D. Development of a generally applicable morphokinetic algorithm capable of predicting the implantation potential of embryos transferred on Day 3. *Human Reproduction*. 2016;31(10):2231-2244.

203.- Kieslinger D, De Gheselle S, Lambalk C, De Sutter P, Kosteljik E, Twisk J et al. Embryo selection using time-lapse analysis (Early Embryo Viability Assessment) in conjunction with standard morphology: a prospective two-center pilot study. *Human Reproduction*. 2016;31(11):2450-2457.

204.- Staessen C, Platteau P, Van Assche E, Michiels A, Tournaye H, Camus M et al. Comparison of blastocyst transfer with or without preimplantation genetic diagnosis for aneuploidy screening in couples with advanced maternal age: a prospective randomized controlled trial. *Human Reproduction*. 2004;19(12):2849-2858.

205.- Practice Committee of the Society for Assisted Reproductive Technology and Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Elective single-embryo transfer. *Fertility and Sterility*. 2012;97(4):835-842.

206.- Thomas M, Sparks A, Ryan G, Van Voorhis B. Clinical predictors of human blastocyst formation and pregnancy after extended embryo culture and transfer. *Fertility and Sterility*. 2010;94(2):543-548.

207.- Glujovsky D, Farquhar C, Quinteiro Retamar A, Alvarez Sedo C, Blake D. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2016;.

208.- Martins W, Nastri C, Rienzi L, van der Poel S, Gracia C, Racowsky C. Blastocyst vs cleavage-stage embryo transfer: systematic review and meta-analysis of reproductive outcomes. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*. 2017;49(5):583-591.

209.- Fanchin R. Uterine contractility decreases at the time of blastocyst transfers. *Human Reproduction*. 2001;16(6):1115-1119.

210.- Elgindy E, Abou-Setta A, Mostafa M. Blastocyst-stage versus cleavage-stage embryo transfer in women with high oestradiol concentrations: randomized controlled trial. *Reproductive BioMedicine Online*. 2011;23(6):789-798.

211.- Ryan G, Zhang S, Dokras A, Syrop C, Van Voorhis B. The desire of infertile patients for multiple births. *Fertility and Sterility*. 2004;81(3):500-504.

212.- Dessolle L, Freour T, Ravel C, Jean M, Colombel A, Darai E et al. Predictive factors of healthy term birth after single blastocyst transfer. *Human Reproduction*. 2011;26(5):1220-1226.

213.- Veleva Z, Vilska S, Hydén-Granskog C, Tiitinen A, Tapanainen J, Martikainen H. Elective single embryo transfer in women aged 36–39 years. *Human Reproduction*. 2006;21(8):2098-2102.

214.- Racowsky C, Jackson K, Cekleniak N, Fox J, Hornstein M, Ginsburg E. The number of eight-cell embryos is a key determinant for selecting day 3 or day 5 transfer. *Fertility and Sterility*. 2000;73(3):558-564.

215.- Dean J, Chapman M, Sullivan E. The effect on human sex ratio at birth by assisted reproductive technology (ART) procedures - an assessment of babies born following single embryo transfers, Australia and New Zealand, 2002-2006. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2010;117(13):1628-1634.

216.- Papanikolaou E, Fatemi H, Venetis C, Donoso P, Kolibianakis E, Tournaye H et al. Monozygotic twinning is not increased after single blastocyst transfer compared with single cleavage-stage embryo transfer. *Fertility and Sterility*. 2010;93(2):592-597.



**ANEXOS.**



## **ANEXOS.**

ÍNDICE DE FIGURAS.

ÍNDICE DE TABLAS.

ÍNDICE DE GRÁFICOS.



## ANEXOS.

### ÍNDICE DE FIGURAS.

<b>Fig.1:</b> Protocolo largo con agonistas.	46.
<b>Fig.2:</b> Protocolo corto.	46.
<b>Fig.3:</b> Protocolo ultracorto.	47.
<b>Fig.4:</b> Protocolo con antagonista.	48.

### ÍNDICE DE TABLAS.

<b>Tabla 1:</b> Características de las variables cuantitativas, definidas en los 2008 ciclos, en 1631 pacientes.	53.
<b>Tabla 2:</b> Relación Edad/ Gestación.	57.
<b>Tabla 3:</b> Relación Edad/ Número de ovocitos recuperados.	58.
<b>Tabla 4:</b> Relación Edad/ Número de ovocitos MII.	58.
<b>Tabla 5:</b> Relación Edad/ Número de cigotos.	58.
<b>Tabla 6:</b> Relación Edad/ FSH basal.	59.
<b>Tabla 7:</b> Relación Edad/ Estradiol .basal.	59.
<b>Tabla 8:</b> Relación IMC/ Gestación.	60.
<b>Tabla 9:</b> Relación IMC / Número de ovocitos totales recuperados.	60.
<b>Tabla 10:</b> Relación IMC / Número de ovocitos MII.	60.
<b>Tabla 11:</b> Relación IMC / Número de cigotos.	61.
<b>Tabla 12:</b> Relación FSH basal / Gestación.	62.
<b>Tabla 13:</b> Relación FSH / Número de ovocitos recuperados.	62.
<b>Tabla 14:</b> Relación FSH / Número de ovocitos MII.	62.
<b>Tabla 15:</b> Relación FSH/ Número de cigotos.	63.

<b>Tabla 16:</b> Relación estradiol basal/ Gestación.	63.
<b>Tabla 17:</b> Relación estradiol basal/ Número de ovocitos recuperados.	64.
<b>Tabla 18:</b> Relación estradiol basal / Número de ovocitos MII.	64.
<b>Tabla 19:</b> Relación estradiol basal/ Número de cigotos.	64.
<b>Tabla 20:</b> Relación de gonadotrofinas/ Gestación.	65.
<b>Tabla 21:</b> Relación protocolo de estimulación / Gestación.	66.
<b>Tabla 22:</b> Relación Técnica de Inseminación / Gestación.	67.
<b>Tabla 23:</b> Relación Clínica / Gestación.	67.
<b>Tabla 24:</b> Relación Clínica / Técnica de inseminación.	68.
<b>Tabla 25:</b> Relación Clínica / Número de ovocitos recuperados.	68.
<b>Tabla 26:</b> Relación Clínica / Número de ovocitos MII.	69.
<b>Tabla 27:</b> Relación Clínica / Número de cigotos.	69.
<b>Tabla 28:</b> Relación número de ovocitos totales recuperados / Gestación.	70.
<b>Tabla 29:</b> Relación número de ovocitos MII/ Gestación.	70.
<b>Tabla 30:</b> Relación número de cigotos / Gestación.	71.
<b>Tabla 31:</b> Relación número de embriones criopreservados / Gestación.	71.
<b>Tabla 32:</b> Relación número de embriones transferidos / Gestación.	71.
<b>Tabla 33:</b> Relación día de embriotransfer/ Gestación.	72.
<b>Tabla 34:</b> Correlaciones de las variables cuantitativas.	74.
<b>Tabla 35:</b> Relación edad/ IMC / Gestación.	75.
<b>Tabla 36:</b> Relación edad/ FSH basal/ Gestación.	75.
<b>Tabla 37:</b> Relación edad/ Estradiol basal/ Gestación.	75.
<b>Tabla 38:</b> Relación edad/ Número de cigotos / Gestación.	76.
<b>Tabla 39:</b> Relación IMC / número de ovocitos MII/ Gestación.	76.

<b>Tabla 40:</b> Tasa de fecundación. Tasa de utilización ovocitaria. Tasa de calidad embrionaria.	122.
<b>Tabla 41:</b> Tasa de gestación de SET.	126.
<b>Tabla 42:</b> Guía de Recomendaciones de la SEF. Grupo “ Salud Embrionaria”2005.	130.
<b>ÍNDICE DE GRÁFICOS.</b>	
<b>Gráfico 1:</b> Edad media a la maternidad en España(2006-2016).	16.
<b>Gráfico 2:</b> Índice coyuntural de fecundidad ( 2006-2016).	17.
<b>Gráfico 3:</b> Tasa bruta de natalidad en España (1944-2009).	19.
<b>Gráfico 4:</b> Evolución de la natalidad en España ( 2006-2016).	19.
<b>Gráfico 5:</b> Tasas específicas de fecundidad por edad de la madre ( 1980-2010).	21.
<b>Gráfico 6:</b> Tasa de gestación / Edad.	81.
<b>Gráfico 7:</b> Tasa de gestación / IMC .	85.
<b>Gráfico 8:</b> Tasa de gestación / FSH basal.	91.
<b>Gráfico 9:</b> Tasa de gestación/ Estradiol basal.	95.
<b>Gráfico 10:</b> Tasa de gestación/ Gonadotrofinas.	99.
<b>Gráfico 11:</b> Tasa de gestación/ Protocolo de estimulación.	105.
<b>Gráfico 12:</b> Tasa de gestación/ Técnica de inseminación.	107.
<b>Gráfico 13:</b> Tasa de gestación / clínica concertada.	109.
<b>Gráfico 14:</b> Tasa de gestación/ número de ovocitos totales recuperados.	115.
<b>Gráfico 15:</b> Tasa de gestación / número de ovocitos MII.	119.
<b>Gráfico 16:</b> Tasa de gestación/ número de cigotos.	121.
<b>Gráfico 17:</b> Tasa de gestación / número de embriones sobrantes.	123.
<b>Gráfico 18:</b> Tasa de gestación / Número de embriones transferidos.	125.

**Gráfico 19:** Evolución de la transferencia embrionaria en España (1998-2015). 126.

**Gráfico 20:** Tasa de gestación/ día de transferencia embrionaria. 133.

## **ABREVIATURAS.**



## **ABREVIATURAS:**

**AENOR:** Asociación Española de Normalización y Certificación.

**AMH:** Hormona antimülleriana.

**ASRM:** Asociación Americana de Medicina de la Reproducción.

**DET:** Double Embryo Transfer. Transferencia doble embrionaria..

**DGP:** Diagnóstico genético preimplantacional.

**EMM:** Edad media la maternidad.

**EOC:** Estimulación ovárica controlada.

**ESRHE:** Sociedad Europea de Embriología y Reproducción Humana.

**FIGO:** Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia.

**FIV:** Fecundación in vitro.

**FSH:** Hormona folículo estimulante.

**GIFT:** Transferencia intratubárica de gametos.

**HLA:** Antígeno de histocompatibilidad.

**HSO:** Síndrome de hiperestimulación ovárica.

**IAD:** Inseminación artificial de donante.

**ICF:** Índice coyuntural de fecundidad.

**ICSI:** Inyección intracitoplasmática de espermatozoides.

**LFIV:** Laboratorio de FIV.

**IMC:** Índice de masa corporal.

**INE:** Instituto Nacional de Estadística.

**LH:** Hormona luteinizante.

**MCI:** Masa celular interna.

**MII:** Metafase II

**OMS:** Organización Mundial de la Salud.

**RFA:** Recuento folicular antral.

**SEF:** Sociedad Española de Fertilidad.

**SET:** Single Embryo Transfer. Transferencia de un único embrión.

**SEGO:** Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia.

**SGP:** Screening genético preimplantacional.

**TE:** Transferencia embrionaria.

**TRA:** Técnicas de reproducción asistida.

**WAS:** Asociación Mundial de Sexología. ( World Association for Sexology).

**ZIFT:** Transferencia intratubárica de cigotos.

