ASEBIR

Revista de Embriología Clínica y Biología de la Reproducción

NOVIEMBRE 2023

VOL. 28 N.º 2

30 ASEBIR
Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción

XII PALMA 2023 ASEBIR CONGRESO

PONENCIAS | COMUNICACIONES ORALES | COMUNICACIONES PÓSTER

PALMA 2023

XII ASEBIR CONGRESO

ASEBIR

Índice

05 **EDITORIAL**
XII Congreso ASEBIR. Bienvenida
Rafael Trinchant,
Presidente XII Congreso ASEBIR
Antonio Urries López,
Presidente ASEBIR

06 **XII CONGRESO ASEBIR**
Información
Comités
Programa científico

18 **PONENCIAS**

75 **COMUNICACIONES ORALES**
76 Variables de impacto sobre el desarrollo embrionario *in vitro* (CO-001 a la CO-010)
91 Ómicas: genes, transcritos y proteínas (CO-011 a la CO-018)
101 Andrología: el espermatozoide y su selección (CO-019 a la CO-026)
115 PGT: tecnología y resultados (CO-027 a la CO-034)
126 Avances en *time-lapse* e inteligencia artificial (CO-035 a la CO-042)

137 **COMUNICACIONES PÓSTERS**

Editores

EDITA
Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción

EDITORES Y DIRECTORES CIENTÍFICOS
Laura Mifsud i Elena. Ginefiv, Barcelona
Juan Manuel Moreno Moya. Aleris Fertilitet, Oslo, Noruega

COMITÉ EDITORIAL

Presidente:
Antonio Urries López. Hospital Quirónsalud, Zaragoza

Vicepresidente:
Mark Grossmann i Camps. Barcelona IVF, Barcelona

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

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

Grupos de interés:
Belén Buch Tomé. Centro Gutenberg, Málaga
Nicolás Prados Dodd. IVI Sevilla, S. L., Sevilla

Docencia y formación:
Antonio Alcaide Raya. REPROFIV, Madrid
Cristina Camprubí Sánchez. Genintegral, Reference Labotarory Genetics, UAB, Barcelona
Francisco Javier Vendrell Montón. Sistemas Genómicos, S. L., Paterna, Valencia

Congresos, publicaciones e I+D:
Laura Mifsud i Elena. Hospital Quirónsalud, Valencia
Beatriz González López de Bustamante. Clínica Nida, Vigo, Pontevedra
Yosu Franco Iriarte. Hospital Ruber Internacional, Madrid

Tecnología de la información y comunicación:
Abel Gayo Lana. Clínica Ergo, Gijón
Enrique Olaya Vila. VITA Medicina Reproductiva, Elche, Alicante

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

PUBLICIDAD Y COLABORACIONES
Secretaría ASEBIR
C/ Cronos 20, Edificio 4, 1.º, 6.ª
28037 Madrid - Tfno.: 91 367 89 94
www.asebir.com · asebir@asebir.com

DISEÑO Y MAQUETACIÓN
Take it Easy Comunicación
Paseo Ruiseñores, 9, 50006 Zaragoza
tiecomunicacion.es · **comunicacion@tiecomunicacion.es**
Tfno.: 876 64 29 97

Depósito legal: M-18873-1996 | ISSN: 1136-4424
Soporte válido: 78-R-CM

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

BIENVENIDA

XII CONGRESO ASEBIR

Estimados colegas y amigos,

Os presentamos el XII Congreso de la Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción que celebramos del 15 al 17 de noviembre de 2023 en Palma.

Los Comités Local, Científico y la Vocalía de Congresos de ASEBIR han trabajado con entusiasmo para continuar con el legado de anteriores ediciones y poder ofreceros un programa de alto nivel y calidad científica, que abordan temas de actualidad que atañen a nuestra profesión. Además, este Congreso cobra una especial relevancia puesto que coincide con el 30 aniversario de ASEBIR. Un buen momento para celebrar el camino andado hasta ahora y coger impulso para abordar con éxito los retos futuros de nuestra profesión.

Os esperamos con la ilusión y el deseo de hacer que la estancia en Palma sea lo más agradable y provechosa posible. Capital de Mallorca y considerada la "perla del Mediterráneo", Palma ofrece una combinación de paisaje, arquitectura, servicios y, al mismo tiempo, tranquilidad y belleza interior, que os va a recibir, sin duda, con los brazos abiertos. Y recordad, no se trata sólo de asistir, sino también de participar activamente en un Congreso (que es el vuestro), donde vamos a poder volver a compartir comunicaciones, trabajos y experiencias profesionales (sin olvidarnos de algunas cervezas).

En la web y la App del Congreso encontraréis toda la información relativa al evento y la ciudad que lo acoge. También encontraréis información sobre las empresas e instituciones que nos están apoyando y mostrando su disposición para conseguir, un año más, el éxito de nuestro evento estrella.

Por cierto, no dejéis de asistir a la Asamblea, donde se van a debatir aspectos importantes de nuestra actividad profesional.

Os esperamos en Palma con los brazos abiertos.
¡Hasta pronto!

Antonio Urries López
Presidente de ASEBIR

Rafael Trinchant
Presidente del XII Congreso ASEBIR

XII CONGRESO ASEBIR

INFORMACIÓN

FECHAS
15, 16 y 17 de noviembre de 2023

SEDE
Palau de Congressos de Palma (Carrer de Felicià Fuster, 2, 07006 Palma, Illes Balears)

WEB
www.congresoasebir.es

CRÉDITOS

La Comisión Permanente de Formación Continua de las Profesiones Sanitarias de las Islas Baleares ha emitido dictamen favorable de acreditación del XII CONGRESO ASEBIR PALMA 2023 (Expediente 04-0024-45/0001-C) y ha decidido otorgar, a dicha actividad, 0,8 créditos.

AUSPICIOS

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

SECRETARÍA TÉCNICA

GRUPO PROCESS, Betaprocess, S. L.
C/ Cronos, 20, Bloque 4, 1.º, 6.ª
Madrid 28037
Telf.: +34 91 377 14 23
E-mail: info@congresoasebir.es
inscripciones@congresoasebir.es

COMITÉS

COMITÉ DE HONOR

> Excmo. Sr. D. José Manuel Miñones Conde. Ministro de Sanidad.
> Excma. Dra. Dª. Manuela García Romero. Consejera de Salud del Gobierno de las Illes Balears.
> Excmo. Sr. D. Jaime Martínez Llabrés. Alcalde de Palma.
> Excmo. y Magfco. Dr. Jaume Jesús Carot Giner. Rector de la Universidad de las Islas Baleares.

COMITÉ ORGANIZADOR LOCAL

Presidente
Rafael Trinchant, IVI MALLORCA, Palma de Mallorca.

Vocales
> Elisa Álvarez Socias, INSTITUTO BERNABÉU MALLORCA, Palma de Mallorca.
> Raquel Barragán Salagre, HOSPITAL UNIVERSITARI SON ESPASES, Palma de Mallorca.
> Margalida Febrer Castell, INSTITUTO BERNABÉU MALLORCA, Palma de Mallorca.
> Felipe Gallego Terris, JUANEDA FERTILITY CENTER MALLORCA, Palma de Mallorca.
> Baltasar Gornals Solér, HOSPITAL UNIVERSITARI SON LLÀTZER, Palma de Mallorca.
> Mark Grossmann i Camps, BARCELONA IVF, Barcelona.
> Laura Mifsud i Elena, GINEFIV BARCELONA, Barcelona.
> Neus Moranta Perello, IVI MALLORCA, Palma de Mallorca.
> Guillermo Ríos Villalobos, CEFIVBA, Palma de Mallorca.
> M.ª Paula Sánchez-Cabezudo Chatruc, HOSPITAL UNIVERSITARI SON LLÀTZER, Palma de Mallorca.

COMITÉ CIENTÍFICO

Presidente
Rafael Trinchant, IVI MALLORCA, Palma de Mallorca.

Vocales
> Nuno Costa Borges, EMBRYOTOOLS, Barcelona.
> Irene Cuevas Saiz, HOSPITAL GENERAL UNIVERSITARIO, Valencia.
> María Fernández Díaz, CLÍNICA ERGO, Gijón.
> Minerva Ferrer Buitrago, CREA, Valencia.
> José Luis Girela López, UNIVERSIDAD DE ALICANTE, Alicante.
> Beatriz González López de Bustamante, CLÍNICA NIDA, Vigo, Pontevedra.
> Miriam Iglesias Núñez, HOSPITAL QUIRÓNSALUD, Madrid.
> Pere Mir Pardo, IGENOMIX, Valencia.
> Amaia Múgica de la Iglesia, IVI MALLORCA, Palma de Mallorca.
> José Muñoz Ramírez, NEXT FERTILITY MADRID, Madrid.
> Miquel Solé Inarejos, INSTITUT UNIVERSITARI DEXEUS, Barcelona.
> Silvia Tabar Roquet, CLÍNICA FERTTY, Barcelona.
> José Teruel López, EQUIPO MÉDICO CRESPO, Valencia.
> Antonio Urries López, HOSPITAL QUIRÓNSALUD ZARAGOZA, Zaragoza.
> Rita Vassena, CLÍNICA EUGIN BARCELONA, Barcelona

PROGRAMA CIENTÍFICO

MIÉRCOLES 15 DE NOVIEMBRE

10:30 – 11:30h. INAUGURACIÓN. A cargo de Antonio Urries López, presidente de ASEBIR; Rafael Trinchant, presidente del Congreso, y Autoridades

11:30 – 12:05h. PONENCIA 1 - Caracterización metabólica no invasiva de ovocitos y embriones basado en microscopia hiperespectral e inteligencia artificial
Moderadores: Minerva Ferrer Buitrago, CREA, Valencia, y Felipe Gallego Terris, Juaneda Fertility Center Mallorca, Palma
Ponente: Samuel Ojosnegros Martos, Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC), Barcelona

12:10 – 12:45h. PONENCIA 2 - Dudas y controversias en reproducción asistida
Moderadores: José Muñoz Ramírez, Next Fertility Madrid, Madrid, y Paula Sánchez-Cabezudo Chatruc, Hospital Universitari Son Llàtzer, Palma
Ponente: Fernando Abellán-García Sánchez, Derecho Sanitario Asesores, Madrid

12:50 – 13:25h. PONENCIA 3 - Embryo selection based on polygenic disease risk: epidemiological and clinical considerations
Moderadores: Pere Mire Pardo, Igenomix, Valencia, y Rita Vassena, Fecundis Lab, Barcelona
Ponente: Shai Carmi, Hebrew University of Jerusalem, Israel

13:30 – 14:45h. COMIDA

14:45 – 15:20h. PONENCIA 4 - Blastocyst culture at D6 and D7 and its clinical significance
Moderadores: Irene Cuevas Saiz, Hospital General Universitario de Valencia, Valencia, y Guillermo Ríos Villalobos, CeFIVBA, Palma
Ponente: Danilo Cimadomo, GeneraLife IVF, Roma, Italia

15:20 – 17:00h. COMUNICACIONES ORALES - Variables de impacto sobre el desarrollo embrionario *in vitro*
Moderadores: Amaia Múgica de la Iglesia, IVI Mallorca, Palma, y Laura Mifsud i Elena, Ginefiv Barcelona, Barcelona

CO-001 - ¿ES EL MOMENTO DE REEVALUAR EL POTENCIAL DE LOS OVOCITOS INMADUROS?
Cristina García Vega, M Florensa Bargalló, A Ballesteros Boluda, M Esbert Algam
IVIRMA Barcelona – Barcelona (Barcelona)

CO-002 - EL VALOR CLÍNICO DE LOS OVOCITOS MI RESCATADOS. ANÁLISIS RETROSPECTIVO DE 625 OVOCITOS MI FRENTE A 2124 OVOCITOS MII HERMANOS OBTENIDOS EN 285 CICLOS DE ICSI DE DONANTE FRESCO.
Vicente Badajoz Liébana[1], D Cimadomo[2], C Urda Muñoz[1], R Maggiulli[2], J Gijón de la Santa[1], G Coticchio[3], L Rienzi[2], JM Llácer Aparicio[1]
[1]Ginefiv GeneraLife IVF – Madrid (Madrid), [2]Clinica Valle Giulia GeneraLife IVF – Roma (Roma), [3]9.Baby GeneraLife IVF – Bologna (Bologna)

CO-003 - ¿QUÉ IMPACTO TIENEN EN EL EMBRIÓN LAS CÉLULAS QUE NO FORMAN PARTE DE LA MÓRULA?
Ana Andreu Almarcha, KY Rodríguez Trujillo, C Olmedo Illueca, M Barea Gómez, S Royo Bolea, I Cuevas Saiz
Hospital General Universitario de Valencia – Valencia (Valencia)

CO-004 - ¿CULTIVAR EN MEDIO SECUENCIAL O EN MEDIO ÚNICO TIENE ALGÚN IMPACTO EN LA TASA DE NACIDO VIVO?

María Carme Pons Gatell[1], B Carrasco Canal[1], N Rives Enedáguila[2], A Delgado Mendive[3], A Martínez Moro[4], I Cuevas Saiz[5], O Cairó Doncos[6]
[1]Institut Universitari Dexeus – Barcelona (Barcelona), [2]Barcelona IVF – Barcelona (Barcelona), [3]IVI Valencia – Valencia (Valencia), [4]IVF Spain – Madrid (Madrid), [5]Hospital General Universitario – Valencia (Valencia), [6]CIRH – Barcelona (Barcelona)

CO-005 - EVALUACIÓN DE LA TASA DE NACIDO VIVO EN EMBRIONES CON CINÉTICA RÁPIDA: ESTUDIO MULTICÉNTRICO OBSERVACIONAL Y TRANSVERSAL

Enric Güell Penas[1], E Ferrer i Robles[2], V Antequera Durán[2], N Pérez Gallés[3], S González García[3], MJ López Rubira[4], P Nieto Olmedo[5], E Suárez Álvarez[6], A Mauri López[1], JI Mazzanti Pérez[1]
[1]Centre Procrear – Reus (Tarragona), [2]CREA. Medicina de la Reproducción – Valencia (Valencia), [3]Instituto de Reproducción CEFER – Barcelona (Barcelona), [4]IRAGA – Santiago de Compostela (Galicia), [5]UR CEFIVA – Oviedo (Asturias), [6]Centro Ginecológico de León – León (León)

CO-006 - LOS PARÁMETROS SEMINALES ALTERADOS COMPROMETEN LA MORFOCINÉTICA EMBRIONARIA EN CICLOS DE DONACIÓN DE OVOCITOS, PERO NO LOS RESULTADOS CLÍNICOS

Marco Petrolo[1], F Zambelli[1], I Miguel Escalada[2], MJ Zamora Berlanga[2], A Rodríguez Aranda[1], R Vassena[3], M Popovic[1]
[1]Eugin Group – Barcelona (Barcelona), [2]Clínica Eugin – Barcelona (Barcelona), [3]Fecundis Lab – Barcelona (Barcelona)

CO-007 - IMPLICACIÓN DE LAS DISTINTAS TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE FRAGMENTACIÓN DE ADN ESPERMÁTICO EN LA CALIDAD SEMINAL Y RESULTADOS REPRODUCTIVOS

Sara Herrero Fernández[1], L Sánchez Sánchez-Mellado[2], A Molinero Ballesteros[2], S Rubio García[2], M Díaz Gómez[2], M Salguero Fernández[2], M Lázaro López[2], A Pacheco Castro[3]
[1]U. Autónoma de Madrid – Madrid (Madrid), [2]IVIRMA Global Research Alliance, IVIRMA Madrid – Madrid (Madrid), [3]IVIRMA Global Research Alliance, IVIRMA Madrid; Universidad Alfonso X el Sabio – Madrid (Madrid)

CO-008 - EFECTO DEL DISPOSITIVO DE SELECCIÓN ESPERMÁTICA ZYMOT EN VARIABLES SEMINALES Y DESARROLLO EMBRIONARIO

María Luisa Pardiñas García[1], D Ortega Jaén[1], A Martín Bastida[1], JM De los Santos Molina[2], R Rivera Egea[2], J Gil Gramaje[1], T Viloria Samochín[2], MJ De los Santos Molina[2]
[1]Fundación IVI – Valencia (Valencia), [2]IVIRMA – Valencia (Valencia)

CO-009 - ALUMINIO Y VANADIO EN SEMEN. INFLUENCIA EN LA FERTILIZACIÓN Y CALIDAD EMBRIONARIA

Rebeca Vaca Sánchez[1], R Blanes Zamora[1], S Rodríguez Fiestas[1], J González Pérez[1], C Concepción Lorenzo[1], J Gómez Rodríguez[2], R Rodríguez Díaz[3], S Paz Montelongo[4], A Hardisson de la Torre[4], E González Dávila[5]
[1]URH del HUC – La Cuesta. La Laguna (Tenerife), [2]Universidad de La Laguna ULL – La Cuesta. La Laguna (Tenerife), [3]HUC y Dep. Obst. y Ginec. ULL – La Cuesta. La Laguna (Tenerife), [4]Dep. Toxicología ULL – La Cuesta. La Laguna (Tenerife), [5]Dep. Matemáticas y Estadística ULL – La Cuesta. La Laguna (Tenerife)

CO-010 - ¿EN QUÉ MEDIDA EL TIPO Y LA CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNA AFECTAN A LA SENSIBILIDAD DE LOS ENSAYOS CON EMBRIONES DE RATÓN (MEA) PARA LA DETECCIÓN DE TOXICIDAD EN MEDIOS DE CULTIVO?

Albert Martínez Casado, E Mestres Gonzalvo, A Casals Acien, M Acacio Espinosa, A Villamar Marín, Q Matia Algué, A Franco Roig, C Castelló Zupanc, G Calderón de Oya, N Costa Borges
Embryotools, S. L. – Barcelona (Barcelona)

PROGRAMA CIENTÍFICO

17:00 – 17:30h. CAFÉ

17:30 – 18:15h. SIMPOSIO GRUPO EMB
Nuevas herramientas no invasivas para la selección embrionaria
Moderadores: Nasser Al-Asmar, director científico Igenomix Academy, Vitrolife Group y Guillermo Ríos Villalobos, CeFIVBA, Palma

Evolución de la selección embrionaria hacia la completa automatización; iDASCORE V.2
Ponente: Dr. Marcos Meseguer, supervisor científico-embriólogo sénior IVIRMA Valencia. Investigador IIS La Fe-Valencia

Estudio de aneuploidías embrionarias mediante el análisis del ADN libre embrionario: retos y desafíos.
Ponente: Dra. Carmen Rubio, directora R&D Igenomix. Vitrolife Group

18:15 – 18:50h. PONENCIA 5 - Uso de úteros artificiales
Moderadores: Nuno Costa Borges, Embryotools, Barcelona, y Paula Sánchez-Cabezudo Chatruc, Hospital Universitari Son Llàtzer, Palma
Ponente: Francisco Marco Jiménez, Universitat Politècnica de València, Valencia

19:00h. CÓCTEL INAUGURAL

JUEVES 16 DE NOVIEMBRE

08:30 – 09:05h. PONENCIA 6 - Implicaciones epigenéticas de las técnicas de criopreservación con posibles efectos a largo plazo
Moderadores: Silvia Tabar Roquet, Clínica FERTTY, Barcelona, y Mark Grossmann i Camps, Barcelona IVF, Barcelona
Ponente: Arturo Reyes Palomares, Karolinksa Institutet, Solna, Suecia

09:05 – 09:40h. MESA REDONDA 1 - Use of vitrified oocytes in oocyte donation cycles: efficiency, efficacy and other factors affecting the success of the technique
Moderadores. Miguel Gallardo Molina, Ginemed Lisboa, Lisboa, Portugal, y Miquel Solé Inarejos, Institut Universitari DEXEUS, Barcelona
Ponentes: Rita Vassena, Fecundis Lab, Barcelona, y Roberta Maggiulli, GeneraLife IVF, Roma, Italia

09:40 – 11:00h. COMUNICACIONES ORALES - Ómicas: genes, transcritos y proteínas
Moderadores: Irene Cuevas Saiz, Hospital General Universitario de Valencia, Valencia, y Raquel Barragán Salagre, Hospital Universitari Son Espases, Palma

CO-011 - THE EARLY TRANSCRIPTIONAL RESPONSE OF THE ENDOMETRIAL EPITHELIUM TO BLASTOCYST APPOSITION
Gustavo Tiscornia Palacios[1], A Almansa[1], F Zambelli[1], M Popovic[1], A Rodríguez Aranda[1], J Santalo[2], R Vassena[3]
[1]Euvitro – Barcelona (Catalunya), [2]Universitat Autònoma Barcelona – Bellaterra (Catalunya), [3]Fecundis Lab – Barcelona (Barcelona)

CO-012 - DETERMINACIÓN DEL PERFIL PROTEÓMICO DE BLASTOCISTOS VITRIFICADOS MEDIANTE ANÁLISIS NO INVASIVO DEL MEDIO DE CULTIVO PARA LA PREDICCIÓN DE EMBARAZO EVOLUTIVO
Laura Conversa Martínez[1], C Giménez Rodríguez[1], L Bori Arnal[1], MA Valera Cerdá[1], L Murria Aguilar[1], A Cobo Cabal[2], M Meseguer Escrivá[2]
[1]Fundación IVI, IIS La Fe – Valencia (Valencia), [2]IVI Valencia – Valencia (Valencia)

CO-013 - EL CRIBADO GENÉTICO DE LOS GENES MASCULINOS PLCZ1, ACTL7A Y ACTL9 REPRESENTA UNA PRUEBA DE DIAGNÓSTICO RÁPIDA Y EFICAZ EN PACIENTES CON FALLOS DE FECUNDACIÓN DESPUÉS DE ICSI

Arantxa Cardona Barberán, A Boel, C Colenbier, E Van der Velden, D Stoop, P Coucke, F Vanden Meerschaut, B Heindryckx
Universidad de Gante – Gante (Flandes, Bélgica)

CO-014 - SINGLE-CELL ANALYSIS REVEALS THE PROTEOMIC BASIS OF AGE-RELATED QUALITY DECLINE IN HUMAN OOCYTES

Styliani Galatidou[1], A Petelski[2], L Sabater Rovira[3], A Pujol Masana[4], K Lattes Altamirano[4], M Popovic[1], R Vassena[5], N Slavov[2], M Barragan Monasterio[1]
[1]EUGIN Group – Barcelona (Barcelona), [2]Department of Bioengineering, Single Cell Proteomics Center, and Barnett Institute, Northeastern University – Boston (MA, 02115, USA), [3]Clínica EUGIN – Barcelona (Barcelona), [4]CIRH – Barcelona (Barcelona), [5]Fecundis Lab – Barcelona (Barcelona)

CO-015 - THE EFFECTS OF HEK293T-DERIVED EXOSOMES ON BOAR SPERM MOTILITY AND GENE EXPRESSION

Montserrat Vallet Buisán, O Bathurst, C Jones, K Coward
University of Oxford – Oxford (Oxfordshire)

CO-016 - EL GEN DNMT3 SE ENCUENTRA ASOCIADO A UN INCREMENTO EN LAS ANEUPLOIDÍAS ESPERMÁTICAS

Almudena Marco Llopis, B Lledó Bosch, JA Ortiz Salcedo, R Morales Sabater, A Fabregat Reolid, F Lozano García, M Hortal Foronda, A Bernabéu García, R Bernabéu Pérez
Instituto Bernabéu – Alicante (Alicante)

CO-017 - DOS VARIANTES HETEROCIGOTAS TRUNCADAS DE SPATA16 PRODUCEN UN DEFECTO EN LA ESPERMATOGÉNESIS INDUCIENDO LA INFERTILIDAD MASCULINA

Paula Cots Rodríguez[1], P Sòria Monzó[1], P Sáez Espinosa[2], V Penacho[3], LA Alcaraz[3], J Ballesta[1], MJ Gómez Torres[2], JA Sánchez[4], M Avilés[1]
[1]Universidad de Murcia – Murcia (Murcia), [2]Universidad de Alicante – Alicante (Alicante), [3]Bioarray – Alicante (Alicante), [4]IMFER Fertilidad – Murcia (Murcia)

CO-018 - RELACIÓN ENTRE LOS ARN TELOMÉRICOS Y LA CALIDAD DE LOS ESPERMATOZOIDES: UN POSIBLE BIOMARCADOR PARA LA INFERTILIDAD MASCULINA

Isabel Cuadrado Torroglosa[1], I Córdova Oriz[1], C Losada[2], M Díaz Gómez[2], A Molinero Ballesteros[2], A Pacheco[2], JA García Velasco[3], E Varela[4], C Balmori[5]
[1]Fundación IVI-IIS La Fe – Madrid (Madrid), [2]IVI-RMA Madrid – Madrid (Madrid), [3]Fundación IVI-IIS La Fe, IVI-RMA Madrid, URJC – Madrid (Madrid), [4]Fundación IVI-IIS La Fe, URJC – Madrid (Madrid), [5]IVI-RMA Madrid, URJC – Madrid (Madrid)

11:00 – 11:30h. CAFÉ

11:30 – 12:05h. PONENCIA 7 - Testicular organoids as model for *in vitro* spermatogenesis

Moderadores: José Luis Girela López, Universidad de Alicante, Alicante, y Neus Moranta Perelló, IVI Mallorca, Palma

Ponente: Ellen Goossens, Vrije Universiteit Brussel (VUB), Brussels, Belgium

12:05 – 13:30h. COMUNICACIONES ORALES - Andrología: el espermatozoide y su selección

Moderadores: José Luis Girela López, Universidad de Alicante, Alicante, y Neus Moranta Perelló, IVI Mallorca, Palma

PROGRAMA CIENTÍFICO

CO-019 - DIFUSIÓN DEL INTERCAMBIADOR NA+/H+ (NHE-11) EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS TRAS LA INDUCCIÓN DE LA REACCIÓN ACROSÓMICA

Paula Sáez Espinosa[1], M Hernández Falcó[1], A López Botella[1], M Avilés[2], MJ Gómez Torres[1]
[1]Universidad de Alicante – Alicante (Alicante), [2]Universidad de Murcia – Murcia (Murcia)

CO-020 - HUMAN SPERMATOZOA BIND SPECIFICALLY TO 3D-MODEL GENERATED BY MAGNETIC BEADS COATED WITH RECOMBINANT JUNO PROTEIN

Paula Cots Rodríguez[1], JS Girela[2], M Jiménez Movilla[1]
[1]Universidad de Murcia – Murcia (Murcia), [2]Universidad de Alicante – Alicante (Alicante)

CO-021 - PRESENCIA Y DISTRIBUCIÓN DE LA PROTEÍNA IZUMO1 EN LOS ESPERMATOZOIDES HUMANOS MEDIANTE EL USO DE MICROSCOPÍA DE ALTA RESOLUCIÓN (FE-SEM)

José Luis, Girela Lopez[1], A Nazar[1], L Gomariz Martínez[1], P Cots Rodríguez[2], M Jiménez Movilla[2]
[1]Dpto. Biotecnología. Universidad de Alicante – Alicante (Alicante), [2]Dpto. Biología Celular e Histología, Facultad de Medicina, Universidad de Murcia, Campus Mare Nostrum y IMIB-Arrixaca – Murcia (Murcia)

CO-022 - ¿HA LLEGADO LA MICROFLUÍDICA PARA QUEDARSE? RESULTADOS EN CICLOS DE DONACIÓN DE OVOCITOS

Ana Munuera Puigvert, V Montalvo Pallès, F García José, B Marqués López-Teijón, M López-Teijón
Institut Marquès – Barcelona (Barcelona)

CO-023 - *SWIM UP VS.* MICROFLUIDOS (ZYMÖT), EL FUTURO DE LA SELECCIÓN ESPERMÁTICA EN LA RUTINA DEL LABORATORIO DE FIV

Ismael Vilella Amorós, Ll Medrano López-Tello, Y Galiana Briones, A García Sifre, A Parrela, J Aizpurua Sáenz
IVF SPAIN – Alicante (Alicante)

CO-024 - MICROFLUIDOS *IN SITU* DE PAREDES FLUIDAS: SIMPLIFICACIÓN DE LA SELECCIÓN ESPERMÁTICA PARA ICSI CON UN NUEVO MÉTODO COSTE-EFECTIVO, LIBRE DE MATERIAL FUNGIBLE ADICIONAL Y EN LA MISMA PLACA DE MICROINYECCIÓN

Miguel Ruiz Jorro, JJ Bataller Sánchez, A Barberá Alberola, B Gómez Giménez, V Moliner Aguilar, C Calatayud Lliso, M Ferrer Buitrago
CREA Medicina de la Reproducción – Valencia (Valencia)

CO-025 - EVALUACIÓN DE UNA PLACA DE SELECCIÓN ESPERMÁTICA MEDIANTE CÉLULAS DE LA GRANULOSA PARA LA OBTENCIÓN DE ESPERMATOZOIDES CON BAJO ÍNDICE DE FRAGMENTACIÓN DE SU ADN

Jorge Ten Morro[1], L Martí Ferri[1], J Gosálvez[2], C López-Fernández[2], M Herreros Hergueta[1], N Díaz Hernández[1], A Bernabéu García[1], R Bernabéu Pérez[1]
[1]Instituto Bernabéu – Alicante (Alicante), [2]Universidad Autónoma de Madrid – Madrid (Madrid)

CO-026 - EFECTO DE LA INFECCIÓN POR COVID-19 EN LA CALIDAD DE SEMEN Y TIEMPO DE RECUPERACIÓN EN VARONES INFECTADOS CON COVID-19

Rocío Núñez Calonge[1], JA Guijarro Ponce[2], T Rubio Asensio[3], P Alberola Cerdán[4], G Fernández[5], N Santamaría Mollá[6], S Alonso de Mena[7], I Barros Gata[8]
[1]Grupo UR Internacional – Madrid (Madrid), [2]Zaida Espacio de Salud – Cuenca (Cuenca), [3]Unidad de Reproducción Hospital HLA La Vega – Murcia (Murcia), [4]UR Moncloa – Madrid (Madrid), [5]UR Managua – Managua (Nicaragua), [6]Hospital UR Mediterráneo – Almería (Almería), [7]Hospital UR El Ángel – Málaga (Málaga), [8]UR CEFIVA – Oviedo (Oviedo)

13:30 – 14:45h. COMIDA

14:45 – 15:30h. SIMPOSIO SISTEMAS GENÓMICOS - Desenmascarando el cribado genético de portadores
Moderadora: Marian Riembau i Rosich, International Business Development Europe & CEMEA y Margalida Febrer Castell, Instituto Bernabéu Mallorca, Palma
Ponente: Xavier Vendrell, responsable de la Unidad de Genética Reproductiva, Sistemas Genómicos

15:30 – 16:05h. PONENCIA 8 - Embriones almacenados sin fines reproductivos: investigación y otros destinos
Moderadores: Minerva Ferrer Buitrago, CREA, Valencia, y Raquel Barragán Salagre, Hospital Universitari Son Espases, Palma
Ponente: Leonor Ortega López. Vida Fertility Institute, Madrid

16:05 – 16:50h. SIMPOSIO GENEA BIOMEDX - Avanzando hacia el futuro: Genea Biomedx y la revolución en la FIV
Moderadoras: Sara Leiva Alfaro, Global Embryologist Manager, Genea Biomedx y Laura Mifsud i Elena, Ginefiv Barcelona, Barcelona
Ponentes:

- Marcos Meseguer. Embriólogo sénior y supervisor científico, IVI Valencia
- Josu Franco. Director de laboratorio, Hospital Ruber Internacional, Madrid
- Eugenia Rocafort. Coordinadora del Laboratorio de FIV de Fertility Barcelona (unidad de reproducción asistida del Hospital Quirónsalud de Barcelona)
- Daniela Gilboa. Cofundadora & CEO, AIVF

17:00 – 17:30h. CAFÉ

17:30 – 18:50h. COMUNICACIONES ORALES
PGT: Tecnología y Resultados
Moderadores: María Fernández Díaz, Clínica ERGO, Gijón, y Baltasar Gornals Soler, Hospital Universitari Son Llàtzer, Palma

CO-027 - IMPLICIT BIAS IN DIAGNOSING MOSAICISM AMONGST PREIMPLANTATION GENETIC TESTING PROVIDERS: RESULTS FROM A LARGE MULTICENTER ANALYSIS OF 36395 BLASTOCYSTS
Mina Popovic[1], A Lorenzon[2], D Sakkas[3], B Lledó[4], M Parriego[5], M Galain[6], A Pujol Masana[7], D Stoop[8], E Pérez de la Blanca[9], R Vassena[10]
[1]EUGIN Group – Barcelona (Barcelona), [2]Huntington Medicina Reprodutiva – Eugin Group – São Paulo (Brazil), [3]Boston IVF – Eugin Group – Boston (USA), [4]Instituto Bernabéu – Alicante (Alicante), [5]Clínica Dexeus Mujer, Dexeus University Hospital – Barcelona (Barcelona), [6]Cegyr – Medicina y Genética Reproductiva – Eugin Group – Buenos Aires (Argentina), [7]CIRH – Eugin Group – Barcelona (Barcelona), [8]Department of Reproductive Medicine, Ghent University Hospital – Ghent (Belgium), [9]Unidad de Reproducción Asistida, Hospital Quirónsalud Málaga – Málaga (Andalucía), [10]Fecundis Lab – Barcelona (Barcelona)

CO-028 - BENEFICIO Y SEGURIDAD DE LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES MOSAICO
Ruth Morales Sabater, B Lledó Bosch, JA Ortiz Salcedo, L Arenas Vicent, J Ten Morro, A Bernabéu García, R Bernabéu Pérez
Instituto Bernabéu – Alicante (Alicante)

CO-029 - ¿QUÉ ESPERAR TRAS LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES MOSAICO? SEGUIMIENTO EN UNA COHORTE DE 53 EMBRIONES
Diana Campos Rodero[1], R Noró Pi[1], E García Guixé[1], Á Gómez Duro[2], E Toro Toro[1], E Fernández García[2], C Giménez Sevilla[1], M Sandalinas Alabert[1]
[1]DiNA Science – Barcelona (Barcelona), [2] DiNA Science - Madrid (Madrid)

PROGRAMA CIENTÍFICO

CO-030 - ¿HAY LUGAR PARA LA FIV CONVENCIONAL EN EL PGT?
Beatriz Vieira Araújo, S Xavier, I Reis, A Martíns, R Leite, J Faria, M Pinho, A Neto, A Póvoa, L Calejo
Centro Hospitalar Univers – Porto (Porto, Portugal)

CO-031 - POTENCIAL DE LA NGS EN EL PRONÓSTICO DE LOS RESULTADOS DE LOS CICLOS DE TRA EN PACIENTES CON TERATOZOOSPERMIA
Ana Pay García, A Turienzo Díez, E García Hernández, JA Ortiz Salcedo, B Lledó Bosch, R Morales Sabater, A Bernabéu García, R Bernabéu Pérez
Instituto Bernabéu – Alicante (Alicante)

CO-032 - TARGETED NGS APPLIED TO PREIMPLANTATION GENETIC TESTING TO INCREASE DIAGNOSTIC YIELD AND ACCURACY
E Fernández Marcos[1], C Marín Vallejo[1], L Picchetta[2], C García Pascual[1], X Tao[3], Y Zhan[3], C Jalas[3], A Capalbo[2]
[1]Juno Genetics – Valencia (Spain), [2]Juno Genetics Italy – Rome (Italy), [3]Juno Genetic US – New Jersey (US)

CO-033 - COMPARACIÓN DE PARÁMETROS DE LABORATORIO, EUPLOIDÍA Y GESTACIÓN DE EMBRIONES PROCEDENTES DE DOBLE ESTIMULACIÓN (FASE FOLICULAR *VERSUS* FASE LÚTEA)
Beatriz Boyano Rodríguez[1], L Herrero Grassa[1], L Cascales Romero[1], M Aparicio González[1], JA Ortiz Salcedo[2], J Ten Morro[3], A Bernabéu García[3], R Bernabéu Pérez[3]
[1]Instituto Bernabéu Madrid – Madrid (Madrid), [2]Instituto Bernabéu Biotech – Alicante (Alicante), [3]Instituto Bernabéu Alicante – Alicante (Alicante)

CO-034 - TOWARD THE GENERATION OF HAPLOID OOCYTES BY SOMATIC CELL NUCLEAR TRANSFER (SCNT)
Nuria Martí Gutiérrez, A Mikhalchenko, D Frana, C Van Dyken, Y L, A Koski, P Amato, S Mitalipov
OHSU – Portland (OR, USA)

21:00h. CENA Y ENTREGA del PREMIO ASEBIR AL MEJOR PÓSTER 2023 y PREMIO A LA INNOVACIÓN GENEA BIOMEDX / ASEBIR 2023

VIERNES 17 DE NOVIEMBRE

08:30 – 09:05h. PONENCIA 9 - Estrategias no invasivas para PGT-A
Moderadores: Pere Mir Pardo, Igenomix, Valencia, y Elisa Álvarez Socias, Instituto Bernabéu Mallorca, Palma
Ponente: Marcos Meseguer Escrivá, IVIRMA, Valencia

09:05 – 10:25h. COMUNICACIONES ORALES - Avances en *time-lapse* e inteligencia artificial
Moderadores: José Teruel López, Equipo Médico Crespo, Valencia, y Felipe Gallego Terris, Juaneda Fertility Center Mallorca, Palma

CO-035 - USO DE LA INTELIGENCIA ARTIFICIAL PARA PREDECIR EL EMBARAZO CLÍNICO EN CICLOS CON BLASTOCISTOS VITRIFICADOS
Aila Coello Perles, A Cobo Cabal, L Bori Arnal, L Conversa Martínez, M Nohales Córcoles, M Meseguer Escrivá
IVI – Valencia (Valencia)

CO-036 - ANÁLISIS SOBRE EL TIEMPO DE DESAPARICIÓN DE PRONÚCLEOS Y EL DESTINO EMBRIONARIO EN CICLOS DE DIAGNÓSTICO GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL

Silvia García Monclús, N Moya Rodríguez, E Lancharro Muñoz, M Soriano Moya, I Vanrell Barbat, S Sanfeliu Capdevila, A Polo Ramos, O Martínez Pasarell
Fundació Puigvert – Barcelona (Barcelona)

CO-037 - EVALUACIÓN EMBRIONARIA AUTOMÁTICA CON *DEEP LEARNING*: VALIDACIÓN EXTERNA Y PLANTILLA DE IMPLANTACIÓN ESPERADA EN DISTINTOS TIPOS DE TRATAMIENTO.

Lorena Bori Arnal[1], C Giménez Rodríguez[1], MA Valera Cerdá[1], F Meseguer Estornell[2], A Delgado Mendibe[2], M Meseguer Escrivá[3]
[1]IVI Foundation, Institut – Valencia (Valencia), [2]IVIRMA Valencia – Valencia (Valencia), [3]IVIRMA Valencia; IVI Foundation, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe (IIS La Fe), IVIRMA Valencia – Valencia (Valencia)

CO-038 - OOCYTE IMAGE ANALYSIS ARTIFICIAL INTELLIGENCE TOOL, MAGENTA, VALIDATED ON BOTH EMBRYOSCOPE AND GERI *Time-lapse* SYSTEMS

María Isabel Puerta Vega, N Siddique, N Mercuri, W Qi, J Fjeldstad
Future Fertility – Ontario (Canadá)

CO-039 - METABOLIC TIMELAPSE REVEALS THAT AN IMPAIRED MITOCHONDRIAL METABOLISM CONTRIBUTES TO REDUCE THE OOCYTE MATURATION RATES IN WOMEN OF ADVANCED MATERNAL AGE

Sara Pietroforte[1], M Martíns[2], E Ibáñez[3], M Popovic[1], R Vassena[5], T Sanchez[4], D Sakkas[2], F Zambelli[1]
[1]Eugin Group – Barcelona (Barcelona), [2]Boston IVF – Eugin Group – Waltham (MA, USA), [3]Department of Cell Biology, Physiology and Immunology – Universitat Autònoma de Barcelona – Barcelona (Barcelona), [4]OPTIVA – Boston (MA, USA), [5]Fecundis Lab – Barcelona (Barcelona)

CO-040 - NOVEL DEVELOPMENTAL PARAMETERS IMPROVE EMBRYO EVALUATION SYSTEMS AND REACH PLOIDY PREDICTIVE VALUES COMPARABLE TO ARTIFICIAL INTELLIGENCE

Clara Serrano Novillo, L Uroz Brosa, C Márquez Guevara
Gravida – Barcelona (Barcelona)

CO-041 - ALGORITMO BASADO EN INTELIGENCIA ARTIFICIAL COMO HERRAMIENTA PARA DISMINUIR LA VARIABILIDAD INTERPERSONAL EN EL RECUENTO CELULAR DE LOS BLASTOCISTOS RESULTANTES DE ENSAYOS CON EMBRIONES DE RATÓN

Queralt Matia Algué, M Acacio Espinosa, E Mestres Gonzalvo, S Mas Sabatés, A Casals Acien, A Villamar Marín, A Martínez Casado, A Franco Roig, G Calderón de Oya, N Costa Borges
Embryotools – Barcelona (Barcelona)

CO-042 - CUANDO LA OPINIÓN DEL EMBRIÓLOGO Y UN MODELO BASADO EN INTELIGENCIA ARTIFICIAL DIFIEREN: ¿CÓMO TOMAR UNA DECISIÓN ADECUADA?

Marco Toschi[1], L Bori Arnal[2], F Meseguer Estornell[3], T Viloria Samochin[3], A Pellicer Martínez[1], M Meseguer Escrivá[3]
[1]IVIRMA Global Roma – Roma (Lazio), [2]IVIRMA Global – Valencia (Valencia), [3]IVIRMA Global – Valencia (Valencia)

10:25 – 11:00h. MESA REDONDA 2 - Optimization of embryo culture systems: Importance of minimizing environmental stressors via proper culture system setup and management

Moderadores: Miriam Iglesias Núñez, Hospital QuirónSalud Madrid, Madrid, y Amaia Múgica de la Iglesia, IVI Mallorca, Palma

Ponentes: Jason E. Swain, Colorado Center for Reproductive Medicine (CCRM), Colorado, USA y Gloria Calderón de Oya, Embryotools, Barcelona

11:00 – 11:30h. CAFÉ

11:30 – 12:15h. SIMPOSIO COOPERSURGICAL - Whats new in PGT
Moderadores: Francesco Acquadro, Genomics Business Development Director, CooperSurgical Fertility Solutions y Baltasar Gornals Soler, Hospital Universitari Son Llàtzer, Palma
Ponente: Tony Gordon, PhD Snr Director, Clinical Strategy and Market Development. CooperSurgical

12:15 – 12:50h. PONENCIA 10 - Estado de la cuestión de la maduración ovocitaria *in vitro* y rescate de vesícula germinal
Moderadores: Rita Vassena, Fecundis Lab, Barcelona, y Rafael Trinchant, IVI Mallorca, Palma
Ponente: María José Escribá Pérez, IVI Valencia, Valencia

12:50 – 13:35h. SIMPOSIO VREPRO - Importancia de los EMR para las clínicas de reproducción. Integraciones, estadísticas y centralización de servicios (BI, AI, Trazabilidad, Portales)
Moderadores: Santiago Ramal, CTO de NaturalSoft y Felipe Gallego Terris, Juaneda Fertility Center Mallorca, Palma
Ponente: Borja Renilla García, responsable de soporte y formación de VRepro, miembro del departamento de I+D de Naturalsoft para VRepro

13:40 – 15:00h. COMIDA

15:00 – 17:00h. ASAMBLEA GENERAL ORDINARIA SOCIOS ASEBIR

17:00 – 17:10h. RECONOCIMIENTO A LOS CENTROS CON LA CERTIFICACIÓN UNE 179007:2013
A cargo del presidente de ASEBIR, Antonio Urries López

17:10 – 17:20h. EXPOSICIÓN PREMIO EMB-ASEBIR 2021 - La fiabilidad del diagnóstico genético preimplantacional no invasivo (niPGT-A) no depende de la técnica de análisis genético
Moderadores: Antonio Urries López, presidente ASEBIR, y Rafael Trinchant, presidente del Congreso
Ponente: Belén Lledó Boch, Instituto Bernabéu, Alicante

17:20 – 17:30h. EXPOSICIÓN MEJOR PÓSTER 2023
Moderadores: Antonio Urries López, presidente ASEBIR y Rafael Trinchant, presidente del Congreso

17:30 – 18:00h. CLAUSURA

21:00h. CENA DE CLAUSURA y entrega del PREMIO EMB-ASEBIR 2023

QUEREMOS MOSTRAR NUESTRO AGRADECIMIENTO A LAS CASAS COMERCIALES SIN CUYA COLABORACIÓN NO SERÍA POSIBLE REALIZAR ESTE EVENTO.

PATROCINADORES

Genea BIOMEDX
emb grupo
CooperSurgical®

BIOARRAY Diagnóstico Genético
CARBUROS MEDICA Grupo Air Products
concile innovation meets diagnostics
CONTROLTECNICA
COOK MEDICAL
cryoport systems
DiNA science
eurofins Genoma
EVIDENT
Fairtility
fenomatch
FERRING PRODUCTOS FARMACEUTICOS
fertil ibérica
FUJIFILM IrvineScientific
FullGenomics
FutureFertility
GAMETIA BIOBANK
halotech DNA
Igenomix
ilitia
INNOVA CRYOBANK
JUNO GENETIC
KITAZATO Dibimed
MICROPTIC A HAMILTON THORNE COMPANY
OXX bank Europe egg bank
QUERMED
REFERENCE LABORATORY GENETICS
SISTEMAS GENÓMICOS A MEMBER OF SYNLAB
VITROMED Germany
VRepro
ZyMōt FERTILITY, INC.

PONENCIAS

PONENCIA 1

CARACTERIZACIÓN METABÓLICA NO INVASIVA DE OVOCITOS Y EMBRIONES BASADA EN MICROSCOPÍA HIPERESPECTRAL E INTELIGENCIA ARTIFICIAL

Samuel Ojosnegros[1], Albert Parra[1], Denitza Denkova[1], Xavier Burgos-Artizzu[2], Anna Seriola[1], Irene Oliver[3], Scott E Fraser[4], Hsiao Ju Chiang[4], Francesco Cutrale[4], Nuno Costa-Borges[5], Enric Mestres[5], Mònica Acacio[5], Gloria Calderón[5], Elena Rebollo[6], Montse Boada[7], Miquel Soler[7], Mónica Parriego[7]

[1]Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC), The Barcelona Institute of Science and Technology (BIST), Barcelona, Spain. [2]Movumtech, Barcelona, Spain. [3]SERABIOTICS, Barcelona, Spain. [4] Translational Imaging Center, University of Southern California. [5] Embryotools, Barcelona, Spain. [6] Molecular Imaging Platform, Institut de Biologia Molecular de Barcelona, Spain. [7]Reproductive Medicine Service, Dexeus Mujer, Hospital Universitari Dexeus, Barcelona, Spain

INTRODUCCIÓN

Uno de los mayores desafíos en el laboratorio de FIV es la selección embrionaria. La transferencia electiva de un solo embrión reduce drásticamente la tasa de parto múltiple, pero la elección debe ser acertada ya que múltiples transferencias sin éxito alargan el tiempo a gestación e incrementan la carga emocional y económica de los pacientes.

El metabolismo es un biomarcador sensible de la competencia embrionaria, sin embargo, las técnicas actuales para evaluar el metabolismo son demasiado lentas, invasivas o tecnológicamente exigentes para poder ser aplicadas en la práctica clínica.

OBJETIVOS

El objetivo del proyecto es el desarrollo de una metodología de selección de ovocitos y embriones basada en su metabolismo mediante la adquisición de imágenes hiperespectrales y su posterior análisis con inteligencia artificial.

MATERIAL Y MÉTODOS

Mediante el uso de iluminación multifotón en el espectro cercano al infrarrojo somos capaces de excitar diversos metabolitos intracelulares autofluorescentes cuya concentración relativa se puede cuantificar a través de detectores multiespectrales. La compleja información metabólica incluye la medida de más de 6 metabolitos diferentes, múltiples planos Z y canales espectrales. Toda esa información se reduce mediante análisis phasor y se utiliza para entrenar un algoritmo de inteligencia artificial. Más específicamente, usamos un algoritmo de máquinas de vectores de soporte (SVM) bajo el método AIC (Criterio de Información de Akaike). En el estudio, la validación cruzada se realizó usando 80%/20%. Para completar, utilizamos una validación cruzada de 5 veces repetida 50 veces.

RESULTADOS

Para el estudio se analizaron un total de 178 ovocitos y 96 embriones de ratón. Las cohortes de embriones incluyeron embriones control, embriones cultivados sin glucosa, cultivados sin piruvato/lactato y cultivados sin glucosa/piruvato/lactato. Mediante imágenes de campo claro, embriólogos clasificaron correctamente un porcentaje menor de las muestras en comparación con el algoritmo de IA, con un área bajo la curva (AUC) del 51% para los embriólogos en comparación con el 93,7% del algoritmo de IA tras analizar las imágenes HS. Las cohortes de ovocitos incluyeron ovocitos de ratones jóvenes analizados inmediatamente después de la obtención o al día siguiente (envejecidos *in vitro*) y de ratones viejos. Nuestro algoritmo pudo separar las clases de ovocitos con un AUC promedio de 96,2% y hacer una correlación estadística de su eficiencia de blastulación con un AUC de 82,2%. Finalmente, segmentamos las imágenes de los ovocitos y embriones mediante la combinación de dos características del metabolito FAD+: su confinamiento mitocondrial y rango de espectro específico. Mediante este método de segmentación pudimos extraer señales HS enriquecidas provenientes de las mitocondrias y nos permitió medir tres parámetros: intensidad promedio de las mitocondrias, variación de intensidad y ocupación y definir los parámetros que mejor clasifican ovocitos o embriones.

PONENCIA 1

CONCLUSIONES

Nuestros resultados avalan nuestra técnica para la evaluación robusta de embriones y ovocitos con diferentes cualidades metabólicas y fisiológicas. Asimismo, el análisis espectral y la cuantificación de mitocondrias arrojan luz sobre el proceso de pérdida de calidad ovocitaria con la edad. Los métodos actuales para medir el metabolismo de ovocitos y embriones son invasivos, fototóxicos, lentos o se basan en sustitutos indirectos como las células del cúmulo o los medios de cultivo usados. Nuestro método de adquisición de imágenes HS ofrece una imagen 4D en tiempo casi-real del metabolismo tanto de ovocitos como de embriones de una manera segura, robusta y sin marcadores ni tinciones. Al ser rápida y no invasiva, nuestra metodología de HS más IA se podrá aplicar a un dispositivo clínico para ofrecer una capa adicional de información útil para la evaluación de ovocitos y embriones en la práctica clínica compatible con las técnicas actuales en el laboratorio de FIV.

LAB COURIER

Nace la primera RED de muestras biológicas

- La única RED nacional que cubre las principales capitales de la península, baleares y canarias.
- Todo el personal, los vehículos y las gestiones están certificados, formados y adaptados para el transporte de muestras.
- Contamos con el único seguro de muestras que se ha dado de alta en nuestra país, totalmente único e innovador. Que cubre todo tipo de muestras.
- Tendremos almacenamiento en frío de muestras.
- Tenemos un innovador sistema de trazabilidad adaptado para cada necesidad que el cliente precise.
- Contamos con la ISO Transporte de muestras biológicas a nivel nacional e internacional.
- Podrá conocer en tiempo real la posición de su envío.
- Departamento especializado para atención y traslados de pacientes.

y además....

- Olvide la manipulación incorrecta.
- El desconocimiento del tipo de mercancía y condiciones que precisan sus muestras.
- Olvide el trato de conductores, que no dan valor a la importancia que estas tienen para sus pacientes.
- Ofrézcale a sus pacientes el servicio que cumple íntegramente la normativa y la mejor solución para el traslado de sus muestras.
- Evite las altas temperaturas con envíos controlados.

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

PONENCIA 2

DUDAS Y CONTROVERSIAS EN REPRODUCCIÓN ASISTIDA

Fernando Abellán
Derecho Sanitario Asesores
Asesor jurídico de ASEBIR

En el año 2023 no se ha variado la Ley de reproducción humana asistida de 2006, pero sí se han dictado dos leyes del Estado que tienen una repercusión importante en la realización de los tratamientos de fertilidad. Se trata de la ley trans y de la ley de reforma de la del aborto. A continuación, se explica la incidencia de cada una de ellas.

1.º- Ley orgánica 1/2023, de 28 de febrero, por la que se modifica la ley de salud sexual y reproductiva y de la interrupción voluntaria del embarazo (IVE) de 2010.

Los objetivos prioritarios de esta norma han sido los de simplificar los trámites para la IVE (eliminando la obligación de facilitar información previa a la mujer embarazada y el plazo de reflexión de tres días que venía exigiendo la normativa), establecer los 16 y 17 años como edades a partir de las cuales se puede abortar sin necesidad de contar con el consentimiento de los padres e incorporar el concepto de salud durante la menstruación (previendo una situación de incapacidad específica).

La novedad en el terreno de las técnicas de fertilidad ha sido la catalogación dentro de la ley de la gestación por sustitución (gestación subrogada), sin distinguir situaciones, como una forma de violencia contra la mujer en el ámbito de la salud sexual y reproductiva. De esta manera, se da un paso más en la persecución de esta práctica, aumentando su reproche social y prohibiendo expresamente su promoción comercial en España.

La consecuencia de lo anterior para los centros es que, si antes de esta modificación debían evitar la colaboración en los procesos de gestación subrogada (realizando actos preparatorios en España) por la nulidad de los contratos que proclama la ley de reproducción asistida, ahora tienen que hacerlo con más razón debido al reforzamiento de su ilegalidad.

Sigue existiendo la controversia respecto de los pacientes que acuden al extranjero para tener sus hijos por esta vía, que podrán inscribirlos en España bajo determinadas condiciones: que haya existido supervisión judicial en el país donde se llevó a cabo o que, sin darse lo anterior, al menos el gameto masculino utilizado sea del padre y se promueva en España un proceso de adopción respecto de la madre de intención.

En cualquier caso, debe significarse que existe ahora un riesgo añadido de estigmatización y repudio social de las familias creadas por gestación subrogada, tanto de los progenitores como de los hijos, pues la vinculación de esa práctica con la violencia contra la mujer les coloca en una posición difícil desde el punto de vista social.

2.º- Ley 4/2023, de 28 de febrero, para la igualdad real y efectiva de las personas trans y para la garantía de los derechos de las personas LGTBI.

Aunque varias comunidades autónomas habían dictado sus leyes LGTBI antes de 2023, la norma estatal trata de homogeneizar en todo el Estado el reconocimiento de los derechos de este colectivo. En relación a las personas trans se pone el énfasis en el reconocimiento de su voluntad libremente manifestada, en la despatologización de sus procesos y en la eliminación de la mayoría de edad civil para solicitar la rectificación del género en el Registro Civil.

Aparte de la prohibición de discriminar a los pacientes LGTBI en el acceso a los tratamientos de fertilidad y de reconocerles su derecho a congelar tejido gonadal y células reproductivas antes de la hormonoterapia o cirugía de cambio de sexo, la ley citada incluye dos disposiciones finales (primera y undécima) en las que se realiza una equiparación de los matrimonios de mujeres con las parejas de hecho de mujeres a efectos

de los trámites para conseguir la doble filiación materna. Así, pensando en las segundas, se determina que en el momento de la inscripción del hijo la filiación de la madre no gestante se realizará mediante la manifestación de su conformidad a dicha filiación en el Registro Civil, siempre que no contravenga las presunciones legales ni exista controversia.

Antes de esta ley, las parejas de mujeres no casadas tenían que recurrir a la adopción judicial cuando naciera el niño para que la no gestante fuera declarada madre. A partir de su entrada en vigor esto ya no es así, sino que el reconocimiento como madre de la no gestante puede conseguirlo directamente ante el Registro Civil como sucede en el caso de los matrimonios de mujeres (art. 7.3 de la Ley 14/2006).

Sigue estando vigente la excepción de Cataluña, donde siempre que se trate de parejas de mujeres con vecindad civil catalana, la firma conjunta del consentimiento informado de la técnica por las dos integrantes conduce por sí misma a su reconocimiento como madres del hijo que nazca (art. 235-13 del Código Civil de Cataluña), esto es, sin necesidad para la no gestante de ratificarse en tal sentido ante el Registro Civil.

PONENCIA 3

EMBRYO SELECTION BASED ON POLYGENIC DISEASE RISK: EPIDEMIOLOGICAL AND CLINICAL CONSIDERATIONS

Shai Carmi
Braun School of Public Health, Faculty of Medicine
Hebrew University of Jerusalem, Israel
shai.carmi@mail.huji.ac.il

The genetic composition of embryos generated by *in vitro* fertilization (IVF) can be examined prior to transfer using preimplantation genetic testing (PGT). PGT is currently limited to detecting single-gene, high-risk pathogenic variants or large structural aberrations. Recent advances in PGT have made genome-wide genotyping of IVF embryos feasible and affordable, raising the question whether embryos could (or should) be screened for risk of polygenic diseases such as breast cancer, hypertension, diabetes, or schizophrenia. In this talk, I will review the main arguments for and against polygenic embryo screening, focusing on the following considerations:

1. Modeling predictions that polygenic embryo screening will substantially reduce disease risk if only the lowest risk embryo is transferred.

2. Practical factors that may limit the achieved risk reduction.

3. The possible harms of polygenic embryo screening, including an unnecessary IVF treatment, discarding healthy embryos, and choice overload, and the patient groups where each harm is relevant.

4. Clinical and ethical concerns, particularly as reflected by the attitudes of clinicians, patients, and the public.

PONENCIA 4

BLASTOCYST CULTURE AT D6 AND D7 AND ITS CLINICAL SIGNIFICANCE

Danilo Cimadomo, MSc, PhD
IVIRMA Global Research Alliance
Science and Research Manager of GENERA, Italy

In IVF, blastocysts developed in Day 5-6 are typically selected for transfer, cryopreservation, or biopsy, while embryos that do not reach this developmental stage before 144 hours post insemination are often discarded. Lately, blastocyst culture adoption has increased mainly aimed at improving embryo selection potential and supporting a single embryo transfer approach. Accordingly, outlining the clinical value of Day 7 blastocysts (embryos reaching this stage beyond 144 hours post insemination) has become a hot topic, especially related with poor prognosis patients' treatment. Several studies worldwide reported lower competence for these embryos, testified by poorer morphological quality, higher aneuploidy rates, and lower implantation rates after both untested and euploid transfer; yet non-negligible proportions of these blastocysts are euploid and result in healthy live births. In other terms, their clinical use may involve a lower efficiency per transfer, but ultimately increase the cumulative live birth rate per cycle. As a matter of fact, though, most of the studies were subject to diverse definitions of Day 7 (often not based on hours post insemination), different clinical settings, culture strategies, incubators, as well as local regulations. Currently in IVF, we could leverage *time-lapse* technology (TLT), artificial intelligence (AI) and preimplantation genetic testing for aneuploidies (PGT-A) to standardize and deepen Day 7 blastocyst characterization and clinical evaluation. Therefore, we designed a study only in freeze-all PGT-A cycles with vitrified-warmed euploid single embryo transfer after continuous culture in Embryoscope incubators, trophectoderm biopsy without zona pellucida drilling in Day 3, comprehensive chromosome testing by qPCR and NGS, confirming embryo morphological assessments through an AI-empowered software, and adopting this tool also to automate developmental timings' annotations. Our analysis confirmed that all blastocysts were biopsied only after reaching a level of expansion suitable for the procedure and consistent across all embryos clustered every 12 hours in 6 groups (<120, 120-132, 132-144, 144-156, 156-168 and >168 hours post insemination): about 24,000 µm2. Day 7 blastocysts accounted for about 15% of all blastocysts obtained in 8 years, they were derived from older oocytes, they were of a poorer quality according to both Gardner's score and AI score, they were slower from the early stages of development, and even accumulated delay across the various intermediate processes like blastocyst expansion from tEB to the time of biopsy. They were less euploid and resulted in a lower live birth rate per euploid transfer. However, only the latter association was significant when adjusted for confounders (e. g., blastocyst quality). If comparing only embryos biopsied before 144 hours post insemination versus embryos biopsied after this threshold, neither the euploidy nor the live birth rate were significantly different, supporting the extension of embryo culture beyond Day 6. Overall, we estimated that Day 7 embryos contribute to 4.4%, 13.7% and 5.2% relative increase in the number of patients who achieved a live birth, who were not pregnant after the transfer of faster embryos, and who have supernumerary transferable embryos after a live birth, respectively. The main limitations of our investigation were its retrospective nature and the fact that retrospective associations do not provide evidence of causation, indeed there might be a bias towards poor prognosis patients being subject to the transfer of Day 7 embryos, for instance. Lastly, more data are required regarding the putative impact of extended embryo culture including post-natal outcomes (reassuring to date), as well as about the cost-effectiveness of this clinical choice.

In view of the increasing personalization and patient-centeredness of IVF, whenever allowed from the local regulations, the choice to culture embryos to Day 7 should be grounded on the careful evaluation of couples' reproductive history and future prognosis, and subject to patient-centered decisional process. In the future, AI can be exploited to support IVF practitioners by objectifying the assessment of poor quality and slow growing embryos with measurable information and reliable predictions, thereby circumventing the inherent subjective nature of embryologists' decisions.

PONENCIA 5

USO DE ÚTEROS ARTIFICIALES

Francisco Marco Jiménez[1,*], Clara Marín Orenga[2], José Salvador Vicente Antón[1]
[1]Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universitat Politècnica de València, Valencia, Camino de Vera, s/n, 46022 Valencia.
[2]Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Veterinaria, Universidad Cardenal Herrera-CEU, Calle Santiago Ramón y Cajal, 20, Alfara del Patriarca, 45115 Valencia.
*fmarco@dca.upv.es / +34 687 08 22 76

RESUMEN

La ectogénesis, o gestación humana extracorpórea, es una propuesta teórica y especulativa que plantea el desarrollo de embriones y fetos fuera del cuerpo humano, en un útero artificial. El objetivo de este trabajo es realizar una exhaustiva revisión bibliográfica de todos los estudios basados en el uso de úteros artificiales, centrándose principalmente en aquellos experimentos llevados a cabo en modelos animales con el fin de presentar el estado del arte y plantear perspectivas para futuras investigaciones. En conclusión, nos encontramos ante un campo experimental que aún no tiene aplicación práctica ni expectativas razonables a corto plazo. No obstante, la ectogénesis podría representar una posible solución para millones de mujeres que sufren de partos prematuros y la incapacidad de llevar a cabo el desarrollo de embriones y fetos. Esta técnica podría convertirse en una alternativa potencial tanto al trasplante uterino como a la gestación subrogada, permitiendo en su aplicación más radical, la obtención de descendencia sin la necesidad de la intervención directa de una mujer.

1. ANTECEDENTES: "THE INFANTORIUM"

La construcción de la primera incubadora es atribuida al Dr. Stephane Tarnier en 1880 (Fraser, 1994), si bien fue el Dr. Martín Arthur Couney, conocido como "Dr. Incubadora", quien las popularizase en la Gran Exposición Industrial de Berlín de 1896 con la exhibición del "Kinderbrutanstalt" o criadero de niños (Figura I). El éxito de la exhibición fue tan impresionante que, en 1897, el promotor de la exposición Samuel Schenkein invitó al Dr. Couney a presentar su incubadora infantil en la Celebración del Jubileo de Diamante de la Reina Victoria en Londres (Silverman, 1979). Fue tal el triunfo que los editores de la revista *The Lancet* acudieron para analizar el singular dispositivo. En un fragmento de la publicación puede leerse: "en estas circunstancias, cualquier intento exitoso de mejorar la construcción de incubadoras y hacer que este aparato salvavidas esté disponible para el público en general debe ser bienvenido". No obstante, esta innovación no quedó libre de polémica, dado que el Dr. Couney era conocido en los círculos médicos y entre el público por su espectáculo en un parque de atracciones, conocido como "The Infantorium", en el que los visitantes pagaban 25 céntimos por ver niños prematuros expuestos en las incubadoras (Figura I).

Sin embargo, la realidad es que el Dr. Couney fue uno de los primeros defensores de los niños prematuros, y ha sido ampliamente acreditado que su Infantorium han salvado la vida de más de 6.500 niños prematuros (Barry, 2018). Tras 35 años de exhibiciones de las incubadoras del Dr. Couney, su feria de atracciones seguía siendo el mejor lugar en muchas ciudades para mantener con vida a un bebé prematuro ya que la mayoría de los hospitales aún no habían creado una alternativa al Infantorium del Dr. Couney. En plena Gran Depresión, Chicago acogió la Feria Mundial de 1933, y la exposición del Dr. Couney contó con el apoyo explícito del Dr. Hess y el Comisionado de Sanidad de Chicago. Tras la feria, Chicago se convirtió en la primera ciudad de Estados Unidos en crear una política de salud pública específica para los niños prematuros y con el soporte de la comunidad médica de Chicago, otras ciudades empezaron también la instalación de incubadoras en sus hospitales. El Dr. Julius Hess pasó a ser conocido como el "padre de la neonatología estadounidense" (Figura II).

2. ABORDANDO LA CARENCIA DE SOLUCIONES PARA LA PREMATURIDAD EXTREMA

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, cada año nacen prematuramente 15 millones de niños, y aproximadamente 1 millón de ellos mueren debido a complica-

ciones (Blencowe *et al.*, 2013; Khulbe *et al.*, 2023; Ohuma *et al.*, 2023). En España, la tasa de nacimientos prematuros en 2019 fue del 7,6%, lo que representa cerca de 27.000 bebés prematuros, según datos del Instituto Nacional de Estadística. Estas tasas de nacimientos prematuros son más elevadas en los grupos socioeconómicamente desfavorecidos, siendo las tasas más altas de partos prematuros observadas en regiones de Estados Unidos, África y el sudeste asiático (Blencowe *et al.*, 2013). Esta situación hace que la prematuridad representa un desafío clínico sin resolver y una crisis sanitaria a nivel mundial (Partridge *et al.*, 2017a). Las complicaciones derivadas del parto prematuro dan lugar a una alta morbilidad y mortalidad, siendo responsable de aproximadamente un tercio de todas las muertes infantiles (Callaghan *et al.*, 2016). Además, el 80% de los sobrevivientes nacidos entre las 22 y 28 semanas de gestación experimentan una morbilidad mayor (Anderson *et al.*, 2016). La prematuridad es la principal causa de muerte en el primer mes de vida y la segunda causa de muerte en niños menores de 5 años (Howson *et al.*, 2013). Además, los costos que el sistema de atención médica asume durante el periodo perinatal son significativos, y muchos supervivientes de prematuridad crítica requieren cuidados de apoyo a lo largo de su vida (Partridge *et al.*, 2017).

Aunque los avances en la atención neonatal intensiva, como la administración prenatal de esteroides, la reposición de surfactante, la terapia vasodilatadora pulmonar y la ventilación oscilatoria de alta frecuencia, han mejorado la supervivencia y ampliado el límite de viabilidad a las 22-24 semanas de gestación, el desarrollo incompleto de la mayoría de los principales sistemas orgánicos sigue siendo una limitación para la supervivencia y la funcionalidad óptima en muchos pacientes. La mortalidad y morbilidad están directamente relacionadas con la duración de la gestación. La tasa de supervivencia al año de todos los nacidos vivos a las 22 semanas es del 6%, mejorando hasta el 94% cuando el nacimiento se produce a las 28 semanas de gestación. En cuanto a la morbilidad grave, afecta al 86% de los supervivientes nacidos a las 22 semanas y disminuye al 54% en los nacidos a las 28 semanas de gestación (Anderson *et al.*, 2016). La insuficiencia respiratoria es el problema más común y desafiante que enfrentan estos pacientes, ya que el intercambio de gases en los neonatos prematuros críticos se ve afectada por la inmadurez estructural y funcional de los pulmones. La displasia broncopulmonar, detectada en altas tasas en los recién nacidos prematuros, representa la principal causa de enfermedad pulmonar crónica en los supervivientes de la prematuridad extrema (Islam *et al.*, 2015). Por todo ello, el desarrollo de un sistema extracorpóreo que promueva el crecimiento y desarrollo fetal sin las alteraciones inducidas por los cuidados intensivos postnatales ofrecería una oportunidad para mejorar la calidad de vida de los niños prematuros en estado crítico (Partridge *et al.*, 2017). La necesidad de reducir la mortalidad neonatal está provocando el desarrollo de la tecnología del amnios y las placentas artificiales, comúnmente conocida como "útero artificial", a fin de proporcionar un entorno para la ectogestación fetal.

3. DESARROLLO DE ÚTEROS ARTIFICIALES: MODELOS ANIMALES

Desde la década de 1960, se ha investigado experimentalmente la viabilidad de un útero artificial. En aquel entonces, se llevaron a cabo una serie de experimentos breves en los que se introducían catéteres en los vasos umbilicales de corderos fetales, los cuales eran perfundidos utilizando oxigenadores de membrana de burbuja de primera generación. Estas perfusiones se mantuvieron durante períodos de 40 minutos a 2 días (Maynes y Callaghan, 1963; Zapol *et al.*, 1969). Aunque se logró mantener a los animales durante estos breves periodos de incubación, la mayoría de los experimentos se interrumpieron debido a la muerte del animal causada por infecciones no controladas, complicaciones relacionadas con el oxigenador y una disminución gradual de la función cardíaca.

Con la llegada de la oxigenación por membrana extracorpórea (ECMO, de sus siglas en inglés) para lograr el intercambio gaseoso en casos de insuficiencia respiratoria neonatal crítica (Bartlett *et al.*, 1976), se renovó el interés por el desarrollo de los úteros artificiales. En 1987, Kuwabara *et al.* llevaron a cabo los experimentos de incubación fetal extrauterina más largos hasta la fecha en fetos caprinos. En estos experimentos, los vasos sanguíneos umbilicales fueron canulados y conectados a un sistema que utilizaba un oxigenador de membrana de fibra hueca de silicona y una bomba de rodillo (Kuwabara *et al.*, 1987). En 6 animales mantenidos con la circulación fetal bajo la regulación directa de la bomba de rodillo, la duración máxima de la incubación fue de 8 horas, con una rápida aparición del fallo cardiaco que provocó la muerte fetal en la mayoría de los experimentos. Sin embargo, los tiempos de funcionamiento se prolongaron significativamente (hasta 165 horas) gracias a la incorporación de un depósito de sangre, que se

llenaba pasivamente con el flujo arterial umbilical y que regulaba automáticamente los caudales a través de la bomba en función de la velocidad de llenado del depósito, confirmando las limitaciones de la postcarga en los sistemas basados en bombas. Los caudales absolutos se mantuvieron entre 100 y 200 mL/min en todos los animales, y los gases fetales se mantuvieron dentro de los rangos objetivo durante todo el periodo de incubación. Sin embargo, al final se produjo un fallo cardíaco y un edema subcutáneo en todos los animales, que no sucumbieron a complicaciones iatrogénicas como hemorragias o embolias. En un estudio posterior realizado por este mismo grupo en 1989, se modificó este sistema añadiendo hemodiálisis para mejorar el equilibrio de líquidos y electrolitos, consiguiendo duraciones de incubación de hasta 236 horas con flujos de entre 50 y 100 mL/kg/min (Kuwabara *et al.*, 1989). No obstante, 3 animales murieron debido al mal funcionamiento del catéter, y el fallo cardiaco fue la causa de todas las muertes no técnicas, con depresión circulatoria progresiva. Basándose en la sospecha de que el movimiento fetal podría haber contribuido al desequilibrio de fluidos, las alteraciones del flujo y las complicaciones hemorrágicas, Unno *et al.* (1993) emplearon este sistema con la administración en perfusión continua de bloqueantes dando como resultado el soporte estable de 2 fetos de cabra de 120 y 128 días de gestación durante 494 y 543 horas respectivamente, con tasas de flujo entre 80 y 180 mL/kg/min y la salida satisfactoria de la incubadora a ventilación mecánica. Sin embargo, los animales no pudieron respirar espontáneamente, falleciendo por insuficiencia respiratoria. Otro estudio basado en este sistema, pero con modificaciones en la colocación de un tubo de oclusión para crear un punto fijo de resistencia en el flujo arterial, permitió alcanzar tiempos de incubación de hasta 236 horas, sin embargo, todos los animales murieron debido a un fallo circulatorio caracterizado por la disminución de los flujos y la presión sanguínea, así como arritmias recurrentes (Unno *et al.*, 1997).

En 1998, Yasufuku y sus colegas realizaron un estudio en el que canularon 4 fetos caprinos a través de los vasos umbilicales mantenidos en un sistema compuesto por un oxigenador de fibra hueca y una bomba centrífuga (Yasufuku *et al.*, 1998). Este sistema permitió la administración de flujo pulsátil a velocidades más altas en comparación con lo descrito anteriormente, con velocidades de flujo que variaron entre 113 y 193 mL/kg/min. La duración total del soporte osciló entre 87 y 237 horas, y todos los animales fallecieron debido a una hidropesía secundaria derivada de un fallo circulatorio (¿o cardiaco congestivo?). En 2002, Pak y sus colegas llevaron a cabo un estudio basado en 12 fetos caprinos de edades de gestación de 120-130 días, empleando un sistema que incluía una bomba de rodillo con control manual del caudal, con el objetivo de aumentar la tasa de drenaje de la arteria umbilical (Pak *et al.*, 2002). En dicho estudio, 3 animales murieron debido a problemas con la cánula y 1 debido a una hipoxia causada por la formación de coágulos en el circuito, mientras que los 8 animales restantes desarrollaron fallo circulatorio. Los flujos de sangre oscilaron entre 103±17 y 176±15 mL/kg/min, logrando un intercambio gaseoso adecuado. Sin embargo, se consideró que el drenaje de la arteria umbilical mediante la bomba de rodillo imponía una mayor carga al corazón. La evidencia constante de la sobrecarga circulatoria en la ECMO fetal asistida por bomba sugiere una carga inadecuada (excesiva) provocada por estos circuitos, lo que condujo eventualmente a una insuficiencia cardíaca.

Varias características del sistema ECMO convencional parecen explicar el fallo circulatorio observado en los sistemas asistidos por bomba (Partridge *et al.*, 2017b). El volumen de cebado del circuito es considerablemente mayor que la reserva placentaria natural, lo que resulta en una distribución excesiva de volumen. El flujo asistido por bomba también representa una desviación de la fisiología fetal natural, lo que puede aumentar significativamente la postcarga cardíaca y la tensión miocárdica resultante. La extensa superficie de estos circuitos favorece la trombogénesis y por tanto requiere tratar sistemáticamente con anticoagulantes. Un sistema sin bomba puede ofrecer ventajas sobre la tecnología ECMO actual, como la reducción de los volúmenes de cebado y distribución, una menor exposición de la sangre a superficies trombogénicas y la preservación de cierta autorregulación del flujo sanguíneo y la presión por parte del propio corazón fetal. Así, un útero artificial ideal debería permitir al feto mantener una circulación análoga a la que se consigue en la unidad fetoplacentaria intacta, en la que la perfusión viene determinada por el gasto cardíaco fetal (Partridge *et al.*, 2017b).

Sin embargo, los intentos de diseñar un sistema sin bomba para la perfusión fetal generaron inicialmente resultados desalentadores. Awad *et al.* (1995) probaron el uso de un circuito sin bomba en una serie de corderos con hernias diafragmáticas congénitas creadas quirúrgicamente. Para ello perfundieron a ovejas del entorno de los 100 días de

gestación durante un máximo de 6 horas, pero tanto los caudales del circuito que no superaron los 75 mL/min como los niveles de oxigenación fueron inadecuados para mantener una incubación estable a largo plazo. En 2009, Reoma *et al.* informaron de su experiencia con un circuito extracorpóreo sin bomba, utilizando un oxigenador de fibra hueca (MC3, Ann Arbor, MI, EE. UU.) y canulación umbilical en 4 corderos casi nacidos (140 días de gestación). Los animales fueron mantenidos en este sistema durante un máximo de 4 horas, con un descenso gradual de los flujos del circuito y de la presión arterial sistólica durante este periodo de incubación (Reoma *et al.*, 2009). Los autores concluyeron que se necesitaría un sistema accionado por bomba para mantener un flujo y una perfusión adecuados del feto. Miura *et al.* (2012) informaron de su experiencia con un circuito extracorpóreo sin bomba en corderos con una edad gestacional de 130±38,4 horas, con canulación de una sola arteria umbilical y la vena umbilical. Los 5 animales estudiados sobrevivieron una media de 18±3,2 horas, pero desarrollaron una acidosis láctica progresiva que provocó un fallo cardíaco y la muerte. La administración de fármacos vasoactivos para aumentar la contractilidad cardiaca y de ionótropos para inducir la vasodilatación periférica no logró la supervivencia a largo plazo en este sistema. Más recientemente, Miura *et al.* (2016) comprobaron la supervivencia de fetos de cordero con una edad de gestación entre 105-111 días en un circuito paralelizado sin bomba que utilizaba ambas arterias umbilicales hasta un límite predeterminado de 60 horas. En este estudio, los animales permanecieron relativamente estables hemodinámicamente. Sin embargo, se necesitaron reguladores de flujo externos para reducir el flujo sanguíneo a través del circuito para revertir la acidosis láctica, y se observaron evidencias de lesiones cerebrales en la materia blanca. Por último, Schoberer *et al.* informaron del desarrollo de un oxigenador miniaturizado de bajo volumen, con un volumen de cebado de 12 mL y una superficie de intercambio gaseoso de 0,12 m2 (Schoberer *et al.*, 2014). Corderos con una edad de gestación de 132 días fueron canulados a través de los vasos umbilicales, pero se mantuvieron con ventilación mecánica además de oxigenación extracorpórea. En este sistema, 6 de los 7 animales estudiados se mantuvieron con soporte extracorpóreo sin bomba durante 6 horas, el punto final definido; sin embargo, todos los animales desarrollaron acidosis metabólica, lactato sanguíneo elevado y un descenso continuo de la presión arterial, y 3 animales necesitaron finalmente catecolaminas para alcanzar el punto final experimental. Aunque estas modificaciones han logrado la supervivencia durante una semana con asistencia extracorpórea, las modificaciones experimentales introducidas se alejan del entorno fisiologico fetal, como son la no utilización de la arteria umbilical, el estrés cardiaco mediante el uso de ECMO veno-venoso y la sustitución de un entorno líquido por un tubo endotraqueal lleno de líquido que no reproducen la fisiología pulmonar fetal normal ni mantienen la circulación fetal (Bryner *et al.*, 2015).

En 2017, Partridge *et al.* lograron "probablemente" el gran avance en el desarrollo de úteros artificiales. A continuación describiremos este avance basados en su estudio (Partridge *et al.*, 2017a:b). Su diseño se basó en la búsqueda de similitudes fisiológicas y hemodinámicas entre un circuito sin bomba y el flujo sanguíneo entre el feto y la circulación materno-placentaria uterina. En ambos sistemas, el corazón fetal desempeña un papel crucial como regulador del flujo sanguíneo hacia el lugar de intercambio gaseoso, lo que permite tanto la autorregulación de las tasas de flujo como la preservación de las derivaciones circulatorias fetales esenciales para el desarrollo normal de los órganos. Los componentes críticos de este sistema incluían un circuito arterio-venoso sin bomba, con un oxigenador de fibra hueca de baja resistencia y bajo volumen, y una longitud mínima de los tubos del circuito. Además, se recubrían todas las superficies internas con un revestimiento antitrombogénico unido con heparina, suministrando la nutrición vía parenteral intravenosa, y estableciendo un entorno de fluidos cerrado con intercambio continuo de líquido amniótico sintético. Así, en sus experimentos iniciales determinaron si un sistema sin bomba podía mantener efectivamente la hemodinámica fetal y el intercambio gaseoso. Las hipótesis generadas para explicar las deficiencias de los resultados experimentales anteriores incluían el vasoespasmo de los vasos umbilicales y las limitaciones de flujo causadas por el uso de cánulas largas colocadas en la circulación central a través de los vasos umbilicales, así como volúmenes desproporcionadamente grandes de cebado en comparación con el volumen de placenta endógena, y el fallo cardíaco secundario a la alta resistencia del circuito (Reoma *et al.*, 2009; Miura *et al.*, 2012). En su diseño inicial, el circuito incluía un oxigenador con una resistencia medida cercana a cero y un volumen de cebado de 81 mL (Maquet Quadrox-ID Pediatric Oxygenator; Maquet Cardiopulmonary AG, Rastatt, Alemania), junto con segmentos cortos de tubos para la entrada y salida de sangre hacia y desde el oxigenador, creando así un circuito con un volumen

total de cebado de menos de 100 mL. En estos experimentos piloto, se utilizaron 5 corderos con edades gestacionales de 120 a 140 días y un peso de 2-3 kg en el momento de la canulación, lo que implicaba un volumen en el sistema similar con el volumen sanguíneo placentario de las ovejas (23,1 - 48,1 mL/kg, Creasy *et al.*, 1970). Dado que este enfoque se basó la dependencia del corazón fetal, inicialmente se canularon la arteria carótida y la vena yugular para lograr la perfusión a velocidades de flujo adecuadas que mantuvieran la supervivencia y el crecimiento fetal. Según indican los autores, esto permitió evitar la contribución del espasmo umbilical como posible factor de confusión en la hemodinámica observada en el circuito. Así, tras la exposición mediante histerotomía materna, y tras la canulación de la arteria carótida común derecha y la vena yugular derecha, se realizó la conexión de las cánulas a los tubos del circuito, iniciando el flujo antes de pinzar el cordón umbilical. Los resultados fueron que todos los animales mostraron una estabilidad hemodinámica completa, sin evidencias de acidosis progresiva o fallo circulatorio, durante ciclos que oscilaron entre 23 y 108 horas. Sin embargo, estos ensayos generaron complicaciones terminales, incluyendo sepsis en 3 animales relacionada con la contaminación del líquido amniótico sintético, formación de trombos debido a un segmento de tubo no unido con heparina en 1 animal, y desangrado debido a un evento de decanulación en otro animal. A pesar de estas complicaciones, este estudio preliminar les permitió confirmar la idoneidad del corazón fetal como bomba en el circuito, logrando una hemodinámica adecuada sin necesidad de apoyo farmacológico. Esto abrió paso a una siguiente etapa en la que buscaron refinar el entorno de fluidos y lograr la canulación umbilical.

El experimento piloto inicial se llevó a cabo sumergiendo el feto en un tanque abierto y controlado a temperatura, que contenía una solución electrolítica diseñada para simular el líquido amniótico. La duración del experimento fue de 23 horas y, al finalizar, observaron una turbidez en el líquido, indicando un crecimiento evidente de microorganismos. Durante la necropsia, detectaron bacteriemia y una inflamación profunda en los pulmones. Con el objetivo de abordar este problema y la determinación del volumen de líquido amniótico que se reabsorbe y produce diariamente, se rediseñó la incubadora de fluidos para convertirla en un tanque de vidrio semicerrado con un intercambio de fluidos continuo, renovando completamente el volumen de la incubadora de tres a cinco veces al día. Con esta innovación, se logró mantener a cinco animales experimentales, con una edad gestacional de 120 a 125 días, en el sistema durante un promedio de 346,6±93,5 horas. Es importante mencionar que uno de los animales permaneció en el circuito durante 288 horas (desde el día 120 al 132 de gestación), mostrando respiración espontánea y supervivencia a largo plazo, lo que demuestra que los animales pueden hacer una transición exitosa a la vida posnatal normal después de un período prolongado de soporte extrauterino. A pesar de la mayor duración de los fetos de cordero en el sistema semicerrado, la infección continuó siendo un factor limitante y varios estudios se vieron afectados por la contaminación del fluido. No obstante, se observó que la reducción en los volúmenes totales de la incubadora de fluidos permitía una rotación y eliminación más rápida de cualquier contaminación, por lo que se reemplazó la incubadora semicerrada de vidrio por un sistema cerrado de un solo uso compuesto por una película de polietileno maleable. Esta película era traslúcida, semitransparente y flexible para permitir la monitorización, exploración y manipulación del feto según fuera necesario. Este sistema cerrado, con su volumen interno limitado y capacidad de cambio rápido de fluido, logró reducir los recuentos bacterianos en el cultivo de fluidos sin manifestar signos clínicamente significativos de sepsis o neumonía en los animales.

Después de mejorar las condiciones deesterilidad a largo plazo, el siguiente objetivo que plantearon fue aplicar el sistema a fetos con un desarrollo equivalente al de un prematuro extremo. Para esto, seleccionaron corderos de 100 a 115 días de gestación, que se encuentran en la fase canalicular media o tardía del desarrollo pulmonar, equivalente biológico a un lactante humano de 22 a 24 semanas de gestación. Sin embargo, observaron que en corderos de 110 días de gestación con canulación de la arteria carótida y la vena yugular provocaba una disminución en los flujos del circuito y presentaban presiones arteriales medias bajas y el desarrollo progresivo de edema en los primeros días de soporte. Además, la combinación de presiones casi sistólicas en el retorno venoso a través de la vena cava superior y la derivación arteriovenosa generaba un fallo circulatorio gradual y la aparición de hidropesía, resultados similares a intentos previamente publicados. Con el fin de lograr un gradiente de presión arteriovenoso más normal y aliviar la carga en la aurícula derecha, Partridge y sus colaboradores tomaron la decisión de canular la vena umbilical para la entrada venosa, asegurándose de colocar la

punta de la cánula más allá de la fascia umbilical para evitar el espasmo venoso. Esto permitió lograr el soporte estable de 5 corderos con una edad gestacional de 106-113 días durante 13-26 días, sin evidencia de edema o fallo circulatorio a largo plazo. Sin embargo, los caudales medidos en el sistema estaban por debajo del flujo fisiológico normal a la placenta, principalmente debido a la restricción del flujo de entrada a través de la arteria carótida de calibre pequeño. Esta limitación de las tasas de flujo requirió ciertas compensaciones para mantener el suministro de oxígeno, como la transfusión de sangre adulta y el aumento de la tensión de oxígeno después de la membrana a niveles suprafisiológicos.

A continuación, adoptaron un enfoque que utilizaba exclusivamente las arterias umbilicales junto con una única vena umbilical. Para la canulación umbilical, mantuvieron una longitud de cordón umbilical nativo entre las puntas de la cánula y la pared abdominal, lo cual minimizó la posibilidad de torsión u obstrucción de la cánula y permitió la vasorreactividad necesaria para adaptarse a los cambios de presión a través de la derivación arteriovenosa del circuito. Aunque observaron vasoespasmo en los vasos del cordón umbilical durante la canulación, esto se mitigó mediante la administración tópica de papaverina, una técnica quirúrgica atraumática y el mantenimiento del calor y la saturación fisiológica (baja) de oxígeno en el flujo venoso umbilical al iniciar el flujo del circuito. Al emplear la canulación exclusiva del cordón umbilical, lograron resultados notables, con el mantenimiento de tasas de flujo del circuito estables equivalentes al flujo normal a la placenta (150-200 mL/kg/min) y evidencia de crecimiento normal, suministro de oxígeno y maduración de órganos (Figura III, Partridge *et al.*, 2017).

Los resultados obtenidos por Partridge y sus colaboradores (2017) demostraron que es posible mantener fetos con edades gestacionales de 105 a 120 días en condiciones fisiológicas estables durante 20 a 28 días. Los autores observaron que la administración diaria de eritropoyetina ayudó a retardar la progresión de la anemia, lo que redujo o eliminó la necesidad de transfusiones sanguíneas. Mediante ecocardiografía diaria, confirmaron una contractibilidad y el mantenimiento de la circulación cardiaca fetal a lo largo de todo el trayecto arteria umbilical/vena umbilical, con flujos del ductus arterioso casi normales y derivación de derecha a izquierda a través del agujero oval. La nutrición suministrada a través del circuito se basó en la absorción de sustratos por los corderos fetales en gestación tardía y consistió principalmente en carbohidratos y aminoácidos, con un contenido mínimo de lípidos. La titulación de la administración de dextrosa y aminoácidos se correlacionó con los niveles plasmáticos de glucosa (<40 mg/dL) y BUN (<30 mg/dL) para evitar una diuresis osmótica y/o un estado hiperosmolar. En general, la tolerancia al sustrato la correlacionaron con la administración de oxígeno, y los corderos toleraron niveles fisiológicos de administración de sustrato y mostraron un crecimiento comparable al de los controles de la misma raza. Observaron movimientos respiratorios fetales de manera regular durante todo el periodo de incubación, correlacionándolos con la presión parcial de dióxido de carbono medida en la circulación sistémica. Cualitativamente, observaron un evidente crecimiento y maduración a lo largo del tiempo. Los animales abrían los ojos, volviéndose más activos y mostrando movimientos respiratorios y de deglución aparentemente normales. También observaron un crecimiento en la lana y una mayor proporción de ocupación del espacio de la incubadora. La maduración pulmonar la evaluaron mediante un análisis morfométrico detallado, una evaluación histológica de la proteína B surfactante y un análisis de la función pulmonar tras el nacimiento. El análisis morfométrico mostró la progresión de las fases canalicular a sacular del desarrollo pulmonar de manera paralela a los corderos de control de la misma edad gestacional. Desde el punto de vista funcional, los corderos fueron ventilados sin dificultad tras ser retirados del sistema, siendo prácticamente comparables a los corderos nacidos por cesárea y ventilados inmediatamente a los 141 días de gestación (grupo control). Además, observaron que los cerebros eran normales, con histología y peso normales, y sin evidencia de hemorragia o infarto en ninguna sección. Los ensayos fueron interrumpidos a los 28 días debido a las limitaciones del protocolo animal y no debido a infecciones o inestabilidad hemodinámica, lo que le permite sugerir que el mantenimiento de estos animales de gestación temprana podría prolongarse más allá de las 4 semanas. Los autores mencionan que después de la publicación de los datos iniciales, han logrado la supervivencia sin asistencia mecánica en 2 corderos mantenidos con el sistema EXTEND durante 21 y 29 días. Ambos corderos fueron destetados de la ventilación mecánica en un periodo de 12 horas, se alimentaron y crecieron de manera normal. Uno de los corderos falleció a los 12 días de vida debido a una pielonefritis, mientras que el otro cordero continúa prospe-

rando con un desarrollo neurológico aparentemente normal (Partridge *et al.*, 2017b). Los autores generaron un video con material complementario relacionado con el artículo sumamente ilustrativo que puede ser consultado a través de este link: http://dx.doi.org/10.1016/j.siny.2017.04.006. A modo de resumen, los resultados generados por Partridge y sus colaboradores demuestran que es posible ofrecer soporte fisiológico a corderos fetales extremadamente prematuros durante un período de 4 semanas, sin evidencia de lesiones iatrogénicas, trastornos metabólicos o fisiológicos, ni la necesidad de ventilación mecánica. Sus hallazgos superaron notablemente a todos los intentos previos de soporte extracorpóreo en fetos extremadamente prematuros, tanto en términos de duración como de bienestar fisiológico, lo que respalda el desarrollo continuo del sistema para su aplicación en intervenciones clínicas en seres humanos. Los corderos fetales con edades gestacionales de 105 a 115 días se corresponden con el objetivo clínico de 23 a 25 semanas de gestación en bebés humanos.

Desde el anuncio de estos extraordinarios resultados hace ya 6 años, apenas se han publicado nuevas investigaciones que proporcionen más información sobre los detalles y las principales dificultades que acarrea el montaje de un sistema de útero artificial. Recientemente, un equipo de investigadores liderado por Eixarch de la Universitat de Barcelona ha presentado el desarrollo de un sistema experimental de útero artificial basado en trabajos anteriores y probado en ovejas, logrando una supervivencia de hasta 7 días (Eixarch *et al.*, 2023). Sin embargo, la canulación y el sistema de circulación extracorpórea siguen siendo las principales limitaciones en la configuración de un sistema experimental de útero artificial, como señalan Eixarch y sus colegas. Estos autores describen la canulación como un proceso que requiere destreza y manipulación delicada de los vasos umbilicales, los cuales son propensos al vasoespasmo de manera fisiológica. Además, la transferencia y el mantenimiento en un entorno protegido, como una bolsa o caja, resulta difícil debido al tamaño de las cánulas. Aunque los accidentes durante el transporte se minimizan con la experiencia, el tamaño de las cánulas sigue siendo un problema cuando se prolonga el tiempo de supervivencia y puede dar lugar a accidentes potencialmente mortales en el cordón umbilical (Hornick *et al.*, 2018; Eixarch *et al.*, 2023). Además, indican que se requiere una anticoagulación continua. En su experiencia, los tiempos de anticoagulación de 150-250 segundos permitieron mantener el funcionamiento adecuado de la membrana del oxigenador sin complicaciones hemorrágicas en la mayoría de los casos. Sin embargo, alcanzar rangos óptimos puede ser desafiante debido a las necesidades variables de heparina en cada caso individual. En conclusión, Eixarch y sus colegas destacan la necesidad de mejorar los sistemas de circulación extracorpórea, así como las membranas oxigenadoras para disminuir la dependencia de la anticoagulación. También subrayan que la creación de un prototipo experimental de útero artificial es extremadamente arduo, requiere un esfuerzo considerable y la colaboración de un equipo multidisciplinar. Una verdadera combinación interdisciplinaria de conocimientos en medicina fetal, neonatología, cuidados intensivos, cirugía pediátrica, cardiología y cirugía cardiovascular, además de un sólido equipo de bioingeniería es fundamental para lograr el éxito.

4. PAPARRUCHAS

A primera vista, el concepto de mantener a un feto extremadamente prematuro con un útero artificial, sumergido en un líquido amniótico sintético y en ausencia de intercambio gaseoso pulmonar, parece una propuesta futurista, pero no es novedosa. Tal es así que la primera referencia al término "ectogénesis" (literalmente, `génesis fuera del cuerpo´) apareció en la literatura de ficción de la mano del científico John Burdon Sanderson Haldane en 1923. El estudio llevado a cabo por Partridge y colaboradores (2017), con el objetivo de ayudar a fetos extremadamente prematuros a superar el periodo crítico de 24 a 28 semanas, suscitó un gran interés público a la par que un sinfín de especulaciones en los medios de comunicación sobre la inminente llegada de la "ectogénesis" humana. Pero el mensaje fue más allá, y en 2019, investigadores del Centro Médico Máxima de Eindhoven y científicos de la Universidad Tecnológica de Eindhoven (Países Bajos) recibieron una subvención de 2,9 millones de euros del programa de la UE Horizonte 2020 para desarrollar un prototipo de útero artificial para el año 2025. Al anunciar su desarrollo, una imagen de un prototipo de útero artificial se hizo viral con más de 3 millones de resultados de búsqueda en internet (Figura IV). La imagen del prototipo fue tomada durante la Semana del Diseño Holandés de 2018, donde fue presentado por primera vez como diseño para el debate por el profesor Guid Oei, del Centro Médico Máxima. Hendrik-Jan Grievink y Lisa Mandemaker, diseñadores afiliados al estudio holandés Next Nature Network, diseñaron el prototipo en colaboración con el equipo de Eindhoven. Next Nature Network también colaboró con el equipo de Eindhoven

en la organización de una exposición de diseño-ficción titulada *Reprodutopia* (https://nextnature.net/Projects/Reprodutopia). La exposición, comisariada por Next Nature Network, se inauguró en octubre de 2019 en la Droog Gallery de Ámsterdam. A través de objetos de diseño especulativo, *Reprodutopia* imaginaba escenarios futuros en torno al útero artificial que pretendían suscitar debates sobre las formas en que un útero artificial en pleno funcionamiento podría alterar nuestra actitud hacia la reproducción, las relaciones y el amor en el siglo XXI. Pero esto fue sólo el principio, el 9 de diciembre de 2022, Hashem Al-Ghaili, un productor audiovisual y divulgador científico con sede en Berlín, anunció la primera instalación de úteros artificiales del mundo, denominada *EctoLife*. Este emocionante hito fue acompañado por la difusión de una producción audiovisual en internet, que nos muestra una instalación de úteros artificiales que parece sacada de una novela de Julio Verne, pero con un modelado 3D que convierte en realidad la imaginación (Figura IV, https://app.muse.io/hashemalghaili). Rápidamente la prensa tanto escrita como visual se hizo eco del anuncio, dejando titulares del estilo de "Así es EctoLife, la granja de bebés humanos que elimina el embarazo y que se ha hecho viral" (Antena 3), "Chau embarazos: el inquietante proyecto para incubar miles de bebés al año en úteros artificiales" (Clarín).

Sin embargo, esto no es real; simplemente son escenas de ciencia ficción. Al Ghaili afirmó que aprovecha su formación en ciencia y tecnología para idear conceptos completamente innovadores y hablar sobre "imaginar el futuro". No obstante "este cortometraje de animación" se ha confundido claramente con un anuncio real cuyas visualizaciones alcanzan más de 2,5 millones. En el vídeo se plantea que los úteros artificiales podrían ofrecer una solución para pacientes de cáncer que han pasado por una extirpación de útero, lo que podría disminuir las complicaciones del embarazo. Además, se menciona que estas tecnologías podrían ser útiles en países con declive demográfico, como Japón, Bulgaria o Corea del Sur. En este contexto, se menciona que disponen de 75 laboratorios equipados con 400 cápsulas de crecimiento, que es el término utilizado para referirse a los úteros artificiales. El propio Al-Ghaili cree que esta tecnología está lista y que podríamos ver instalaciones de este tipo en tan sólo 10 años. La comunidad científica es clara en este aspecto: "Actualmente no se dispone de la tecnología ni del conocimiento científico necesarios para desarrollar úteros artificiales capaces de incubar embriones humanos desde la concepción hasta el nacimiento". Estos diseños especulativos deben ser entendidos como escenarios imaginarios que buscan fomentar debates sobre cómo el útero artificial podría cambiar nuestra perspectiva sobre la reproducción.

5. EL CAMINO RECORRIDO

En ocasiones, existe una más que notable discrepancia entre las afirmaciones de factibilidad de una investigación y la realidad representada por el estado actual del arte. Aunque las noticias pueden sugerir la viabilidad de ciertos enfoques o tecnologías, es importante tener en cuenta que la implementación práctica y generalizada puede requerir superar desafíos técnicos, éticos y regulatorios significativos. Por lo tanto, es crucial mantener una perspectiva realista y continuar trabajando para abordar las limitaciones existentes antes de que una idea prometedora se convierta en una realidad tangible. De forma breve, en los siguientes párrafos se describirá el estado del arte en los diferentes abordajes llevados a cabo para tratar de avanzar en la ectogénesis basándonos en dos recientes revisiónes (Bulletti *et al.*, 2023; Pérez-Blanco *et al.*, 2023).

5.1. Endometrio artificial

Un endometrio artificial implica el cultivo de células endometriales epiteliales sobre una matriz tridimensional de soporte artificial. Esta técnica ha sido lograda por investigadores, como Liu, quien describió un útero artificial compuesto por células epiteliales y estromales (Liu, 2017). Varios grupos de investigación también han estudiado cultivos endometriales similares y su respuesta a las hormonas esteroideas (Tseng *et al.*, 1981; Schatz *et al.*, 1984:1994). Estas investigaciones han permitido comprender las interacciones materno-embrionarias y han utilizado embarazos ectópicos como pruebas para investigar la implantación y el desarrollo embrionario en contextos inusuales. Sin embargo, todavía existen desafíos en el cultivo de embriones post-implantación para estudiar la diferenciación y la organogénesis (Huang *et al.*, 2020). Recientemente, un estudio publicado por Aguilera-Castrejón y su equipo logró desarrollar una plataforma de cultivo eficiente para el crecimiento de embriones de ratón post-implantación hasta el undécimo día (Aguilera-Castrejón *et al.*, 2021). Aunque se han realizado cultivos exitosos de embriones humanos hasta el límite de los 14 días debido a la "regla de los 14 días" ampliamente aceptada en la bioética, se sugiere que una ampliación del periodo de cultivo po-

dría profundizar en nuestra comprensión del desarrollo fetal temprano (Morris, 2017).

5.2. Trasplante uterino

El primer caso de trasplante uterino humano (UTx) se llevó a cabo en Arabia Saudí en el año 2000, demostrando un éxito parcial con una supervivencia del injerto de 99 días (Fageeh *et al.*, 2002). Desde entonces, ha habido avances significativos en la supervivencia y funcionalidad de los injertos, culminando en el primer nacimiento vivo tras UTx de un donante vivo en Suecia en 2014 (Brännström *et al.*, 2015; Johannesson *et al.*, 2020). En estudios anteriores, el éxito se definió como la menstruación regular de las receptoras después del trasplante, con una tasa del 78% en un ensayo sueco de nueve trasplantes (Brännström *et al.*, 2014:2015). El mayor ensayo hasta la fecha es el estudio de Dallas, que ha informado de 20 UTx con 12 nacimientos (Testa *et al.*, 2020; Johannesson *et al.*, 2021a:b:c; York *et al.*, 2021). Hasta diciembre de 2021, se han publicado resultados de 62 UTx y 24 nacimientos en revistas científicas (Brännström *et al.*, 2021). Aunque hay numerosos ensayos registrados en https://clinicaltrials.gov, pocos han sido completados y han publicado resultados (Brännström *et al.*, 2018). En la última década, se han establecido programas de trasplante uterino en varios países (Brännström *et al.*, 2021; Testa *et al.* 2020), y cada vez más estudios destacan la creciente aceptación de la UTx como tratamiento potencial para mujeres con insuficiencia uterina (Jones *et al.* 2021; Brännström *et al.*, 2020a:b:c; Da Graca *et al.*, 2021). A medida que más mujeres buscan someterse a la UTx, surge un debate ético en torno al consentimiento informado de los donantes vivos y receptores de trasplantes, así como a la equidad en el acceso al procedimiento (Richards *et al.*, 2019; Ngaage *et al.*, 2020; Kristek *et al.*, 2019).

5.3. El útero perfundido extracorpóreamente

La perfusión extracorpórea de un útero humano fue descrita por primera vez en 1982 (Bulletti *et al.*, 1986), centrándose posteriormente en el metabolismo de las hormonas esteroideas (Bulletti *et al.*, 1988a) y en la conservación prolongada del tejido uterino (Bulletti *et al.*, 1987). Aunque ya en 1954 se diseñó un sistema de perfusión original (Greenberg *et al.*, 1954), no se dispone de publicaciones sobre ese documento ni sobre los dispositivos utilizados en aquel momento debido a la falta de tecnología adecuada. En 1988, se llevaron a cabo los primeros implantes de embriones humanos en un útero perfundido extracorpóreamente (Bulletti *et al.*, 1988a; 1988b), seguidos de estudios sobre la actividad miometrial (Bulletti *et al.*, 1993) y el paso uterino de hormonas radiactivas (Bulletti *et al.*, 1997). Estos experimentos demostraron la capacidad de la perfusión extracorpórea para mantener el crecimiento y la viabilidad del útero, permitiendo su funcionamiento durante hasta 4 semanas mediante oxigenación y suplementación de fluidos (Bulletti *et al.*, 1986; Partridge *et al.*, 2017a).

5.4. La placenta

El tejido placentario humano y caprino conservado mediante perfusión extracorpórea (Zapol *et al.*, 1969) se ha utilizado para estudiar el metabolismo hormonal (Guller *et al.*, 1984), como fuente de componentes para la vida fetal y para filtrar componentes maternos, incluidos agentes inmunorreactivos (Unno *et al.*, 1993). Se ha descrito que una placenta humana puede seguir suministrando nutrientes y eliminando productos de desecho si el útero artificial que rodea a un útero explantado perfundido permanece conectado a la madre (Unno *et al.*, 1993, 1998; Kozuma *et al.*, 1999; Ochiai, 2000; Westin *et al.*, 1958).

6. CONSIDERACIONES ÉTICAS

La ectogénesis y el trasplante de útero son temas que generan controversias éticas. Uno de los aspectos que suscita debate es el costo financiero de estos procedimientos. Son métodos costosos que podrían no ser necesarios si existieran alternativas más económicas y menos invasivas para lograr un embarazo exitoso. Los enfoques descritos en esta revisión podrían considerarse cuando otras opciones no están disponibles, como en casos de mujeres con anomalías uterinas graves, incluido el síndrome de Asherman, o mujeres con antecedentes de parto prematuro recurrente. Aunque la gestación subrogada puede ser una alternativa válida, es importante tener en cuenta que está prohibida en muchos países y no está disponible en algunas regiones debido a restricciones legales (Samuels, 2020). Además, la gestación subrogada puede no ser aceptable para algunas mujeres debido a consideraciones culturales, morales, religiosas o personales (Blazier y Janssens, 2020; Smietana *et al.*, 2021). En estos casos, el uso de un útero artificial podría ser la única opción para aquellas mujeres que desean tener descendencia biológica.

La ectogénesis presenta potenciales ventajas tanto para los padres como para la descendencia. Puede ser una opción

atractiva en casos de aborto electivo o cuando existe un alto riesgo de daño fetal durante el embarazo, como en situaciones de drogodependencia. La ectogénesis podría ofrecer condiciones óptimas para el desarrollo del feto, proporcionándole una temperatura, oxigenación y nutrición adecuadas en un entorno libre de toxinas. Sin embargo, la utilización de un útero artificial plantea preocupaciones éticas relacionadas con el estatus moral del embrión temprano. El debate sobre este aspecto seguirá creciendo en el futuro, ya que no existe un consenso universal sobre el estatus jurídico y moral de los embriones y fetos. Existen diferentes opiniones sobre si es apropiado brindar apoyo a embriones humanos fuera del cuerpo materno. Algunas personas creen que el embrión humano debe estar completamente protegido desde las etapas tempranas de la fecundación y consideran que la ectogénesis es éticamente inaceptable. Otras posturas más gradualistas sostienen que el estatus moral del embrión aumenta a medida que avanza el embarazo, argumentando que el embrión no tiene sensibilidad ni conciencia plenas en etapas tempranas. Las personas que mantienen este punto de vista suelen ser las que creen que se puede investigar con embriones humanos hasta el día 14 (Warnock, 1985). En cambio, aquellas personas que apoyan plenamente el derecho al aborto generalmente sostienen que el feto no posee un estatus moral y consideran que los embriones pueden ser creados de manera temporal y utilizados con fines de investigación (Bredenoord *et al.*, 2008; Steinbock, 2011; Dyer, 2012). El desacuerdo en torno al uso de tecnologías reproductivas como la ectogénesis refleja el debate actual sobre el derecho al aborto y su regulación. Es crucial prestar especial atención a la comunicación social y pública para evitar la difusión de información inexacta o errónea que pueda generar confusión y expectativas poco realistas.

7. CONCLUSIÓN

La disponibilidad de úteros artificiales para la ectogénesis aún no se ha alcanzado, y a pesar de los avances tecnológicos no parece vislumbrarse la posibilidad de lograr un embarazo completo en un futuro próximo. Actualmente, los avances científicos podrían ayudar al soporte de embarazos de 22 a 40 semanas fuera del cuerpo humano. No obstante, la consecución de úteros artificiales funcionales generaría cambios paradigmáticos en las consideraciones sociales, legales y éticas del proceso reproductivo.

8. REFERENCIAS

1. Aguilera-Castrejón A, Oldak B, Shani T, Ghanem N, Itzkovich C, Slomovich S, et al. Ex útero mouse embryogenesis from pre-gastrulation to late organogenesis. Nature. 2021;593:119-124.

2. Anderson JG, Baer RJ, Partridge JC, Kuppermann M, Franck LS, Rand L, et al. Survival and major morbidity of extremely preterm infants: a population-based study. Pediatrics 2016;138:e20154434.

3. Awad JA, Cloutier R, Fournier L, Major D, Martín L, Masson M, et al. Pumpless respiratory assistance using a membrane oxygenator as an artificial placenta: a preliminary study in newborn and preterm lambs. J Invest Surg 1995;8:21e30.

4. Barry, Rebecca Rego (2018-08-15). "Coney Island's Incubator Babies". JSTOR Daily. JSTOR.

5. Bartlett RH, Gazzaniga AB, Jefferies MR, Huxtable RF, Haiduc NJ, Fong SW. Extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) cardiopulmonary support in infancy. Trans Am Soc Artif Intern Organs 1976;22:80e93.

6. Blazier J and Janssens R. Regulating the international surrogacy market: the ethics of commercial surrogacy in the Netherlands and India. Medicine, Health Care, and Philosophy. 2020;23:621–630.

7. Blencowe H, Cousens S, Chou D, Oestergaard M, Say L, Moller AB, et al. Born Too Soon: The global epidemiology of 15 million preterm births. Reproductive Health. 2013;10:S2

8. Brännström M, Johannesson L, Bokström H, Kvarnström N, Mölne J, Dahm-Kähler P, et al. Live birth after uterus transplantation. Lancet. 2015;385:607–616.

9. Brännström M, Johannesson L, Dahm-Kähler P, Enskog A, Mölne J, Kvarnström N, et al. First clinical uterus transplantation trial: A six-month report. Fertility and Sterility. 2014:101;1228–1236.

10. Brännström M, Belfort MA, and Ayoubi JM. Uterus transplantation worldwide: Clinical activities and outcomes. Current Opinion in Organ Transplantation. 2021;26:616–626.

11. Brännström M, Kvarnström N, Dahm-Kähler P. Novel approaches in uterus transplantation. Current Opinion in Organ Transplantation. 2020;25:584–593.

12. Brännström M, Dahm Kähler P, Greite R, Mölne J, Díaz-García C, Tullius SG. Uterus transplantation: A rapidly expanding field. Transplantation. 2018;102:569–577.

13. Brännström M, Dahm-Kähler P, Ekberg J, Akouri R, Groth K, Enskog A, et al. Outcome of recipient surgery and 6 month follow-up of the Swedish live donor robotic uterus transplantation trial. Journal of Clinical Medicine. 2020;9:1–13.

14. Brännström M, Dahm-Kähler P, Kvarnström N, Akouri R, Rova K, Olausson M, et al. Live birth after robotic-assisted live donor uterus

transplantation. Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica. 2020;99:1222–1229.
15. Bredenoord AL, Pennings G, Smeets HJ, de Wert G. Dealing with uncertainties: Ethics of prenatal diagnosis and preimplantation genetic diagnosis to prevent mitochondrial disorders. Human Reproduction Update. 2008;14: 83–94.
16. Bryner B, Gray B, Perkins E, Davis R, Hoffman H, Barks J, et al. An extracorporeal artificial placenta supports extremely premature lambs for 1 week. J Pediatr Surg. 2015;50:44e9.
17. Bulletti C, de Ziegler D, Flamigni C, Giacomucci E, Polli V, Bolelli G, et al. Targeted drug delivery in gynaecology: The first uterine pass effect. Human Reproduction. 1997;12:1073–1079.
18. Bulletti, C., Jasonni, V. M., Ciotti, P. M., Tabanelli, S., Naldi, S. and Flamigni, C. Extraction of estrogens by human perfused uterus. Effects of membrane permeability and binding by serum proteins on differential influx into endometrium and myometrium. American Journal of Obstetrics and Gynecology. 1988a;159:509–515.
19. Bulletti, C., Jasonni, V. M., Lubicz, S., Flamigni, C., Gurpide, E. Extracorporeal perfusion of the human uterus. American Journal of Obstetrics and Gynecology. 1986;154:683–688.
20. Bulletti C, Jasonni VM, Martínelli G, Govoni E, Tabanelli S, Ciotti PM, et al. A 48-hour preservation of an isolated human uterus: Endometrial responses to sex steroids. Fertility and Sterility. 11997;47:122–129.
21. Bulletti C, Jasonni VM, Tabanelli S, Gianaroli L, Ciotti PM, Ferraretti AP, et al. Early human pregnancy in vitro utilizing an artificially perfused uterus. Fertility and Sterility. 1988b;49:991–996.
22. Bulletti C, Prefetto RA, Bazzocchi G, Romero R, Mimmi P, Polli V, et al. Electromechanical activities of human uteri during extra-corporeal perfusion with ovarian steroids. Human Reproduction. 1993;8:1558–1563.
23. Bulletti FM, Sciorio R, Palagiano A, Bulletti C. The artificial uterus: on the way to ectogenesis. Zygote. 2023;26:1-11.
24. Callaghan WM, MacDorman MF, Rasmussen SA, Qin C, Lackritz EM. The contribution of preterm birth to infant mortality rates in the United States. Pediatrics. 2006;118:1566e73.
25. Creasy RK, Drost M, Green MV, Morris JA. Determination of fetal, placental and neonatal blood volumes in the sheep. Circn Res 1970;27:487e94.
26. Da Graca B, Johannesson L, Testa G, Wall A. Uterus transplantation: Ethical considerations. Current Opinion in Organ Transplantation. 2021;26:664–668.
27. Dyer C. Doctors may decide that effects of a fetus's sex justify an abortion, says new BMA ethics guide. BMJ. 2012;344:e1452.
28. Eixarch E, Illa M, Fucho R, Rezaei K, Hawkins-Villarreal A, Bobillo-Pérez S, et al. An Artificial Placenta Experimental System in Sheep: Critical Issues for Successful Transition and Survival up to One Week. Biomedicines. 2023;11:702.
29. Fageeh W, Raffa H, Jabbad H, Marzouki A. Transplantation of the human uterus. International Journal of Gynecology and Obstretrics. 2002;76:245–251.
30. Fraser M. Stephane Tarnier and the origin of incubators for premature babies. Report of proceedings. Scottish Society of the History of Medicine. 1994-1996:1-2.
31. Greenberg EM. The artificial uterus and the passage of radioactive sodium through hemochorial mammalian placenta extra útero. Bulletin of the New York Academy of Medicine. 1954;30:713–714.
32. Guller S, Bulletti C, Biener A, Gurpide E. Relative distribution of estrone, estradiol and estriol between fetal and maternal perfusates during perfusions of human term placentas with labelled C19 precursors. Journal of Steroid Biochemistry. 1984;20:975–979.
33. Hornick MA, Davey MG, Partridge EA, Mejaddam AY, McGovern PE, Olive AM, et al. Umbilical Cannulation Optimizes Circuit Flows in Premature Lambs Supported by the EXTra-Uterine Environment for Neonatal Development (EXTEND): Umbilical Cannulation Optimizes Circuit Flows on EXTEND. J. Physiol. 2018;596:1575–1585.
34. Howson CP, Kinney MV, McDougall L, Lawn JE. Born Too Soon Preterm Birth Action Group. Born too soon: preterm birth matters. Reprod Health. 2013;10 Suppl 1:S1.
35. Huang Q, Cohen MA, Alsina FC, Devlin G, Garrett A, McKey J, et al. Intravital imaging of mouse embryos. Science. 2020;368:181–186.
36. Islam JY, Keller RL, Aschner JL, Hartert TV, Moore PE. Understanding the Short- and Long-Term Respiratory Outcomes of Prematurity and Bronchopulmonary Dysplasia. Am J Respir Crit Care Med. 2015;192:134-56.
37. Johannesson L, Järvholm S. Uterus transplantation: Current progress and future prospects. International Journal of Women's Health. 2016;8:43–51.
38. Johannesson L, Wall A, Tzakis A, Quintini C, Richards EG, O'Neill K, et al. Life underneath the VCA Umbrella: Perspectives from the US uterus transplant consortium. American Journal of Transplantation. 2021;21:1699–1704.
39. Johannesson L, Koon EC, Bayer J, McKenna GJ, Wall A, Fernández H, et al. Dallas uterus transplant study: Early outcomes and complications of robot-assisted hysterectomy for living uterus donors. Transplantation. 2021;105:225–230.
40. Johannesson L, Testa G, Putman JM, McKenna GJ, Koon EC, York JR, et al. Twelve live births after uterus transplantation in the Dallas uterus transplant study. Obstetrics and Gynecology. 2021;137:241–249.
41. Jones BP, Saso S, Yazbek J, Thum MY, Quiroga I, Ghaem-Maghami S, et al. Uterine transplantation: Scientific impact paper No. 65

April 2021. BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology. 2021;128:e51–e66.
42. Khulbe Y, Gupta S, Javed B, Neyazi A, Padhi BK. Artificial womb: opportunities and challenges for public health. Int J Surg. 2023;109:618-619.
43. Kozuma S, Nishina H, Unno N, Kagawa H, Kikuchi A, Fujii T, et al. Goat fetuses disconnected from the placenta, but reconnected to an artificial placenta, display intermittent breathing movements. Biology of the Neonate. 1999;75:388–397.
44. Kristek J, Johannesson L, Testa G, Chmel R, Olausson M, Kvarnström N, et al. Limited availability of deceased uterus donors: A transatlantic perspective. Transplantation. 2019;103:2449–2452.
45. Kuwabara Y, Okai T, Imanishi Y, Muronosono E, Kozuma S, Takeda S, et al. Development of extrauterine fetal incubation system using extracorporeal membrane oxygenator. Artif Organs 1987;11:224e7.
46. Kuwabara Y, Okai T, Kozuma S, Unno N, Akiba K, Shinozuka N, et al. Artificial placenta: long-term extra-uterine incubation of isolated goat fetuses. Artif Organs. 1989;13:527e31.
47. Liu S, Diao L, Huang C, Li Y, Zeng Y, Kwak-Kim JYH. The role of decidual immune cells on human pregnancy. Journal of Reproductive Immunology. 2017;124:44–53.
48. Maynes EA, Callaghan JC. A new method of oxygenation: a study of its use in respiratory support and the artificial placenta. Ann Surg. 1963;158:537e43.
49. Miura Y, Matsuda T, Funakubo A, Watanabe S, Kitanishi R, Saito M, et al. Novel modification of an artificial placenta: pumpless arteriovenous extracorporeal life support in a premature lamb model. Pediatr Res. 2012;72:490e4.
50. Miura Y, Matsuda T, Usuda H, Watanabe S, Kitanishi R, Saito M, et al. A Parallelized Pumpless Artificial Placenta System Significantly Prolonged Survival Time in a Preterm Lamb Model. Artif Organs. 2016;40:E61-8.
51. Morris SA. Human embryos cultured in vitro to 14 days. Open Biology. 2017;7:1–5.
52. Ngaage LM, Ike S, Elegbede A, Vercler CJ, Gebran S, Liang F, et al. The changing paradigm of ethics in uterus transplantation: A systematic review. Transplant International. 2020;33:260–269.
53. Ochiai K. Spectral analysis of electroencephalogram and heart rate variability in goat fetuses during extrauterine fetal incubation. Japanese Journal of Obstetrics and Gynecology. 2000;52:296A.
54. Ohuma E, Moller A-B, Bradley E. National, regional, and worldwide estimates of preterm birth in 2020, with trends from 2010: a systematic analysis. Lancet. 2023.In press.
55. Pak SC, Song CH, So GY, Jang CH, Lee KH, Kim JY. Extrauterine incubation of fetal goats applying the extracorporeal membrane oxygenation via umbilical artery and vein. J Korean Med Sci. 2002;17:663e8.
56. Partridge EA, Davey MG, Hornick MA, Flake AW. An extrauterine environment for neonatal development: Extending fetal physiology beyond the womb. Semin Fetal Neonatal Med. 2017;22:404-409.
57. Pérez-Blanco A, Seoane JA, Pallás TA, Nieto-Moro M, Calonge RN, de la Fuente A, et al. Uterus Transplantation as a Surgical Innovation. J Bioeth Inq. 2023; in press. doi: 10.1007/s11673-023-10272-5.
58. Reoma JL, Rojas A, Kim AC, Khouri JS, Boothman E, Brown K, et al. Development of an artificial placenta. I: pumpless arterio-venous extracorporeal life support in a neonatal sheep model. J Pediatr Surg. 2009;44:53e9.
59. Richards EG, Agatisa PK, Davis AC, Flyckt R, Mabel H, Falcone T, et al. Framing the diagnosis and treatment of absolute uterine factor infertility: Insights from in-depth interviews with uterus transplant trial participants. AJOB Empirical Bioethics. 2019;10:23–35.
60. Samuels, A. Surrogacy and the law: Possible reforms. Medico-Legal Journal. 2020;88:144–147.
61. Schatz F, Markiewicz L, Gurpide, E. Effects of estriol on PGF2a output by cultures of human endometrium and endometrial cells. Journal of Steroid Biochemistry. 1984;20:999–1003.
62. Schatz F, Papp C, Toth-Pal E, Cudemo V, Hausknecht V, Krikun G, et al. Protease and protease inhibitor expression during in vitro decidualization of human endometrial stromal cells. Annals of the New York Academy of Sciences. 1994;734, 33–42.
63. Schoberer M, Arens J, Erben A, Ophelders D, Jellema RK, Kramer BW, et al. Miniaturization: the clue to clinical application of the artificial placenta. Artif Organs 2014;38:208e14.
64. Silverman, W. A. Incubator-baby side shows (Dr. Martín A. Couney). Pediatrics. 1979;64:127–141.
65. Smietana M, Rudrappa S, Weis C. Moral frameworks of commercial surrogacy within the US, India and Russia. Sexual and Reproductive Health Matters. 2021;29:1–17.
66. Steinbock B. Life before birth: The moral and legal status of embryos and fetuses. 2nd edn. Oxford University Press. 2011.
67. Testa G, McKenna GJ, Bayer J, Wall A, Fernández H, Martínez E, et al. The evolution of transplantation from saving lives to fertility treatment: DUETS (Dallas uterus transplant study). Annals of Surgery. 2020;272:411–417.
68. Tseng L, Mazella J, Tseng L. Kinetic studies of human endometrial hydroxysteroid dehydrogenase. Journal of Steroid Biochemistry. 1981;14:437–442.
69. Unno N, Baba K, Kozuma S, Nishina H, Okai T, Kuwabara Y, et al. An evaluation of the system to control blood flow in maintaining goat fetuses on arterio-venous extracorporeal membrane oxyge-

nation: a novel approach to the development of an artificial placenta. Artif Organs 1997;21:1239e46.
70. Unno N, Baba K, Kozuma S, Nishina H, Okai T, Kuwabara Y, et al. Development of an artificial placenta: survival of isolated goat fetuses for three weeks with umbilical arteriovenous extracorporeal membrane oxygenation. Artif Organs 1993;17:996e1003.
71. Unno N, Kuwabara Y, Okai T, Kido K, Nakayama H, Kikuchi A. Development of an artificial placenta: Survival of isolated goat fetuses for three weeks with umbilical arteriovenous extracorporeal membrane oxygenation. Artificial Organs. 1993;17:996–1003.
72. Unno N, Kuwabara Y, Okai T, Kozuma S, Nakayama M, Takechi K. Metabolic and endocrine responses to cold exposure in chronically incubated extrauterine goat fetuses. Pediatric Research. 1998; 43:452–460.
73. Warnock, M. St. The Warnock report. British Medical Journal. 1985;291:187–190.
74. Westin B, Nyberg R, Enhörning G. A technique for perfusion of the previable human fetus. Acta Paediatrica, 1958;47:339–349.
75. Yasufuku M, Hisano K, Sakata M, Okada M. Arterio-venous extracorporeal membrane oxygenation of fetal goat incubated in artificial amniotic fluid (artificial placenta): influence on lung growth and maturation. J Pediatr Surg. 1998;33:442e8.
76. York JR, Testa G, Gunby RT, Putman JM, McKenna GJ, Koon EC, et al. Neonatal outcomes after uterus transplantation: Dallas uterus transplant study. American Journal of Perinatology. 2021;40:42–50.
77. Zapol WM, Kolobow T, Pierce JEVUREK GG, Bowman RL. Artificial placenta: Two days of total extrauterine support of the isolated premature lamb fetus. Science. 1969;166:617–618.

9. FIGURAS

Figura I. a) Exposición de la incubadora de Martín Couney en la Feria Mundial de Nueva York de 1934. b) Martín y Hildegarde Couney con un niño pequeño observan a un bebé en incubadora al cuidado de los Couney. c) Martín Couney con dos bebés pequeños. d) Exposición de incubadoras de bebés en la Feria Mundial de Seattle de 1909. e) Martín Couney, en el centro, delante de su exhibición en Coney Island. f) Exposición de incubadoras de bebés de Martín Couney en la Feria Mundial de Nueva York de 1934. Fuentes: https://allthatsinteresting.com/dr-Martín-couney y https://99percentinvisible.org/episode/the-infantorium/.

Figura II. a) Dr. Julius Hess. b) El incubador de Hess. Fuente: https://99percentinvisible.org/episode/the-infantorium/.

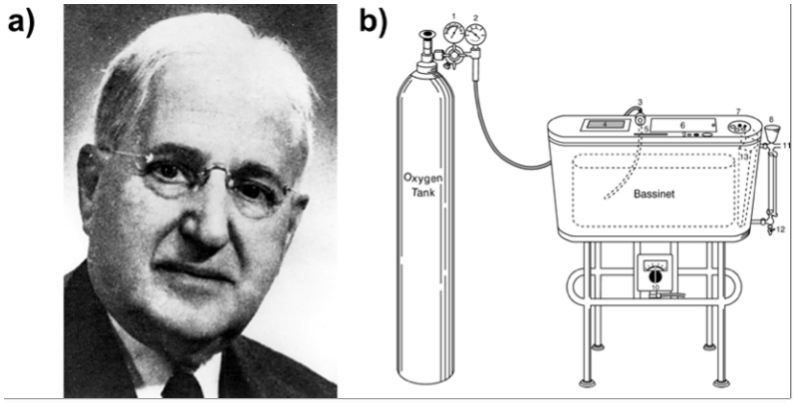


Figura III. Configuración del sistema "Biobag UA/UV". a) Circuito y componentes del sistema consistentes en un circuito oxigenador de baja resistencia sin bomba, un entorno de fluidos cerrado con intercambio continuo de fluidos y una interfaz vascular umbilical. b) Cordero representativo canulado a los 107 días de gestación y el día 4 de soporte. c) El mismo cordero el día 28 de soporte ilustrando el crecimiento somático y la maduración.

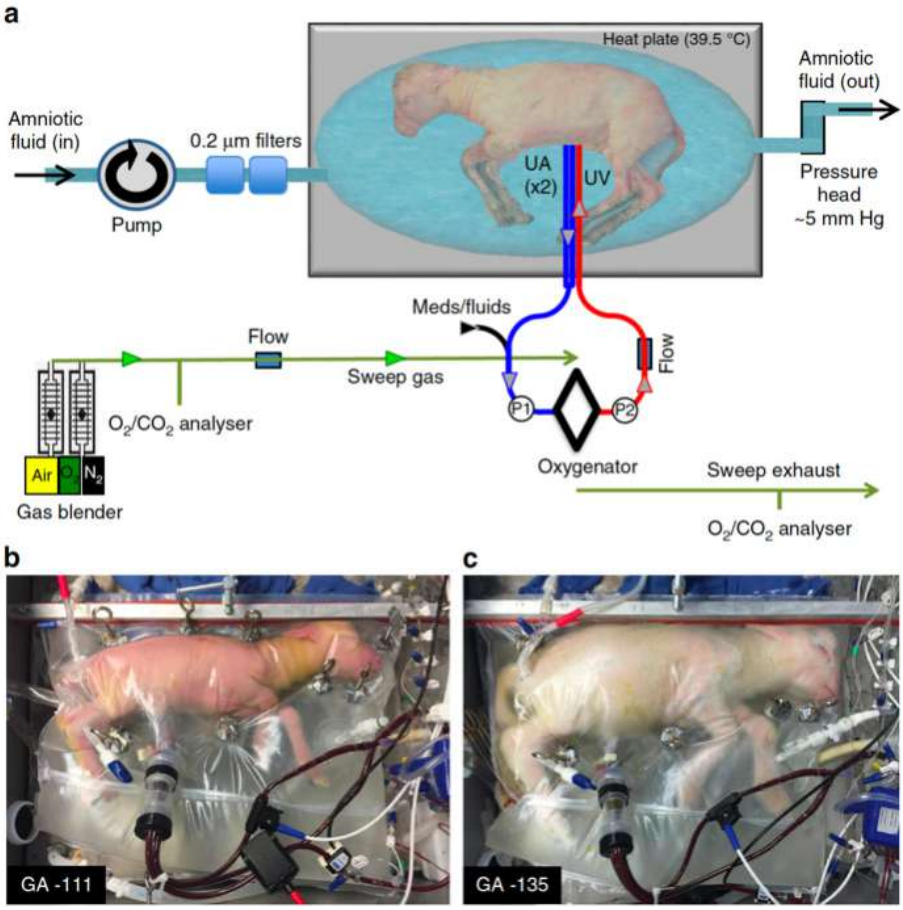
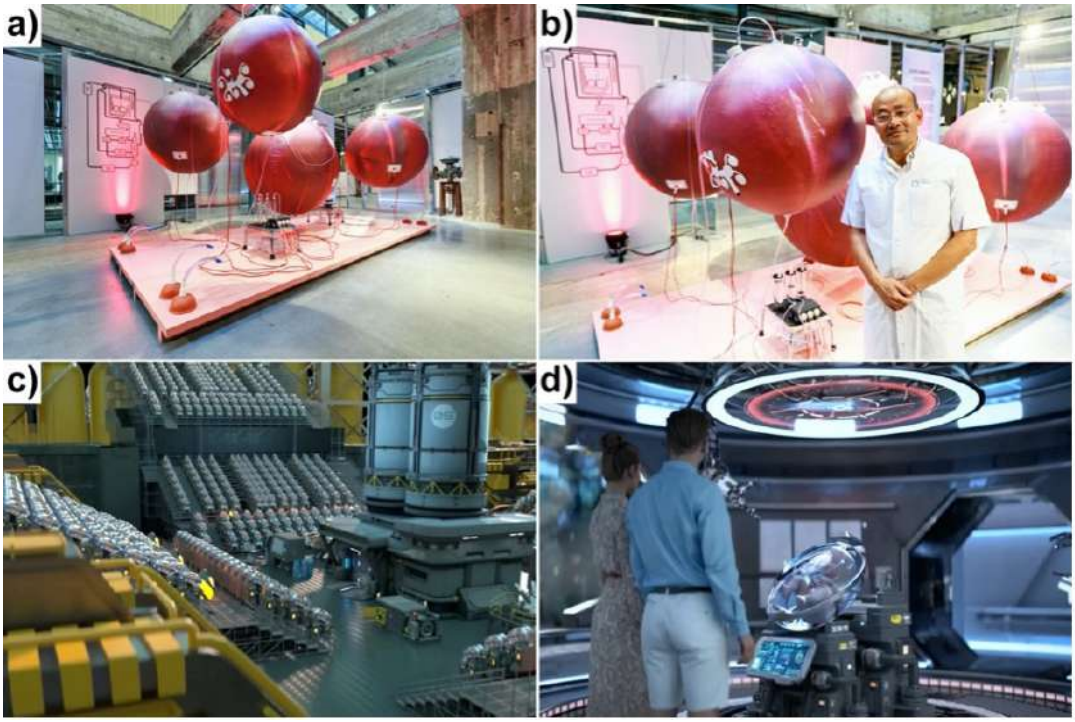


Figura IV. a) Prototipo de útero artificial presentado durante la Semana del Diseño Holandés de 2018. b) Profesor Guid Oei junto al diseño del prototipo de útero artificial. c) Escena del anuncio de la primera instalación de úteros artificiales del mundo de la empresa EctoLife. d) Detalle de un útero artificial de la empresa EctoLife.



PONENCIA 6

IMPLICACIONES EPIGENÉTICAS DE LAS TÉCNICAS DE CRIOPRESERVACIÓN CON POSIBLES EFECTOS A LARGO PLAZO

Arturo Reyes Palomares
Laboratory of Translational Fertility Preservation. Department of Oncology and Pathology
Karolinska Institutet
arturolrp@ki.se / + 34 600 00 95 10

La expansión a nivel global de los tratamientos de reproducción asistida ha llevado a contabilizar la realización de aproximadamente 3,5 millones de tratamientos al año, superándose los 10 millones de individuos nacidos desde 2022 (ESHRE ART fact sheet, 2022). En este contexto, existe una creciente necesidad de vigilar el estado de salud de los niños concebidos por TRAs a corto, medio y largo plazo. El registro sistemático de datos poblacionales en algunos países está permitiendo abordar epidemiológicamente la cuestión. Estudios recientes del norte de Europa han asociado la congelación embrionaria con un incremento de la mortalidad hasta la adolescencia y también con un mayor riesgo de desarrollar algunos tipos de cáncer (Hargreave *et al.*, 2019; Rodríguez-Wallberg *et al.*, 2020; Sargisian *et al.*, 2022). A pesar de que los riesgos totales siguen siendo bajos, la criopreservación se ha integrado en la rutina de los tratamientos de fecundación *in vitro* para maximizar las posibilidades de éxito, al criopreservar embriones biopsiados durante el diagnóstico genético preimplantacional, también para la adecuación temporal a una condición de mayor seguridad o receptividad o en los casos de los ciclos "freeze all". Bajo estas circunstancias están aumentando el éxito de los tratamientos pero también el número de niños nacidos por técnicas de congelación. Profundizar con estudios acerca del impacto de la criopreservación permitirá una mayor amplitud a valorar su seguridad pero también para, si fuera posible, abordar estrategias potencialmente más idóneas en el futuro. La alta eficiencia de la vitrificación ha sido una revolución en la medicina reproductiva; sin embargo, la aplicación de alto contenido de crioprotectores conlleva un efecto de toxicidad celular, notables cambios metabólicos y de la disposición y volumen celular. Tras desvitrificar, dependiendo de la fase de desarrollo, se restauran la progresión de la reprogramación embrionaria y los procesos biológicos implicados en la reorganización de la cromatina y la activación del genoma embrionario. Estos procesos tienen lugar en la escasa representación de células que segregarán los distintos linajes celulares durante la diferenciación y por ello se especula que puedan existir perturbaciones con consecuencias posteriores en el desarrollo de los individuos y por lo tanto también potencialmente para la salud. Recientemente hemos reportado un aumento de la incidencia de desórdenes de la *imprinting* asociados a la criopreservación embrionaria en niños nacidos por TRAs (Ye *et al.*, 2023), por ello revisaremos el posible impacto epigenético de la misma. El efecto que puedan tener estos cambios con posterioridad durante el desarrollo embrionario o en edades más tardías es incierto, igualmente se desconoce si la plasticidad del embrión en etapas de desdiferenciación tempranas puede resolver las perturbaciones emergentes y resolver su impacto posterior. Se revisará el valor del análisis del transcriptoma y de los elementos involucrados en la maquinaria de metilación en embriones de ratón criopreservados en distintos momentos del desarrollo preimplantacional, como modelo para explorar consecuencias funcionales de la crioconservación embrionaria con un posible origen epigenético o desestabilización del mantenimiento de la *imprinting*.

REFERENCIAS

1. ESHRE ART fact sheet. (January 2022). European Society of Human Reproduction and Embryology. ART fact sheet. (https://www.eshre.eu/Press-Room/Resources).

2. Hargreave, M; Jensen, A; Hansen, M. K; Dehlendorff, C; Winther, J. F; Schmiegelow, K; & Kjær, S. K. (2019). Association Between Fertility Treatment and Cancer Risk in Children. JAMA, 322(22), 2203–2210. https://doi.org/10.1001/JAMA.2019.18037

3. Rodríguez-Wallberg, K. A; Lundberg, F. E; Ekberg, S; Johansson, A. L. V; Ludvigsson, J. F; Almqvist, C; Cnattingius, S; & Iliadou, A. N. (2020). Mortality from infancy to adolescence in singleton children conceived from assisted reproductive techniques versus naturally conceived singletons in Sweden. Fertility and Sterility,

113(3), 524–532. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.10.018
4. Sargisian, N; Lannering, B; Petzold, M; Opdahl, S; Gissler, M; Pinborg, A; Henningsen, A. K. A.; Tiitinen, A; Romundstad, L. B; Spangmose, A. L; Bergh, C; & Wennerholm, U. B. (2022). Cancer in children born after frozen-thawed embryo transfer: A cohort study. PLoS Medicine, 19(9). https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PMED.1004078
5. Ye, M; Palomares, A; Iwarsson, E; Rodríguez-Wallberg, K; & Öberg, S. (2023). O-199 Imprinting disorders in singletons conceived by assisted reproductive technology in Sweden. Human Reproduction, 38 (Supplement_1). https://doi.org/10.1093/HUMREP/DEAD093.240

CONTROL EN
SALAS DE CRIOBIOLOGIA

MONITORES DE OXÍGENO Y CO2

BANDEJAS GIRATORIAS Y GUIAS DE RACKS PARA CONTENEDORES CRIOGENICOS

CONTROL DE NIVEL Y TEMPERATURA "INALÁMBRICO"

CryoGas
Equipos y servicios criogénicos

Xarol, 34B - P.I. Les Guixeres - 08915 – BADALONA I T. 933 847 116 I www.cryogas.es I cryo@cryogas.es

MESA REDONDA 1

DISCUSSION SESSION N° 1: USE OF VITRIFIED OOCYTES IN OOCYTE DONATION CYCLES: EFFICIENCY, EFFICACY AND OTHER FACTORS AFFECTING THE SUCCESS OF THE TECHNIQUE

Roberta Maggiulli
GeneraLife IVF. Roma, Italia
maggiulli@generalifeitalia.it

Rita Vassena
Fecundis Lab. Barcelona, España
rvassena@gmail.com

Recurrir a óvulos de donante es frecuente en los tratamientos de reproducción asistida, especialmente ante un factor etario avanzado. La posibilidad de criopreservar, mediante la técnica de vitrificación por enfriamiento y calentamiento ultrarrápido, los ovocitos de donante con elevadas tasas de éxito han potenciado y flexibilizado su uso. Esto ha permitido superar desafíos logísticos como la disponibilidad fenotípica específica en un momento dado, o proporcionar óvulos de donantes a clínicas externas, incluso internacionales.

En 2020 se descongelaron más de 68.000 ovocitos de donante para uso en laboratorios de España, con una tasa de supervivencia del 89%. En el 78% de los ciclos se obtuvieron embriones para criopreservar, con una media de 2,8 embriones por paciente, y casi el 40% de transferencias de embriones provenientes de ovocitos criopreservados resultaron en un parto.

A pesar de los buenos resultados, la optimización en el uso de este valioso recurso continúa siendo tema de debate vigente. En la presente mesa redonda, la Dra. Rita Vassena y la Dra. Roberta Maggiulli darán su visión sobre tres preguntas candentes sobre criopreservación de óvulos de donante.

El primer punto a abordar es el número óptimo de ovocitos a ser utilizado en un tratamiento de ovodonación, con el objetivo de obtener el parto de un recién nacido saludable. Se debe encontrar un balance entre evitar la creación de embriones supernumerarios de forma innecesaria, y obtener una tasa acumulada de éxito tras la fecundación suficientemente alta para evitar tener que realizar repetidos intentos, especialmente cuando conlleva numerosos pasos como la asignación de gametos compatibles, el matching genético y el transporte internacional.

En segundo lugar, está la cuestión del uso del historial clínico previo de resultados de una donante en específico, y/o en conjunto con herramientas basadas en la inteligencia artificial que evalúen aspectos morfológicos de los óvulos relacionados con su potencial reproductivo, para predecir el número óptimo de ovocitos, de forma individualizada, que se deben usar para una receptora. Esto puede plantear cuestiones éticas pues supone la diferenciación entre diferentes calidades de ovocitos, sin embargo, si llevase a utilizar de forma más eficiente los mismos es algo que merece consideración.

Por último, las distinguidas ponentes van a evaluar y exponer sus argumentos sobre el papel de la automatización en la criopreservación de óvulos. De producirse, podría resultar en una reducción de la variabilidad entre operarios, reducir los recursos humanos necesarios para llevarla a cabo, y potencialmente reducir los costes de estos tratamientos y hacerlos más accesibles. Sin embargo, es algo que lleva sonando desde hace varios años, y las tecnologías que han aparecido no han supuesto una mejora de la eficiencia significativa ni en términos de eficacia ni de coste.

PONENCIA 7

TESTICULAR ORGANOIDS AS MODEL FOR *IN VITRO* SPERMATOGENESIS

Ellen Goossens
Biology of the testis laboratory, Vrije Universiteit Brussel
Brussels, Belgium

For nearly a century, researchers have been trying to replicate spermatogenesis *in vitro*. Successful approaches have been developed in rodents, but these were not effective when using human testicular cells. We established testicular organoids (TOs) using 3D-bioprinted scaffolds. The 3D organoid cultures were designed to limit the area of a TO to the anatomical unit of the testis, which is a single tubule-like structure surrounded by interstitium.

Prepubertal mouse testicular cells could re-establish the compartmentalized structure of the testis, but a significant loss of germ cells was observed. Using a two-step culture approach, consisting of a re-organization and a differentiation phase, germ cell survival improved substantially and differentiation up to elongating spermatids was observed.

TOs can also be generated from human testicular cells. Although prepubertal testis tissue is the most efficient to form TOs, this tissue is very scarce. As adult human testicular cells do not re-establish the testicular architecture *in vitro*, we studied the feasibility of using testicular tissue form transwomen. The TOs consisted of the main testicular cell types: spermatogonia, Sertoli cells, peritubular myoid cells, and Leydig cells. The testicular cells showed the ability to re-assemble into TOs and to re-establish the testicular architecture. TOs from transwomen resembled those form prepubertal boys. Although germ cell differentiation in TOs still needs to be proven, this model has the potential to be used in toxicological assays.

emb grupo

ESTACIÓN DE TRABAJO DE SEGURIDAD BIOLÓGICA CLASE II Mod. MBB-IVF

Protección personal, material y del entorno.
Amplias superficies calefactadas.
Acceso remoto y alarmas (iOS y Android).
Bajo nivel de ruido y vibraciones.

LABOX

DEFEND 1050

El Defend 1050 y su tecnología NanoStrike® patentada por NOVAERUS es la solución más eficaz, rápida y segura para la desinfección y purificación continua del aire en Laboratorios de FIV.

NOVAERUS

¿QUÉ EMBRYOSCOPE ES EL MÁS INDICADO PARA SU CLÍNICA?

EmbryoScope Flex

Clínicas que quieran usar time-lapse en ciclos de estimulación suave y para pacientes con baja respuesta.

24 pacientes por incubador

144 embriones

1200 Día 5 ciclos por año

Placas de 6 pocillos etiquetadas con código QR

Ideal para pacientes con pocos embriones, o para ciclos de dosificación suave, o para pacientes malas respondedoras.

EmbryoScope 8

Clínicas que requieran una capacidad menor o deseen complementar sus instalaciones con más capacidad.

8 pacientes por incubador

128 embriones

>400 Día 5 ciclos por año

Placas de 16 pocillos etiquetadas con código QR

Ideal para clínicas que desean una solución rentable para implantar o ampliar el uso del time-lapse.

EmbryoScope+

Clínicas que desean proporcionar time-lapse como estándar de atención a más pacientes.

15 pacientes por incubador

240 embriones

>700 Día 5 ciclos por año

Placas de 16 pocillos etiquetadas con código QR

Ideal para clínicas con elevado número de ciclos y mayor número de embriones por paciente.

PONENCIA 8

EMBRIONES ALMACENADOS SIN FINES REPRODUCTIVOS: INVESTIGACIÓN Y OTROS DESTINOS

Leonor Ortega López
Vida Fertility Institute
Madrid

En España existen más de 600.000 embriones almacenados (645.695 según Registro SEF 2020), de los cuales casi la mitad ya no tienen un fin reproductivo. Este dato se conoce gracias al resultado de una encuesta realizada en colaboración con el grupo de interés de ética y buenas prácticas de la SEF en 2022, que recoge la participación voluntaria de 55 centros españoles de reproducción asistida. La participación representó aproximadamente un 18 % del total de los laboratorios de España, por lo que se percibe que el número de embriones almacenados sin fin reproductivo será, en realidad, mucho mayor (figura I).

La operativa actual en FIV está favoreciendo un incremento del número de embriones acumulados. La introducción de las estrategias freeze-all, los protocolos de PGT, la optimización de las tasas de supervivencia tras vitrificación embrionaria y el incremento de la transferencia de embrión único (60,4 % de ciclos según el último registro SEF 2020) son hechos que nos hacen prever que el número de embriones acumulados va a ir en aumento de manera considerable en los próximos años (1).

Tras el Congreso ASEBIR 2019 (Toledo), el GI de interés de Investigación Traslacional e Innovación en RHA inició un proyecto con el objetivo de acercar a los socios nuevas posibilidades y vías de trabajo con embriones sin finalidad reproductiva, en vistas de aliviar el problema de su acumulación por períodos indeterminados.

Teniendo en cuenta la situación actual, iniciamos el trabajo identificando las distintas condiciones de los embriones y evaluamos los posibles destinos, en base a la legislación.

1. CONDICIONES DE LOS EMBRIONES SIN FINALIDAD REPRODUCTIVA

Se han considerado tres condiciones por las que un embrión deja de tener un destino reproductivo:

a) Embriones sobrantes viables y donados a investigación
Son los embriones viables sobrantes de un tratamiento de reproducción asistida y que se donan a investigación, generalmente, cuando los pacientes ya han cumplido su deseo reproductivo.

b) Embriones analizados por PGT: no transferibles y posibles mosaicos
Los embriones "no transferibles" son aquellos que tras ser analizados por PGT reciben el diagnóstico de aneuploide (PGT-a), no equilibrado (PGT-SR) o alterado (PGT-m). Estos embriones suelen ser rutinariamente desechados tras conocer el resultado genético, y está recomendado que así se indique por escrito en el consentimiento informado, ya que se han dado casos en que los pacientes han reclamado sus embriones tras conocer el diagnóstico.

Al respecto de los embriones diagnosticados con un posible mosaicismo cromosómico, hay que tener en cuenta que este es un tema en continua revisión. La última recomendación del grupo de trabajo ESHRE sobre mosaicismo cromosómico (2) nombra que no es aceptable equiparar la definición de embrión aneuploide a la de embrión mosaico. Esto sitúa a los embriones mosaicos en una categoría de distinta naturaleza a los aneuploides, puesto que, en el caso de los embriones mosaicos, y a diferencia de los embriones con alteraciones cromosómicas, la transferencia sí es una de las opciones que pueden contemplar los pacientes. Dicho esto, sería posible que los pacientes por decisión propia, tras un asesoramiento genético adecuado y acorde a las recomendaciones actuales, decidan no transferir sus embriones mosaicos y destinarlos a investigación, siempre en el marco de un proyecto debidamente autorizado.

c) Embriones abandonados por parte de los progenitores
Los embriones abandonados son aquellos que pasan a dis-

posición de los centros cuando los pacientes se desentienden de ellos. En este caso, los centros pueden destinarlos a cualquiera de las opciones contempladas por la ley, entre ellas la investigación. Esto es interesante, particularmente si hablamos de aquellos embriones que no pueden donarse a otras parejas debido a ciertas restricciones legales, como por ejemplo una edad materna superior a 35 años.

2. DESTINOS DE LOS EMBRIONES SIN FINALIDAD REPRODUCTIVA

Investigación

Según la legislación vigente (Ley de Reproducción Asistida 14/2006; 3), los destinos que eluden el uso de los embriones con un fin reproductivo son dos: la investigación y el cese de conservación. Y, en base a la misma ley así como a las exigencias derivadas de la Ley 14/2007 de investigación biomédica (4), la investigación es el único destino que licita el uso y manipulación de embriones sin fin reproductivo.

Para ello será necesario disponer previamente de:

- La aprobación del proyecto de investigación por parte del comité de ética de investigación (CEI)
- La autorización por parte de la Comisión Nacional de Reproducción Humana Asistida (CNRHA)

El procedimiento de donación a investigación tiene ciertas particularidades según la condición de origen de los embriones.

En el caso de embriones viables sobrantes de un tratamiento son los propios pacientes los que asignen esta opción en el documento de consentimiento informado de su tratamiento de fecundación *in vitro*.

Cuando se solicite la donación de embriones no transferibles tras PGT es recomendable informar a los pacientes antes de iniciar el tratamiento para que consientan expresamente la donación de los embriones alterados para un proyecto de investigación autorizado. Si bien es cierto que tras el diagnóstico los pacientes podrían ser informados de la posibilidad de la donación a investigación, esta opción conlleva una carga emocional de mayor impacto negativa en los pacientes.

En el caso de los embriones abandonados, es el centro el que puede derivar los embriones al proyecto de investigación, y esta donación quedaría exenta de consentimiento si lo dicta a favor un comité de ética de la investigación.

Formación y mejora de procesos del laboratorio

En la práctica diaria nos encontramos con necesidades de formación en técnicas de RA y mejora de procesos en el laboratorio para los cuales los embriones sin fin reproductivo podrían ser un material idóneo. Sin embargo, la utilización de estos embriones con fines formativos de los embriólogos no está prevista en la normativa vigente. Por ello, el uso de embriones sin fin reproductivo para formación en técnicas de RA o mejora de procesos del laboratorio podría realizarse solo en un marco de investigación, que haya recibido la autorización correspondiente. Como se ha descrito anteriormente, para ello se requiere tener el consentimiento de los pacientes, el dictamen favorable de un CEI y la autorización de la CNRHA.

Vista la poca practicidad de este procedimiento, y en respuesta a la necesidad de realizar esta formación para embriólogos y distintas pruebas en el laboratorio para optimizar protocolos u otros procedimientos, analizamos cómo otros países contemplan de manera legal estas opciones en sus normativas.

En concreto, países como UK y Canadá contemplan estas opciones, y se refieren al uso de embriones para la formación y/o mejora de procesos como una opción posible, siempre y cuando esté debidamente consentida por los pacientes. (5, 6)

A este respecto, la SEF, desde el GI de Ética y Buenas Prácticas, ya hizo pública una propuesta en la que se considera la formación como un destino posible para embriones almacenados (7).

3. PROPUESTAS PARA INCENTIVAR LA INVESTIGACIÓN CON EMBRIONES HUMANOS

La investigación con embriones humanos en nuestro país está activa y podemos decir que contribuye de manera fundamental al avance de las técnicas de reproducción asistida, la realidad refleja un flujo muy limitado de donaciones efectivas de los embriones almacenados a investigación. En concreto, los resultados de la encuesta muestran que un 18% de los embriones son donados a investigación. No obstante, vemos que el 95% de ellos no tendrían un proyecto asignado (Figura I).

En relación a este último dato, es interesante resaltar esta incompatibilidad de nuestra práctica clínica y la legislación. En el caso de que los pacientes deseen donar los embriones a investigación deben hacerlo en el marco de la existencia de un proyecto debidamente autorizado por la CNRHA. Sin embargo, es común que en algunos centros se dé la opción de investigación "sin proyecto" a los pacientes para descargarlos de un mantenimiento económico a la espera de un proyecto específico. Esta sería pues una opción mal planteada, y solo podría hacerse efectiva si tras existir un proyecto autorizado se contacta de nuevo con los pacientes para obtener su consentimiento expreso para la donación a ese proyecto en concreto, lo cual no siempre es sencillo o incluso posible.

En un esfuerzo por convertir la "donación a investigación" en una opción más factible para nuestros pacientes y más resolutiva para todos los laboratorios de RA, nuestro GI abre dos líneas de trabajo que tenemos la oportunidad de compartir en el XII Congreso ASEBIR 2023 (Palma de Mallorca). Por un lado, hemos querido recopilar información sobre los requisitos para la tramitación de la autorización de un proyecto de investigación con embriones humanos, con la idea de elaborar un listado que de forma sencilla muestre los pasos necesarios para obtener la autorización para un proyecto. Esta sería una manera de acercar la posibilidad de la investigación a grupos con menos experiencia, y para quienes este procedimiento es desconocido y resulta complejo. La otra acción se basó en el diseño y desarrollo de un subportal en la web de ASEBIR donde se publican proyectos autorizados que necesiten embriones. En este portal podremos ver el tipo de embriones que se necesitan, y podremos contactar con el investigador principal del proyecto para coordinar su traslado. Además, tendríamos toda la documentación necesaria para la colaboración y traslado de embriones entre los dos laboratorios. A continuación se describen más detalladamente estas dos opciones:

3.1 Tramitación de la autorización para un proyecto de investigación con embriones humanos

a) Elaboración de una justificación (estado del arte)

La investigación con embriones humanos debe estar fundamentada y respaldada por una justificación de índole científica, clínica o tecnológica. Será necesario redactar un proyecto para su evaluación por el CEI y por la CNRHA, respectivamente. En el proyecto será importante describir si existen resultados previos con otros modelos animales, justificar el uso del modelo humano como el único si así se considera. También es importante que conste el número de embriones que se tiene previsto utilizar.

b) Documento de consentimiento informado

El documento de consentimiento informado es imprescindible para presentar el proyecto a evaluación por un CEI. El consentimiento debe describir de manera sencilla y comprensible el proyecto. Para facilitar la compresión, el consentimiento informado debe estar en el idioma del paciente, y evitar el uso de lenguaje demasiado técnico.

El consentimiento debe redactarse conforme a los puntos indicados en la *Guía de buenas prácticas clínicas* (ICH: E6 (R2)) tal como se describe en el punto 4.8.10. (8)

En el caso de los embriones abandonados, será necesario solicitar una exención del consentimiento informado al CEI, por la cual se prescindirá de la obtención del consentimiento dado que los progenitores no pueden ser localizados.

c) Dictamen favorable Comité de Ética de la Investigación (CEI)

Para conseguir la autorización de un proyecto por parte de la CNRHA es imprescindible obtener previamente un dictamen favorable por parte del CEI de referencia.

Las solicitudes de evaluación por los CEI son de ámbito autonómico. Es interesante comentar que en el transcurso de este proyecto hemos identificado que cada comunidad autónoma presenta unas particularidades, entre ellas, el pago o no de tasas por evaluación y sus tarifas pueden variar según comunidades, y según el CEI en una misma comunidad.

Aquí nos parece interesante reparar en la pertinencia de solicitar la evaluación de cualquier proyecto de investigación a un CEI de referencia. Si bien los proyectos que se inicien con embriones humanos serán estudios de carácter prospectivo, es importante destacar como principio general, que toda la investigación biomédica con personas, muestras biológicas humanas y datos personales la debe revisar un comité de ética, sea retrospectiva, prospectiva o cualquiera que sea su diseño metodológico. Esto es así por obligación legal, y así queda reflejado en la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica y la Ley Orgánica 3/2018 de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales.

Para visibilizar el desconocimiento generalizado de esta circunstancia nos pareció pertinente preguntar a los asociados cuántos de los trabajos presentados a este congreso habían sido evaluados por un CEI.

Se recibieron 55 respuestas a la encuesta, de un total de 208 comunicaciones enviadas (26%).

Los resultados muestran que mayoritariamente se han enviado trabajos retrospectivos que analizan resultados ya obtenidos durante los distintos tratamientos de reproducción. En concreto, 24% estudio prospectivo y 76% estudio retrospectivo. De todas las comunicaciones enviadas al congreso, solo un 35% (19/55) han sido previamente evaluadas por un CEI. Analizando por tipo de estudio podemos ver que del total de estudios prospectivos (n=13), un 62% de ellos se consultaron con el CEI y del total de estudios retrospectivos (n=42), un 26% de ellos se consultaron al CEI.

El motivo más frecuente por el que no se ha considerado consultar al CEI es pensar que no aplicaba.

AUTORIZACIÓN CNRHA

Para enviar la solicitud de autorización a la CNRHA, hemos de dirigir primero la documentación a la autoridad sanitaria autonómica que corresponda. Una vez recibida, la autoridad sanitaria acusa recibo del proyecto, y es la misma autoridad sanitaria la que envía la documentación a la CNRHA.

En los casos de comunidades autónomas con dos lenguas oficiales, se aconseja redactar el documento directamente en castellano, ya que este mismo documento se enviará a evaluación por la CNRHA (sede Madrid), y de esta manera no será necesario reescribirlo.

Los requisitos documentales están descritos en la página de la CNRHA: https://cnrha.sanidad.gob.es/documentacion/comision/pdf/v3_Check_List-3_Requisitos_PI.pdf

A continuación, facilitamos la lista de los requisitos que se solicitan al centro/unidad de reproducción por parte de la CNRHA:

1. Carta de solicitud de autorización a la CNRHA para la realización de un proyecto de investigación

- **a.** Título proyecto de investigación
- **b.** Nombre completo del investigador principal
- **c.** Centro o servicio de RHA donde se llevará a cabo

2. Dictamen favorable del comité ético de investigación clínica

3. Certificado de compromiso del investigador principal

4. Certificado de autorización de la dirección del centro o servicio de RHA donde se llevará a cabo el proyecto

5. Protocolo del proyecto de investigación (número de pacientes o donantes reclutados o, en su caso, el número de gametos o embriones necesarios)

6. Hoja de información a participantes

7. Modelo de formulario de consentimiento informado

8. Modelo de contrato entre donantes y el centro (en caso de que la investigación se realice con donantes de gametos)

9. CV investigador principal e identificación del equipo investigador (diferente del equipo que realiza las técnicas de RHA)

10. Memoria económica (ningún gasto de la investigación será sufragado por parte de los participantes del estudio)

3.2. Portal traslacional

Con el objetivo de incentivar colaboraciones, se ha habilitado en la web de ASEBIR un portal para conocer qué proyectos autorizados están en activo y requieren de la colaboración de otros centros.

Se puede acceder a través de la página del GI de Investigación traslacional e Innovación.

En este apartado encontramos un listado de proyectos en el cual veremos el Título del proyecto, el número de autorización, el nombre del Investigador Principal (IP), el email de contacto, el tipo de muestra que se solicita y una fecha límite del periodo de reclutamiento (Figura III).

Además habrá enlaces directos para descargar el resumen del proyecto y el consentimiento informado asociado al mismo.

Además, en esta sección encontraremos modelos del documento de colaboración entre centros, documento de confidencialidad y documento de traslado de embriones. Toda esta documentación la facilitará el centro investigador (centro receptor de los embriones). El gasto asociado al traslado de los embriones también correrá a cargo del centro investigador.

PONENCIA 8

OTRAS VÍAS POR EXPLORAR (FUTURAS PERSPECTIVAS DE ESTE TRABAJO)

Desde el GI de investigación seguiremos trabajando en el tema que exponemos. Las siguientes acciones probablemente impliquen dar a conocer el portal-web a centros de investigación no necesariamente vinculados a algún centro de RHA. Además, queremos evaluar el tema de las donaciones internacionales y cómo de posible es tramitar los envíos de embriones a centros extranjeros, particularmente dentro de la Unión Europea.

FIGURAS

Figura I. Resultados de la encuesta: ¿Cuál es el destino de los embriones que tenemos almacenados?.

Resultados de la Encuesta (2022)

Embriones con destino conocido	376.445	
Uso propio	173.010	
Investigación	65.457 (total)	61.990 (Sin proyecto)
Cese sin otro fin	66.968	
Donación a otras parejas	19.303 (total)	14.009 (No donables)

Figura II.

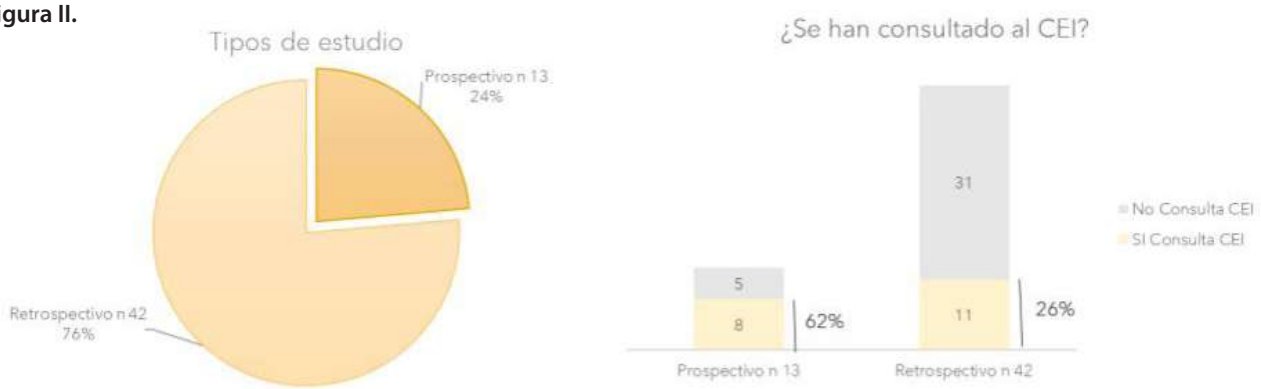


Figura II. Solicitudes de aprobación a un CEI de los trabajos enviados al Congreso ASEBIR 2023.

Figura III. Sección de listado de proyectos en la página web de ASEBIR / GI Traslacional.

Listado de proyectos

En este apartado se presenta un listado de proyectos autorizados en fase activa de reclutamiento de embriones donados a investigación.

TÍTULO	Nº AUTORIZACIÓN	IP	CONTACTO	TIPO DE MUESTRA	FECHA LÍMITE
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN TEST	2312312312	123123123	JUAN PÉREZ (LABORATORIO 1)	EMBRIONES D2/D3	13/04/2023

CONSENTIMIENTO INFORMADO
BRIEFING PROYECTO

REFERENCIAS

1. Go KJ, Romanski PA, Bortoletto P, Patel JC, Srouji SS, Ginsburg ES. Meeting the challenge of unclaimed cryopreserved embryos. Fertil Steril. 2023 Jan;119(1):15-20.

2. ESHRE Working Group on Chromosomal Mosaicism; De Rycke M, Capalbo A, Coonen E, Coticchio G, Fiorentino F, Goossens V, Mcheik S, Rubio C, Sermon K, Sfontouris I, Spits C, Vermeesch JR, Vermeulen N, Wells D, Zambelli F, Kakourou G. ESHRE survey results and good practice recommendations on managing chromosomal mosaicism. Hum Reprod Open. 2022 Nov 7;2022 (4)

3. Ley 14/2006, de 26 de mayo, sobre técnicas de reproducción humana asistida. (Referencia: BOE-A-2006-9292)

4. Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica. (Referencia: BOE-A-2007-12945)

5. Human Fertility and Embryology Autority (HFEA): Consent to treatment and storage / Consent to use of your eggs, sperm or embryos in training.

6. Government of Canada. Assisted Human Reproductive Act; Canadian Law 2004. Available at: www.laws-lois.justice.gc.ca/eng/acts/A-13.4/. Accessed February 19, 2015.

7. Propuesta para reducir la acumulación de embriones en los bancos de los centros de fertilidad. Grupo de ética y buenas prácticas de la Sociedad Española de Fertilidad (SEF). Mayo, 2022.

8. ICH Good Clinical Practice E6 (R2)

CooperSurgical®

Right embryo, right time, right environment

Our Complete genetic testing portfolio

PGT-Complete℠ test
4-in-1 genetic test
PGT-A
Parental QC
Genetic PN check
Parent of Origin of Aneuploidy

+

ER-Complete℠ test
3-in-1 endometrial analysis
Window of Implantation
Abundance of Lactobacillus
Reproductive tract pathogens

Contact your local sales representative to find out more

www.coopersurgical.com

© CooperSurgical, Inc. The trademarks used herein are the property of CooperSurgical, Inc. All rights reserved. All information correct at time of print. Specifications are subject to change without notice or obligation on the part of the manufacturer.

CooperSurgical®

PONENCIA 9

ESTRATEGIAS NO INVASIVAS PARA PGT-A

Carla Giménez[1,2], Marcos Meseguer[1,2], Lorena Bori[1,2]
[1]IVIRMA Global Research Alliance, Fundación IVI, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe (IIS La Fe), Valencia, España.
[2]IVIRMA Global Research Alliance, IVIRMA Valencia, Valencia, España.
marcos.meseguer@ivirma.com / 963 05 09 00

1. INTRODUCCIÓN

El objetivo último de las técnicas de reproducción asistida (TRA) es conseguir recién nacidos sanos (Larcher, 2007). Aunque los resultados clínicos positivos se han correlacionado en gran medida con blastocistos de buena calidad, el estado de ploidía del embrión sigue siendo una variable dentro éxito del tratamiento.

La aneuploidía es una de las principales causas de fracaso de la FIV. Embriones aneuploides provocan fallos de implantación, abortos o defectos congénitos (Scott *et al*., 2012). Por lo tanto, su detección podría aumentar la probabilidad de lograr una gestación y un recién nacido sano.

Con tal de conocer el estado cromosómico de los embriones y así mejorar los resultados de las TRA, algunos embriones son analizados antes de la transferencia a través del test genético preimplantacional para la detección de aneuploidías (PGT-A). Este análisis se realiza principalmente bajo determinadas indicaciones específicas, como mujeres de edad avanzada o pacientes con aborto espontáneo recurrente o fallo de implantación. Múltiples estudios han demostrado que los resultados clínicos mejoran significativamente cuando se utiliza PGT-A en mujeres ≥35 años (Chang *et al*., 2016; Munné *et al*., 2019).

El PGT-A es un procedimiento que permite analizar ADN embrionario mediante la extracción de algunas células del embrión a través de una biopsia, pero esto tiene algunas limitaciones (Sialakouma *et al*., 2021). La biopsia es un procedimiento altamente invasivo y conlleva riesgos de salud desconocidos en el desarrollo a largo plazo de los embriones (Middelburg *et al*., 2010; Zhang *et al*., 2016; Guzmán *et al*., 2019). De igual forma, existe una asociación inversa entre el número de células derivadas de biopsias embrionarias y la probabilidad de implantación embrionaria, especialmente en blastocistos con trofoectodermo (TE) de mala calidad (Zhang *et al*., 2016). Además, los procedimientos invasivos socavan el potencial reproductivo de los embriones. La biopsia en la etapa de escisión conduce a un desarrollo deficiente del feto (Munné *et al*., 2019), con posibles efectos adversos a largo plazo (Middelburg *et al*., 2011). Estos procedimientos además de invasivos son costosos económicamente, laboriosos, requieren mucho tiempo y exigen embriólogos altamente capacitados y equipamiento específico (Milachich *et al*., 2014).

Otro aspecto de las biopsias embrionarias es que solo se puede recolectar una pequeña porción de células de puntos específicos del embrión, un factor limitante del diagnóstico genético. Como resultado, no se puede identificar con precisión los embriones con mosaicismos que presentan heterogeneidad en el ADN, lo que puede llevar a un diagnóstico genético incorrecto (Sachdev *et al*., 2017; Taylor *et al*., 2014) a pesar de que los embriones en mosaico pueden dar a luz a bebés sanos (Li *et al*., 2021). Además, algunos investigadores han encontrado una discrepancia entre los estados cromosómicos de las células en las biopsias de TE, por lo que estas células no representan necesariamente el embrión completo (Popovic *et al*., 2019). Por todo esto, es necesario un método alternativo que evalúe el estado de ploidía de los embriones que sea menos invasivo y supla las limitaciones mencionadas.

Uno de los principales métodos de análisis no invasivo surgido en los últimos años es el estudio de los medios de cultivo en el que se encuentran los embriones. Durante el desarrollo embrionario, algunas de las células exteriores del embrión estallan liberando su contenido en el medio permitiendo analizar gran variedad de metabolitos, transcritos o incluso material genético, lo que se conoce como ADN libre de células (cfDNA). El cfDNA ha resultado ser una buena opción para

realizar un test genético preimplantacional no invasivo (niPGT) (Brouillet *et al*., 2020). Existen varios estudios que han evaluado los enfoques de PGT-A no invasivos basados en el uso de los medios de cultivo utilizados por los embriones (Assou *et al*., 2014; Shitara *et al*., 2021, Li *et al*., 2021, Kuznyetsov *et al*., 2018, Vera-Rodríguez *et al*., 2017). Una revisión reciente de 15 estudios publicados (Brouillet *et al*., 2020) mostró que la detección de ADN en medio de cultivo utilizado es un método seguro y eficaz para conocer el estado cromosómico de los embriones en desarrollo. El niPGT basado en cfDNA mostró un gran potencial para mejorar la tasa de gestación en curso y reducir los abortos espontáneos (Xu *et al*., 2016; Fang *et al*., 2019; Rubio *et al*., 2020). Sin embargo, la escala de estos ensayos clínicos fue pequeña. Además, varios estudios han detectado ADN extraembrionario en el medio de cultivo utilizado, un factor limitante importante del rendimiento diagnóstico y clínico de niPGT-A. Por lo tanto, para implementar los procedimientos de niPGT-A, se necesita tener datos concretos derivados de estudios a gran escala con metodologías comparables. Asimismo, se deben tomar precauciones para determinar con precisión el origen del ADN detectado, embrionario o no embrionario. El contenido de ADN libre analizado debería proceder en mayor medida del trofoectodermo del embrión, al ser la capa más externa de células, de la misma manera que ocurre en el PGT-A convencional.

Por otro lado, se encuentra la tecnología *time-lapse*, una técnica validada que permite que los embriones crezcan sin ser perturbados mientras se toman imágenes de forma continua (Rubio *et al*., 2014). Esta tecnología puede complementar estos nuevos enfoques no invasivos mencionados mediante el uso de la inteligencia artificial (IA).

De hecho, la llegada de los incubadores *time-lapse* y la IA ha provocado un aumento considerable de los esfuerzos por analizar el desarrollo embrionario y predecir la calidad embrionaria. Los datos de los incubadores *time-lapse* han satisfecho la necesidad de comprender mejor el desarrollo embrionario en curso y mejorar los conocimientos clínicos. Los estudios recientes sobre *time-lapse* relacionados con el *machine learning* se han centrado principalmente en la evaluación embrionaria, el estudio de la implantación y la mejora de los resultados clínicos, es decir, las tasas de embarazo y de recién nacidos vivos (Kragh *et al*., 2019; Rad *et al*., 2019).

En lo que respecta a la ploidía embrionaria, el apoyo de la IA es una dirección de investigación clave para obtener un correcto niPGT. La IA representa una alternativa valiosa para desarrollar nuevos modelos de predicción de los resultados de la PGT-A con valores de área bajo la curva (AUC) que oscilan entre 0,5 y 0,77. Sin embargo, es difícil comparar estos estudios debido a la pregunta de investigación planteada, la fuente y el tipo de datos implicados, el software analítico y los algoritmos aplicados (Paya *et al*., 2023).

Actualmente, el objetivo se encuentra en estandarizar todas estas metodologías para conseguir una herramienta PGT-A no invasiva que permita determinar el estado cromosómico de un embrión sin alterar su desarrollo. Por el momento, la IA parece ser la herramienta con los resultados más alentadores y en la que se basarán los siguientes tres estudios.

2. USO DE LA IA PARA LA PREDICCIÓN DE ANEUPLOIDÍAS

2.1. Identificación de embriones aneuploides a las 48 horas de la inseminación (ASEBIR P-006)

2.1.1. Material y métodos

En este estudio unicéntrico se utilizó un conjunto de datos retrospectivos consistente en imágenes *time-lapse* de 555 embriones con un estado cromosómico conocido (394 blastocistos aneuploides y 261 euploides). Se utilizaron imágenes obtenidas por Embryoscope (Vitrolife, Dinamarca) para medir tres características morfológicas y se construyeron varios modelos matemáticos para comparar las características entre blastocistos euploides y aneuploides con visión computacional y *machine learning*. En primer lugar, se midió la diferencia media en los valores de la escala de grises (claridad frente a oscuridad) entre fotogramas consecutivos como estimación de la actividad embrionaria. En segundo lugar, se midieron los cambios en la longitud del perímetro embrionario entre fotogramas consecutivos como estimación del mantenimiento del perímetro. Por último, se tomaron las medidas del área total en una única sección transversal del embrión entre dos fotogramas (inseminación y 48 horas después de la inseminación) como estimación del crecimiento.

2.1.2. Resultados

De los posibles valores de la escala de grises (0-255) entre fotogramas consecutivos, los embriones euploides y aneuploides mostraron una variación media similar: 2,26±0,86 frente a 2,42±1,57, respectivamente. Sin embargo, el cálculo detallado de la desviación estándar (DE) mostró que 36 embriones aneu-

ploides tenían una DE >4; mientras que ningún embrión tenía tal desviación en el grupo euploide. Así pues, se pudo evitar la biopsia embrionaria en el 9,1% de los embriones aneuploides en las primeras 24 horas de desarrollo, sin rechazar ningún embrión euploide.

La diferencia media entre fotogramas consecutivos para la longitud del perímetro fue la misma para los embriones euploides (1,42±0,99 µm) y aneuploides (1,42±1,08 µm). Sin embargo, hubo 20 embriones aneuploides con una variación superior a 3,4 µm; mientras que sólo 5 embriones mostraron tal variación en el grupo euploide. De este modo, un umbral fijado en 3,4 µm (36 horas después de la inseminación) podría evitar la biopsia del 5,1% de los embriones aneuploides.

En cuanto al área visible de la sección transversal, los embriones euploides y aneuploides no mostraron una diferencia significativa, con una media de 317±21 µm2 frente a 306±24 µm2, respectivamente. De los embriones aneuploides se encontraron 44 con un área de sección transversal inferior a 275 µm2; mientras que sólo 11 embriones euploides no superaron ese tamaño. Es decir, sería posible evitar la biopsia de un 11,2% de embriones aneuploides con un umbral de 275 µm2 a las 48 horas de la inseminación.

2.2. Validación de un algoritmo de IA para la detección de aneuploidías basado en una única foto a las 120 horas de desarrollo (ASEBIR P-012)

2.2.1. Material y métodos

Este análisis retrospectivo incluyó 664 imágenes de embriones. Los embriones se cultivaron en el sistema *time-lapse* de EmbryoScope (Vitrolife, Dinamarca). El día 5 después de la fecundación de los embriones (≈120 horas de desarrollo), se obtuvo una foto de estos con la herramienta de EmbryoViewer. A continuación, las imágenes de los embriones se clasificaron mediante un algoritmo de IA (Life Whisperer Genetics) en diferentes categorías de puntuación que iban de una probabilidad baja a alta de ser genéticamente normales (0-10). Todos los embriones se sometieron al PGT-A para analizar si eran euploides o aneuploides.

Se estudió la correlación entre la puntuación del embrión y un estado cromosómico normal o anormal. Los datos se analizaron mediante la prueba ANOVA unidireccional. Se realizó un análisis de regresión logística multivariante que incluía la puntuación embrionaria, la edad de los ovocitos y el número total de MII recuperados tras la punción. Se utilizó el área bajo la curva (AUC, por sus siglas en inglés) para calcular la evaluación del rendimiento.

2.2.2. Resultados

La comparación entre la puntuación del embrión proporcionada por el algoritmo de IA y el resultado genético realizado por el PGT mostró una asociación directa*. Los embriones con un contenido cromosómico normal obtuvieron una puntuación significativamente mayor que los anormales*. Las medias de las puntuaciones y las desviaciones estándar fueron 4,51 ± 3,01 para los embriones anormales y 6,03 ± 3,23 para los normales. Los embriones con una puntuación más alta tenían una probabilidad significativamente mayor de ser euploides*. Al dividir la puntuación del embrión en categorías, la tasa de euploidía fue del 38,30% para la puntuación <2,5, del 42,60% para la puntuación 2,5-7,5 (Odds Ratio [OR]=1,2 [0,79-1,82]), del 54,00% para la puntuación 7,5-9 (OR=1,68 [1,03-2,77] y del 75,00% para >9 (OR=3,96 [2,28-6,88]*). La contribución de cada unidad incrementada de la puntuación del algoritmo a la tasa de euploidía (OR=1,14 [IC 95%: 1,09-1,21]*) fue estadísticamente significativa. La puntuación del algoritmo de *deep learning* predijo con éxito la implantación con un AUC de 0,75 [IC del 95%: 0,72-0,79]*. *P<0,001

2.3. Validación de un modelo de IA basado en cinco módulos de calidad embrionaria

2.3.1. Material y métodos

Este estudio se basó en la extracción de características y técnicas de umbralización para distinguir entre embriones aneuploides y euploides. Consistió en un estudio unicéntrico donde se utilizaron un conjunto de datos retrospectivos consistente en imágenes *time-lapse* de 2.502 embriones con un estado de ploidía conocido para entrenar y validar un modelo de IA basado en cinco módulos. El modelo utilizó vídeos capturados mediante el incubador de *time-lapse* Embryoscope (Vitrolife, Dinamarca) desde la fecundación hasta las 144 horas de desarrollo. Se utilizaron embriones con contenido cromosómico conocido. El conjunto de datos se dividió de la siguiente manera: 70/15/15 entrenamiento-validación-prueba. El modelo de IA incluía características extraídas de redes neuronales convolucionales junto con características espaciales basadas en varias características biológicas y clínicas que se sabe que se asocian con la ploidía, el comportamiento y la función del embrión. El rendimiento se midió mediante la validación y la precisión del conjunto de pruebas.

2.3.2. Resultados

Se incluyeron cinco módulos de características en el modelo de IA para la evaluación de la ploidía. Todos los módulos se analizaron por separado y combinados: (I) la detección automatizada de patrones morfocinéticos anormales (t2-t8, tM, tSB, tB, tHB) diferenció entre las dos clases (aneuploide y euploide) para predecir la aneuploidía con una precisión del 52%, p<0. 05; (II) el algoritmo de clasificación de embriones previamente validado demostró una asociación entre los embriones de grado A y C para la evaluación de la ploidía. 05; (II) el algoritmo de clasificación de grado embrionario previamente validado demostró una asociación entre embriones de grado A y C con euploidía y aneuploidía, respectivamente, con una precisión del 68%, p<0,05; (III) la actividad de división celular diferencial y la compactación entre las dos clases predijeron la aneuploidía con una precisión del 73%, p<0,05; (IV): La clasificación basada en IA del contenido de ADN mitocondrial, medido como irregularidades de 0,5 micras en imágenes de lapso de tiempo, predijo la aneuploidía con una precisión del 77%, p<0,05; las contracciones blastocelulares de más de 8 micras de diámetro predijeron la aneuploidía con una precisión del 56%, p<0,05. Utilizando nuestro modelo de IA, fuimos capaces de integrar las 5 características, alcanzando así una precisión sin precedentes del 90%. Dos características –la detección de patrones morfocinéticos anómalos y las contracciones blastocelulares– se dan en una minoría de embriones (en el 3% y el 20% de todos los embriones de la base de datos, respectivamente). Cuando aparecen, predicen de forma independiente la aneuploidía con una precisión del 90% y el 82%, lo que demuestra la solidez de nuestro modelo de múltiples características.

3. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El PGT-A sigue siendo el método *gold-standard* para evaluar la integridad genética de un embrión antes de la transferencia. Sin embargo, su utilidad y precisión diagnóstica son objeto de debate debido a la preocupación que suscitan los daños estructurales, el sesgo en la toma de muestras y la viabilidad tras la vitrificación. Por este motivo, recientemente se han desarrollado varios métodos no invasivos para evaluar la ploidía embrionaria.

Los resultados de los tres estudios presentados en este trabajo muestran resultados prometedores donde el análisis por visión computacional fue capaz de detectar con gran precisión características invisibles para el ojo humano asociadas con la ploidía embrionaria. Mediante el primer estudio se demostró que un modelo de *machine learning* basado en características morfológicas puede discriminar una proporción sustancial de blastocistos aptos para la biopsia embrionaria. A su vez, mediante el segundo estudio, se demostró la capacidad de un nuevo algoritmo basado en IA para distinguir entre embriones euploides y aneuploides con morfología aparentemente normal con un valor predictivo de AUC de 0,75, haciendo visible como la combinación de la selección universal y los modelos automáticos podría mejorar la selección embrionaria. Finalmente, el último estudio mostró una serie de características como son el desarrollo embrionario visualmente diferente entre ambos grupos, el desarrollo más lento de embriones aneuploides, la proporción de embriones de distinta morfología entre el grupo euploide y aneuploide, la medición de los bordes celulares, la cantidad de mitocondrias y los eventos de *pumping* como características diferenciales entre ambos grupos que permitirían distinguir entre embriones euploides y aneuploides.

Estos trabajos nos demuestran que el proceso de evaluación de blastocistos euploides realmente podría llegar a automatizarse con modelos basados en redes neuronales o al menos seleccionar embriones para la transferencia en los casos en los que el PGT-A no sea una opción.

En resumen, podemos afirmar que las nuevas tecnologías cambiarán radicalmente la forma de trabajar en el ámbito médico. La implementación de la conectividad, la automatización y la estandarización van a ser importantes para conseguir una mejora continua en cualquier ámbito, incluido el campo de la reproducción asistida. Además, el Big Data, la IA y los algoritmos de *machine learning* se convertirán en una parte importante de los laboratorios de FIV para maximizar la eficiencia clínica, operativa y empresarial.

4. AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Life Whisperer y AIVFTM por la cesión de sus algoritmos de IA para esta investigación.

5. REFERENCIAS

1. Assou S, Aït-Ahmed O, El Messaoudi S, Thierry AR and Hamamah S: Non-invasive pre-implantation genetic diagnosis of X-linked disorders. Med Hypotheses 2014:83(4); 506-508

2. Brouillet S, Martínez G, Coutton C and Hamamah S: Is cell-free DNA in spent embryo culture medium an alternative to embryo

biopsy for preimplantation genetic testing? A systematic review. Reprod Biomed Online 2020;40(6); 779-796

3. Chang J, Boulet SL, Jeng G, et al. Outcomes of in vitro fertilization with preimplantation genetic diagnosis: an analysis of the United States assisted reproductive technology surveillance data, 2011-2012. Fertil Steril 2016;105:394–400

4. Fang R, Yang W, Zhao X, et al. Chromosome screening using culture medium of embryos fertilised in vitro: a pilot clinical study. J Transl Med 2019;17:73

5. Guzman L, Núñez D, López R, et al. The number of biopsied trophectoderm cells may affect pregnancy outcomes. J Assist Reprod Genet 2019;36:145–51

6. Kragh MF, Rimestad J, Berntsen J, Karstoft H. Automatic grading of human blastocysts from time-lapse imaging. Comput Biol Med. 2019:115;103494

7. Kuznyetsov V, Madjunkova S, Antes R, Abramov R, Motamedi G, Ibarrientos Z and Librach C: Evaluation of a novel noninvasive preimplantation genetic screening approach. PLoS One 2018:13(5); e0197262

8. Larcher V. The health of children conceived by assisted reproduction technologies. Arch Dis Child 2007;92(8):668–9

9. Li X, Hao Y, Chen D, Ji D, Zhu W, Zhu X, Wei Z, Cao Y, Zhang Z and Zhou P: Non-invasive preimplantation genetic testing for putative mosaic blastocysts: a pilot study. Hum Reprod 2021:36(7);2020-2034

10. Middelburg KJ, Heineman MJ, Haadsma ML, Bos AF, Kok JH and Hadders-Algra M: Neurological condition of infants born after in vitro fertilization with preimplantation genetic screening. Pediatr Res 2010:67(4);430-434

11. Middelburg KJ, van der Heide M, Houtzager B, Jongbloed-Pereboom M, Fidler V, Bos AF, Kok J, Hadders-Algra M and PGS Follow-up Study Group: Mental, psychomotor, neurologic, and behavioral outcomes of 2-year-old children born after preimplantation genetic screening: follow-up of a randomized controlled trial. Fertil Steril 2011:96(1); 165-169

12. Milachich T: New advances of preimplantation and prenatal genetic screening and noninvasive testing as a potential predictor of health status of babies. Biomed Res Int 2014:306505

13. Munné S, Kaplan B, Frattarelli JL, et al. Preimplantation genetic testing for aneuploidy versus morphology as selection criteria for single frozen-thawed embryo transfer in good-prognosis patients: a multicenter randomized clinical trial. Fertil Steril 2019;112:1071–9

14. Paya E, Pulgarín C, Bori L, Colomer A, Naranjo V, Meseguer M. Deep learning system for classification of ploidy status using time-lapse videos. F S Sci. 2023:30;S2666-335X(23)00035-6.

15. Popovic M, Dhaenens L, Taelman J, Dheedene A, Bialecka M, De Sutter P, Chuva de Sousa Lopes SM, Menten B and Heindryckx B: Extended in vitro culture of human embryos demonstrates the complex nature of diagnosing chromosomal mosaicism from a single trophectoderm biopsy. Hum Reprod 2019:34(4); 758-769

16. Rad RM, Saeedi P, Au J, Havelock J. Predicting Human Embryos' Implantation Outcome from a Single Blastocyst Image. Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc. 2019:2019;920-924

17. Rubio C, Navarro-Sánchez L, García-Pascual CM, et al. Multicenter prospective study of concordance between embryonic cell-free DNA and trophectoderm biopsies from 1301 human blastocysts. Am J Obstet Gynecol 2020;223:751 e1–51.

18. Rubio I, Galán A, Larreategui Z, Ayerdi F, Bellver J, Herrero J, Meseguer M. Clinical validation of embryo culture and selection by morphokinetic analysis: a randomized, controlled trial of the EmbryoScope. Fertil Steril 2014:5; 1287-1294

19. Sachdev NM, Maxwell SM, Besser AG and Grifo JA: Diagnosis and clinical management of embryonic mosaicism. Fertil Steril 2017: 107(1): 6-11

20. Scott RT, Ferry K, Su J, et al. Comprehensive chromosome screening is highly predictive of the reproductive potential of human embryos: a prospective, blinded, nonselection study. Fertil Steril 2012;97:870–5

21. Shitara A, Takahashi K, Goto M, Takahashi H, Iwasawa T, Onodera Y, Makino K, Miura H, Shirasawa H, Sato W, Kumazawa Y and Terada Y: Cell-free DNA in spent culture medium effectively reflects the chromosomal status of embryos following culturing beyond implantation compared to trophectoderm biopsy. PLoS One 2021:16(2); e0246438

22. Sialakouma A, Karakasiliotis I, Ntala V, Nikolettos N, Asimakopoulos B. Embryonic Cell-free DNA in Spent Culture Medium: A Non-invasive Tool for Aneuploidy Screening of the Corresponding Embryos. In Vivo 2021;35(6); 3449-3457

23. Taylor TH, Gitlin SA, Patrick JL, Crain JL, Wilson JM and Griffin DK: The origin, mechanisms, incidence and clinical consequences of chromosomal mosaicism in humans. Hum Reprod Update 2014:20(4); 571-581

24. Vera-Rodríguez M and Rubio C: Assessing the true incidence of mosaicism in preimplantation embryos. Fertil Steril 2017:107(5); 1107-1112

25. Xu J, Fang R, Chen L, et al. Noninvasive chromosome screening of human embryos by genome sequencing of embryo culture medium for in vitro fertilization. Proc Natl Acad Sci USA 2016;113:11907–12.

26. Zhang S, Luo K, Cheng D, Tan Y, Lu C, He H, Gu Y, Lu G, Gong F and Lin G: Number of biopsied trophectoderm cells is likely to affect the implantation potential of blastocysts with poor trophectoderm quality. Fertil Steril 2016:105(5); 1222-1227

MESA REDONDA 2

OPTIMIZATION OF EMBRYO CULTURE SYSTEMS: IMPORTANCE OF MINIMIZING ENVIRONMENTAL STRESSORS VIA PROPER CULTURE SYSTEM SETUP AND MANAGEMENT

Jason E. Swain
PhD, HCLD

Since the early days of embryo culture in vitro, various modifications to the culture system have been explored in attempts to optimize embryo development and increase the number of good quality embryos available for transfer. This has resulted in most labs being able to grow numerous high quality embryos, often to the blastocyst stage, and has helped lead to improved overall pregnancy rates. Certainly, the culture environment and the manipulations of the embryo during it's time in the laboratory can affect its reproductive potential. Careful selection of tools ranging from culture media to the type of incubator or dish used, as well as proper management of these instruments during their setup and application are of paramount importance. A thorough understanding of embryo physiology and the impact of lab-controlled environmental stressors such as pH, temperature and osmolality are needed. Assuring the established culture system stabilizes these parameters under the specific conditions present in the lab is required to optimize growth conditions and maximize embryo quality.

KITAZATO®

RESULTADOS DE CALIDAD
QUE CREAN VIDA

- Innovación e **investigación continua**
- **Formación a medida** a través de workshops en todo el mundo
- Acompañamiento y **asistencia técnica** de nuestros profesionales

Descubre nuestra gama de productos para todo el ciclo de FIV

www.kitazato-ivf.com

PONENCIA 10

ESTADO DE LA CUESTIÓN DE LA MADURACIÓN OVOCITARIA *IN VITRO* Y RESCATE DE VESÍCULA GERMINAL

Dra. María José Escribà Pérez
IVIRMA Global Research Alliance
IVIRMA, Valencia, Spain

Los ovocitos reproductivamente útiles o metafase II (MII) son resultado del proceso de maduración ovocitaria *in vivo* que incluye la perfecta, pero poco conocida, sincronía entre la maduración nuclear y citoplasmática.

La maduración *in vitro* (MIV) es una técnica cuyo objetivo es obtener ovocitos maduros a partir de complejos de cúmulo-ovocitos inmaduros extraídos de folículos antrales (De Vos *et al.*, 2021). La experimentación en MIV se inició por Pincus y Enzman (1935), en conejo, quienes demostraron que, los ovocitos inmaduros en estadio de vesícula germinal (VG) podían madurar espontáneamente *in vitro* y progresar hasta el estadio de MII, al extraerlos del ambiente folicular. En humanos, la MIV y su ulterior fecundación *in vitro* fue descrita por primera vez por Edwards (1965 y 1969). Sin embargo, no fue hasta la década de los 80 cuando Veeck y colaboradores reportaron la MIV en un contexto de reproducción asistida, tras estimulación ovárica con gonadotrofinas, rindiendo ovocitos maduros, competentes, capaces de dar lugar a nacidos vivos (Veeck *et al.*, 1983).

El manejo reproductivo de las pacientes de fecundación *in vitro* incluye la aplicación de protocolos de estimulación ovárica que persiguen acompañar y dar soporte hormonal a los folículos en crecimiento, variables en número de acuerdo a la condición biológica de cada mujer, culminando con la inducción de la ovulación. Hasta el uso de los agonistas de la GnRH, la ovulación era inducida, sin distinción, con la gonadotrofina coriónica humana (hCG), práctica que conllevaba el riesgo a desarrollar el síndrome de hiperestimulación ovárica, una patología con riesgo aumentado en mujeres con síndrome de ovario poliquístico (SOP) o respuesta ovárica elevada (SOP-like). En estas pacientes, las estrategias médicas centraron sus esfuerzos en un manejo reproductivo alternativo del SOP o la respuesta elevada, obviando la administración de la descarga ovulatoria exógena y extrayendo los ovocitos inmaduros de folículos crecidos con dosis bajas o en ausencia de gonadotropinas (Trounson *et al.*, 1994). En estos casos, la etapa última de maduración de los compactos complejos cúmulo-ovocito, discurre *in vitro* por periodos de 24-36 horas. Las tasas de maduración (50-70%), rinden ovocitos MII competentes en términos de fecundación y desarrollo embrionario, ofreciendo resultados clínicos comparables a los obtenidos con ovocitos madurados *in vivo*.

Con la aplicación de los protocolos de estimulación ovárica con antagonistas, un cambio en la estrategia farmacológica de inducción de la ovulación fue posible. Así, la gonadotropina coriónica fue sustituida o suplementada (en los casos de doble *trigger*) con un agonista de la GnRH, estableciéndose como estrategia clínica de estimulación de elección y en asociación a la práctica del "freeze-all". Este nuevo paradigma en el manejo reproductivo de las pacientes con riesgo de hiperestimulación ovárica, redujo la aplicación clínica de la MIV.

Adicionalmente, la MIV como tecnología reproductiva está indicada en la preservación de la fertilidad, como alternativa a la estimulación ovárica convencional cuando ésta está contraindicada, o cuando no se dispone de tiempo suficiente para ejecutar una estimulación ovárica completa antes del inicio del tratamiento gonadotóxico (ESHRE Guideline Group on Female Fertility Preservation *et al.*, 2020). La MIV es, además, especialmente relevante en la preservación de fertilidad en niñas prepúberes o adolescentes.

Aunque legalmente las técnicas de reproducción asistida son las recogidas en el anexo de la ley, la MIV es considerada una técnica coadyuvante a la aplicación de los tratamientos habituales en los casos de SOP, respuesta ovárica elevada o preservación de la fertilidad. A este respecto, en el informe estadístico sobre el registro de actividad en técnicas de reproducción asistida, publicados por la SEF y el Ministerio de Sanidad, indica que en 2019 se realizaron un total de 40 ciclos

de MIV; lográndose un 30% de gestaciones y un 20% de partos por ciclo iniciado. Así mismo, tres nacidos vivos fueron registrados. Por lo que respecta al rendimiento técnico, un total de 5,3 ovocitos inmaduros se recuperaron por paciente. Un 68% alcanzaron el estadio de MII (tasa de maduración), fueron microinyectados y rindiendo tasas de fecundación (68%) y desarrollo embrionario (37,6%) comparables a las obtenidas en ciclos estimulados con ovocitos madurados *in vivo* (68,9% y 35%, respectivamente).

Por su parte, en la legislación española, el uso clínico de la maduración *in vitro* no aparece explícitamente autorizado. La única referencia a la MIV la encontramos en la Ley 35/1988, de 22 de noviembre, sobre Técnicas de Reproducción Asistida en su artículo 14.2, donde explícitamente dice: "Se autoriza la investigación dirigida a perfeccionar las técnicas de obtención y maduración de los ovocitos, así como de crioconservación de óvulos" y 14.3: "Los gametos utilizados en investigación o experimentación no se usarán para originar preembriones con fines de procreación". Así, entendemos que el Ministerio de Sanidad acepta que esta técnica se utilice clínicamente sin que formalmente haya sido legalmente autorizada.

Los resultados derivados de la MIV en pacientes con indicación (SOP, respuesta ovárica elevada, preservación de la fertilidad) condujo a explorar y aplicar dicha técnica en otros escenarios que incluyen: mujeres con ciclos regulares y ovarios normales (Chang *et al*., 2014); pacientes infértiles que prefieren un tratamiento más corto o recuperación ovocitaria en ciclo natural. Efectivamente, Wiser *et al*. (2011) 942 ciclos de MIV, reportándose tasas de embarazo clínico variables desde el 35% al 42% en función de la edad; no observándose ningún embarazo en mujeres mayores de 40 años. En otro estudio, Fadini *et al*. (2011) incluyó mujeres con ciclos regulares, se recuperaron ovocitos para MIV y se microinyectaron. Veintiocho embarazos fueron reportados, 25 de los cuales fueron evolutivos (14%/paciente o 16,6%/transferencia embrionaria) con 30 sacos gestacionales con latidos cardíacos fetales. Así mismo, Xu *et al*. (2010) reportó casuística clínica de 323 mujeres (364 ciclos) con ciclos menstruales regulares para maduración y fecundación *in vitro*, en ciclo natural, rindiendo una tasa de embarazo clínico del 35,9%.

La MIV ha tenido también aplicación y resultado clínico en mujeres con desarrollo folicular anómalo (Hourvitz *et al*., 2010) o con folículos antrales resistentes a FSH endógena o exógena (Grynberg *et al*., 2013). No habiéndose logrado resultado positivo en ningún caso.

Finalmente hemos de considerar, con la información actualmente disponible, que no se ha observado incremento en errores de impronta tras la MIV; tampoco se han detectado diferencias en la salud de los nacidos vivos o los niños concebidos por ovocitos madurados *in vivo* o *in vitro* (Nguyen *et al*., 2022, Vuong *et al*., 2022). Por lo que se refiere a la tasas de aneuploidía, tampoco se observó incremento de acuerdo al origen *in vitro* de los ovocitos (Li *et al*., 2021). No obstante, debido a la amplia y variada condición reproductiva de las mujeres que optan a la MIV, mucha más casuística y análisis, de acuerdo a las diferentes etiologías son necesarios, antes de emitir conclusiones o dar soporte a su traslación clínica, requiriéndose de experiencia en el manejo de la foliculogénesis, así como de ciertas particularidades y experiencia en el laboratorio.

La MIV no requiere de estimulación ovárica o, si se aplicara, sería mínima. En consecuencia, el tiempo requerido, la medicación, el número de inyecciones y los controles médicos para la consecución de la estimulación son menores. Todo lo cual conlleva una menor una menor carga emocional y económica cuando la MIV se aplica en mujeres con indicación, sin merma de la eficiencia reproductiva (Braam *et al*., 2021).

Por su parte, el **rescate de ovocitos inmaduros** es un escenario diferente a la MIV; es una tecnología complementaria a los procedimientos convencionales de estimulación ovárica y fecundación *in vitro*. El rescate de ovocitos inmaduros en profase I podría aplicar a mujeres bajas respondedoras o de mal pronóstico, en las que el número de ovocitos y embriones disponibles por ciclo se vería incrementado (Braga *et al*., 2010; Escrich *et al*., 2018).

Tras la utilización de los protocolos de estimulación ovárica, la proporción de ovocitos MII que se espera recuperar depende del número total de folículos de buen tamaño, medidos el día en el que se programa la inducción de la ovulación (Abbara *et al*., 2018). Por ejemplo, cuando el diámetro del folículo es mayor o igual a 14 mm, se espera que el 70%-80% de los ovocitos recuperados estén en estadio de MII (ESHRE Special Interest Group of Embryology, 2017). En general, el 95% de las mujeres que reciben estimulación ovárica muestran más del 80% de los ovocitos en estadio

MII. El 20% restante de los ovocitos recuperados son formas inmaduras: un 11% en estadio de vesícula germinal y un 4% en metafase I.

En el 5% restante de las mujeres que llegan a punción, el número de ovocitos MII recuperados, no coincide con el esperado de acuerdo al recuento de folículos, siendo menor. Esta merma en el número de MII puede ser consecuencia de una ovulación total o parcial, o bajo rendimiento de ovocitos maduros recuperados, lo cual pudiera comprometer el éxito del ciclo, al reducir la probabilidad de obtener un embrión para *transfer*. Así, un procedimiento de FIV, comprometido por el número de MII disponibles, podría incrementarse el número de ovocitos MII de partida mediante el rescate de los ovocitos inmaduros, recuperados de ciclos estimulados y contenidos en folículos de buen tamaño, tal y como proponen varios autores (Veeck *et al*., 1983; Otsuki *et al*., 2006; Lee *et al*., 2016; Escrich *et al*., 2018; Liu *et al*., 2020).

Alrededor del 60% de los ovocitos inmaduros en estadio de profase I o vesícula germinal (VG), recuperados de ciclos estimulados, son capaces de progresar a la etapa MII en diferentes medios de cultivo y períodos de cultivo. Además, los ovocitos MII rescatados (rMII) pueden fecundarse mediante ICSI, obtener embriones competentes en el desarrollo a tasas comparables a sus ovocitos recuperados maduros, dando lugar a bebés sanos (Nagy *et al*., 1996; Escrich *et al*., 2018; Liu *et al*., 2020).

En un contexto de estudio piloto, autorizado por la CNRHA, Escrich *et al*. (2018) reportaron que el rescate de inmaduros incrementó en promedio 4 ovocitos MII rescatados (rMII). Este incremento en el número de ovocitos se tradujo en 0,8 blastocistos útiles o 0,4 blastocistos euploides por paciente, embriones adicionales a los derivados de ovocitos recuperados maduros. En 2016 y 2017, dos niños nacieron de VG rescatadas, sin reportarse efectos adversos hasta la fecha.

En síntesis, la estrategia descrita por Escrich *et al*. (2018) se basa en recuperar las VG, habitualmente desestimadas del protocolo de FIV, ofreciendo a estos óvulos inmaduros un tiempo adicional de cultivo *in vitro* que permite culminar la meiosis I, rindiendo ovocitos MII rescatados (rMII) que mostraron una competencia en el desarrollo comparable a sus óvulos hermanos, recuperados maduros (Escrich *et al*., 2018). En síntesis, la metodología de rescate de ovocitos inmaduros, es muy sencilla. Los ovocitos en estadio de vesícula germinal, libres de cúmulos, son cultivados en pocillos individuales que contienen 25 µl de medio de cultivo comercial, cubierto con 1,6 ml de aceite mineral; sin ningún suplemento. A continuación, se cultivaron en un sistema de *time-lapse* durante un período máximo de 24 horas en las condiciones de cultivo propias del laboratorio de FIV (el momento de la decumulación ovocitaria se consideró como tiempo cero). Con el escrutinio de las filmaciones, podemos describir la dinámica de la maduración nuclear particular de cada ovocito. Esta dinámica se determinó de acuerdo con el momento en que se produjo la rotura de vesícula germinal (núcleo ovocitario) y la primera extrusión del corpúsculo polar, que a su vez definieron el momento de inicio de las etapas MI y MII, respectivamente. Tras las primeras 24 horas de cultivo, se evaluó el estado de maduración de los ovocitos cultivados. Los ovocitos que hubieran progresado al estadio MII dentro de las primeras 24 horas de cultivo, se seleccionaron para su posterior fecundación con semen de la pareja o donante mediante ICSI, dentro de las siguientes 4,3 horas y cultivados según los estándares del laboratorio. Los blastocistos finalmente derivados de rMII fueron criopreservados por vitrificación para su ulterior criotransferencia en ciclo natural o sustituido.

Escrich *et al*. (2018), además de validar el empleo de los rMII para la producción de blastocistos euploides y nacidos vivos sanos como prueba de concepto, describieron que de las 17 pacientes incluidas en este estudio, 7 (41,2%) obtuvieron beneficio del rescate de VG, bien inmediato (1 paciente, 6%), bien a largo plazo (35,3%). En una de las pacientes, el ciclo fue rescatado por obtener blastocistos exclusivamente a partir de rMII, reduciendo en consecuencia la tasa de cancelación al 11,8%. Adicionalmente, en seis pacientes se obtuvo un excedente de blastocistos, derivados de rMII. En estas pacientes con beneficio a largo plazo, los blastocistos derivados de rMII sumarían efectivos embrionarios y reducirían o, en el mejor de los casos, evitarían estimulaciones y ciclos de fecundación *in vitro* subsiguientes. Estos resultados van en línea con la serie de 13 mujeres con ciclos regulares, con crecimiento folicular irregular o detenido y en las que aplicaron el rescate de inmaduros (Hatırnaz *et al*., 2018). Seis pacientes resultaron gestantes y 5 niños sanos nacieron.

En contraposición, la experiencia reportada por otros grupos, en relación a la combinación de un ciclo convencional con uno de rescate de inmaduros en mujeres con ciclos regulares

(Reichman *et al*., 2010; Yang *et al*., 2012; Álvarez *et al*., 2013; Shin *et al*., 2013) sugieren, para los ovocitos rescatados, más defectos genéticos y pobre calidad ovocitaria y embrionaria (De Vos, *et al*., 2021), un menor resultado clínico (tasa de gestación y gestación evolutiva) comparado con sus ovocitos hermanos, recuperados maduros (33,1% *vs.* 12,4% y 78% *vs.* 34%; Álvarez, *et al*., 2013); una tasa de nacido vivo por transfer menor (Yang *et al*., 2012; Reichman *et al*., 2010); o un resultado clínico nulo para aquellas cohortes puras de ovocitos rescatados (Reichman *et al*., 2010; Shin, *et al*., 2013).

Por todo ello, entendemos que la eficiencia del rescate de inmaduros es altamente dependiente de su correcta indicación. En este sentido, consecuencia lógica de aquel estudio piloto de validación clínica, actualmente hemos planteado el estudio prospectivo de investigación clínica, cuyo objetivo fundamental es valorar la posible traslación clínica de la tecnología de rescate de vesículas germinales a la práctica clínica, basada en la evidencia, evaluando qué porcentaje de pacientes obtiene beneficio de dicha estrategia, cuáles son sus características clínicas identificativas y valorar el impacto de tal beneficio.

La combinación de los procedimientos convencionales de fecundación *in vitro* y el rescate de inmaduros es claro que puede incrementar el número de ovocitos de partida, aumentando la probabilidad de obtener blastocistos y, en consecuencia, reducir el coste emocional, económico y fisiológico asociado de un nuevo ciclo completo de fecundación *in vitro*. No obstante, son necesarios ensayos preclínicos que identifiquen qué pacientes son susceptibles de obtener beneficio y en qué medida; estando regulada su aplicación en calidad de ensayo preclínico y autorizado por la administración.

REFERENCIAS

1. Abbara A, Vuong LN, Ho VNA, Clarke SA, Jeffers L, Comninos AN, et al. Follicle size on day of trigger most likely to yield a mature oocyte. Front Endocrinol. (2018) 9:193.

2. Álvarez C, García-Garrido C, Taronger R, González de Merlo G. In vitro maturation, fertilization, embryo development & clinical outcome of human metaphase-I oocytes retrieved from stimulated intracytoplasmic sperm injection cycles. The Indian Journal of Medical Research 2013;137: 331-338.

3. Braam SC, Ho VNA, Pham TD, Mol BW, van Wely M, Vuong LN. In vitro maturation versus IVF: a cost-effectiveness analysis. Reprod Biomed Online. 2021;42(1):143-149.

4. Braga DP, Figueira R de C, Ferreira RC, Pasqualotto FF, Iaconelli A, Jr., Borges E, Jr. Contribution of in vitro maturation in ovarian stimulation cycles of poor-responder patients. Reproductive biomedicine online 2010;20: 335-340.

5. Chang EM, Song HS, Lee DR, Lee WS, Yoon TK. In vitro maturation of human oocytes: Its role in infertility treatment and new possibilities. Clin Exp Reprod Med 2014;41: 41-46.

6. De Vos M, Grynberg M, Ho TM, Yuan Y, Albertini DF, Gilchrist RB. Perspectives on the development and future of oocyte IVM in clinical practice. Journal of assisted reproduction and genetics 2021;38: 1265-1280.

7. Edwards RG, Bavister BD, Steptoe PC. Early stages of fertilization in vitro of human oocytes matured in vitro. Nature. 1969 Feb 15;221(5181):632-5.

8. Edwards RG. Maturation in vitro of human ovarian oocytes. Lancet. 1965 Nov 6;2(7419):926-9.

9. Escrich L, Galiana Y, Grau N, Insua F, Soler N, Pellicer A, Escribá MJ. Do immature and mature sibling oocytes recovered from stimulated cycles have the same reproductive potential? Reprod Biomed Online. 2018 Dec;37(6):667-676.

10. ESHRE Guideline Group on Female Fertility Preservation ESHRE guideline: female fertility preservation. Hum Reprod Open. 2020 Nov 14;2020(4):hoaa052.

11. ESHRE Special Interest Group of Embryology and Alpha Scientists in Reproductive Medicine. The Vienna consensus: report of an expert meeting on the development of ART laboratory performance indicators. Reprod Biomed Online. 2017 Nov;35(5):494-510.

12. Fadini R, Comi R, Mignini Renzini M, Coticchio G, Crippa M, De Ponti E, Dal Canto M. Anti-mullerian hormone as a predictive marker for the selection of women for oocyte in vitro maturation treatment. Journal of assisted reproduction and genetics 2011;28: 501-508.

13. Grynberg M, Peltoketo H, Christin-Maître S, Poulain M, Bouchard P, Fanchin R. First birth achieved after in vitro maturation of oocytes from a woman endowed with multiple antral follicles unresponsive to follicle-stimulating hormone. J Clin Endocrinol Metab 2013;98: 4493-4498.

14. Hatırnaz Ş, Akarsu S, Hatırnaz ES, Işık AZ, Dahan MH. The use of in vitro maturation in stimulated antagonist in vitro fertilization cycles of normo-hyperresponder women due to arrested follicular development: A rescue procedure. Turkish journal of obstetrics and gynecology 2018;15: 141-146.

15. Hourvitz A, Maman E, Brengauz M, Machtinger R, Dor J. In vitro maturation for patients with repeated in vitro fertilization

failure due to "oocyte maturation abnormalities". Fertility and sterility 2010;94: 496-501.
16. Lee HJ, Barad DH, Kushnir VA, Shohat-Tal A, Lazzaroni-Tealdi E, Wu YG, Gleicher N. Rescue in vitro maturation (IVM) of immature oocytes in stimulated cycles in women with low functional ovarian reserve (LFOR). Endocrine 2016;52(1):165-171.
17. Li J, Chen J, Sun T, Zhang S, Jiao T, Chian RC, Li Y, Xu Y. Chromosome aneuploidy analysis in embryos derived from in vivo and in vitro matured human oocytes. Journal Of Translational Medicine 2021;19: 416.
18. Liu Y, Jiang H, Du X, Huang J, Wang X, Hu Y, Ni F, Liu C. Contribution of rescue in vitro maturation versus double ovarian stimulation in ovarian stimulation cycles of poor-prognosis women. Reproductive Biomedicine Online 2020;40(4):511-517
19. Nagy NG, Cecile J, Liu J, Loccufier A, Devroey P, Van Steirteghem A. Pregnancy and birth after intracytoplasmic sperm injection of in vitro matured germinal-vesicle stage oocytes: case report Fertil Steri. 1996 May;65(5):1047-50.
20. Nguyen DL, Nguyen NA, Pham TD, Nguyen MHN, Vuong LN. Development of children born after in vitro maturation with a prematuration step versus natural conception: a prospective cohort study. Journal of Assisted Reproduction And Genetics 2022.
21. Otsuki J, Momma Y, Takahashi K, Miyakura S, Nagai Y. Timed IVM followed by ICSI in a patient with immature ovarian oocytes. Reproductive Biomedicine Online 2006;13(1):101-103.
22. Pincus G, Enzmann EV. The comparative behavior of mammalian eggs in vivo and in vitro : i. The activation of ovarian eggs. .J Exp Med. 1935 Oct 31;62(5):665-75.
23. Reichman DE, Politch J, Ginsburg ES, Racowsky C. Extended in vitro maturation of immature oocytes from stimulated cycles: an analysis of fertilization potential, embryo development, and reproductive outcomes. Journal of assisted reproduction and genetics 2010;27: 347-356.
24. Shin SB, Cho JW, Lee SH, Yang KM, Lim CK, Lee HS. Fertilization and pregnancy potential of immature oocytes from stimulated intracytoplasmic sperm injection cycles. Clin Exp Reprod Med 2013;40: 7-11.
25. Trounson A, Wood C, Kausche A. In vitro maturation and the fertilization and developmental competence of oocytes recovered from untreated polycystic ovarian patients. Fertil Steril. 1994 Aug;62(2):353-62.
26. Veeck LL, Wortham JW Jr, Witmyer J, Sandow BA, Acosta AA, García JE, Jones GS, Jones HW Jr. Maturation and fertilization of morphologically immature human oocytes in a program of in vitro fertilization. Fertil Steril. 1983 May;39(5):594-602.
27. Vuong LN, Nguyen MHN, Nguyen NA, Ly TT, Tran VTT, Nguyen NT, Hoang HLT, Le XTH, Pham TD, Smitz JEJ et al. Development of children born from IVM versus IVF: 2-year follow-up of a randomized controlled trial. Human reproduction (Oxford, England) 2022;37: 1871-1879.
28. Wiser A, Son WY, Shalom-Paz E, Reinblatt SL, Tulandi T, Holzer H. How old is too old for in vitro maturation (IVM) treatment? Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2011 Dec;159(2):381-3.
29. Xu Y, Li J, Zhou G, Guo J. Clinical outcomes for various causes of infertility with natural-cycle in vitro fertilization combined with in vitro maturation of immature oocytes. Fertility and sterility 2010;94: 777-780.
30. Yang SH, Patrizio P, Yoon SH, Lim JH, Chian RC. Comparison of pregnancy outcomes in natural cycle IVF/M treatment with or without mature oocytes retrieved at time of egg collection. Systems Biology in Reproductive Medicine 2012;58: 154-159.

bizkaiko medikuen elkargoa
colegio de médicos de bizkaia
SEGURMEC
ASEGURU-ARTEKARITZA S.M.U.
CORREDURÍA DE SEGUROS S.L.U.

ASEBIR
Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción

Con el Seguro de Responsabilidad Civil Profesional de Segurmec puedes contratar un capital asegurado de hasta 1 200 000 €

Incluye coberturas específicas para nuestro colectivo tales como la Garantía de Gametos y Preembriones y la posibilidad de asegurar a las Sociedades Profesionales sin coste añadido

Llama ahora al **944 354 600** e infórmate

Teléfono exclusivo para asociadas y asociados comercializado por la Correduría de Seguros del Colegio de Médicos de Bizkaia

ASEBIR
Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción

ZURICH

Estimada asociada o asociado, Zurich te trae la oferta que te mereces.

Por estar asociada o asociado a ASEBIR,te mejoramos el precio de tus nuevos seguros y además te llevas hasta 80€* de regalo.

Vente a Zurich y empieza a ahorrar.

Infórmate

AUTO MOTO HOGAR NEGOCIO

Este correo electrónico fue enviado por: **Zurich Insurance Company Ltd**
Austrasse 46, 8045 Zurich, Suiza

*La mejora de precio será de, al menos, un 5% respecto al precio de renovación presentado a Zurich. Adicionalmente el cliente recibirá un incentivo económico adicional de hasta 80€ según el producto y modalidad contratada. El pago del incentivo económico adicional se realizará a través de una transferencia bancaria al cliente pasados 90 días desde la contratación. Promoción válida para nuevas contrataciones realizadas entre del 1 de febrero 2023 y el 30 de junio de 2023 para pólizas de Auto, Moto, Hogar y Negocios (Consulta condiciones). Los beneficios mejora de precio e incentivo económico adicional son independientes entre sí, y cada uno de ellos tiene condiciones específicas que se recogen en https://colectivos.zurich.es/promocion2023. Estos productos pertenecen a Zurich Insurance plc, Sucursal en España. El CDL de Madrid actúa como auxiliar de Aon Gil y Carvajal, S.A. Correduría de Seguros, Sociedad Unipersonal. Inscrita en el Registro Mercantil de Madrid, Hoja M-19857, Tomo 15321, Folio 133, N.I.F. A 28109247 inscrita en el Registro Especial de Sociedades de Correduría de Seguros con la clave J-107. Capacidad financiera y Seguro de Responsabilidad Civil concertado según lo previsto en la Ley 26/2006, de 17 de julio. De conformidad con lo previsto en el art. 44 de la Ley 26/2006 de 17 de julio, para cualquier reclamación en relación con los servicios de Mediación de Seguros prestados deberá dirigirse al Apartado de Correos nom. 2053 o bien a la página web www.quejasyreclamaciones.com. El corredor recomienda estos productos sobre la base del análisis objetivo previsto en la Ley de Mediación de seguros y reaseguros privados.

SEGURMEC - CORREDURÍA DE SEGUROS DEL COLEGIO DE MÉDICOS DE BIZKAIA

Nº Registro DGSFP J-1.281 Concertado Seguro de R.C. y de Caución conforme a la Ley 26/2006

LA FIABILIDAD DEL DIAGNÓSTICO GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL NO INVASIVO (NIPGT-A) NO DEPENDE DE LA TÉCNICA DE ANÁLISIS GENÉTICO

B Lledó Bosch, R Morales Sabater, JA Ortiz Salcedo, A Rodríguez Arnedo, J Ten Morro, JC Castillo Farfán, A Bernabéu García, R Bernabéu Pérez.
Instituto Bernabéu, Alicante
blledo@institutoBernabeu.com / 965 15 40 53

INTRODUCCIÓN

Las anomalías cromosómicas son muy frecuentes en los embriones humanos tal y como se observa en los resultados de PGT-A de los ciclos de FIV, por lo que la selección y transferencia de embriones euploides supondría una mejora de los resultados clínicos. Sin embargo, no se pudo observar dicho beneficio hasta que se introdujo la biopsia en estadio de blastocisto (Scott *et al*., 2013). Estudios recientes han mostrado que la biopsia de trofoectodermo no tiene un efecto negativo sobre el potencial de implantación del embrión (Cimadomo *et al*., 2018). Sin embargo, todavía hay algunos factores relacionados con la biopsia que podrían ejercer un efecto deletéreo en el embrión. Por ejemplo, el número de células biopsiadas (Zhang *et al*., 2016), el número de pulsos de láser (Montag y Morbeck, 2017) y la técnica utilizada para la recuperación de células (Herrero *et al*., 2019) podrían reducir la capacidad implantatoria del embrión. Por lo tanto, parece que podría haber un impacto en los resultados clínicos relacionados con el aumento de la manipulación del embrión. Además, existe un sobrecoste del empleo de la biopsia ya que requiere equipamiento especializado, tiempo y un equipo de embriólogos experimentados. Finalmente, en algunos países no se permite la biopsia embrionaria, por lo que las razones legales representan la principal barrera para realizar la técnica. Y en cuanto a su seguridad, se necesitan más investigaciones para evaluar los efectos a largo plazo en el desarrollo de los niños nacidos después de PGT-A (Zacchini *et al*., 2017).

Por todas estas razones, un objetivo para el PGT-A es evitar la biopsia embrionaria y reportar el *status* genético del embrión utilizando métodos no invasivos. El PGT-A no invasivo (niPGT-A) puede proporcionar un enfoque más simple, seguro y menos costoso. Además, los análisis de embriones de mala calidad, que a menudo se consideran inadecuados para la biopsia y se descartan, podrían ser analizados.

La presencia de ADN libre en el medio de cultivo embrionario supone una alternativa muy prometedora para el PGT-A. Sin embargo, el ADN libre en el medio de cultivo embrionario (SCM) está presente en cantidades muy bajas y/o degradado (Galluzzi *et al*., 2015). La baja concentración y mala integridad del ADN dificultan la realización de los test genéticos, aunque estas limitaciones pueden superarse mediante la modificación de las estrategias de amplificación y de análisis genético. Por lo tanto, la tecnología de amplificación empleada, así como la prueba genética utilizada, podrían ser claves para aumentar la fiabilidad del niPGT-A. De hecho, esto podría explicar las tasas de concordancia variables entre el niPGT-A y la biopsia de trofoectodermo reportadas en diferentes estudios (Leaver y Wells, 2020).

Hasta el momento no hay estudios publicados para evaluar la precisión del niPGT-A comparando diferentes técnicas de análisis cromosómico. El objetivo de este estudio fue comparar los resultados de niPGT-A obtenidos del mismo SCM analizado mediante dos técnicas diferentes de análisis genético cromosómico y de la biopsia de trofoectodermo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio

Se realizó un estudio de validación ciego prospectivo desde septiembre de 2018 hasta diciembre de 2019.

Incluimos 92 biopsias de TE de 29 parejas que acudieron a nuestra clínica para PGT-A (edad materna 41,3+3,4 años). Sus correspondientes medios de cultivo embrionarios (SCM) se

dividieron en dos alícuotas y se evaluaron mediante dos test genéticos cromosómicos diferentes (n=184). Para determinar la contaminación por ADN, se incluyeron controles negativos (n=8). Finalmente, para investigar las discrepancias de diagnóstico, se descongelaron embriones TE-aneuploides donados para investigación y se volvieron a analizar mediante biopsias de TE y masa celular interna (ICM) (n=18). En total se realizaron 302 análisis cromosómicos. Los resultados de las biopsias de TE se compararon a ciegas con los resultados de SCM del mismo embrión.

Este estudio fue aprobado por la Junta de Revisión del Comité Ético del Hospital Universitario de San Juan (Alicante) (18/342 Tut). Todos los pacientes incluidos firmaron consentimientos informados por escrito.

Ciclo de FIV y protocolos de laboratorio

Los protocolos de estimulación ovárica controlada fueron personalizados dependiendo de la historia clínica de cada paciente. Todos los ovocitos se fertilizaron mediante ICSI. Los embriones se cultivaron en medio continuo (Global Total LP, CooperSurgical®, EE. UU.) hasta el día 3 en microgotas de 50 µl. La eclosión asistida se realizó el día 3. Posteriormente, los embriones se lavaron tres veces y se trasladaron a 20 µl de gotas de medio global total LP hasta la biopsia del embrión. La biopsia TE se realizó el día 5 (n=53) o el día 6 (n=39) en blastocistos expandidos de buena calidad con TE grados A o B y un ICM visible utilizando un láser de diodo de 200 mW (Saturn, Research Instruments Ltd, Cornwall, Reino Unido) (Hamilton Thorne, Beverly, EE. UU.). Las células biopsiadas se transfirieron a tubos de PCR con 1 µl de PBS. El PGT-A de las biopsias de TE se realizó con Veriseq (Illumina®, San Diego, CA, EE. UU.). Los embriones se transfirieron a gotas individualizadas, en diferentes placas hasta la vitrificación (Vitrification Freeze Kit [Vit Kit® Freeze], Irvine Scientific, California, EE. UU.). Los embriones euploides según la biopsia de TE se descongelaron y transfirieron en el ciclo posterior.

Recogida del SCM y análisis cromosómicos

La recogida del SCM se realizó antes de la biopsia de trofoectodermo, una vez que el embrión se trasladó a una nueva placa para la biopsia. Se transfirieron 15 µl de medio de cada embrión a tubos de PCR. Se separaron dos alícuotas para cada técnica utilizada para los análisis cromosómicos. Como control negativo se recogió un medio de cultivo en el que no se había realizado el cultivo de embriones. Todas las muestras recogidas se congelaron inmediatamente y se almacenaron a -80 ºC hasta que se realizó el niPGT-A.

Para los análisis genéticos cromosómicos del medio de cultivo se utilizaron dos métodos: NICS (Yikon Genomics®, Beijing, China) y Veriseq (Illumina®, San Diego, CA, EE. UU.), utilizando el método MALBAC y el método Sureplex para la amplificación de todo el genoma (WGA) respectivamente. La secuenciación se realizó utilizando un secuenciador Miseq (Illumina®). Los softwares ChromoGo (Yikon Genomics®, Beijing, China) y BlueFuse Multi (Illumina®, EE. UU.) se utilizaron para los análisis cromosómicos. Los embriones se informan como mosaicos si la muestra analizada contiene entre un 25% y un 50% de células aneuploides

Blastocistos donados

Los blastocistos donados se descongelaron y se colocaron en microgotas de 20 µl de LP total global suplementado con HSA hasta la expansión completa del blastocisto. El TE y la ICM se separaron mediante pulsos de láser y se transfirieron a tubos de PCR que contenían 1 µl de PBS. Todas las muestras se congelaron inmediatamente después de la recogida y se almacenaron a - 80 ºC hasta el análisis.

Análisis estadístico

Las tasas de diagnóstico se estimaron considerando las muestras amplificadas con éxito sobre el total de muestras analizadas para biopsias TE y SCM. Al evaluar la concordancia para SCM y TE, los resultados se compararon de forma independiente a nivel cromosómico. La concordancia cromosómica completa se definió cuando los resultados del TE y el SCM eran exactamente iguales. Se denominó concordancia diagnóstica cuando los resultados de la TE-biopsia y el SCM fueron euploide-euploide o aneuploide-aneuploide en ambos tipos de muestras. Los resultados entre muestras en las que no se identificó concordancia con respecto a la composición cromosómica se clasificaron como discordantes. Para la euploidía frente a la aneuploidía, se calcularon la sensibilidad y la especificidad del valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN). Las variables categóricas se presentaron como porcentajes. La concordancia diagnóstica excluida la contaminación materna se calculó eliminando las muestras en las que se identificó dicha contaminación. Para determinar diferencias significativas entre grupos se utilizó el Chi-cuadrado de Pearson aceptando $p<0,05$ para valor significativo. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando

el software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) (versión 20.0, SPSS, Inc., Chicago, IL, EE. UU.).

RESULTADOS

A partir del SCM se obtuvo información con éxito de la ploidía (tasa informativa) del 92,4% de las muestras, independientemente del método utilizado, frente al 96,8% de las biopsias de TE (Tabla I). Una de cada tres biopsias de TE no informativas sigue siéndolo según los análisis de SCM. Realizamos comparaciones entre ambas técnicas de análisis de SCM, que mostraron un 95,2% de consistencia en el diagnóstico entre NICS y Veriseq para análisis de niPGT-A. No se pudo medir ADN en ninguna de las muestras blanco amplificadas. En cuanto a la tasa de mosaicismo, se detectó en el 14,1% de las biopsias de TE y fue mayor en SCM independientemente de la técnica utilizada: 30,4% SCM por NICS (p=0,013) y 28,3% SCM por Veriseq (p=0,031) .

En cuanto a la concordancia diagnóstica (TE euploide/SCM euploide frente a TE aneuploide/SCM aneuploide) entre cada técnica de SCM y biopsia de TE, obtuvimos un 74,6% de SCM por NICS frente a un 72,3% de SCM por Veriseq. Mediante biopsia de TE se identificaron 37 embriones normales y por ambas técnicas de SCM, 33 informativos de los cuales 23 mostraron concordancia con SCM analizados mediante NICS y 20 analizados mediante Veriseq. Las 10 y 13 muestras restantes mostraron anomalías cromosómicas (falsos positivos), dando como resultado una especificidad del 69,7% y 60,6%, respectivamente (Tabla I). De los 50 que fueron portadores de anomalías cromosómicas según la biopsia de TE, 39 de ellos presentaron anomalías con el niPGT-A por NICS y 40 por Veriseq, pero los restantes dieron como resultado un cariotipo normal con el niPGT-A (falsos negativos), resultando en una sensibilidad del 78,0% y 80,0% respectivamente (Tabla I). Los valores predictivo positivo (VPP) y predictivo negativo (VPN) del niPGT-A en la identificación de anomalías cromosómicas fueron 79,6 y 67,7 para SCM analizados por NICS y 75,5 y 66,7 para SCM analizados por Veriseq, respectivamente (Tabla I).

En general, al analizar la concordancia cromosómica completa, los resultados citogenéticos fueron exactamente iguales a los de la biopsia TE en el 45,2% de SCM por NICS y en el 41,7% de SCM por Veriseq (Tabla I). La concordancia general de autosomas entre las muestras de biopsia TE y SCM fue similar para ambas técnicas: 54,2% para SCM por NICS y 53% para SCM por Veriseq. En cuanto a los cromosomas sexuales, las tasas de concordancia fueron del 86,6% para SCM por NICS y del 79,5% para SCM por Veriseq. Además, en el 20,1% de SCM analizados por NICS y el 23,3% SCM por Veriseq los resultados fueron discordantes solo en el diagnóstico de mosaicismo. El resto de discordancias fueron: [1] parciales, en las que se diagnosticó al menos un cromosoma anormal en ambas muestras, pero se detectaron otras aneuploidías no compartidas (22,6% SCM por NICS *vs.* 23,3% SCM por Veriseq); y [2] complementarios en términos de pérdida versus ganancia de cromosomas (4,8% SCM por NICS *vs.* 3,3% SCM por Veriseq) (Tabla I). Cuando consideramos el día de la biopsia del embrión, las tasas de concordancia diagnóstica de SCM alcanzaron el 92,0% para NICS y el 86,5% para Veriseq cuando los embriones se biopsiaron el día 6 frente al 60,9% en el día 5 para ambas técnicas (p<0,05). El VPP y VPN para niPGT-A para embriones biopsiados el día 6 alcanzaron 88,9 y 100 cuando se usó NICS y 82,8 y 100 para Veriseq, respectivamente. La diferencia de VPN según el día de la biopsia embrionaria fue significativa en el SCM analizado por NICS (p<0,05) y cercana a la significación en el SCM analizado por Veriseq (p=0,062). Sin embargo, no se informaron diferencias significativas en el VPP para ambas técnicas de SCM y el día de la biopsia embrionaria. La sensibilidad en los análisis SCM realizados con ambas técnicas fue del 100% para los embriones a los que se les realizó una biopsia en el día 6 (Tabla II).

Para identificar la causa de las discrepancias, volvimos a analizar los embriones donados (TE-aneuploides). Rebiopsiamos todo el embrión dividiendo ICM y TE. Realizamos comparaciones entre el análisis SCM y el TE y la ICM. Los resultados se resumen en la Tabla III, mostrando que el 55,6% de las discrepancias se debieron a contaminación de ADN (origen materno), el 22,2% a mosaicismo embrionario, el 11,1% a baja resolución en SCM-NICS y el 11,1% a baja resolución en ambas técnicas utilizadas para el análisis genético del SCM.

Con respecto al resultado de la FIV, según los resultados de TE, hubo 37 embriones euploides entre los 92 embriones que tuvieron resultados de PGT-A. Quince de ellos fueron descongelados y transferidos, lo que resultó en 3 nacidos vivos, 3 embarazos en curso y 1 aborto espontáneo. Trece de ellos dieron resultado del niPGT-A y el resultado de la FIV se analizó según la técnica de genética cromosómica. La tasa de embarazo fue del 55,5% para TE-euploide/NICS-euploide frente a 57,1 TE-euploide/Veriseq-euploide (Tabla IV). Además, cuan-

do comparamos la tasa de embarazo en ambas técnicas en los casos en que TE y el SCM eran discordantes, no se informaron diferencias significativas. La tasa de aborto espontáneo fue del 0% para TE-euploide/NICS-aneuploide frente al 50% de TE-euploide/Veriseq-aneuploide y la tasa de embarazo en curso fue del 50% para TE-euploide/NICS-aneuploide frente al 33,3% de TE-euploide/Veriseq-aneuploide. Comparando ambos métodos para el análisis cromosómico del SCM, Veriseq parece ser más predictivo del resultado de la FIV; sin embargo, debido al bajo tamaño de la muestra, las diferencias no fueron significativas.

DISCUSIÓN

Nuestro estudio mostró por primera vez la consistencia entre dos técnicas diferentes de análisis cromosómico para niPGT-A que difieren principalmente en la técnica WGA utilizada. Ambos mostraron resultados similares en términos de VPP, VPN, sensibilidad y especificidad en comparación con PGT-A usando biopsia TE. Asimismo, las tasas de concordancia diagnóstica, completa, parcial y complementaria fueron equivalentes. Además, nuestro estudio está de acuerdo con trabajos previos que muestran tasas de concordancia más altas en los embriones biopsiados en el día 6 frente al día 5. Los análisis de discrepancias sugirieron que la contaminación materna y el mosaicismo embrionario son las principales causas que limitan la precisión del niPGT-A. Este estudio avanza hacia la optimización y mejora de la precisión del niPGT-A.

En la fecundación *in vitro*, la PGT-A mediante biopsia TE es actualmente la prueba genética más utilizada para la identificación de aneuploidías embrionarias. La presencia de ADN en los medios de cultivo de embriones (Stigliani *et al*., 2014) y también en el fluido del blastocele (Palini *et al*., 2013) ha abierto la posibilidad del niPGT-A. El empleo del medio de cultivo es menos invasivo, más simple y más seguro que la recogida del fluido del blastocele. Además, no requiere experiencia especial y, por lo tanto, puede usarse potencialmente de forma rutinaria en la práctica clínica. Otra de las ventajas de utilizar la biopsia SCM en lugar de la TE es su utilidad en la evaluación de blastocistos de mala calidad.

La concordancia entre PGT-A y niPGT-A ya ha sido reportada previamente mostrando resultados variables (Vera-Rodríguez *et al*., 2018; Ho *et al*., 2018; Xu *et al*., 2016). Además, un estudio multicéntrico reciente mostró una tasa de concordancia que oscilaba entre el 72,5% y el 86,3% entre centros sin significación estadística (Rubio *et al*., 2020). La baja concentración y la pobre integridad del ADN en el medio de cultivo están asociadas a la falta de sensibilidad de los métodos moleculares y parecen superarse con más éxito con algunas técnicas de amplificación y análisis genético que con otras. El desafío es distinguir los cambios genéticos reales del ruido que introduce la tecnología, especialmente durante el paso WGA. En nuestro estudio, comparamos el método de amplificación de ADN SurePlex™ (PicoPlex), incluido en el kit Veriseq (Illumina) con el kit MALBAC™ (Yikon Genomics) utilizado en el kit NICS (Yikon Genomics). Ambos métodos se consideran métodos casi lineales que incluyen una fase "lineal", seguida de un número limitado de ciclos de PCR que permiten un enfoque sólido para detectar la CNV. Deleye *et al*. compararon estos dos métodos de amplificación y demostraron que la amplificación SurePlex condujo a una mayor uniformidad en todo el genoma, lo que permitió una mejor detección de deleciones, duplicaciones y translocaciones desequilibradas de más de 10 Mb, con menos falsos positivos en comparación con el sistema MALBAC. Por otro lado, MALBAC proporciona una mayor sensibilidad a la contaminación (De Bourcy *et al*., 2014). Estudios previos para desarrollar niPGT-A habían utilizado estas técnicas de forma independiente (Xu *et al*.; Yeung *et al*., 2019). Hasta el momento, ningún estudio comparó la superioridad de un método sobre otro. Nuestros resultados indican que ambas técnicas mostraron tasas informativas y de consistencia similares cuando comparamos el mismo medio con el resultado de la biopsia TE.

Con respecto a la precisión del niPGT-A, la sensibilidad de los análisis del medio para ambas técnicas (78,0 para NICS y 80,0 para Veriseq) fue mayor que la especificidad (69,7 para NICS y 60,6 para Veriseq). La alta sensibilidad sugiere que el método es más eficaz para identificar embriones con anomalías cromosómicas que seleccionar embriones normales y transferibles. Por lo tanto, la transferencia de embriones euploides por niPGT-A tiene un bajo riesgo de embarazo aneuploide. Sin embargo, el descarte de embriones con aneuploidía mediante niPGT-A podría reducir los embriones disponibles para la transferencia. Por otro lado, encontramos que los análisis SCM de embriones a los que se les realizó una biopsia el día 6 tienen una mayor sensibilidad que aquellos a los que se les realizó una biopsia el día 5, independientemente de la técnica utilizada para los análisis genéticos. Esto podría estar directamente asociado al mayor tiempo durante el cual el embrión

podría liberar ADN al medio. Además, la concordancia diagnóstica entre los análisis SCM y la biopsia TE fue mayor en los embriones biopsiados el día 6 que en el día 5. Nuestro resultado concuerda con estudios previos que reportaron mejores resultados al analizar SCM de etapas posteriores del desarrollo embrionario (Lane *et al*., 2017; Rubio *et al*., 2019; Babariya *et al*., 2019).

Con el objetivo de identificar la causa de las discordancias diagnósticas, realizamos NGS en 9 embriones TE-aneuploides donados para confirmar los resultados discordantes entre TE y SCM. Al usar el embrión completo para realizar una nueva biopsia del TE y una biopsia de la ICM, encontramos que solo 1 de los 9 embriones (37,5%) tuvo resultados inconsistentes a través de varias localizaciones de biopsia dentro del mismo embrión. El diagnóstico de biopsia de TE fue una aneuploidía segmentaria y se ha reportado que la tasa de concordancia entre ICM y TE en embriones diagnosticados con aneuploidías segmentarias es menor que para aneuploidías completas (Victor *et al*., 2019). A partir de estos datos, observamos que los falsos negativos podrían deberse a la contaminación materna de las células del cúmulo y al mosaicismo del embrión. Por lo tanto, la tasa de falsos negativos podría reducirse aún más eliminando cuidadosamente todas las células del cúmulo antes del cultivo embrionario. Además, el cambio del medio de cultivo y los lavados adicionales de embriones pueden disminuir la probabilidad de contaminación debido a las células del cúmulo restantes. La contaminación materna se correlacionaría con valores de sensibilidad disminuidos. Por otro lado, los falsos positivos se deben, muy probablemente, al mosaicismo embrionario.

Por último, comparamos el resultado clínico retrospectivamente según los resultados del SCM en un grupo de pacientes después de la transferencia realizada según los resultados de la biopsia TE. Las tasas de embarazo evolutivo fueron más altas cuando tanto TE como SCM eran euploides usando Veriseq como técnica para el análisis del SCM, lo que sugiere que Veriseq podría tener un mayor valor pronóstico del resultado de FIV que NICS; sin embargo, debido al pequeño tamaño muestral, se necesita más estudios.

En conclusión, las tasas de diagnóstico y concordancia son similares entre las técnicas genéticas utilizadas para el niPGTA, lo que sugiere discordancias que pueden deberse al mosaicismo embrionario o a la contaminación del ADN en lugar de limitaciones técnicas. La optimización de las condiciones de cultivo y la recuperación del medio podrían mejorar la fiabilidad del niPGTA. Se necesitan más estudios con nuevos enfoques para minimizar la contaminación del ADN materno y valorar el efecto del mosaicismo embrionario.

PERSPECTIVAS FUTURAS

En estos últimos años se han publicado diferentes trabajos cuyo objetivo ha sido evaluar las tasas de concordancia entre el PGTA y el niPGTA y así obtener mayor información sobre la fiabilidad diagnóstica. Sin embargo, en relación a los datos clínicos y al beneficio de la selección embrionaria empleando el niPGTA los resultados son escasos (Lledó *et al.* 2023).
Ante esta ausencia de evidencia planteamos realizar un estudio que pretende demostrar que existe asociación entre las tasas de embarazo mediante la transferencia de embriones con presencia/ausencia de aneuploidías analizados a través del niPGTA, pudiendo ser útil como técnica de selección embrionaria posteriormente si se demostrase.
Para alcanzar este objetivo, se está realizando un estudio observacional longitudinal de cohortes prospectivo de no selección donde se analizan y comparan los resultados de niPGTA entre embriones que implantan y no implantan, así como aquellos que dan lugar a un embarazo evolutivo. Se estimó un tamaño muestral de 164 medios de cultivo analizados. En la actualidad nos encontramos en el 80% del reclutamiento de los pacientes, finalizando el estudio en los próximos meses. Corroborar nuestra hipótesis permitirá concluir que los embriones con presencia de aneuploidías identificadas mediante niPGTA dan lugar a peores resultados clínicos que aquellos con ausencia de aneuploidías.

REFERENCIAS

1. Babariya D, Leaver M, Wells D. 2019. Divining the genetic status of embryos: consult the medium? Fertil Steril. 112, 471-473.
2. Cimadomo, D; Capalbo, A; Levi-Setti, P.E; Soscia, D; Orlando, G; Albani, E; Parini, V; Stoppa, M; Dovere, L; Tacconi, L; Ievoli, E; Maggiulli, R; Ubaldi, F.M; Rienzi, L. Associations of blastocyst features, trophectoderm biopsy and other laboratory practice with post-warming behavior and implantation. Hum. Reprod. 2018; 33: 1992–2001
3. De Bourcy CF, De Vlaminck I, Kanbar JN, Wang J, Gawad C, Quake SR. 2014. A quantitative comparison of single-cell whole genome amplification methods. PLoS One. 19, e105585.

4. Deleye L, De Coninck D, Christodoulou C, Sante T, Dheedene A, Heindryckx B, Van den Abbeel E, De Sutter P, Menten B, Deforce D, Van Nieuwerburgh F. 2015. Whole genome amplification with SurePlex results in better copy number alteration detection using sequencing data compared to the MALBAC method. Sci Rep. 5, 11711.

5. Galluzzi, L; Palini, S; Stefani, S; Andreoni, F; Primiterra, M; Diotallevi, A; Bulletti, C; Magnani, M. Extracellular embryo genomic DNA and its potential for genotyping applications. Future Sci. OA 2015; 1: FSO62

6. Herrero, L; Cascales, L; Ortiz, J.A; Aparicio, M; Ten, J., and Bernabéu, R. 2019. Does the trophectoderm biopsy technique, pulling or flicking, affects the diagnostic rate, mosaic rate or transferability rate displayed by the genetic analysis in PGT-A cycles? Oral presentation at European Society of Human Reproduction and Embryology. (Vienna, Austria); June 23-26, 2019.

7. Ho JR, Arrach N, Rhodes-Long K, Ahmady A, Ingles S, Chung K, Bendikson K, Paulson R, McGinnis L. 2018. Pushing the limits of detection: investigation of cell-free DNA for aneuploidy screening in embryos. Fertil Steril. 110, 467–75 e2.

8. Lane M, Zander-Fox DL, Hamlton H, Jasper MJ, Hodgson BL, Fraser M, Bell F. 2017. Ability to detect aneuploidy from cell free DNA collected from media is dependent on the stage of development of the embryo. Fertil Steril.108, e61.

9. Leaver, M; Wells, D. Non-invasive preimplantation genetic testing (niPGT): the next revolution in reproductive genetics? Hum. Reprod. Update 2020; 26: 16–42.

10. Lledó, B; Morales, R; Antonio Ortiz, J; Bernabéu, A., & Bernabéu, R. (2023). Noninvasive preimplantation genetic testing using the embryo spent culture medium: an update. Current opinion in obstetrics & gynecology, 10.1097/GCO.0000000000000881. Advance online publication.

11. Motang, M.H.M; Morbeck, D.E. 2017 Principles of IVF Laboratory Practice: Optimizing Performance and Outcomes. Cambridge University Press Cambridge, UK.

Palini S, Galluzzi L, De Stegani S, Bianchi M, Wells D, Magnani M, Bulletti C. 2013. Genomics DNA in human blastocoele fluid. Reprod Biomed Online. 26, 603-610.

12. Rubio C, Navarro-Sánchez L, García-Pascual CM, Ocali O, Cimadomo D, Venier W, Barroso G, Kopcow L, Bahçeci M, Iuri Roos Kulmann M, López L, De la Fuente E, Navarro R, Valbuena D, Sakkas D, Rienzi L, Simón C. 2020. Multicenter prospective study of concordance between embryo cell-free DNA and trophectoderm biopsies from 1,301 human blastocysts. Am J Obstet Gynecol. S0002-9378: 30520-2.

13. Rubio C, Rienzi L, Navarro-Sánchez L, Cimadomo D, García-Pascual CM, Albricci L, Soscia D, Valbuena D, Capalbo A, Ubaldi F, Simón C. 2019. Embryonic cell-free DNA versus trophectoderm biopsy for aneuploidy testing: concordance rate and clinical implications. Fertil Steril. 112, 510-519.

14. Scott, R.T. Jr; Upham, K.M; Forman, E.J; Zhao, T; Treff, N.R. Cleavage-stage biopsy significantly impairs human embryonic implantation potential while blastocyst biopsy does not: a randomized and paired clinical trial. Fertility and Sterility 2013; 100: 624–630.

15. Stigliani S, Persico L, Lagazio C, Anserini P, Venturini PL, Scaruffi P. 2014. Mitochondrial DNA in Day 3 embryo culture medium is a novel, non-invasive biomarker of blastocyst potential and implantation outcome. Mol Hum Reprod. 20, 1238-46.

16. Vera-Rodríguez M, Díez-Juan A, Jiménez-Almazán J, Martínez S, Navarro R, Peinado V, Mercader A, Meseguer M, Blesa D, Moreno I, Valbuena D, Rubio C, Simón C. 2018. Origin and composition of cell-freeDNA in spent medium from human embryo culture during preim-plantation development. Hum Reprod. 33, 745–5.

17. Victor AR, Griffin DK, Brake AJ, Tyndall JC, Murphy AE, Lepkowsky LT, Lal A, Zouves CG, Barnes FL, McCoy RC, Viotti M. 2019. Assessment of aneuploidy concordance between clinical trophectoderm biopsy and blastocyst. Hum Reprod.34, 181-192.

18. Xu J, Fang R, Chen L, Chen D, Xiao JP, Yang W, Wang H, Song X, Ma T, Bo S, Shi C, Ren J, Huang L, Cai LY, Yao B, Xie XS, Lu S. 2016. Noninvasive chromosome screening of human embryos by genome sequencing of embryo culture medium for in vitro fertilization. Proc Natl Acad Sci U S A. 113, 11907-11912.

19. Yeung QSY, Zhang YX, Chung JPW, Lui WT, Kwok YKY, Gui B, Kong GWS, Cao Y, Li TC, Choy KW. 2019. A prospective study of non-invasive preimplantation genetic testing for aneuploidies (NiPGT-A) using next-generation sequencing (NGS) on spent culture media (SCM). J Assist Reprod Genet. 36, 1609-1621.

20. Zhang, S; Luo, K; Cheng, D; Tan, Y; Lu, C; He, H; Gu, Y; Lu, G; Gong, F; Lin, G. Number of biopsied trophectoderm cells is likely to affect the implantation potential of blastocysts with poor trophectoderm quality. Fertil. Steril. 2016; 105: 1222–1227.

21. Zacchini, F; Arena, R; Abramik, A; Ptak, G.E. Embryo biopsy and development: the known and the unknown. Reproduction (Cambridge, England) 2017; 154: R143–R148.

TABLAS

Tabla I. Comparación de la precisión de niPGTA usando NICS-YIKON o Veriseq-ILLUMINA versus TE-biopsia para PGT-A.

	niPGTA-NICS (n=92)	niPGTA-Veriseq (n=92)
Tasa de informatividad (%)	92.4 (85/92)	92.4 (85/92)
Tasas de mosaicismo (%)	30.4 (28/92)	28.3 (26/92)
PPV	79.6	75.5
NPV	67.7	66.7
Sensibilidad	78.0	80.0
Especificidad	69.7	60.6
Concordancia diagnóstica (%)	74.6 (62/83)	72.3 (60/83)
Concordancia total (%)	45.2 (28/62)	41.7 (25/60)
Concordancia parcial (%)	22.6 (14/62)	23.3 (14/60)
Concordancia complementaria (%)	4.8 (3/62)	3.3 (2/60)
Concordancia diagnóstica excluyendo la contaminación materna (%)	79.5 (62/78)	76.9 (60/78)
Concordancia total excluyendo el mosaicismo (%)	66.1 (41/62)	65.0 (39/60)

Tabla II. Comparación de la precisión de niPGTA usando NICS-YIKON o Veriseq-ILLUMINA versus TE-biopsia para PGT-A según el día de la biopsia embrionaria.

	niPGTA-NICS			niPGTA-Veriseq		
	D5 (n=46)	D6 (n=37)	p	D5 (n=46)	D6 (n=37)	p
PPV	68.2	88.9	0.156	66.7	82.8	0.305
NPV	54.2	100	0.030*	54.5	100	0.062
Sensibilidad	57.7	100	0.001*	61.5	100	0.003*
Especificidad	65.0	77.0	0.737	60.0	61.5	1.000
Concordancia diagnóstica (%)	60.9	92.0	0.003*	60.9	86.5	0.020*
Concordancia total (%)	53.6	38.2	0.345	39.3	43.7	0.931
Concordancia parcial (%)	3.6	35.3	0.007*	3.5	37.5	0.005*
Concordancia complementaria (%)	10.7	0	0.177	7.1	0	0.418
Concordancia diagnóstica excluyendo la contaminación materna (%)	68.3	92.0	0.023*	68.3	86.5	0.104
Concordancia total excluyendo el mosaicismo (%)	75.0	58.8	0.198	71.4	59.4	0.484

Tabla III. Resultados discordantes entre la biopsia TE y los análisis SMC.

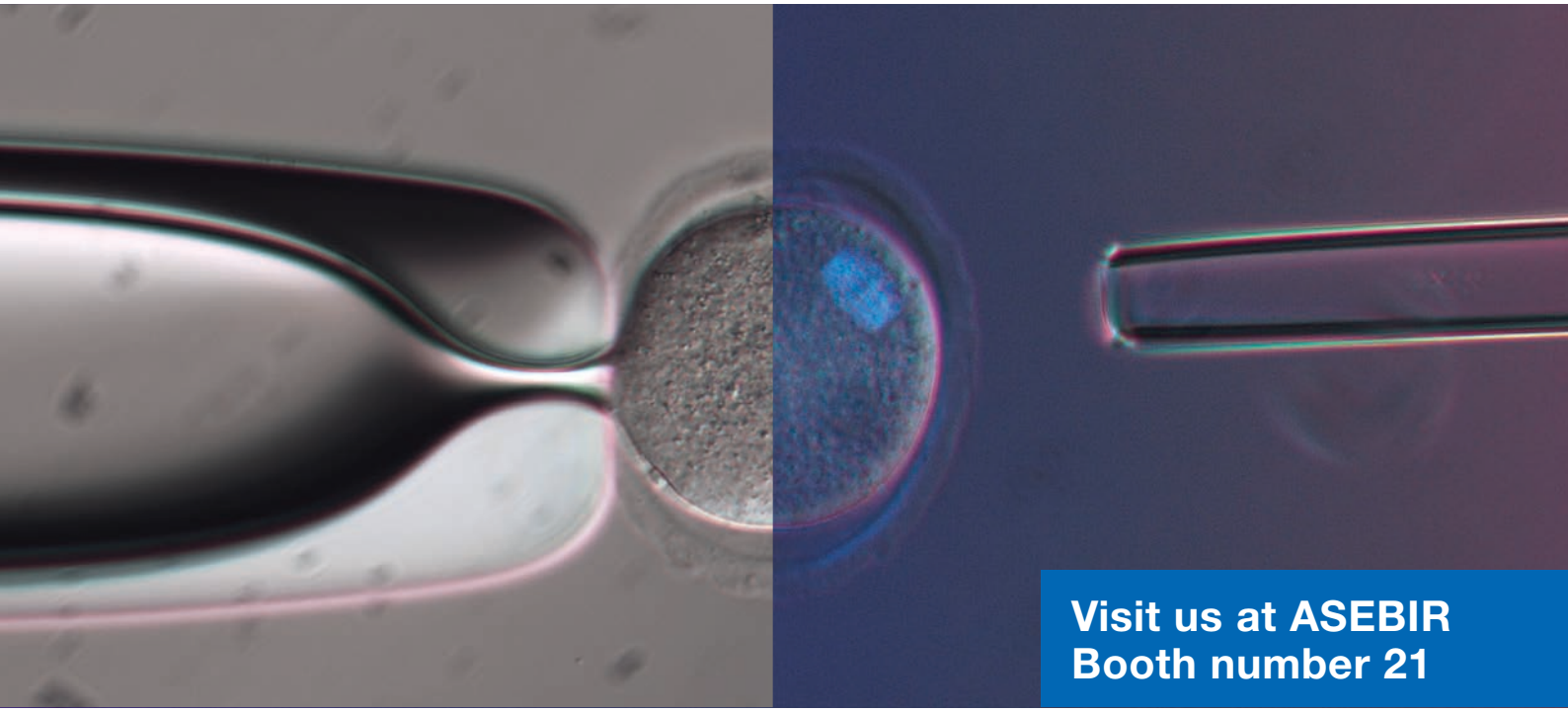
Embrión	TE-biopsia	niPGTA-NICS	niPGTA-Veriseq	TE-rebiopsia	ICM-rebiopsia	Causa de la discrepancia del niPGTA
2	48,XX,+16,+20,+21,-22	46,XX	46,XX	48,XX,+16,+20,+21,-22	48,XX,+16,+20,+21,-22	Contaminación materna
4	47,XX,+20	46,XX, mos -20 [40%]	46,XX, mos -20 [40%]	47,XX,+20	47,XX,+20	Mosaicismo embrionario
24	46,XX,+4p(pter! 16.3 ~46M,x3),-4q(35.2! qter~139M,x1)	46,XX	46,XX	46,XX,-4q(35.2! qter~139M,x1)	46,XX	Mosaicismo embrionario
32	46,XY,-10q(26.3! qter~39M,x1)	46,XX	46,XX	46,XY	46,XY	Contaminación materna
33	47,XX,+15	46,XX	46,XX	47,XX,+15	47,XX,+15	Contaminación materna
41	44,XX,-4,-10	46,XX	46,XX	44,XX,-4,-10	44,XX,-4,-10	Contaminación materna
45	47,XX,+21	46,XX,mos+21[40%]	47,XX,+21	47,XX,+21	47,XX,+21	Baja resolución del NICS
101	47,XX,+9	46,XX,mos+9q[40%]	46,XX,mos+9q[40%]	47,XX,+9	47,XX,+9	Baja resolución del NICS y Veriseq low resolution y/o contaminación materna
134	47,XY+16	46,XX	46,XX	47,XY+16	47,XY+16	Contaminación materna

Tabla IV. Resultado clínico después de la transferencia de un solo embrión TE-euploide.

	TE-euploide/NICS-euploide	TE-euploide/NICS-aneuploide	TE-euploide/Veriseq-euploide	TE-euploide/Veriseq-aneuploide
N.º de transferencias	9	4	7	6
Edad maternal media (años)	40	39	39	40
Tasa de B-HCG positive (%)	55.5	50	57.1	50.0
Tasa de embarazo clínico (%)	55.5	50	57.1	50.0
Tasa de aborto clínico (%)	25	0	0	50
Tasa de embarazo evolutivo (%)	50	50	57.1	33.3

EVIDENT

OLYMPUS



STREAMLINE YOUR ICSI WORKFLOW WITH THE IX73*

Optimized for Smoother ICSI and Improved Automation

Speed up your ICSI workflow with an IX73* system. Automate essential steps and **directly view spindles** to ensure optimal timing at metaphase II (MII).

www.olympus-lifescience.com/landing/ivf-solutions

*For Research Use Only

EVIDENT EUROPE GMBH
Caffamacherreihe 8–10, 20355 Hamburg, Germany | Postbox 10 49 08, 20034 Hamburg, Germany

COMUNICACIONES ORALES

- VARIABLES DE IMPACTO SOBRE EL DESARROLLO EMBRIONARIO *IN VITRO*
- ÓMICAS: GENES, TRÁNSCRITOS Y PROTEÍNAS
- ANDROLOGÍA: EL ESPERMATOZOIDE Y SU SELECCIÓN
- PGT: TECNOLOGÍA Y RESULTADOS
- AVANCES EN *TIME-LAPSE* E INTELIGENCIA ARTIFICIAL

VARIABLES DE IMPACTO SOBRE EL DESARROLLO EMBRIONARIO *IN VITRO*

CO-001

¿ES EL MOMENTO DE REEVALUAR EL POTENCIAL DE LOS OVOCITOS INMADUROS?

Cristina García Vega, M Florensa Bargalló, A Ballesteros Boluda, M Esbert Algam
IVIRMA Barcelona
Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

Los ovocitos inmaduros que obtenemos tras una estimulación ovárica pueden alcanzar el estadio de metafase II (MII) tras su maduración *in vitro* (MIV). Estos ovocitos pueden ser microinyectados, generar embriones viables y dar lugar a recién nacidos vivos. Sin embargo, algunas publicaciones afirmaron tener peores resultados clínicos con embriones derivados de MIV y la mayoría de centros de RA descartan los ovocitos inmaduros. Dadas las recientes mejoras implementadas en los laboratorios de FIV, que han permitido consolidar la transferencia de un solo blastocisto como rutina, deberíamos volver a evaluar el manejo de los ovocitos inmaduros que recuperamos en los ciclos de FIV.

OBJETIVO

Valorar la evolución de los embriones humanos derivados de MIV, comparándola con un grupo control constituido por los ovocitos maduros de la misma cohorte.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo que incluye 77 pacientes (39,05±3,36 años) cuyo ciclo de FIV se realizó entre mayo del 2021 y abril del 2023. Siguiendo protocolos internos, realizamos MIV de los ovocitos inmaduros recuperados cuando: i) teníamos menos de 6MII tras la decumulación y ii) el porcentaje de ovocitos maduros representaba menos del 51% de la cohorte.

En el presente estudio, se recuperaron 522 ovocitos en total. Tras la decumulación, los ovocitos se clasificaron en vesículas germinales (VG), metafase I (MI) o metafase II (MII). Los ovocitos MII se consideraron madurados *in vivo* (MIVO) y se microinyectaron 4 horas y media después de su recuperación. Al día siguiente, los ovocitos inmaduros que alcanzaron el estadio de MII también se microinyectaron. Todos los embriones se cultivaron hasta el día 5-6 de desarrollo. La tasa de fecundación, división, blastulación y euploidía fue comparada entre los grupos de MIV y MIVO.

RESULTADOS

Inicialmente, 169 ovocitos (32,4%) eran MIVO, 63 (12,1%) eran MI, 241 (46,2%) eran VG y los 49 restantes (9,4%) eran ovocitos atrésicos o zonas pelúcidas vacías. Después de la incubación, 44 MI (69,8%) alcanzaron el estadio de MII frente a las 89 VG (36,9%) que llegaron a MII ($p<0,005$). La tasa de fecundación fue de 61,4% para el grupo proveniente de MI, 66,3% para el que venía de VG y 76, 3% para los ovocitos MIVO (N.S.).

El porcentaje de división embrionaria fue similar para los embriones de los tres grupos: MI, VG y MIVO (100%, 96,6%, 99,2%, N.S.). La tasa de blastulación fue inferior en los ovocitos provenientes de MI y VG respecto al grupo MIVO (25,3%, 28,8%, 57,4%, $p<0,005$). En total, 19 pacientes (24,7%) obtuvieron 1 blastocisto extra en su cohorte derivado del grupo de MIV. En 5 de estas pacientes (26,3%), el único blastocisto útil disponible provenía de ovocitos inmaduros que se sometieron a MIV.

En 10 ciclos, se realizó diagnóstico genético preimplantacional embrionario por edad materna avanzada (40,5±1,2) tanto en embriones que provenían de ovocitos madurados como MIVO. Tres blastocistos derivados de MI fueron biopsiados

y uno resultó euploide (33,3%). De once blastocistos conseguidos tras la maduración de VG, 4 eran euploides (36,4%). Del grupo MIVO, 14 blastocistos fueron biopsiados y 7 eran euploides (50,0%) (N.S.). En cuanto a los resultados clínicos, sólo un 1 embrión euploide proveniente de MI ha sido transferido hasta la fecha y su implantación ha sido confirmada ecográficamente.

CONCLUSIONES

La MIV debería ser realizada cuando el número de MII recuperados tras la punción es bajo o nulo. Aunque los embriones provenientes de MIV obtienen una tasa de blastulación menor, la tasa de fecundación, división y euploidía es similar al obtenido por ovocitos MIVO. La MIV puede generar un blastocisto extra en el 24,7% y originar embriones que pueden ser euploides e implantar.

CO-002

EL VALOR CLÍNICO DE LOS OVOCITOS MI RESCATADOS. ANÁLISIS RETROSPECTIVO DE 625 OVOCITOS MI FRENTE A 2124 OVOCITOS MII HERMANOS OBTENIDOS EN 285 CICLOS DE ICSI DE DONANTE FRESCO

Vicente Badajoz Liébana[1], D Cimadomo[2], C Urda Muñoz[1], R Maggiulli[2], J Gijón de la Santa[1], G Coticchio[3], L Rienzi[2], JM Llácer Aparicio[1]

[1]Ginefiv GeneraLife IVF - Madrid (Madrid), [2]Clinica Valle Giulia GeneraLife IVF - Roma (Roma), [3]9.Baby GeneraLife IVF - Bologna (Bologna)

INTRODUCCIÓN

El 15-20% de los ovocitos recuperados en FIV son inmaduros, pero el 45% de ellos pueden madurar a las pocas horas de cultivo. Estos ovocitos rescatados muestran una menor competencia reproductiva, cromosómica y de desarrollo. A pesar de ello, podrían ser valiosos para algunas pacientes. Hasta la fecha, la mayoría de los estudios se han realizado con pacientes que utilizaban sus propios ovocitos, lo que implica el sesgo de la infertilidad y el mal pronóstico.

OBJETIVO

Nuestro objetivo es esbozar el valor clínico de los ovocitos rescatados del estadio MI en el contexto de los ciclos de donación de óvulos.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio observacional que incluyó 285 ciclos de donación de ovocitos frescos (enero-2020 a diciembre-2021). Dos horas después de la extracción de ovocitos, todos los ovocitos MI se cultivaron durante 1-2 hora(s). Si alcanzaban la fase MII, se inseminaron mediante ICSI con esperma eyaculado fresco, como a los ovocitos hermanos MII. Se realizó cultivo en medio continuo y se controlaron y compararon las cohortes embrionarias derivadas de MI y MII.

Se realizaron 285 ciclos de 272 receptoras (42,1±4,0 años) con ovocitos frescos recuperados de 215 donantes (25,5±5,0 años). El número de ovocitos MI y MII tras la denudación fue de 2,2±1,3 (rango:1-7) y 7,5±1,6 por ciclo, respectivamente. 1,7±1,2 (0-6) ovocitos MI maduraron *in vitro* (tasa de rescate: 78,1±33,4%) y fueron inseminados. Se compararon los datos embriológicos entre cohortes de hermanos derivados de MI y MII. También se presentaron datos clínicos y contribuciones relativas de los ovocitos MI.

RESULTADOS

La tasa media de fecundación por cohorte de ovocitos MI y MII inseminados fue del 54,3±43,0% y 74,4±18,1%, respecti-

vamente (prueba t pareada<0,01). La tasa media de blastulación por cohorte de cigotos derivados de MI y MII fue del 53,1±44,4% y 59,1±25,9%, respectivamente (prueba t pareada=0,1). En total, se obtuvieron 0,5±0,7 (0-4) blastocistos derivados de MI que se sumaron a los 3,2±1,7 derivados de MII, lo que supuso un aumento relativo de +20,8±40,1% (0 a +300%) por ciclo. En total, 268 (94%), 247 (89,7%) y 188 (66,2%) ciclos tuvieron $^{3}1$, $^{3}2$ y $^{3}3$ blastocisto(s) derivado(s) de MII, respectivamente. Estas tasas mostraron un aumento relativo de +1,1% (N=+3), +4,9% (N=+12) y +7,4% (N=+24) debido al uso de blastocistos derivados de MI.

Hasta la fecha, 19 de los 63 blastocistos derivados de MI transferidos dieron lugar a un nacido vivo (30,2%, IC95% 19,6-43,2) frente a 124 de los 399 derivados de MII (31,1%, IC95% 26,6-35,9; p=0,99). Se notificaron 4 abortos espontáneos de 27 embarazos clínicos (14,8%, IC 95%: 4,8-34,6) frente a 38 de 162 (23,5%, IC 95%: 17,3-30,9; p=0,45), respectivamente. Hasta la fecha, se ha concluido el 70% (N=199/284) de los ciclos, con una tasa acumulada de nacidos vivos del 61,3% (N=122/199). Esta tasa mostró un aumento relativo del +9,5% (N=+18) debido al uso de blastocistos derivados de MI. De los 85 ciclos no finalizados, 19 (22,4%) disponían aún de blastocistos procedentes de MI.

CONCLUSIONES

El 31% (N=44/140) de las pacientes con $^{3}1$ nacidos vivos tienen blastocistos supernumerarios crioconservados derivados de MI. El rescate de ovocitos MI podría aumentar el número de blastocistos disponibles por ciclo y, posiblemente, la tasa acumulada de nacidos vivos. Sin embargo, esta práctica implica una mayor carga de trabajo y la producción de más blastocistos supernumerarios (necesario análisis coste-efectividad). La mayoría de las parejas con mal pronóstico podrían beneficiarse de su uso; por lo tanto, es deseable un proceso de toma de decisiones específico para cada pareja.

No se comunicaron los resultados gestacionales y perinatales. Se necesitan más datos con óvulos propios y/o que incluyan pruebas cromosómicas.

CO-003

¿QUÉ IMPACTO TIENEN EN EL EMBRIÓN LAS CÉLULAS QUE NO FORMAN PARTE DE LA MÓRULA?

Ana Andreu Almarcha, KY Rodríguez Trujillo, C Olmedo Illueca, M Barea Gómez, S Royo Bolea, I Cuevas Saiz
Hospital General Universitario de Valencia
Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN

El estadio de mórula es uno de los menos estudiados y representa un claro ejemplo de la plasticidad del embrión, siendo un paso crítico hacia el desarrollo del blastocisto. Uno de los parámetros observados en este estadio es la exclusión (antes de la compactación) y la extrusión (durante o tras la compactación) de células. La exclusión o extrusión, aunque parecen estar relacionadas con fenómenos de autocorrección del embrión, son consideradas como un criterio negativo ya que también se asocian con posibles fallos en las uniones estrechas, expresión génica, aneuploidías o alto grado de mosaicismo. No obstante, más estudios son requeridos para predecir con mayor precisión la relación entre la exclusión o extrusión de células y la viabilidad del embrión.

OBJETIVO

El objetivo del siguiente estudio es comprobar si hay diferencias estadísticamente significativas en la exclusión o extrusión

de blastómeras sobre el destino del embrión (útil o descartado), teniendo en cuenta el porcentaje de células excluidas o extruidas y el volumen que ocupan en el embrión.

MATERIAL Y MÉTODO

Se analizaron de forma retrospectiva 361 embriones de 83 pacientes con una media de 36,5 años que tuvieron transferencia en fresco entre febrero de 2017 y febrero de 2020, incluyendo posteriores criotransferencias. Los embriones fueron cultivados en 30 µl de medio de cultivo único (CSCC®, Irvine Scientific) al 6,8% de CO2, y 5% de O2, cubierto de aceite mineral (Oil for embryo culture®, Irvine Scientific) en un incubador *time-lapse* (MIRI-TL®, ESCO Medical). Se evaluó en estado de mórula, si excluyeron/extruyeron o no células, la cantidad de células, el volumen que ocupan las mismas, el momento de la exclusión/extrusión y el destino final del embrión (transferido, vitrificado, descartado). Se analizó el resultado de la beta-hCG en los embriones transferidos o criotransferidos.

Los datos fueron analizados con el programa IBM SPSS Statistics v22.0, utilizando $p<0,05$ para diferencias estadísticamente significativas.

RESULTADOS

De los 361 embriones analizados, 169 de ellos fueron "útiles": 115 transferidos (83 en fresco y 32 criotransferidos) y 54 permanecen vitrificados. El resto fueron considerados "no útiles": 70 descartados y 122 bloqueados.

De los utilizados, el 57,3% excluyeron o extruyeron células. De los descartados, el 81,4% siendo la diferencia entre ambos estadísticamente significativa, aunque no respecto al resultado de la beta-hCG.

A partir de los embriones que han excluido o extruido, se obtiene que el 78,1% de los utilizados excluyeron células, mientras que de los embriones descartados el 53% excluyeron células, siendo estadísticamente significativas las diferencias. De las beta-hCG positiva, ninguno de los embriones extruye y el 4% realizan ambos procesos. De las beta-hCG negativas, el 11,4% de embriones extruyen y el 17,1% realizan ambos procesos.

En los descartados, el porcentaje de células excluidas o extruidas fue mayor que en los embriones útiles, encontrándose diferencias estadísticamente significativas, aunque no respecto al resultado de la beta-hCG.

El volumen que ocupan las células excluidas influye en el destino del embrión (AUC=0,738) aunque no se relaciona con el resultado de la beta-hCG negativa o positiva (AUC=0,516 y AUC=0,484 respectivamente).

CONCLUSIONES

Según los resultados obtenidos, la exclusión o extrusión de células en el estadio de mórula afecta a la viabilidad posterior del embrión, haciendo suponer que los procesos biológicos que los producen pueden ser diferentes. A pesar de ello, una vez superada esa etapa, parece no encontrarse una relación con las probabilidades de implantar del embrión. No obstante, es necesario aumentar el tamaño muestral para confirmar estos resultados.

CO-004

¿CULTIVAR EN MEDIO SECUENCIAL O EN MEDIO ÚNICO TIENE ALGÚN IMPACTO EN LA TASA DE NACIDO VIVO?

María Carme Pons Gatell[1], B Carrasco Canal[1], N Rives Enedáguila[2], A Delgado Mendive[3], A Martínez Moro[4], I Cuevas Saiz[5], O Cairó Doncos[6]

[1]Institut Universitari Dexeus - Barcelona (Barcelona), [2]Barcelona IVF - Barcelona (Barcelona), [3]IVI Valencia - Valencia (Valencia), [4]IVF Spain - Madrid (Madrid), [5]Hospital General Universitario - Valencia (Valencia), [6]CIRH - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

La optimización de los medios de cultivo ha sido uno de los elementos clave para la implementación del cultivo hasta el estadio de blastocisto. De la composición del medio y sistema de cultivo puede depender el mantenimiento de la viabilidad de los embriones y su capacidad para implantar y dar lugar a un niño sano. Actualmente, existen dos tipos de medios de cultivo, los medios secuenciales y los medios únicos. Aunque se han publicado numerosos estudios comparando ambos sistemas de cultivo, no existe evidencia suficiente de la superioridad de uno sobre el otro. Tanto el meta-análisis de Stonfouris y col. (2016) como el estudio prospectivo de Cimadomo y col. (2018) observaron un aumento en la tasa de formación de blastocisto con el cultivo ininterrumpido, pero no encontraron diferencias en los resultados clínicos.

OBJETIVO

Analizar si existen diferencias en las tasas de gestación y de nacido vivo entre blastocistos cultivados en medio secuencial o en medio único.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo multicéntrico observacional llevado a cabo por miembros del GIE de ASEBIR. El estudio incluyó 6 centros participantes que aportaron datos de 1.038 embriones transferidos entre enero de 2017 y diciembre de 2019. Se incluyeron transferencias en fresco de un único blastocisto (SET) en día 5 procedentes de ciclos con ovocitos propios (mujeres entre 18 y 39 años) y ciclos de donación de ovocitos (mujeres receptoras entre 18 y 45 años). Pacientes con malformación uterina o cirugía previa, ciclos con ovocitos vitrificados y ciclos con muestra seminal criptozoospérmica o testicular fueron excluidos del estudio. Los embriones fueron cultivados en medio secuencial o medio único en incubadores *time-lapse* (37ºC, 6%CO2, 5%O2) hasta el estadio de blastocisto. En el cultivo con medio único no se realizó renovación del medio.

Los ciclos se clasificaron en dos grupos según el medio de cultivo utilizado, secuencial o único. Las tasas de gestación y de nacido vivo fueron comparadas entre ambos grupos de estudio. Análisis estadístico: Chi-cuadrado y análisis de regresión logística con modelo mixto.

RESULTADOS

Se han analizado un total de 1.038 ciclos, 402 con ovocitos propios y 636 con ovocitos donados. La media de edad de las pacientes fue de 35,19±3,17 años, la de las receptoras de 41,17±3,38 años y la del varón, de 40,08±6,13 años. Los ciclos con ICSI representaron el 89,1% del total. Los medios secuenciales se usaron en el 28,2% (293/1038) de los ciclos y el medio único en el 71,8% (745/1038) de los ciclos. La tasa de gestación de los blastocistos cultivados en medio secuencial (59,0%) fue similar a la de los cultivados en medio único (62,7%); (p=0,28). Sin embargo, la tasa de nacido vivo de los blastocistos cultivados en medio secuencial (47,8%) fue significativamente inferior a la de los blastocistos cultivados en medio único (54,9%); p=0,038. Al aplicar la regresión logística ajustada por las variables de confusión (edad del ovocito, procedencia del ovocito, número de ovocitos recuperados, técnica de inseminación, centro participante) no se encontraron diferencias significativas en la tasa de nacido vivo entre blastocistos cultivados en medio secuencial y en medio único [OR: 1,10; (0,72-1,68)].

CONCLUSIONES

Blastocistos cultivados en distintos tipos de medio de cultivo en incubadores *time-lapse* alcanzan tasas de nacido vivo similares. Los datos aportados por este estudio son concordantes con los trabajos publicados previamente.

Según estos resultados, la elección del medio de cultivo empleado en los laboratorios puede decidirse en base a la logística de cada centro sin perjuicio para sus pacientes.

Aunque la regresión logística se ha ajustado para eliminar los eventuales sesgos conocidos, es necesario realizar estudios clínicos aleatorizados para obtener evidencia de mayor calidad.

CO-005

EVALUACIÓN DE LA TASA DE NACIDO VIVO EN EMBRIONES CON CINÉTICA RÁPIDA: ESTUDIO MULTICÉNTRICO OBSERVACIONAL Y TRANSVERSAL

Enric Güell Penas[1], E Ferrer i Robles[2], V Antequera Durán[2], N Pérez Gallés[3], S González García[3], MJ López Rubira[4], P Nieto Olmedo[5], E Suárez Álvarez[6], A Mauri López[1], JI Mazzanti Pérez[1]

[1]Centre Procrear - Reus (Tarragona), [2]CREA. Medicina de la Reproducción - Valencia (Valencia), [3]Instituto de Reproducción CEFER - Barcelona (Barcelona), [4]IRAGA - Santiago de Compostela (Galicia), [5]UR CEFIVA - Oviedo (Asturias), [6]Centro Ginecológico de León - León (León)

INTRODUCCIÓN

La tecnología *time-lapse* ha permitido detectar embriones que muestran fenómenos morfodinámicos adversos, como por ejemplo las divisiones directas (DC) y embriones con una cinética más rápida. Estos embriones tienen un mayor número de células en momentos importantes de la valoración morfológica (Istanbul Consensus), lo que da lugar a menores calidades según los criterios morfológicos ASEBIR. Aunque el pronóstico de los embriones con DC ha sido analizado, el potencial reproductivo de los embriones con cinética rápida que llegan a blastocisto sigue pendiente de determinar.

OBJETIVO

Evaluar la tasa de recién nacido vivo (RNV+) de los embriones con cinética rápida en el desarrollo temprano (>4 células en el rango horario 43-45 horas post-inseminación y/o >8 células en el rango 67-69 horas post-inseminación) que alcanzan el estadio de blastocisto.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio multicéntrico retrospectivo, observacional y transversal con la participación de 6 centros. Se registró la información del desarrollo embrionario, morfocinética, destino y resultado clínico de 719 blastocistos. Se definieron como embriones de cinética rápida aquellos que tenían un número superior de células en los rangos según los criterios ASEBIR en D+2 y D+3. Concretamente, se definieron los grupos FAST_D2 (t5<45h), VERY FAST_D2 (t5<43h), FAST_D3 (t9<69h o >8 células D+3), VERY FAST_D3 (t9<67h o >10 células D+3) y un grupo control para cada uno de ellos con embriones de cinética superior al punto de corte. Se descartaron embriones con DC y sólo se incluyeron blastocistos transferidos que dieron lugar a un recién nacido vivo (RNV+) o un resultado negativo post transferencia (RNV-, incluyendo BhCG negativa, embarazo bioquímico o aborto). En total se incluyeron 428 blastocitos para el análisis en D+2 y 200 blastocistos para D+3. Se realizó el análisis estadístico sobre resultado de la transferencia embrionaria para los distintos grupos de embriones: RNV+ *vs.* RNV-. Se compararon las proporciones de blastocistos pertenecientes a cada grupo en función del resultado mediante Chi-Cuadrado

y se realizó un análisis de regresión logística para obtener las Odds Ratio ajustada por edad y tipo de ovocito (aOR, 95%IC) para aquellas proporciones diferentes estadísticamente. Para visualizar como se distribuían los embriones entre grupos se hizo el seguimiento de la transición entre D+2 y D+3.

RESULTADOS

El 27,3% (117/428) de los embriones fueron clasificados como FAST_D2. En este grupo se observó una tasa de RNV+ del 40,2%, no encontrándose diferencia significativa con su grupo control (44,4%, NS). Cuando t5<43h (VERY FAST_D2), la tasa RNV+ fue 31,9% (23/72) frente a un 45,5% (162/356) para embriones normo-cinéticos (p<0.05). Sin embargo, la aOR no resultó significativa en el modelo de regresión logística (aOR= 0,845, 0,245-2,55).

El 47% (90/200) de los embriones fueron clasificados como FAST_D3, que obtuvieron una tasa de RNV+ del 52.1% *versus* al 33,9% de su grupo control (p<0,05), obteniéndose una aOR=10,37 (1,45-219,45). La tasa de RNV+ del grupo VERY FAST_D3 también fue significativamente superior a la de embriones normo-cinéticos, respectivamente 62,2% (38/61) *vs.* 33,8% (47/139, p<0,05), y se obtuvo una aOR=6,48 (2,22-20,04).

Sobre la transición de los embriones entre grupos de D+2 a D+3, pudimos constatar que el 74,6% (n=47) de embriones FAST_D2 seguían siendo FAST_D3 (Tabla I), mientras que el 34,3% (n=12) de embriones VERYFAST_D2 no habían iniciado el cuarto ciclo celular (t9) antes de 69 horas (Tabla II).

CONCLUSIONES

La evaluación de la cinética rápida en embriones sin DC que alcanzaron el estadio de blastocisto nos ha permitido detectar que los embriones con más de 8 células en el momento de valoración en D+3 (67-69 horas) ofrecían mejores tasas de RNV+ que los embriones del grupo control. Consideramos conveniente aumentar el tamaño muestral, ya que esta información nos podría permitir una mejor selección de blastocistos no penalizándolos por su evolución rápida en el estadio de células.

FIGURAS Y TABLAS

Figura I. Diagrama de los grupos definidos según la hora de aparición de la 5.ª célula (t5) y del inicio del cuarto ciclo celular (t9).
hpi = horas post inseminación
VF = VERYFAST

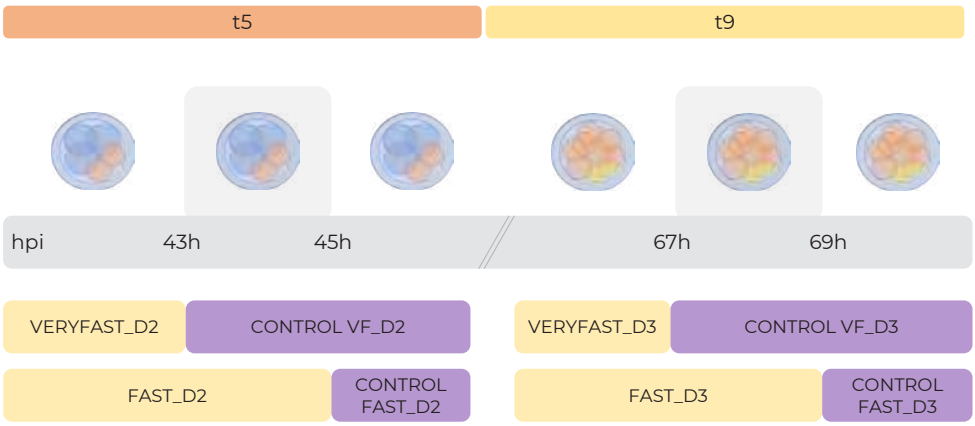


Tabla I. Correspondencia entre grupos control y fast con grupos D3 (% de cada grupo D3 por grupo D2).

EMBRIONES FAST_D2		
	VERYFAST_D3	CONTROL_VF_D3
FAST_D3	52,4% (33)	22,2% (14)
CONTROL_F_D3	0% (0)	25,4% (16)

EMBRIONES CONTROL_F_D2		
	VERYFAST_D3	CONTROL_VF_D3
FAST_D3	20,4% (28)	13,9% (19)
CONTROL_F_D3	0% (0)	65,7% (90)

CONTROL_F significa grupo control para FAST
CONTROL_VF significa grupo control para VERYFAST

Tabla II. Correspondencia entre grupos control y veryfast con grupos D+3 (% de cada grupo D3 por grupo D2).

EMBRIONES VERYFAST_D2		
	VERYFAST_D3	CONTROL_VF_D3
FAST_D3	42,9% (15)	22,8% (8)
CONTROL_F_D3	0% (0)	34,3% (12)

EMBRIONES CONTROL_VF_D2		
	VERYFAST_D3	CONTROL_VF_D3
FAST_D3	27,9% (46)	15,2% (25)
CONTROL_F_D3	0% (0)	56,9% (94)

CONTROL_F significa grupo control para FAST
CONTROL_VF significa grupo control para VERYFAST

CO-006

LOS PARÁMETROS SEMINALES ALTERADOS COMPROMETEN LA MORFOCINÉTICA EMBRIONARIA EN CICLOS DE DONACIÓN DE OVOCITOS, PERO NO LOS RESULTADOS CLÍNICOS

Marco Petrolo[1], F Zambelli[1], I Miguel Escalada[2], MJ Zamora Berlanga[2], A Rodríguez Aranda[1], R Vassena[1], M Popovic[1]

[1]Eugin Group - Barcelona (Barcelona), [2]Clínica Eugin - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

Numerosos estudios demuestran que el semen con parámetros alterados, especialmente el obtenido por extracción testicular (TESE), afecta negativamente al desarrollo embrionario y éxito reproductivo. No obstante, estos resultados pueden verse distorsionados por el uso de ovocitos de pacientes infértiles. Realizar este análisis en ciclos de donación de ovocitos permitiría diseccionar el impacto del semen durante el desarrollo preimplantacional.

OBJETIVO

El objetivo de este estudio es evaluar el efecto de la calidad del semen utilizado para la fecundación de ovocitos de donantes sobre los resultados clínicos y sobre los parámetros de desarrollo embrionario preimplantacional.

MATERIAL Y MÉTODO

Este estudio retrospectivo incluyó 616 embriones de 99 ciclos de ICSI de donación de ovocitos. Se compararon los resultados clínicos y la morfocinética embrionaria en tres grupos de estudio: semen de donante (control, DD, n=294), semen de pareja de biopsia testicular (TESE, n=72) y semen de pareja con parámetros alterados (concentración, motilidad, morfología, ALT, n=250). Para cada grupo se evaluó la tasa de fecundación (TF=n.º ovocitos fecundados / n.º ovocitos asignados), la tasa de utilización de embriones (TU=n.º embriones trasferidos+congelados / n.º embriones totales obtenidos), la tasa de implantación (TI=n.º sacos gestacionales / n.º embriones trasferidos) y la tasa de nacidos vivos (TNV=n.º nacidos vivos / n.º embriones trasferidos) mediante prueba exacta de Fisher. Los parámetros morfocinéticos analizados fueron: la extrusión del segundo corpúsculo polar (tPB2), la aparición y la desaparición de los dos pronúcleos (PN1a, PN2a, tPNf), los estadios de 2-3-4-5-8 (t2-t3-t4-t5-t8) blastómeros, el inicio de la blastulación (tSB), el estadio de blastocisto (tB), la clasificación de la masa celular interna (ICM) y del trofoectodermo (TE). Se construyeron curvas de supervivencia de Kaplan-Meier para cada parámetro por grupo de estudio y se analizaron mediante regresión de Cox.

RESULTADOS

La TF fue comparable entre los embriones DD (272/357, 76,19%) y los ALT (230/302, 76,16%) pero significativamente inferior en los TESE (64/104, 61,54%; p=0,003), mientras que la TU fue significativamente superior en los embriones DD (199/272, 73,16%), comparados con los ALT (134/230, 58,26%; p<0,001) y los TESE (38/64, 59,38%; p=0,029). Sin embargo, no detectamos diferencias en la TI (DD 40/104, 38,46%; ALT 29/67, 43,28%; TESE 10/24, 41,67%), ni en la TNV (DD 33/104, 31,73%; ALT 26/67, 38,81%; TESE 8/24, 33,33%). Los embriones TESE se desarrollaron más rápidamente que los DD: tPB2 (3,03 *vs.* 3,08, p<0.001), PN1a (5,55 *vs.* 6,19, p<0,001), PN2a (6,78 *vs.* 7,36, p<0,001), tPNf (21,30 *vs.* 22,20, p=0,001), t3 (34,02 *vs.* 35,79, p=0,016), t4 (35,90 *vs.* 36,92, p=0,015), t5 (46,70 *vs.* 48,07, p=0,036), t8 (52,48 *vs.* 55,28, p=0,049), tSB (85,53 *vs.* 94,62, p<0,001) y tB (104,09 *vs.* 106,60, p=0,002). En cambio, los ALT fueron más lentos en las primeras fases: PN1a (6,63 *vs.* 6,19, p=0.005), PN2a (7,84 *vs.* 7,36, p<0,001), t5 (48,12 *vs.* 48,07, p=0,028), t8 (55,57 *vs.* 55,28, p=0,032), pero más rápidos en los estadios finales: tSB (93,71 *vs.* 94,62, p=0,001), tB (105,60 *vs.* 106,60, p=0,002). A pesar de estas marcadas diferencias morfocinéticas, se observaron porcentajes similares de blastocisto de buena calidad (A+B) en los tres grupos: DD (117/151, 77,48%), ALT (84/113, 74,34%), TESE (26/36, 72,22%).

CONCLUSIONES

La principal limitación de este estudio reside en su carácter retrospectivo y en el número limitado de embriones del grupo TESE. La variabilidad en la etiología de pacientes con biopsia testicular (azoospermia obstructiva y no-obstructiva) y en los diagnósticos del grupo ALT (oligozoospermia, teratozoospermia o astenozoospermia), podría confundir el análisis. Aunque los parámetros seminales alterados afectaron significativamente la morfocinética embrionaria, no comprometieron la calidad de los blastocistos obtenidos, ni la tasa de implantación, ni la tasa de nacidos vivos, dando lugar a resultados clínicos similares a los de doble donación. En general, nuestros resultados apoyan el uso de semen autólogo con ovocitos de donante, incluso en casos graves de infertilidad por factor masculino.

CO-007

IMPLICACIÓN DE LAS DISTINTAS TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE FRAGMENTACIÓN DE ADN ESPERMÁTICO EN LA CALIDAD SEMINAL Y RESULTADOS REPRODUCTIVOS

Sara Herrero Fernández[1], L Sánchez Sánchez-Mellado[2], A Molinero Ballesteros[2], S Rubio García[2], M Díaz Gómez[2], M Salguero Fernández[2], M Lázaro López[2], A Pacheco Castro[3]

[1]U. Autónoma de Madrid - Madrid (Madrid), [2]IVIRMA Global Research Alliance, IVIRMA Madrid - Madrid (Madrid), [3]IVIRMA Global Research Alliance, IVIRMA Madrid; Universidad Alfonso X el Sabio - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

La infertilidad masculina es una condición multifactorial que afecta a la calidad seminal y reduce el potencial reproductivo del varón. Aunque el análisis de la calidad seminal es la principal herramienta diagnóstica, no siempre es suficiente, ya que pueden estar presentes otros factores, como la fragmentación del ADN espermático, que pueden influir en la fertilidad del varón. A pesar de los avances tecnológicos y los numerosos trabajos publicados, no hay consenso sobre cuál es la técnica de evaluación de la fragmentación del ADN espermático más efectiva, ni se conoce con exactitud la influencia que tiene en la calidad seminal y/o en los resultados reproductivos tras un tratamiento de reproducción asistida.

OBJETIVO

Comparar parámetros de calidad seminal y resultados reproductivos tras FIV/ICSI en hombres infértiles con y sin elevada fragmentación de ADN espermático al determinarla mediante diferentes técnicas.

MATERIAL Y MÉTODO

Este estudio prospectivo llevado a cabo entre septiembre de 2022 y marzo de 2023, incluyó a 94 varones que se sometieron a tratamientos de reproducción asistida con sus parejas. Aquellos individuos con enfermedades crónicas y/o infecciosas fueron excluidos. Las muestras de semen fueron analizadas siguiendo los criterios de la OMS y se dividieron en dos alícuotas. Una de ellas se utilizó para la realización del tratamiento FIV/ICSI, recogiéndose los resultados reproductivos de cada caso. La otra alícuota se utilizó para medir los niveles de fragmentación en el ADN espermático mediante tres técnicas diferentes: el ensayo TUNEL, la detección de la fosforilación de la histona γH2AX (específico para roturas de doble cadena o DSBs) y el ensayo de dispersión de la cromatina espermática (SCD). Según su índice de fragmentación para cada técnica, se separó a los pacientes en 2 grupos: grupo estudio, con fragmentación elevada (TUNEL>20%, N=11; DSBs>15%, N=18; y SCD>30%, N=19) y grupo control, que presentaron valores normales de fragmentación de ADN espermático (TUNEL<20%, N=83; DSBs<15%, 76; SCD<30% N=75). Para el análisis estadístico, se utilizó la t de Student o

la U de Mann-Whitney, dependiendo de si se cumplían las condiciones de normalidad para cada parámetro a comparar, estableciendo el nivel de significancia en p-valor<0,05.

RESULTADOS

Con respecto a los parámetros de calidad seminal, se observa un descenso del porcentaje de espermatozoides progresivos en el grupo de fragmentación elevada medida por TUNEL y por SCD (p=0,002 y p<0,0001, respectivamente), así como en el número total de espermatozoides progresivos del grupo de fragmentación elevada al medirla por TUNEL y por SCD (p=0,009 y p=0,005, respectivamente). Sin embargo, no se observan cambios en los parámetros seminales entre los grupos al medir la fragmentación de ADN por DSBs. Analizando los resultados reproductivos, no se encontró relación entre la tasa de fecundación y ninguna de las tres técnicas de análisis de fragmentación, pero sí se observa una disminución en la tasa de blastocisto en día 5 en el grupo de fragmentación elevada medida por DSBs (p=0.043), pero no por TUNEL ni SCD. Por último, no se encontraron diferencias significativas en la tasa de gestación entre los pacientes con fragmentación elevada y el grupo control al medir la fragmentación mediante ninguna de las técnicas.

CONCLUSIONES

Las técnicas SCD y TUNEL son de utilidad para el diagnóstico de calidad seminal, ya que están asociadas con alteraciones de la movilidad espermática. Por el contrario, al analizar los resultados reproductivos, sólo se observan diferencias significativas en el desarrollo embrionario cuando la fragmentación es determinada por DSBs, pero no por TUNEL o SCD. Aunque este estudio presenta limitaciones (el número de pacientes en el grupo de fragmentación elevada es limitado), los resultados obtenidos parecen confirmar que las distintas técnicas de análisis de fragmentación de ADN espermático no son totalmente comparables entre sí.

CO-008

EFECTO DEL DISPOSITIVO DE SELECCIÓN ESPERMÁTICA ZYMOT EN VARIABLES SEMINALES Y DESARROLLO EMBRIONARIO

María Luisa Pardiñas García[1], D Ortega Jaén[1], A Martín Bastida[1], JM De los Santos Molina[2], R Rivera Egea[2], J Gil Gramaje[1], T Viloria Samochín[2], MJ De los Santos Molina[2]

[1]Fundación IVI - Valencia (Valencia), [2]IVIRMA - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN

La evaluación espermática en las clínicas de reproducción asistida es indispensable para estimar la causa de infertilidad en parejas con deseo gestacional. Sin embargo, estas evaluaciones se centran en análisis superficiales que carecen de precisión a la hora de establecer el factor masculino como motivo principal. Se ha observado que el 11% de los varones con valores seminales normales presentan fragmentación del ADN espermático (SDF), el cual se ha asociado con una menor tasa de fecundación y peor desarrollo embrionario. Los métodos convencionales de selección espermática, como el *swim up* o los gradientes de densidad, incluyen en su protocolo la centrifugación, procedimiento que se ha visto relacionado con un incremento en la producción de las especies reactivas de oxígeno, induciendo un aumento en la SDF. Es por esto que durante las últimas décadas han surgido nuevos métodos de selección menos invasivos y que se asemejan más a las condiciones *in vivo*. El ZyMot es un dispositivo basado en microfluídica que selecciona espermatozoides en base a su motilidad, factor que está relacionado con mejor calidad espermática. Este nuevo método aportaría al paciente todas las ventajas de las técnicas convencionales, pero disminuyendo el SDF y mejorando las tasas reproductivas.

OBJETIVO

El objetivo principal del presente proyecto es evaluar el ZyMot como una nueva metodología de recuperación de espermatozoides y ver su efecto tanto en variables seminales (concentración, motilidad e índice de SDF) como en variables embrionarias (tasa de blastocisto útil, tasa de fecundación y variables morfocinéticas).

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio prospectivo en el que se realizó una comparación intrapaciente en 27 parejas con un total de 345 ovocitos (edad media = 32 años) provenientes de ciclos propios (n=195) y donación (n=150). La muestra seminal fue dividida en dos grupos según su procesamiento: (1) *swim up* o (2) ZyMot. La mitad de los ovocitos de cada pareja se inseminaron con espermatozoides seleccionados por *swim up* y la otra mitad con espermatozoides seleccionados por ZyMot. El desarrollo embrionario se siguió mediante *time-lapse*, y el SDF se midió con el test de dispersión de la cromatina espermática analizado con ImageJ. Se realizó una prueba de la U de Mann-Whitney para el análisis estadístico.

RESULTADOS

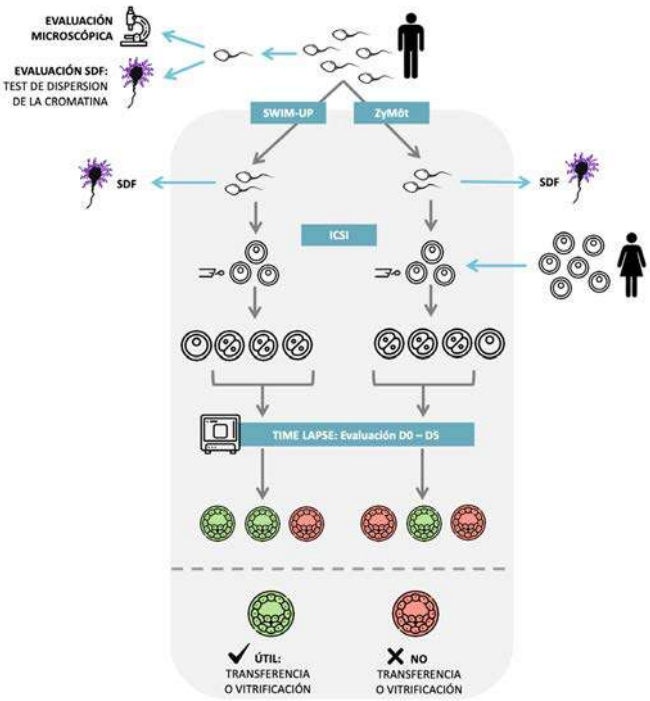
La SDF fue significativamente menor en el grupo ZyMot en comparación con el grupo *swim up* (20,3% *vs.* 11%; P=0,004), indicando una mejor selección de espermatozoides con menos roturas de ADN por parte del ZyMot en la misma muestra seminal. Cuando se analizaron por separado los ciclos propios, el grupo ZyMot mostró una tasa significativamente mayor de blastocistos útiles en comparación con el grupo *swim up* (47,5% *vs.* 65,8%; P=0,041). Sin embargo, esta diferencia no se observó utilizando ovocitos donados (57,3% *vs.* 62,8%; P>0,05) ni cuando se combinaron ambos ciclos (51,9% *vs.* 64,4%; P=0,052). No hubo diferencias significativas en el resto de variables (P>0,05). En cuanto a los parámetros morfocinéticos, las variables de tiempo desde la primera división celular hasta el estadio de blastocisto (t2-tB) no mostraron una correlación significativa con el grupo ZyMot en comparación con el *swim up* (P>0,05).

CONCLUSIONES

Este estudio proporciona información sobre el uso del ZyMot para la selección no invasiva de espermatozoides. Hemos observado que ya no solo mejora el índice de SDF, sino que también aumenta el número de blastocistos útiles en ciclos propios. Esto respaldaría el hecho de que en pacientes con la calidad de la cohorte ovocitaria afectada por la edad, el ovocito no tendría la capacidad suficiente para reparar el daño del ADN del espermatozoide provocando un detrimento en el desarrollo embrionario. El uso del ZyMot se podría indicar en pacientes con valores elevados de SDF en sus muestras seminales o en parejas con edad materna avanzada que tengan comprometidos sus resultados reproductivos.

FIGURAS

Figura I.



CO-009

ALUMINIO Y VANADIO EN SEMEN. INFLUENCIA EN LA FERTILIZACIÓN Y CALIDAD EMBRIONARIA

Rebeca Vaca Sánchez[1], R Blanes Zamora[1], S Rodríguez Fiestas[1], J González Pérez[1], C Concepción Lorenzo[1], J Gómez Rodríguez[2], R Rodríguez Díaz[3], S Paz Montelongo[4], A Hardisson de la Torre[4], E González Dávila[5]
[1]URH del HUC – La Cuesta. La Laguna (Tenerife), [2]Universidad de La Laguna ULL – La Cuesta. La Laguna (Tenerife), [3]HUC y Dep. Obst. y Ginec. ULL – La Cuesta. La Laguna (Tenerife), [4]Dep. Toxicología ULL – La Cuesta. La Laguna (Tenerife), [5]Dep. Matemáticas y Estadística ULL – La Cuesta. La Laguna (Tenerife)

INTRODUCCIÓN

El estrés, malformaciones genitales, factores genéticos, tóxicos como el tabaco, alcohol o drogas, obesidad, exceso de actividad física, altas temperaturas y factores médicos, entre otros, son agentes etiológicos de esterilidad, lo que demuestra que es multifactorial. Entre ellos, destaca la contaminación ambiental, secundaria al auge de la industria, por sus efectos perjudiciales sobre la salud reproductiva, incluyendo el deterioro de la calidad del semen, la apoptosis de espermatozoides y daños del ADN espermático. Todos van a actuar mediante un aumento de las especies reactivas de oxígeno (ROS) intracelulares.

OBJETIVO

Valorar el efecto de ciertos metales, aluminio (Al) y vanadio (V) en semen en los resultados reproductivos, analizando la tasa de fertilización y de embriones de buena calidad.

MATERIAL Y MÉTODO

El estudio engloba a 102 pacientes atendidos en una Unidad de Reproducción Humana. Los varones que participaron en el estudio eran caucásicos y tenían unas edades comprendidas entre 25 y 52 años.

Se establecieron dos grupos dependiendo del resultado del seminograma: 41 pacientes presentaron un seminograma patológico y un grupo control de 61 pacientes que presentaron normozoospermia. A todas estas muestras se les realizó un seminograma y un análisis de 22 metales en semen mediante la técnica de espectrometría de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES).

No hay diferencia en la edad de las mujeres de ambos grupos (edad 34,9±3,8 *vs.* 34,4±4,40, p=0,448).

Se llevó a cabo una FIV/ICSI y se registraron los datos de tasa de fertilización y tasa de buena calidad embrionaria (BCE). Consideramos buena tasa de fertilización valores de ≥75%, y como buen pronóstico obtener al menos el 66,7% de los embriones de la cohorte como embriones de buena calidad (A+B en D+3), según los criterios de ASEBIR.

En el análisis estadístico se usó el paquete estadístico SPSS vs 21 y se consideró significativo p<0,05.

RESULTADOS

Los pacientes del grupo con semen patológico tienen un mayor índice de obesos (IMC≥30kg/m2) (p=0,025). No observamos diferencias en la edad media, consumo de tabaco o de alcohol.

De los metales analizados, el V presenta una correlación con la tasa de fertilización (p=0,039), siendo el punto de corte de 0,7 mg/kg de V, por encima del cual aumenta la probabilidad de tener niveles de fertilización por debajo del 75% (Fig. I).

En el parámetro BCE observamos que el Al ha de ser menor de 0,58 mg/kg para obtener una cohorte embrionaria de buena calidad ≥66,7% (p=0,04). Niveles de Al superiores disminuyen la probabilidad de tener una cohorte embrionaria de buena calidad (Fig. II).

Entre los grupos de mejor y peor pronóstico no observamos diferencias en la edad o en el IMC de la mujer ni del varón.

CONCLUSIONES

El control de los efectos tóxicos ambientales sobre la fertilidad está cobrando cada vez más importancia. Los metales, y su estudio, puede darnos información de su efecto sobre la fertilidad.

En este trabajo destacamos el efecto que tienen el Al y el V. Observamos un efecto negativo de la presencia de V sobre la tasa de fertilización y un efecto negativo de la presencia de Al sobre la calidad embrionaria de la cohorte. Es importante ampliar los estudios de metales en semen, así como en líquido folicular para determinar el alcance de los efectos deletéreos de distintos metales sobre la salud reproductiva para poder realizar un trabajo de información y prevención.

FIGURAS

Figura I. Tasa de fertilización y niveles de V.

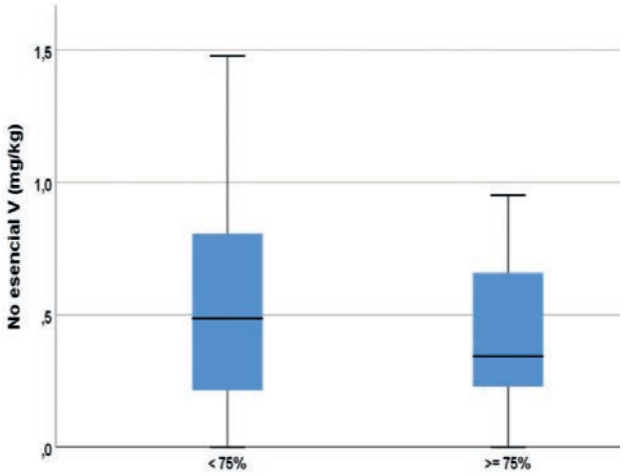
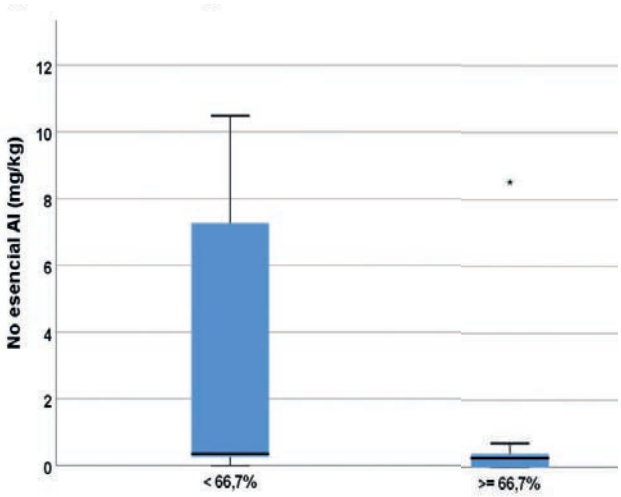


Figura II. Tasa de EBC y niveles de Al.



CO-010

¿EN QUÉ MEDIDA EL TIPO Y LA CONCENTRACIÓN DE PROTEÍNA AFECTAN A LA SENSIBILIDAD DE LOS ENSAYOS CON EMBRIONES DE RATÓN (MEA) PARA LA DETECCIÓN DE TOXICIDAD EN MEDIOS DE CULTIVO?

Albert Martínez Casado, E Mestres Gonzalvo, A Casals Acien, M Acacio Espinosa, A Villamar Marín, Q Matia Algué, A Franco Roig, C Castelló Zupanc, G Calderón de Oya, N Costa Borges
Embryotools, S. L.
Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

Tritón X-100 (TX-100) es un detergente empleado habitualmente en el lavado de material utilizado en la fabricación de productos de FIV, cuyas trazas pueden contaminar ocasionalmente el producto final y afectar a la viabilidad de los embriones. El MEA es considerado el principal ensayo de control de calidad en FIV; sin embargo, existen numerosos factores metodológicos que pueden afectar a su eficacia para detectar embriotoxicidad.

La suplementación proteica de medios de cultivo es un parámetro crítico que puede influenciar en la sensibilidad de los MEA. No obstante, debido a las diferencias existentes entre albúminas séricas (p. ej. HSA, BSA) en términos de composición y capacidad de quelación de toxinas, no está claro hasta qué punto puede enmascarar la presencia de toxinas.

OBJETIVO

Optimizar el protocolo del MEA para maximizar su capacidad de detección de TX-100 en medios de cultivo. Establecer cómo la concentración y el tipo de suplementación proteica, y secundariamente el tipo de medio empleado, influyen en la sensibilidad del MEA.

MATERIAL Y MÉTODO

Se determinó el efecto de la concentración y tipo de proteína suplementando medios de cultivo con 0,5 o 5 mg/ml de BSA o HSA. Se emplearon KSOM y HTF como medios con formulación compleja y simple, respectivamente. Estas variables fueron combinadas para conformar los grupos de estudio.

Los experimentos fueron realizados cultivando zigotos de ratón B6C/BAF1 (n=1215) en medios suplementados con una concentración subletal de TX-100 (0,0010%) y medios sin TX-100 (control) para todos los grupos proteína-medio propuestos. Además, los ensayos se efectuaron por triplicado en un incubador *big-box* Trigas humidificado.

Las condiciones de mayor sensibilidad fueron determinadas comparando estadísticamente entre grupos las tasas de formación de blastocistos (TFB) y promedios de células/blastocisto. Las TFB fueron determinadas tras 96 horas de cultivo, y se efectuaron contajes celulares tras un proceso de tinción y fijación de los blastocistos obtenidos. Se emplearon los métodos X2, ANOVA y Kruskal-Wallis para comparar los grupos entre sí.

RESULTADOS

Las TFB de los controles oscilaron entre 86,66-100%, y no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ellas independientemente del medio y el tipo o concentración de proteína usadas. Ante 0,0010% TX-100, HTF confirió una mayor sensibilidad que KSOM, independientemente de la cantidad y tipo de proteína empleados (0,5 mg/ml BSA: 31,74 *vs.* 63,49%; 5 mg/ml BSA: 0 *vs.* 15,87%; 0,5 mg/ml HSA: 61,9 *vs.* 80,95%; 5 mg/ml HSA: 41,66 *vs.* 69,84% TFB). La suplementación del medio con 5 mg/ml BSA en lugar de 0,5 mg/ml también resultó en una sensibilidad significativamente superior y TFB más bajas, independientemente del tipo de medio empleado (HTF: 0 *vs.* 31,74%; KSOM: 15,87 *vs.* 63,49% TFB). Tras comparar cada grupo de BSA con su correspondiente contraparte con HSA, se observó que la BSA proporcionaba una sensibilidad significativamente mayor (5 mg/ml-KSOM: 15,87 *vs.* 69,84%; 0,5mg/ml-HTF: 31,74 *vs.* 61,9%; 5 mg/ml-HTF: 0 *vs.* 41,66% TFB), a excepción de un grupo (0,5 mg/ml-KSOM: 63,49 *vs.* 80,95% TFB).

En presencia de 0,0010% TX-100, se determinó que el promedio de células/blastocisto era significativamente mayor al incrementar la concentración de HSA de 0,5 a 5 mg/ml en KSOM [54,47 (+/-9,47) *vs.* 78,06 (+/-15,9)] y HTF [59,3 (+/-12,5) *vs.* 90,3 (+/-15,9)], mientras que no se hallaron diferencias entre los grupos con BSA. En todos los grupos test el promedio de células/blastocisto fue inferior al del respectivo control. Además, la BSA condujo a un promedio significativamente menor de células en comparación a la HSA en todos los grupos, a excepción de condiciones de KSOM-0,5 mg/ml proteína [45,4 (+/-10,1) *vs.* 54,47 (+/-9,47)].

CONCLUSIONES

Para ciertas toxinas, el medio de cultivo empleado y el tipo y concentración de proteína con el que se suplementa poseen un impacto directo en la sensibilidad del MEA. Los resultados obtenidos podrían ayudar a estandarizar los protocolos del MEA e incrementar la capacidad de detección de cantidades subletales de sustancias embriotóxicas, confiriendo mayor seguridad a la práctica clínica.

ÓMICAS: GENES, TRÁNSCRITOS Y PROTEÍNAS

CO-011

THE EARLY TRANSCRIPTIONAL RESPONSE OF THE ENDOMETRIAL EPITHELIUM TO BLASTOCYST APPOSITION

Gustavo Tiscornia Palacios[1], A Almansa[1], F Zambelli[1], M Popovic[1], A Rodríguez Aranda[1], J Santalo[2], R Vassena[3]
[1]Euvitro - Barcelona (Catalunya), [2]Universitat Autònoma Barcelona - Bellaterra (Catalunya), [3]Fecundis Lab – Barcelona (Barcelona)

INTRODUCTION

Embryo implantation, a regulated process involving bidirectional communication between the embryo and the endometrium, is a limiting factor in assisted reproduction. Published literature focusing on *in vitro* modelling of apposition/attachment of the embryo onto the maternal endometrium (using the adenocarcinoma cell line Ishikawa as proxy for endometrial epithelium) has identified a number of molecular players, including cytokines, extracellular vesicles, TNFα and hyaluronan, among others. Transcriptomic analyses of separated embryo and endometrial elements after co-culture have recently been done with trophoblast spheroids but to date, not with human embryos.

OBJECTIVE

To understand the transcriptional responses of the endometrial epithelium and human blastocysts after coculture for 4, 8 and 12 hours.

MATERIAL AND METHOD

Basic research study. We co-cultured human blastocysts on the Ishikawa epithelial cell line at different time points. After co-culture, the embryos and Ishikawa cells were separated manually and subjected to RNAseq analyses. Differentially expressed genes were identified using DESEq2 ($p<0.05$). In addition, a functional enrichment analysis was performed using (GSEA) and Broad Hallmarks ontologies to identify enriched metabolic pathways ($p<0.05$). Human blastocysts donated for research were cocultured on an 80% confluent Ishikawa cell layer for 0, 4, 8 and 12 hours (N=5 per time point). After manual separation of Ishikawa cells from embryos, total RNA was extracted, libraries were prepared using Ovation Solo RNA kit (Nugen) and sequenced using Illumina HiSeq2500 instrument (500 million reads).

RESULTED

GSEA (Broad Hallmarks) analysis on the Ishikawa substrate cocultured with human blastocysts showed significantly enriched pathways ($p<0.05$) at each timepoint in comparison with the preceding timepoint. Cell cycle, signalling and metabolism related pathways were enriched in recognizable patterns throughout the time-course. Pathways related to G2/M checkpoint, E2F targets and mitotic spindle were enriched after 4 hours of coculture and subsequently negatively enriched at 8 and 12 hours, suggesting a transcriptional wave. In the signalling pathway group, TNFα signaling via NFKβ followed a similar pattern, while mTORC1 signalling and the p53 pathway were increasingly negatively enriched throughout the time-course. Among the pathways related to metabolism (Glycolisis and Cholesterol homeostasis) a pattern of successive negative enrichment was seen across the time-course. Other cellular pathways that showed differences in enrichment were Hypoxia, Response to Androgens, Complement, Early estrogen response and Late estrogen response, all of which showed successive negative enrichment throughout the timecourse. In contrast, the Apoptosis pathway was initially positively enriched at 4 hs and negatively enriched at 8 hs and 12 hs, while the EMT pathway was positively enriched throughout the time-course. In contrast, embryos showed little or no enrichment of pathways throughout the timecourse even at a $p<0.1$ level of significance.

CONCLUSIONS

Upon co-culture, Ishikawa endometrial cells undergo transcriptional waves involving showing signaling, cell cycle regulation, metabolism and hormonal transcriptional responses, while embryos showed little or no significant transcriptional changes during co-culture. This suggests that embryo-epitheliun cross-talk is initiated by the epithelium. In response to embryo adhesion, metabolism and cell cycle pathways are depressed, possibly in preparation for epithelial mesenchymal transition for breaching of the epithelium by the embryo.

CO-012

DETERMINACIÓN DEL PERFIL PROTEÓMICO DE BLASTOCISTOS VITRIFICADOS MEDIANTE ANÁLISIS NO INVASIVO DEL MEDIO DE CULTIVO PARA LA PREDICCIÓN DE EMBARAZO EVOLUTIVO

Laura Conversa Martínez[1], C Giménez Rodríguez[1], L Bori Arnal[1], MA Valera Cerdá[1], L Murria Aguilar[1], A Cobo Cabal[2], M Meseguer Escrivá[2]

[1]Fundación IVI, IIS La Fe - Valencia (Valencia), [2]IVI Valencia - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha tratado de estimar la calidad del embrión a través de distintos parámetros no invasivos, como la presencia de biomarcadores en el medio de cultivo utilizado durante el desarrollo embrionario. Sin embargo, aún no se han estudiado las sustancias presentes en el medio de cultivo empleado en el periodo entre la desvitrificación y la transferencia. Este supone una fuente potencial de información sobre el perfil proteómico del embrión, pues en él podrían encontrarse las sustancias liberadas por el blastocisto al intercambiar su contenido celular con el medio circundante durante la reexpansión, y por las células que no hayan sobrevivido al proceso.

OBJETIVO

El objetivo de este estudio fue analizar la relación entre el perfil proteómico de los medios de cultivo utilizados en el periodo entre la descongelación y la transferencia, y la probabilidad de implantación y embarazo evolutivo de blastocistos vitrificados.

MATERIAL Y MÉTODO

Este estudio prospectivo incluyó 35 muestras de medio de cultivo de blastocistos desvitrificados de día 5/6 que fueron sometidos a transferencia de un solo embrión, y tres muestras de control (medio en el que no se habían cultivado embriones). Los embriones fueron vitrificados y vitrificados mediante el método Cryotop (Kitazato, Japón). Se recogieron muestras de 20 µl de medio de cultivo (Gems; Genea Biomedx, Australia) de cada embrión, y se almacenaron a -80°C hasta el análisis proteómico. Se anotó el dato de implantación (saco gestacional en la semana 5) y de embarazo evolutivo (latido fetal en la semana 20). Las concentraciones relativas de 184 proteínas se midieron utilizando los paneles Olink Inflammation y Development (Olink Proteomics, Suecia), que utilizan ensayos Proseek Multiplex basados en la tecnología de ensayo de extensión de proximidad. Los datos se analizaron mediante ANOVA unidireccional. El análisis de regresión logística por pasos incluyó los valores de expresión normalizada de proteínas (NPX), el índice de masa corporal, la edad de la paciente, si el ovocito fue autólogo o donado y el día de vitrificación. El rendimiento del algoritmo se determinó mediante el área bajo la curva (AUC) ROC (receiver operating characteristic).

RESULTADOS

De las 184 proteínas analizadas, 14 proteínas de inflamación y 58 proteínas de desarrollo alcanzaron el límite de detección en al menos la mitad de las muestras. De las 58 proteínas de desarrollo detectadas, 17 de ellas se encontraron en niveles significativamente diferentes entre las muestras y los controles, y/o entre los blastocistos implantados o no implantados y los controles ($p < 0,05$). De estas 17, la glicoproteína Xg tuvo un nivel de expresión menor en los embriones que implantaron ($0,05 \pm 0,11$, $p = 0,03$) que en los que no implantaron ($0,17 \pm 0,20$). Además, los blastocistos vitrificados que dieron lugar a embarazo evolutivo presentaron una cantidad significativamente mayor de la proteína Dickkopf 3 (DKK3) ($-0,19 \pm 0,16$, $p = 0,01$) que los que no lo hicieron ($-0,30 \pm 0,09$). La contribución de cada unidad NPX de DKK3 al embarazo en curso (Odds ratio = 1,10 [IC 95%: 1,02-1,18], $p = 0,01$) fue estadísticamente significativa. La concentración de proteína DKK3 predijo con éxito el embarazo evolutivo con un AUC de 0,71 ($p = 0,04$).

CONCLUSIONES

El análisis proteómico del medio de cultivo de blastocistos desvitrificados puede ser una herramienta útil para predecir el resultado clínico de forma no invasiva. Los embriones que implantaron presentaban niveles más bajos de glicoproteína Xg, mientras que una mayor expresión de DKK3 se asociaba con el éxito del embarazo evolutivo. La concentración de DKK3 predijo con éxito el embarazo en curso con un AUC de 0,71. Se necesita un tamaño muestral mayor para extraer conclusiones más robustas.

CO-013

EL CRIBADO GENÉTICO DE LOS GENES MASCULINOS PLCZ1, ACTL7A Y ACTL9 REPRESENTA UNA PRUEBA DE DIAGNÓSTICO RÁPIDA Y EFICAZ EN PACIENTES CON FALLOS DE FECUNDACIÓN DESPUÉS DE ICSI

Arantxa Cardona Barberán, A Boel, C Colenbier, E Van der Velden, D Stoop, P Coucke, F Vanden Meerschaut, B Heindryckx
Universidad de Gante
Gante (Flandes, Bélgica)

INTRODUCCIÓN

Los fallos de fecundación (FF) después de ICSI a menudo se atribuyen a la deficiencia de fosfolipasa C zeta (PLCζ) y, en consecuencia, a la liberación insuficiente de calcio necesaria para la fecundación. Se han detectado variantes genéticas

en PLCZ1 en un tercio de los varones con FF. Recientemente, también se identificaron variantes en la proteína similar a la actina 7A (ACTL7A) y 9 (ACTL9), pero se desconoce la frecuencia de estas en pacientes con FF. Los defectos en ACTL7A/ACTL9 alteran la estructura del acrosoma, lo que resulta en una reducción del contenido en PLCζ. La activación de ovocitos asistida (AOA), por ionóforo de calcio, restaura la fecundación en pacientes con variantes en PLCZ1 y también podría beneficiar a pacientes con defectos en ACTL7A/ACTL9.

OBJETIVO

Determinar la tasa de detección de variantes genéticas en PLCZ1, ACTL7A y ACTL9 en pacientes masculinos con FF después de ICSI y estudiar la eficacia del tratamiento AOA en pacientes con estas variantes.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio prospectivo de enero de 2021 hasta enero de 2023 que incluyó 29 pacientes masculinos (P1-P29) con FF (fecundación media ≤45%). Todos los pacientes donaron una muestra de saliva para el cribado genético de PLCZ1, ACTL7A y ACTL9 y una muestra de esperma para la prueba de activación de ovocitos de ratón (MOAT). A todas las parejas con FF se les ofreció un ciclo de AOA. El cribado genético se realizó mediante secuenciación de última generación. Las variantes identificadas se clasificaron empleando Varsome y se confirmaron mediante secuenciación de Sanger. Los pacientes con variantes identificadas de significado incierto, probablemente patogénicas o patogénicas se sometieron a pruebas diagnósticas adicionales, como el estudio del patrón de liberación de calcio en ovocitos de ratón (MOCA) y en ovocitos humanos madurados *in vitro* (HOCA), inmunotinción de PLCζ y ACTL7A, y análisis de la morfología espermática por microscopía electrónica de transmisión (TEM).

RESULTADOS

El cribado genético reveló cuatro variantes diferentes en PLCZ1 (p.Ile379Thr, p.Ser500Leu, p.His233Leu y p.Ile74Thr) en siete pacientes (P6, P8, P9, P10, P19, P20 y P27) todas ellas en heterocigosis. Además se encontraron cuatro variantes diferentes en ACTL7A (p.Gly214Ser, p.Ser364GlnfsTer9, p.Arg373Cys, p.Tyr183His) en cuatro pacientes (P1, P6, P22, y P29), tres de ellas en homocigosis, y una variante en ACTL9 (p.Arg271Pro) en P8 en heterocigosis. Curiosamente los pacientes P6 y P8 presentaron variantes en PLCZ1 y en ACTL7A o ACTL9.

Todos los pacientes con variantes identificadas mostraron una alta tasa de activación de ovocitos (>70%) después de MOAT y liberación de calcio normal después de MOCA, excepto P1 y P22, lo que indica una deficiencia espermática más perjudicial en estos pacientes. En cambio, HOCA reveló ausencia de oscilaciones de calcio en todos los pacientes analizados excepto en P6 y P29. Los experimentos de immunotinción revelaron ausencia de proteína ACTL7A en P1 y P22, así como ausencia de proteína PLCZ1 en P1, P6, P19 y P27 en comparación con el control. Además, el análisis TEM confirmó desprendimiento del acrosoma de la membrana nuclear en el 100,0% de las células espermáticas analizadas en P1, 60,0% en P29 y 48,6% en P8.

La AOA aumentó la tasa de fecundación del 10,6% al 61,45% en pacientes con variantes en PLCZ1 y del 22,6% al 60,2% en pacientes con variantes en ACTL7A. Los pacientes P1, P6, P8, P9, P19 lograron un nacido vivo después de AOA.

CONCLUSIONES

Los pacientes masculinos con FF después de ICSI presentan más variantes en PLCZ1 (24,1%), que en ACTL7A (13,8%) y ACTL9 (3,4%). La secuenciación de estos genes representa una prueba de diagnóstico más rápida y eficaz para FF que MOAT y MOCA. La deficiencia de calcio causada por estas variantes puede ser superada eficientemente con la AOA.

CO-014

SINGLE-CELL ANALYSIS REVEALS THE PROTEOMIC BASIS OF AGE-RELATED QUALITY DECLINE IN HUMAN OOCYTES

Styliani Galatidou[1], A Petelski[2], L Sabater Rovira[3], A Pujol Masana[4], K Lattes Altamirano[4], M Popovic[1], R Vassena[5], N Slavov[2], M Barragan Monasterio[1]

[1]EUGIN Group - Barcelona (Barcelona), [2]Department of Bioengineering, Single Cell Proteomics Center, and Barnett Institute, Northeastern University - Boston (MA, 02115, USA), [3]Clínica EUGIN - Barcelona (Barcelona), [4]CIRH - Barcelona (Barcelona), [5]FECUNDIS - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCTION

It is well established that advanced maternal age (AMA) is associated with a decline in oocyte number and quality, which often leads to reproductive failure. Poor oocyte quality is linked to aneuploidies due to chromosome mis-segregation errors and alterations in cytoplasmic fitness, however the underling mechanisms remain unknown. Proteomic studies may shed light on these mechanisms as the proteome and (post)-translational modifications of transcriptionally silent oocytes control several early developmental processes, from meiosis resumption to embryonic genome activation. Current knowledge related to human oocyte aging is largely restricted to transcriptomic studies with no information regarding the proteome of oocytes obtained from AMA women.

OBJECTIVE

In the present study our goal is to reveal the proteomic basis of human oocytes aging at the last stages of meiotic maturation.

MATERIAL AND METHOD

Fifty-two women were included in the study between May 2021 - May 2022, across two ART centers. In total, we collected 67 oocytes after controlled ovarian stimulation, distributed as follow: 18 fresh immature germinal vesicle oocytes (GVs) and 17 vitrified-warmed *in vivo* matured metaphase II oocytes (MIIs) from young women and 18 fresh GVs and 14 vitrified-warmed MIIs from AMA women. Participants for the young group (n= 27) had a mean age of 24 ± 3.9 years (range 18-30), and from the AMA group (n=25), 39 ±1.8 years (range 37-43). Single denuded oocytes were snap frozen and their proteomic profiles were generated using the plexDIA method. Briefly, the oocytes were lysed following the mPOP protocol, the proteins were digested with trypsin and the peptides were analyzed by plexDIA. Mann-Witney U test (fold change >|1.5|, adjusted p-value <0.05), spearman correlation (rs ≥|0.4|, p-value <0.05) and the ggplot package were used in R to compare the different groups and visualize the results.

RESULTED

A total of 2,105 proteins were quantified across the oocyte stages and age groups. Most of these were present in oocytes independently of their maturation state and were found to be related to vital processes (i. e., cellular respiration and energy metabolism). Fifty-four proteins varied in abundance between immature and mature oocytes; including RS14, YBOX2 and RL10A (fold change 3.0, 1.9, 1.6 respectively) (translational regulation), CLUS and AHSA1 (fold change 2.0 and 1.5) (post-translational modifications) and proteins involved in meiotic progression (WEE2, AURKA, BUB1B, SPDLY, fold change 3.3, 2.5, 2.1, 1.9 respectively). Moreover, we established a negative correlation between protein levels and age for meiosis regulators (e. g., 1433E, CDK1; rs: -0.7 and -0.5, respectively), meiotic spindle proteins (e.g., DYL2, CAPZB, ARP3, GCP3; rs: -0.6, -0.6, -0.5, -0.5; respectively) and for 5 proteasome subunits (PRS8, PRS6A, PRS10, PSA6, PSMF1; rs: -0.7 to -0.4). The proteasome is a cellular organelle involved in protein homeostasis (proteostasis) that controls protein degradation and regulates meiosis in oocytes. Additional proteins of the proteostasis network were found to decline with age (e. g., TCPH, TCPA; rs: -0.5). Mis-regulation of proteostasis is a common feature of aging and age-related diseases. Additionally, we observed a positive correlation between age and mitochondrial and stress-response proteins (e. g., ATP5L, TMX1; rs: 0.6, 0.5, respectively).

CONCLUSIONS

We show that a woman's age correlates with changes in her oocyte proteome, which may contribute to the deterioration of oocyte quality through dysregulation of meiosis and disturbance of proteostasis. Proteins with altered abundance in oocytes from AMA women, such as those of the proteasome complex, could become targets for actions to improve oocyte quality.

CO-015

THE EFFECTS OF HEK293T-DERIVED EXOSOMES ON BOAR SPERM MOTILITY AND GENE EXPRESSION

Montserrat Vallet Buisán, O Bathurst, C Jones, K Coward
University of Oxford
Oxford (Oxfordshire)

INTRODUCTION

Exosomes are small membrane-enclosed vesicles, 30 – 150 nm in size, and have emerged as promising drug delivery vehicles as they can be synthesised *in vitro*, loaded with exogenous cargo, and delivered to recipient cells. Exosomes can be produced *in vitro* by the transformation of human embryonic kidney (HEK293T) cells, a widely available cell line that allows for a scalable manufacturing system for the mass production of exosomes. Previous studies have shown that HEK293T-derived exosomes interact efficiently and non-invasively with mammalian sperm *in vitro*, thus highlighting their potential as a novel approach for drug delivery in reproductive biology.

OBJECTIVE

To investigate the effects of exosome exposure on boar sperm motility and gene expression.

MATERIAL AND METHOD

Exosomes were isolated from HEK293T cells and fluorescently labelled with BODIPY. Boar semen samples were co-incubated with exosomes in phosphate buffered saline (PBS) at a 10:1 working ratio for 4 hours. Samples were collected for analysis at 0 hours, 2 hours, and 4 hours after the start of incubation. Computer-assisted sperm analysis (CASA) was used to analyse sperm motility parameters. The expression of key sperm genes (Gapdh, Gpx6, Mt-Nd1, Mt-Nd6, Caspase 8, and Caspase 9) was evaluated by RT-qPCR. Three different boar ejaculates (n = 3) were used to assess exosome interaction with sperm.

RESULTED

Exosomes were successfully isolated from HEK293T cells and labelled with BODIPY. CASA and RT-qPCR analysis demonstrated that the co-incubation of boar sperm with exosomes had no significant impact on sperm motility or the expression of key sperm genes ($P > 0.05$). RT-qPCR analysis indicated that the exposure of boar sperm to exosomes did not result in increased ROS production, the induction of apoptosis, or any negative effect on energy generation pathways.

CONCLUSIONS

Exposure of boar sperm to HEK293T-derived exosomes did not affect sperm motility or gene expression. These findings suggest that exosomes represent a safe and effective approach for drug delivery in reproductive biology. Future studies should focus on the specific mechanisms underlying exosome-sperm interactions and the potential applications of exosome-mediated drug delivery in reproductive medicine.

CO-016

EL GEN DNMT3 SE ENCUENTRA ASOCIADO A UN INCREMENTO EN LAS ANEUPLOIDÍAS ESPERMÁTICAS

Almudena Marco Llopis, B Lledó Bosch, JA Ortiz Salcedo, R Morales Sabater, A Fabregat Reolid, F Lozano García, M Hortal Foronda, A Bernabéu García, R Bernabéu Pérez
Instituto Bernabéu
Alicante (Alicante)

INTRODUCCIÓN

Las aneuploidías son frecuentes en embriones de FIV. Aunque la edad materna es su principal causa, estudios previos han demostrado que un incremento en las cromosomopatías numéricas en los espermatozoides, evaluadas mediante FISH, podría aumentar el riesgo de generar embriones aneuploides poniendo de manifiesto la importancia del factor masculino. Recientemente se ha demostrado que determinadas variantes genéticas pueden aumentar la tasa de aneuploidías embrionarias, sin embargo, no se ha realizado hasta el momento ningún estudio que trate de identificar variantes genéticas en pacientes con un alto porcentaje de aneuploidías espermáticas.

OBJETIVO

El objetivo del presente trabajo ha sido identificar genes que predispongan a un incremento de aneuploidías espermáticas.

MATERIAL Y MÉTODO

Se ha realizado un estudio prospectivo en el que se incluyeron 64 varones distribuidos en 3 grupos: 15 pacientes de nuestra clínica con FISH en espermatozoides alterado, 29 varones con FISH normal y 20 donantes de semen. En todos ellos se ha evaluado un panel de NGS que incluye 54 genes relacionados con aneuploidías embrionarias, procesos de reparación, transcripción, meiosis y división celular del ADN.

Para ello, se realizó una extracción de ADN genómico a partir de sangre-EDTA de los pacientes empleando el kit comercial MagMax DNA MultiSample Ultra y el extractor automático King-Fisher (ThermoFisher). La secuenciación del panel para la identificación de variantes genéticas se realizó utilizando la tecnología Nextera Enrichment (Ilumina). Los datos FASTAQ se procesaron mediante algoritmos BWA y GATK. Los archivos VCF se analizaron utilizando el software Variant Interpreter.

Mediante la técnica de FISH se realizó el análisis de un máximo de 9 de los 23 cromosomas: 13, 15, 16, 17, 18, 21, 22, X e Y. Se realizó una fijación con Carnoy y descondensación de la cromatina con NaOH. Se analizaron entre 500 y 2000 espermatozoides.

RESULTADOS

Tras el análisis de los datos, de los 15 pacientes del grupo FISH en espermatozoides alterado, se observó una variante en el gen DNMT3 (c.2191A>G; p.(Arg731Gly) que fue clasificada como probablemente patogénica. No se detectó ninguna variante ni en el grupo de pacientes con FISH en espermatozoides normal ni en el de donantes de semen. El gen DNMT3B codifica una metiltransferasa que metila el DNA no metilado y hemimetilado con la misma frecuencia. Dodge JE *et al.* (2005) observaron en su estudio con fibroblastos embrionarios de ratón que la deficiencia de DNMT3B daba lugar a aneuploidías y poliploidías, rupturas cromosómicas y fusiones en estas células. Esta mutación podría explicar el resultado alterado que se obtuvo en 3 de los 5 cromosomas analizados (cromosoma XY, 18 y 21) en el paciente.

CONCLUSIONES

Nuestros resultados sugieren que existe una asociación entre el gen DNMT3B y el riesgo de aneuploidías espermáticas. Esto

supone un gran avance en el conocimiento de los procesos biológicos implicados en la segregación cromosómica. Por primera vez, se ha podido identificar la posible causa responsable del incremento en las aneuploidías espermáticas en el varón. Se necesitan más investigaciones que corroboren estos resultados y que permitan diseñar un panel de NGS más específico. De esta manera, este nuevo panel podría complementar los estudios realizados al varón y ayudarnos a predecir el riesgo de aneuploidías de forma anticipada.

REFERENCIAS

1. Dodge JE, Okano M, Dick F, Tsujimoto N, Chen T, Wang S, Ueda Y, Dyson N, Li E. La inactivación de Dnmt3b en fibroblastos embrionarios de ratón da como resultado la hipometilación del ADN, la inestabilidad cromosómica y la inmortalización espontánea. J Biol Chem. 2005 6 de mayo;280(18):17986-91. doi: 10.1074/jbc.M413246200. Epub 2005 8 de marzo. PMID: 15757890.

CO-017

DOS VARIANTES HETEROCIGOTAS TRUNCADAS DE SPATA16 PRODUCEN UN DEFECTO EN LA ESPERMATOGÉNESIS INDUCIENDO LA INFERTILIDAD MASCULINA

Paula Cots Rodríguez[1], P Sòria Monzó[1], P Sáez Espinosa[2], V Penacho[3], LA Alcaraz[3], J Ballesta[1], MJ Gómez Torres[2], JA Sánchez[4], M Avilés[1]

[1]Universidad de Murcia - Murcia (Murcia), [2]Universidad de Alicante - Alicante (Alicante), [3]Bioarray - Alicante (Alicante), [4]IMFER Fertilidad - Murcia (Murcia)

INTRODUCCIÓN

La infertilidad es un problema de salud global que afecta, aproximadamente, al 15% de la población mundial [1,2], siendo el factor masculino el origen principal o contribuyente en el 50% de los casos [3]. Entre las causas que pueden generar estos problemas en el varón, las anomalías genéticas son el 15-30% de los casos [2,4], mientras que un 20% son de origen idiopático [3]. Un estudio genético resulta clave a la hora de diagnosticar la infertilidad masculina. En la actualidad, gracias a la secuenciación masiva (NGS), es posible evaluar un elevado número de genes relacionados con la espermatogénesis con el fin de determinar posibles mutaciones deletéreas causantes de la infertilidad.

OBJETIVO

El objetivo de este estudio es el diagnóstico genético y morfológico a nivel ultraestructural de un paciente infértil que sufre oligoastenoteratozoospermia severa compatible con globozoospermia.

MATERIAL Y MÉTODO

Este estudio ha sido supervisado y aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Universidad de Murcia (CEI4257/2023).

Para el desarrollo de este trabajo se obtuvieron muestras seminales, así como muestras sanguíneas para la obtención de ADN genómico (ADNg). A partir del ADNg se realizó una secuenciación mediante NGS del exoma, empleando la plataforma Illumina NovaSeq y el kit de captura Agilent SureSelect Human All Exon V6, y se analizaron 7 genes asociados con globozoospermia [6–13].

Paralelamente, las muestras seminales se fijaron en glutaraldehído al 2% durante 2 horas a 4 ºC para ser evaluadas mediante microscopía electrónica. Para el análisis ultraestructural mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM), una alícuota se incluyó en bloques de agarosa al 2% y se posfijó con tetróxido de osmio al 1%. Se incluyeron en resina epoxi EPON-812. Se obtuvieron secciones ultrafinas las

cuales se depositaron en una rejilla de cobre y se contrastaron con acetato de uranilo al 5% y citrato de plomo al 2,5%. Finalmente, se examinó utilizando el microscopio electrónico de transmisión Jeol JEM-1400 Plus. Para el análisis morfológico mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), la muestra se deshidrató en una serie creciente de etanol y se sometió a punto crítico usando dióxido de carbono. Tras realizar el montaje de los cubreobjetos, se metalizaron con oro y se examinaron usando el microscopio electrónico de barrido Jeol IT500HR/LA.

RESULTADOS

El paciente fue diagnosticado, mediante un seminograma basado en las recomendaciones de la OMS [5], con una oligoastenoteratozoospermia severa compatible con globozoospermia parcial. Las características espermáticas evaluadas mediante el frotis seminal mostraron abundantes células redondas y escasos espermatozoides que presentaban la cabeza redondeada. Al evaluar las muestras mediante TEM se observaron abundantes células redondas las cuales presentaban múltiples axonemas dentro de una misma célula, así como el material genético fragmentado. Al observar los escasos espermatozoides mediante SEM, se observó una alteración en la estructura y morfología cefálica donde fue imposible visualizar la región acrosomal y postacrosomal, además piezas intermedias adelgazadas y flagelos enrollados.

El análisis genético focalizado en genes asociados con globozoospermia obtuvo una cobertura media de 77,37X; cubriéndose el 94,75% de las regiones codificantes. En él, se detectaron dos mutaciones en heterocigosis del gen SPATA16 (c.1210_1211dupAA y c.1290delG) las cuales no habían sido descritas previamente en la población. Ambas mutaciones, inserción y deleción respectivamente, producirían un cambio en el patrón de lectura generando un codón de terminación prematuro (tras el aminoácido 411 y 444, respectivamente) de la secuencia proteica (longitud teórica 569 aminoácidos).

CONCLUSIONES

Las mutaciones c.1210_1211dupAA y c.1290delG del gen SPATA16 producen un defecto en la espermatogénesis impidiendo la correcta formación del espermatozoide. Dichas mutaciones son muy probablemente responsables de la infertilidad masculina observada en el paciente objeto de este estudio.

Agradecer al paciente de estudio su participación en este trabajo.

Proyecto PID2021-123091NB-C21 financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033/ y FEDER.

REFERENCIAS

1. World Health Organization. Sexual and reproductive health: infertility is a global public health issue. Vol. 17th (2021).
2. Sang, Q. et al. Understanding the genetics of human infertility. Science, 380(6641), 158–163 (2023).
3. Leslie, S. W. et al. Male Infertility. In StatPearls. StatPearls Publishing (2021).
4. Krausz, C. et al. Genetics of male infertility. Nat Rev Urol 15, 369-384 (2018).
5. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen, fifth edition. Geneva: World Health Organization; 2010.
6. Landrum, M. J. et al. ClinVar: public archive of relationships among sequence variation and human phenotype. Nucleic Acids Res. 42, D980-5 (2014).
7. Stenson, P. D. et al. The Human Gene Mutation Database: building a comprehensive mutation repository for clinical and molecular genetics, diagnostic testing and personalized genomic medicine. Hum. Genet. 133, 1–9 (2014).
8. Lek, M. et al. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. Nature 536, 285–91 (2016).
9. 1000 Genomes Project Consortium et al. A map of human genome variation from population-scale sequencing. Nature 467, 1061–73 (2010).
10. University of Washington, Seattle, W. NHLBI GO Exome Sequencing Project (ESP).
11. Piñero, J. et al. DisGeNET: a comprehensive platform integrating information on human disease-associated genes and variants. Nucleic Acids Res. 45, D833–D839 (2017).
12. Köhler, S. et al. Expansion of the Human Phenotype Ontology (HPO) knowledge base and resources. Nucleic Acids Res. (2018). doi:10.1093/nar/gky1105
13. Liu, X; Wu, C; Li, C. & Boerwinkle, E. dbNSFP v3.0: A One-Stop Database of Functional Predictions and Annotations for Human Nonsynonymous and Splice-Site SNVs. Hum. Mutat. 37, 235–41 (2016).

CO-018

RELACIÓN ENTRE LOS ARN TELOMÉRICOS Y LA CALIDAD DE LOS ESPERMATOZOIDES: UN POSIBLE BIOMARCADOR PARA LA INFERTILIDAD MASCULINA

Isabel Cuadrado Torroglosa[1], I Córdova Oriz[1], C Losada[2], M Díaz Gómez[2], A Molinero Ballesteros[2], A Pacheco[2], JA García Velasco[3], E Varela[4], C Balmori[5]

[1]Fundación IVI-IIS La Fe - Madrid (Madrid), [2]IVI-RMA Madrid - Madrid (Madrid), [3]Fundación IVI-IIS La Fe, IVI-RMA Madrid, URJC - Madrid (Madrid), [4]Fundación IVI-IIS La Fe, URJC - Madrid (Madrid), [5]IVI-RMA Madrid, URJC - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

En el campo de la infertilidad masculina, las herramientas de diagnóstico convencionales no siempre son efectivas para identificar la causa del problema y encontrar el tratamiento adecuado, sobre todo en casos en que los resultados del análisis seminal son normales. Diversos estudios han demostrado que los telómeros, estructuras ubicadas en los extremos de los cromosomas que protegen la información genética, tienen una relación importante con la fertilidad. Además, se ha descrito, en esas regiones cromosómicas, la asociación de ARN largos no codificantes con repeticiones teloméricas, conocidos como TERRA, que participan en la regulación de la longitud telomérica y protección de los cromosomas. Estos ARN podrían estar relacionados con el éxito reproductivo.

OBJETIVO

El objetivo de este estudio es explorar cómo la expresión de TERRA afecta a la calidad de los espermatozoides (y, con ello, al éxito reproductivo tras las técnicas de reproducción asistida), con el fin de poder ser utilizada como un nuevo biomarcador para la infertilidad masculina. Mientras la longitud telomérica y otros aspectos moleculares, como la fragmentación del ADN espermático, se han estudiado mucho en relación con la fertilidad, la importancia de los TERRA apenas ha sido explorada.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio analítico prospectivo incluyendo a 45 varones normozoospérmicos sometidos a un ciclo de ICSI con donación de ovocitos, entre septiembre de 2022 y marzo de 2023. La intensidad de TERRA se midió mediante hibridación *in situ* fluorescente cuantitativa, seguida de adquisición de imágenes con microscopio ScanR, objetivo 40x NA 0,8. Las imágenes se analizaron con inteligencia artificial (TruAI) a partir de la cual se entrenaron dos redes neuronales, una para la detección de núcleos espermáticos y otra para la de señales CY3 (TERRA) en núcleos espermáticos. Adicionalmente, los porcentajes de fragmentación en el ADN espermático se midieron mediante la técnica TUNEL en muestras previamente fijadas. Los parámetros seminales se evaluaron de acuerdo con los protocolos estándar de IVIRMA. Los resultados se consideraron estadísticamente significativos para un valor $p<0.05$.

RESULTADOS

Un total de 45 hombres fueron reclutados con una edad media de 41,3±5,2 años y un IMC de 25,4±3,0 kg/m2. Los valores medios del seminograma fueron: concentración 50,6±36,4x10^6/ml; espermatozoides totales 77,57±46,4; movilidad progresiva 40,4±10,4%; movilidad total progresiva 32,03±22,5x10^6/volumen total. La media de fragmentación de ADN espermático fue 10,8±11,3%. No se encontró ninguna asociación entre los valores de TERRA y los parámetros del seminograma. No obstante, sí se encontró una correlación positiva y estadísticamente significativa entre los TERRA y la tasa de desarrollo a blastocito (r= 0,3, p= 0,02). Los niveles de fragmentación del ADN espermático correlacionaron negativamente con la concentración (r= -0,4, p= 0,001), con los espermatozoides totales (r= -0,5, p= <0,0001) y con la movilidad progresiva total (r= -0,5, p= 0,0005). Sin embargo, no se encontró ninguna asociación entre los niveles de TERRA y los porcentajes de fragmentación.

CONCLUSIONES

A pesar de no encontrarse una asociación entre los valores de TERRA y los parámetros seminales, sí se encontró una correlación positiva y significativa con la tasa de desarrollo a blastocisto, lo que sugiere que los TERRA podrían ser útiles como biomarcadores para evaluar la calidad embrionaria en pacientes normozoospérmicos. Por otra parte, no se encontró una relación entre los niveles de fragmentación del ADN y los TERRA. Sin embargo, los niveles de fragmentación del ADN espermático sí correlacionaron negativamente con varios parámetros del seminograma, lo que respalda la importancia de considerar este parámetro para la evaluación de la calidad seminal. En conclusión, estos hallazgos pueden ayudar a los médicos a mejorar la precisión del diagnóstico de infertilidad masculina y proporcionar tratamientos más efectivos y personalizados, sobre todo en casos de pacientes normozoospérmicos con infertilidad idiopática.

ANDROLOGÍA: EL ESPERMATOZOIDE Y SU SELECCIÓN

CO-019

DIFUSIÓN DEL INTERCAMBIADOR NA+/H+ (NHE-11) EN ESPERMATOZOIDES HUMANOS TRAS LA INDUCCIÓN DE LA REACCIÓN ACROSÓMICA

Paula Sáez Espinosa[1], M Hernández Falcó[1], A López Botella[1], M Avilés[2], MJ Gómez Torres[1]
[1]Universidad de Alicante - Alicante (Alicante), [2]Universidad de Murcia - Murcia (Murcia)

INTRODUCCIÓN

Se estima que entre un 15-20% de las parejas presentaran infertilidad en algún momento de su vida reproductiva y aproximadamente la mitad de los casos son de origen masculino. En este contexto, existen múltiples aspectos celulares y moleculares del gameto masculino implicados en el proceso de fecundación que se desconocen, y por ello aproximadamente el 45% de los casos de infertilidad masculina se atribuyen a etiología desconocida. Por tanto, es de gran importancia identificar nuevos genes implicados en la espermatogénesis como son los que codifican para canales y transportadores iónicos. Los intercambiadores Na+/H+ (NHE) son proteínas de membrana involucradas en procesos fisiológicos como la regulación del pH intracelular, el crecimiento celular y la absorción de fluidos.

En concreto, el gen seleccionado para este trabajo es SLC9C2 (también conocido como NHE11). Dicho gen pertenece a la familia SLC9/NHE que engloba genes codificantes para canales de membrana responsables del intercambio de Na+/H+. Hasta la fecha no se conoce el papel funcional de SLC9C2, cuya expresión se ha visto en piel, tejido conectivo y en testículo humano (tanto en espermátidas tempranas como tardías). Además, no hay estudios que analicen con detalle su localización en el espermatozoide humano.

OBJETIVO

El objetivo de este estudio fue caracterizar la inmunolocalización del gen/proteína SLC9C2/NHE-11 en espermatozoides humanos con acrosomas intactos y reaccionados tras 1 y 4 horas de capacitación *in vitro*.

MATERIAL Y MÉTODO

Se obtuvieron muestras seminales de 10 donantes normozoospérmicos. La capacitación se llevó a cabo mediante *swim up* (1 h y 4 h) y la posterior inducción de la reacción acrosómica añadiendo ionóforo de calcio A23187 y cloruro de calcio (Figura IA). Tras la inducción de la reacción acrosómica se analizó de manera simultánea mediante inmunofluorescencia el estado acrosomal y la localización del gen SLC9C2. En concreto, para evaluar la integridad del acrosoma se utilizó

la lectina *Pisum sativum agglutinin* (PSA) conjugada con FITC y para el análisis del gen el anticuerpo primario anti-SLC9C2 producido en conejo y un anticuerpo secundario Cy3 anti-conejo. Se observó un mínimo de 200 células mediante microscopía de fluorescencia y se analizaron los datos estadísticamente.

RESULTADOS

Como resultado, se identificaron un total de cuatro patrones de tinción diferentes basados en la localización del gen/proteína SLC9C2/NHE-11: patrón 1 (P1) región acrosomal punteada, patrón 2 (P2) región acrosomal punteada con banda ecuatorial, patrón 3 (P3) región ecuatorial y patrón 4 (P4) sin marcaje. La totalidad de porcentajes de cada patrón en función del estado acrosomal y del tiempo de capacitación se muestra en la Figura II. Cabe destacar que la población de espermatozoides a los que se les había inducido la reacción acrosómica tras 1 hora de capacitación mostró que la mayoría de las células con el acrosoma intacto presentaron NHE-11 distribuido según el patrón 2 (57,81%). Mientras que, aquellos espermatozoides que habían reaccionado el patrón más representativo fue el P1 con un 48,78% (Figura IB). En cuanto a la población espermática a la que se le había inducido la reacción acrosómica tras 4 horas de capacitación, los resultados mostraron que el SLC9C2/NHE-11 se distribuyó predominantemente según el patrón 3 (55,56%) en los espermatozoides con el acrosoma intacto. Mientras que las células con el acrosoma reaccionado presentaron mayoritariamente P4 en un 60,85% (Figura IB).

CONCLUSIONES

En conclusión, estos datos muestran como novedad el movimiento y difusión del canal NHE-11 en base al estado acrosomal y al tiempo de capacitación en los espermatozoides humanos destacando la importancia de su inmunolocalización en la región ecuatorial en los espermatozoides capacitados con acrosoma intacto. En general, este estudio aumenta el conocimiento sobre los intercambiadores Na+/H+ involucrados en los procesos fisiológicos reproductivos, lo que podría usarse para mejorar las técnicas de selección espermáticas.

FIGURAS

Figura I. A) Diseño experimental seguido en este estudio. B) Patrones de fluorescencia mayoritarios del intercambiador Na+/H+ SLC92C en base al estado acrosomal y al tiempo de capacitación en los espermatozoides humanos.

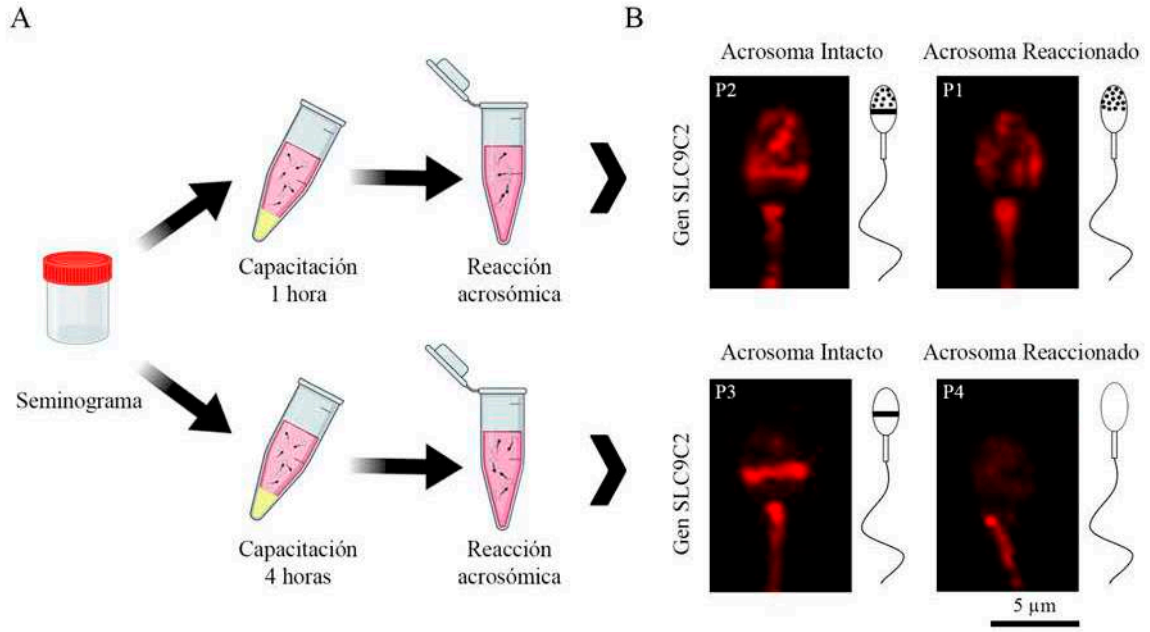
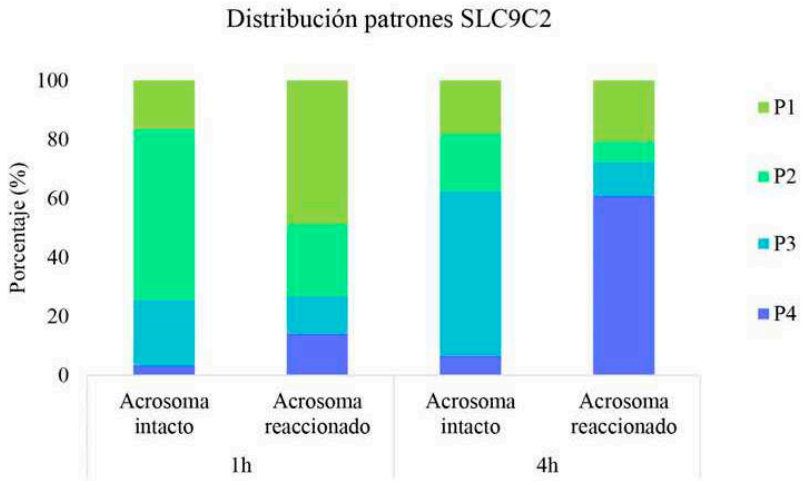


Figura II. Distribución porcentual de los patrones de fluorescencia del intercambiador Na+/H+ SLC92C según el estado acrosomal (acrosoma intacto o reaccionado) y en función del tiempo de capacitación (1 h o 4 h).



CO-020

HUMAN SPERMATOZOA BIND SPECIFICALLY TO 3D-MODEL GENERATED BY MAGNETIC BEADS COATED WITH RECOMBINANT JUNO PROTEIN

Paula Cots Rodríguez[1], JL Girela[2], M Jiménez Movilla[1]
[1]Universidad de Murcia - Murcia (Murcia), [2]Universidad de Alicante - Alicante (Alicante)

INTRODUCTION

The fusion of two highly specialized haploid cells, spermatozoon and oocyte, is required for fertilization. In the past 5 years, several sperm factors have been identified to be critical for gamete attachment or fusion, but few oocyte factors have been identified. The only known cell-surface interaction at the point of conception between human gametes is sperm IZUMO1 and egg JUNO. Obtaining human oocytes for IVF assays has been a major roadblock in evaluating discovery-stage fertilization sperms. To surpass such limitation, we will develop a microbead-based human sperm binding assay to assess fertilized sperms and test fertilization enhancers. The system uses 100 µm microbeads coated with recombinant human JUNO to recreate the oocyte's size, shape, and surface, allowing the assessment of sperm binding capacity without requiring live human oocytes. This microbead system has been previously validated to correlate microbead sperm binding capacity to field fertility in bulls.

OBJECTIVE

The main goal of this study was to develop a 3D-model which allows the human sperm cells to bind specifically to recombinant JUNO protein-coated beads.

MATERIAL AND METHOD

The gene corresponding to full-length human JUNO (GenBank accession number: NM_001199206, residues 1-250) was stably transfected in Drosophila S2 cells and later was purified by Ni-NTA metal affinity chromatography (kindly provided by Dr. Jeefry Lee, University of Toronto). Magnetic beads (Cytiva, Sweden) previously size-selected (diameter >70 µm) were

used. The beads were conjugated with recombinant human JUNO protein, according to Hamze *et al.* (2020). Simultaneously, vitrified semen samples were provided by BiokiBank (Spain). Spermatozoa devitrification was performed according to supplier's recommendation, using 4 ml of G-MOPS PLUS media (Vitrolife, Sweden) pre-heated at 42 ºC. For the motile sperm selection, swim up method was used for 1 h at 37 ºC in the same medium but supplemented (2 mM CaCl2 and 10 mg/ml progesterone). The spermatozoa selected were capacitated for 3 additional hours in the same conditions. After capacitation, the sperm cells were co-incubated with the magnetic beads (100000 spz/30 beads proportion) for different times (30 min, 1 h, 2 h, 4 h, over-night) in supplemented MHM-C medium (2 mM CaCl2 and 10 mg/ml progesterone). Beads without JUNO coat were used as control group. After co-incubation period, the beads were washed twice in PBS, fixed in 2%-PAF (EMS, USA) and stained with Hoechst 33342 (10 µg/mL). The percentage of beads with at least one sperm bound (Fertilized Beads %) (3 replicates) and the mean number of sperm bound per bead (3 replicates) were scored by fluorescence microscopy. Data was analyzed using RStudio (R version 4.1.3) by one-way ANOVA, and the values compared by Holm's test when p value <0.05.

RESULTED

The percentage of Fertilized Control-beads (n=459) was 2%, 6%, 14%, 32% and 20% co-incubated during 30 min, 1 h, 2 h, 4 h and ON, respectively. The experimental group, JUNO-beads (n=475) showed 50%, 72%, 74%, 82% and 91% of beads with at least one spermatozoon bound. Regarding the mean number of spermatozoa attached to each bead, significant differences (p value < 0,01) between groups were observed. The control beads presented, in the different incubation times, 0,02±0,02, 0,03±0,02, 0,30±0,06, 0,59±0,14, 0,53±0,14 sperm cells bound, whereas JUNO-coated beads presented 0,52±0,08, 1,84±0,53, 1,53±0,14, 1,80±0,18, 4,80±0,50 spermatozoa bound, respectively, confirming that sperm cells bind specifically JUNO-coated beads in all the different co-incubation times tested.

CONCLUSIONS

Devitrified human spermatozoa bind specifically to the magnetic beads coated with human recombinant JUNO protein, proving to be a great model to determine the cellular and molecular characteristics of the sperm that recognize and interacts with the receptors of the egg, and then, it can be transferred as a test for the diagnosis of the fertilizing capacity of individualized samples.

Research was supported by project PID 2020-114109GB-I00 funded by the Spanish Ministry of Science MCIN/AEI/10.13039/501100011033, and UAUSTI21-08 from the University of Alicante.

CO-021

PRESENCIA Y DISTRIBUCIÓN DE LA PROTEÍNA IZUMO1 EN LOS ESPERMATOZOIDES HUMANOS MEDIANTE EL USO DE MICROSCOPÍA DE ALTA RESOLUCIÓN (FE-SEM)

José Luis Girela Lopez[1], A Nazar[1], L Gomariz Martínez[1], P Cots Rodríguez[2], M Jiménez Movilla[2]
[1]Dpto. Biotecnología. Universidad de Alicante - Alicante (Alicante), [2]Dpto. Biología Celular e Histología, Facultad de Medicina, Universidad de Murcia, Campus Mare Nostrum y IMIB-Arrixaca - Murcia (Murcia)

INTRODUCCIÓN

La fecundación en la especie humana supone la fusión de los gametos masculino y femenino. Actualmente conocemos algunas de las moléculas esenciales para los fenómenos de reconocimiento, adhesión y fusión celular, pero siguen siendo desconocidos algunos aspectos esenciales de este proceso. Entre ellos se encuentra la localización exacta de cada una de estas moléculas.

El espermatozoide es una célula terminalmente diferenciada y que se encuentra regionalizada, con varias estructuras específicas para la función espermática. Entre ellas destaca la estructura de la cabeza (Figura A), en la que podemos diferenciar la presencia del acrosoma (A), incluida la región denominada banda ecuatorial (BE) que permanece intacta tras la reacción acrosómica, y la región post-acrosomal donde encontramos la vaina postacrosomal (VP) y el cuello (C). Aunque se ha demostrado la presencia en la cabeza del espermatozoide de proteínas espermáticas esenciales para la fecundación, como IZUMO1, la falta de resolución de las técnicas habituales de microscopía no ha permitido visualizar su extensión y localización exactas.

OBJETIVO

El principal objetivo de este trabajo es determinar, mediante el uso de microscopía electrónica de alta resolución, la localización de la proteína IZUMO1 en la cabeza de espermatozoides humanos.

MATERIAL Y MÉTODO

Tras la aprobación del comité de ética y el consentimiento informado, se utilizaron muestras seminales de 3 donantes sanos. Todas las muestras eran normozoospérmicas de acuerdo con los criterios de la OMS 2021. Los espermatozoides fueron fijados mediante el uso de paraformaldehído (PFA) al 4% (EMS, USA) y depositados sobre cubreojetos redondos recubiertos con L-polilisina 0,1% (Merck, Alemania) para favorecer la adhesión de las células. Una vez secadas al aire y bloqueadas con una solución con un 5% de BSA (Merck, Alemania) y un 2% de FCS (Biowest, Francia), se incubaron con un anticuerpo primario producido en conejo frente a la proteína IZUMO1 (ab211623, Abcam, Reino Unido). Tras lavados con PBS se incubaron con un anticuerpo secundario producido en burro frente a las inmunoglobulinas de conejo, conjugado con partículas de oro coloidal de 12 nm (Jackson Immunoresearch, USA). Tras lavar con PBS, se colocaron en los soportes necesarios y recubrieron con una capa de carbono para su observación mediante el microscopio electrónico de barrido Zeiss Merlin VP Compact utilizando tanto electrones secundarios, para visualizar la estructura, como electrones retrodispersados mediante la técnica de emisión de campo FE-SEM. Las partículas de oro coloidal, reflejo de la presencia de la proteína IZUMO (Figura IB), fueron contadas en cada una de las regiones funcionales de la cabeza de 61 espermatozoides individuales. Los datos fueron analizados usando el software SPSS v26 (IBM, USA) mediante un test de ANOVA de una vía y un test post-hoc de Bonferroni para las comparaciones múltiples, tomando un nivel de confianza del 95% (p-value 0,05).

RESULTADOS

En los espermatozoides analizados (n=61) se obtuvo una media de partículas de oro de 1,49±1,67 en el acrosoma, 2,11±1,9 en la banda ecuatorial, 12,13±11,07 en la vaina postacrosomal, y 1,61±1,54 para el cuello. La presencia de IZUMO1 fue mucho mayor en la vaina postacrosomal que en el resto de las regiones de la cabeza ($p<0,001$) no encontrándose diferencias entre el resto de regiones y el marcaje no específico del fondo (figura II).

CONCLUSIONES

En los espermatozoides humanos, IZUMO1 se encuentra localizada en la vaina postacrosomal de la cabeza, no viéndose afectada su presencia por los procesos de reacción acrosómica previos al proceso de fecundación.

Estudio financiado por las ayudas VIGROB21-137 y UAUS-TI21-08 de la Universidad de Alicante y por el Ministerio de Ciencia e Innovación, proyecto PID 2020-114109GB-I00 (MCIN/AEI/10.13039/501100011033).

FIGURAS

Figura I. A) Micrografía electrónica de la cabeza de un espermatozoide humano mostrando las diferentes regiones funcionales: A=acrosoma; BE= banda ecuatorial; VP= vaina postacrosomal; C= cuello. B) Micrografía obtenida mediante la técnica FE-SEM donde se pueden ver las partículas de oro coloidal (12 nm) brillando en blanco sobre las diferentes regiones de la cabeza del espermatozoide.

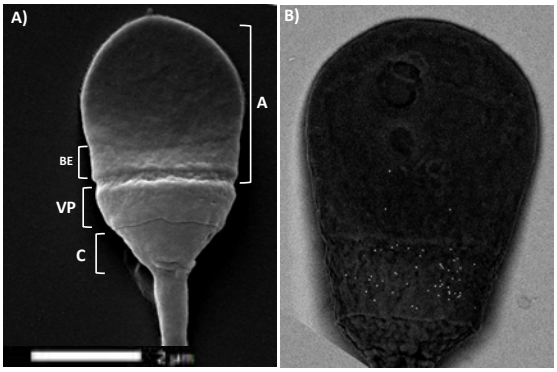
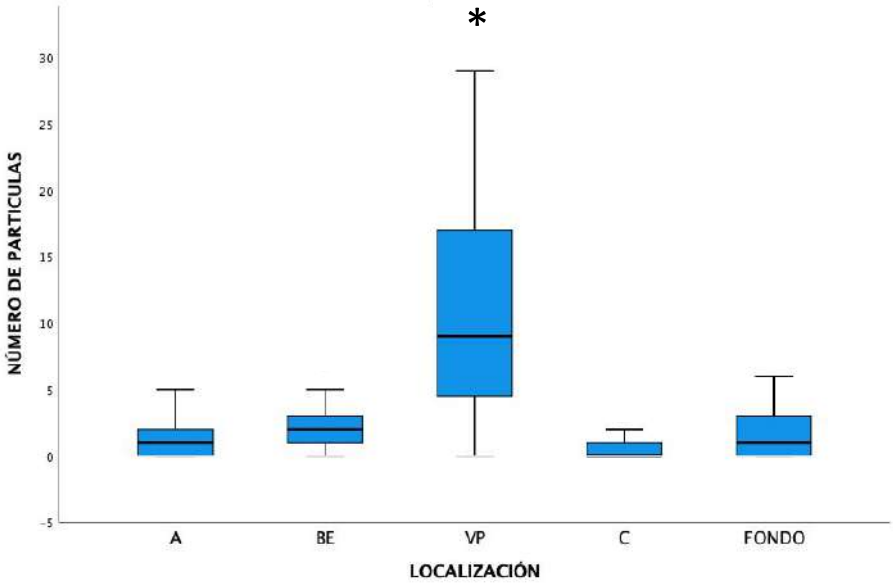


Figura II. Cuantificación del número medio de partículas de oro coloidal presentes en cada una de las regiones de la cabeza del espermatozoide estudiadas: A=acrosoma; BE=banda ecuatorial; VP=vaina postacrosomal; C=cuello; FONDO=marcaje inespecífico. * Diferencias estadísticamente significativas (p<0,01).



CO-022

¿HA LLEGADO LA MICROFLUÍDICA PARA QUEDARSE? RESULTADOS EN CICLOS DE DONACIÓN DE OVOCITOS

Ana Munuera Puigvert, V Montalvo Pallès, F García José, B Marqués López-Teijón, M López-Teijón
Institut Marquès
Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

Con la reciente irrupción de la microfluídica en los laboratorios de andrología, han aparecido en el mercado diferentes chips en función del tratamiento al que va dirigido; variando en su capacidad volumétrica y estructura de microcanales.

La principal característica del modelo 850 µL reside en la capacidad de los espermatozoides de nadar activamente a través de un filtro de microporos, simulando el microambiente presente en el tracto reproductivo femenino y seleccionando los espermatozoides idóneos para realizar el tratamiento.

Estudios previos confirman que con el procesado habitual de las muestras de semen basado en gradientes de densidad se produce un incremento en las especies reactivas de oxígeno y un aumento de los niveles de fragmentación de ADN espermático, todo ello por acción de la centrifugación. Es sabido que el daño en la doble cadena de ADN puede provocar bloqueo embrionario y fallos de implantación.

Los sistemas de microfluídica no requieren centrifugación eludiendo así el estrés oxidativo y el daño en el ADN, además de disminuir el tiempo empleado en el procesado de las muestras de semen.

OBJETIVO

El objetivo principal fue analizar el impacto en el desarrollo embrionario y los resultados clínicos de la última generación de dispositivos de microfluídica. Se estableció como objetivo secundario evaluar su implementación en la práctica diaria del laboratorio.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo que incluye datos de 321 ciclos de ICSI con ovocitos de donante (DO) llevados a cabo entre enero y septiembre de 2022. Esta serie incluye 992 embriones cultivados en incubadores *time-lapse* hasta D+5/6.

El grupo control (GC) estuvo formado por aquellos pacientes en los que se utilizaron gradientes de densidad para la selección espermática (n=284). Siguiendo las instrucciones de uso del fabricante, los pacientes a los que se aplicó el dispositivo de microfluídica 850 µl para la selección espermática representaron el grupo estudio (GM; n=36). Se registró el tiempo utilizado para cada uno de los métodos así como los resultados de laboratorio y clínicos.

Se utilizó el test de Chi-cuadrado para analizar la relación entre el método de capacitación utilizado y las tasas del ciclo.

RESULTADOS

El tiempo empleado en el procesado de muestras mediante gradientes de densidad fue superior al utilizado para obtener los espermatozoides para microinyectar mediante el chip de microfluídica.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en las tasas de fecundación entre GC: 74,20% y GM: 75,42% (p=0,943). Las diferencias entre tasas de blastocisto de buena calidad (>3BB Gardner) en GC: 62,83% y GM: 63,48% no fueron significativas (p=0,933). Tampoco lo fueron las tasas de embarazo en el GC: 66,28% y GM: 62,50%, p=0,994. La tasas de embarazo clínico y de implantación fueron superiores en el grupo de estudio (GM: 62,50%; 57,69%) respecto el grupo de gradientes de densidad (GC: 54,65%; 54,34%) aunque estas diferencias no resultaron ser estadísticamente significativas (p>0,05). Las tasas de aborto después de observar saco con latido no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre grupos: GM: 6,67% y GC: 17,20% (p=0,364).

CONCLUSIONES

En ciclos de ICSI-DO con una población de varones sin selección en base a la integridad del ADN, la utilización de microfluídica para la selección espermática parece ser tan efectiva como el uso de gradientes de densidad.

La microfluídica podría agilizar los procesos de preparación de muestras de semen liberando a los técnicos para realizar otras tareas.

Los resultados muestran que el uso de los nuevos chips de microfluídica podría implementarse para mejorar la productividad del personal de laboratorio sin afectar a los resultados embrionarios y clínicos.

CO-023

SWIM UP VS. MICROFLUIDOS (ZYMÖT), EL FUTURO DE LA SELECCIÓN ESPERMÁTICA EN LA RUTINA DEL LABORATORIO DE FIV

Ismael Vilella Amorós, Ll Medrano López-Tello, Y Galiana Briones, A García Sifre, A Parrela, J Aizpurua Sáenz
IVF SPAIN - Alicante (Alicante)

INTRODUCCIÓN

Con el objetivo de mimetizar la selección espermática que ocurre en el tracto genital femenino, han surgido nuevas técnicas de selección espermática como, por ejemplo, los dispositivos de microfluidos. Diversos estudios con el dispositivo de microfluidos ZyMöt han mostrado mejoras en la motilidad, morfología, menor fragmentación de ADN y de especies óxido reactivas (ROS), comparado con los métodos de selección espermática tradicionales.

OBJETIVO

Comparar los valores de concentración, motilidad, apoptosis y fragmentación de ADN en muestras preparadas mediante *swim up* frente a muestras preparadas mediante ZyMöt.

MATERIAL Y MÉTODO

El estudio se llevó a cabo en 20 muestras seminales de pacientes que acudieron a la clínica entre enero y abril de 2023. Cada muestra se analizó en 3 estados: fresco (EYAC), tras preparación mediante *swim up* (SU) y tras la preparación con ZyMöt (ZY). Para cada estado se evaluaron: la concentración (C) en mill/ml, la motilidad total (MT) en porcentaje, porcentaje de apoptosis espermática (APOP), vitalidad espermática (VIT) y la fragmentación del ADN (SDF). El SDF se realizó con la técnica Sperm Chromatine Structure Assay (SCSA), APOP mediante el análisis de la fosfatidilserina y para la VIT se utilizó el marcador de vitalidad ioduro de propidio, todas evaluadas a través de citometría de flujo. El análisis estadístico se llevó a cabo con el test de rangos con signo de Wilcoxon con SPSS v.15.0.

RESULTADOS

El análisis de los resultados mostró diferencias significativas al comparar ambas técnicas de selección (SU y ZY) en C (16,32 ± 2,58 *vs.* 6,33 ± 1,36; p<0,001) y SDF (3,58 ± 0,54 *vs.* 2,68 ± 0,48; p=0,038). Respecto al resto de variables analizadas, no se encontraron diferencias significativas entre SU y ZY.

Por el contrario, sí se encontraron diferencias significativas entre EYAC y SU para C: 41.20 ± 6,45 *vs.* 16,32 ± 2,58 (p<0,001), MT: 56,45 ± 3,39 *vs.* 94,40 ± 3,33 (p<0,001); APOP: 6,99 ± 1,78 *vs.* 4,10 ± 2,14 (p=0,009); VIT: 70,95 ± 3,35 *vs.* 88,90 ± 3,40 (p<0,001); SDF: 14,97 ± 1,45 *vs.* 3,58 ± 0,54 (p<0,001).

También se encontraron diferencias significativas entre EYAC y ZY para C: 41,20 ± 6,45 *vs.* 6.,33 ± 1,36 (p<0,001), MT: 56,45 ± 3,39 *vs.* 95,40 ± 3,45 (p<0,001); APOP: 6,99 ± 1,78 *vs.* 2,58 ± 0,31 (p=0,007); VIT: 70,95 ± 3,35 *vs.* 91 ± 3,24 (p<0,001); SDF: 14,97 ± 1,45 *vs.* 2,68 ± 0,48 (p<0,001).

CONCLUSIONES

Los espermatozoides seleccionados con ZyMöt presentaron una menor recuperación en cuanto a mill/ml frente al *swim up*, pero esto se debe a la propia realización de la técnica que mediante ZyMöt se produce una dilución de la muestra y con *swim up* una concentración. En cuanto a la fragmentación del ADN, con ZyMöt obtenemos valores significativamente menores que mediante *swim up*, por lo que sería una técnica más indicada cuando las muestras presentan fragmentaciones espermáticas algo más elevadas de lo normal, frente a la técnica tradicional. Según los resultados obtenidos, la selección espermática mediante ZyMöt permitiría obtener muestras seminales con mejor calidad y por lo tanto provocar una mejora en los resultados del laboratorio en calidad y/o cantidad de embriones.

Aun así, es necesario un mayor número de muestras para conocer si estas mejoras se sustentan y además si afectan a los resultados del laboratorio.

CO-024

MICROFLUIDOS *IN SITU* DE PAREDES FLUIDAS: SIMPLIFICACIÓN DE LA SELECCIÓN ESPERMÁTICA PARA ICSI CON UN NUEVO MÉTODO COSTE-EFECTIVO, LIBRE DE MATERIAL FUNGIBLE ADICIONAL Y EN LA MISMA PLACA DE MICROINYECCIÓN

Miguel Ruiz Jorro, JJ Bataller Sánchez, A Barberá Alberola, B Gómez Giménez, V Moliner Aguilar, C Calatayud Lliso, M Ferrer Buitrago
CREA Medicina de la Reproducción
Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN

La microfluídica es una operativa innovadora en reproducción asistida, que, a diferencia de otros métodos como el Wash-Swim up (WSU) y la centrifugación por gradientes de densidad (CGD), prescinde de pasos de lavado y centrifugación. Además, la selección espermática mediante microfluidos integra componentes biológicos de migración tales como la reotaxis y el comportamiento de seguimiento de bordes. Otra de las ventajas de la microfluídica es la reducción del riesgo asociado al número de pasos durante la manipulación de la muestra de semen, el *mix-up* y la producción de ROS. Sin embargo, actualmente los dispositivos de microfluidos son caros y poco efectivos para la selección espermática en muestras dispérmicas.

OBJETIVO

Este es un estudio de prueba de concepto, y tiene como objetivo validar un nuevo método de selección espermática basada en un circuito de microfluidos *in situ* de pareces fluidas hecho a mano, y en la misma placa de ICSI.

MATERIAL Y MÉTODO

El diseño del circuito de microfluidos *in situ* se rige por las leyes físicas de Laplace y de presiones hidrostáticas, e integra los mecanismos de reotaxis y comportamiento de seguimiento de bordes. La eficacia del sistema se basa en las diferencias entre la presión de las microgotas a partir de su radio y volumen, las distancias entre ellas y su disposición. El circuito se divide en: Parte 1 (dispersión y eliminación del plasma seminal) y Parte 2 (selección espermática en respuesta a la reotaxis). El sistema se adaptó para conseguir un recuento de al menos 20 espermatozoides progresivos para ICSI en menos de 15 minutos. Para su preparación se necesita una placa convencional de poliestireno para FIV. La direccionalidad y la velocidad (µm/s) del flujo se verificó utilizando eosina-Y y metileno. La separación del plasma seminal se confirmó con una prueba de PSA *(prostate specific antigen)*.

RESULTADOS

El estudio se realizó en muestras de semen fresco de 150 pacientes (edad media: 33,53±8,19) que presentaban las siguientes características: volumen 3,6 ml (1,0-7,6 ml), concentración 68×106/ml (0,29-150×106/ml), movilidad progresiva 24% (2-41%) y morfología normal 6% (1-15%). Nuestro diseño se configura en 3 puntos: 1 (Inicio); 2 (Equilibrado); 3 (Final), con una distancia total de 1,5 cm entre los puntos 1 y 3. Este diseño promueve un flujo continuo en dos direcciones opuestas (del punto 1 al 2, y del punto 3 al 2). Con ello, se observa una disminución estadísticamente significativa de los niveles de PSA en la muestra en fresco (punto 1; >200000 ng/ml) y la muestra en el punto 3 (niveles indetectables; <0,0091 ng/ml). Los tiempos mínimo y máximo de recuperación de espermatozoides en el punto 3 fueron de 5 y 35 minutos, respectivamente. Las muestras normozoospérmicas necesitaron tiempos de recuperación menores comparados con las dispérmicas (p<0,001). En general, las muestras con al menos un total de 1×106 de espermatozoides progresivos necesitaron menos de 15 minutos de recuperación. Los valores de concentración, movilidad y morfología espermáticas fueron inversamente proporcionales al tiempo de recuperación (p<0,0001), siendo la morfología el parámetro de menor influencia en el resultado.

CONCLUSIONES

Nuestros resultados demuestran la eficacia de este nuevo método de selección espermática por microfluidos para ICSI. Este nuevo protocolo permite la selección espermática a partir de semen completo en la misma placa de microinyección y prescindiendo de material fungible adicional. Nuestro método optimiza el procedimiento de selección espermática para ICSI y reduce riesgos a lo largo del proceso. Es necesario realizar una validación a partir de estudios comparativos de no inferioridad frente a técnicas establecidas (WSU o CGD) antes de su uso clínico. Esto podría suponer un cambio sustancial en la preparación habitual de las muestras de semen para ICSI.

CO-025

EVALUACIÓN DE UNA PLACA DE SELECCIÓN ESPERMÁTICA MEDIANTE CÉLULAS DE LA GRANULOSA PARA LA OBTENCIÓN DE ESPERMATOZOIDES CON BAJO ÍNDICE DE FRAGMENTACIÓN DE SU ADN

Jorge Ten Morro[1], L Martí Ferri[1], J Gosalvez[2], C López-Fernández[2], M Herreros Hergueta[1], N Díaz Hernández[1], A Bernabéu García[1], R Bernabéu Pérez[1]

[1]Instituto Bernabéu - Alicante (Alicante), [2]Universidad Autónoma de Madrid - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

Niveles elevados de fragmentación del ADN espermático se asocian con un mayor riesgo de aborto y con un impacto negativo en el desarrollo embrionario. Por ello, seleccionar el espermatozoide más competente para la microinyección es un paso clave en la mejora del éxito reproductivo. La centrifugación con gradientes de densidad (CGD) es un método ampliamente utilizado para una selección eficiente, pero puede incrementar los valores del daño en el ADN espermático al aumentar la formación de especies reactivas de oxígeno.

Recientemente, se han publicado estudios que utilizan células del cúmulo (CCs) para la selección espermática, demostrando que el espermatozoide capaz de atravesar las CCs presenta mejor morfología, motilidad y mayor integridad del ADN.

En el presente estudio piloto se ha utilizado una placa de selección (Proto-CCs) diseñada para estandarizar y facilitar la selección espermática mediante el uso de CCs como filtro.

OBJETIVO

Analizar la motilidad, concentración e índice de fragmentación del ADN (SDF) de los espermatozoides seleccionados utilizando Proto-CCs y comparar los resultados obtenidos con el uso de muestras de semen neto y semen procesado con CGD.

MATERIAL Y MÉTODO

Proto-CCs presenta carriles prediseñados que constan de 3 pocillos ensanchados. El pocillo de inserción (A), donde se añade el semen neto o semen tras capacitado, el pocillo central (B), donde se incorporan las CCs y el pocillo de recogida (C), al cual llegan los espermatozoides tras atravesar las CCs. En dicho estudio, se utilizaron 6 muestras de donantes de semen y CCs procedentes de ovocitos donados. Tras rellenar los carriles con medio de lavado, las CCs obtenidas se colocaron en el pocillo B. A continuación, se añadieron 3 microlitros de semen en el pocillo A. La placa se incubó a 37 ºC durante 60 min. La muestra recogida del pocillo C se analizó para concentración, motilidad y fragmentación del ADN mediante la técnica de dispersión de la cromatina (SCD, Halosperm®). Estos mismos datos se analizaron en las muestras de semen neto y semen tras CGD.

RESULTADOS

La concentración espermática (C) en el pocillo A fue: C1=130; C2=28; C3=100; C4=42; C5=50; C6=100 M/ml. La concentración registrada en el pocillo C fue C1=22; C2=4; C3=9; C4=8; C5=7; C6=20 M/ml. Existe una correlación significativa entre la concentración de inicio y la final (Rho Spearman=0.929; p=0.008).

La motilidad (M) observada en el pocillo A fue (M1=59; M2=71; M3=30; M4=71; M5=40; M6=60%). La motilidad observada en el pocillo C fue, en todos los casos, del 100%. Se observó una retención elevada de espermatozoides en las CCs.

Al comparar los niveles de SDF obtenidos en las muestras de semen neto y tras CGD, se observa una disminución de los valores de daño del ADN del orden de 7 unidades de magnitud (Semen Neto: Valor medio de decremento: 7; Rango del decremento: 6-11). Al comparar los niveles de SDF en las muestras de semen neto y las procesadas con el Proto-CCs, esta disminución alcanza valores medios de 66 unidades de magnitud (Semen Neto: Valor medio de decremento = 66. Rango del decremento: 14-100). Existen diferencias significativas entre ambos grupos de valores (Wilcoxon -2,201; p=0,028).

CONCLUSIONES

Tras procesado mediante Proto-CCs utilizando semen neto, se produce una disminución significativa de la concentración de partida, siendo suficiente para realizar la ICSI. La concentración conseguida en el pocillo C es dependiente de la concentración inicial. Todos los espermatozoides que atravesaron las CCs eran móviles.

Proto-CCs es un dispositivo eficiente y práctico seleccionando espermatozoides con elevada motilidad y bajo índice de fragmentación del ADN. No es necesario el co-procesamiento de la muestra obtenida del paciente mediante técnicas mucho más agresivas para el espermatozoide, ya que es más efectivo utilizar las muestras de semen neto.

CO-026

EFECTO DE LA INFECCIÓN POR COVID-19 EN LA CALIDAD DE SEMEN Y TIEMPO DE RECUPERACIÓN EN VARONES INFECTADOS CON COVID-19

Rocío Núñez Calonge[1], JA Guijarro Ponce[2], T Rubio Asensio[3], P Alberola Cerdán[4], G Fernández[5], N Santamaría Mollá[6], S Alonso de Mena[7], I Barros Gata[8]

[1]Grupo UR Internacional - Madrid (Madrid), [2]Zaida Espacio de Salud - Cuenca (Cuenca), [3]Unidad de Reproducción Hospital HLA La Vega - Murcia (Murcia), [4]UR Moncloa - Madrid (Madrid), [5]UR Managua - Managua (Nicaragua), [6]Hospital UR Mediterráneo - Almería (Almería), [7]Hospital UR El Ángel - Málaga (Málaga), [8]UR CEFIVA - Oviedo (Oviedo)

INTRODUCCIÓN

Varios estudios demuestran la repercusión de SARS-CoV-2 en la salud de varones infectados frente a controles fértiles y el efecto negativo en los parámetros de semen. Sin embargo, existen pocos trabajos que estudien el efecto del covid-19 en muestras pareadas, así como el resultado a largo plazo.

OBJETIVO

El propósito de este estudio fue evaluar el efecto de la infección leve/asintomática por SARS-CoV-2 en los parámetros del semen en un grupo de pacientes antes y después de la infección y su persistencia en el tiempo.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio prospectivo y multicéntrico realizado en 6 unidades de reproducción asistida entre febrero de 2020 y octubre de 2022.

Se compararon los análisis de semen de 45 pacientes realizados inmediatamente antes y después de haber sufrido una infección leve por covid-19. Se analizaron: volumen, concentración espermática, movilidad (total y activa), morfología y vitalidad en los análisis previos y posteriores a la infección en cada paciente. Para medir el efecto de la infección en cada uno de los parámetros seminales se utilizó el valor tipificado resultante de dividir el valor del análisis posterior por el del análisis previo en cada individuo.

Para calcular la adaptación de cada parámetro a una curva normal se utilizó la prueba de Kolmogórov-Smirnov, considerando el no ajuste a la normalidad con una $p<0,05$.

Dado el escaso ajuste a una curva normal de los parámetros del seminograma posterior al COVID por la existencia de numerosos valores extremos, se utilizaron las medianas como medida de tendencia central, y test no paramétricos para las comparaciones entre grupos. Se utilizó la prueba de correlación de Spearman (r) para relacionar los valores previo y posterior de cada parámetro seminal, y un modelo de regresión lineal sin constante para calcular la pendiente (beta) de la curva cuando el test de Spearman muestra una correlación importante ($r >0,5$).

RESULTADOS

La media de edad de los participantes en el momento de la primera determinación fue de 30,4 años (DE: 9,5) y un rango entre 18 y 46 años. No se encontró correlación significativa entre la edad de los individuos participantes y ninguno de los parámetros seminales analizados.

La prueba post-COVID se realizó entre 17 y 516 días después de la infección, con una mediana de 100 días. El tiempo transcurrido entre ambas muestras fue una mediana de 238 días.

Se encontró una disminución significativa en el volumen, concentración espermática, movilidad total y progresiva y vitalidad ($p<0,05$) después de la infección por SARS-CoV-2 en comparación con los valores previos a la infección. La morfología no se vio afectada significativamente. La concentración espermática total es el parámetro seminal más afectado. La mitad de los individuos (mediana) obtuvo un recuento total en la segunda muestra inferior al 57% de la inicial.

Considerando el tiempo de espermatogénesis, los pacientes fueron separados en dos grupos: los que realizaron el análisis de semen en los primeros 100 días después de la infección y los que lo realizaron más tarde. No se encontraron diferencias en ningún parámetro entre los dos grupos con la prueba de U Mann-Withney. Utilizando la prueba de Wilcoxon para muestras pareadas, se demostró que el efecto deletéreo de la infección sobre la concentración y motilidad espermática no solo no mejora con el tiempo, sino que se vuelve más significativo en los análisis espermáticos tardíos, realizados más de cien días después de la infección.

CONCLUSIONES

La infección leve por covid-19 en varones afecta a la concentración y movilidad espermáticas y su efecto se mantiene más allá de 100 días después de la infección.

TABLAS

Tabla I. Análisis de los valores brutos de los seminogramas previo y posterior a la infección por covid-19: medias, diferencia de medias, porcentaje de reducción, test de correlación de Spearman, regresión lineal y test w de Wilcoxon.

medianas	previo	posterior				Spearman		Reg.Lineal		Wilcoxon	
	V. brutos	V. brutos	dif.	DE	reducción	Rho	p	beta	p	z	p
volumen	2,500	2,000	-0,50	1,04	-20,00 %	0,551	<0,001	0,805	<0,001	-2,747	0,006
concentración	68,00	50,00	-18,00	53,43	-26,47 %	0,850	<0,001	0,720	<0,001	-3,979	<0,001
cantidad	160	100	-60,00	168,36	-37,50 %	0,770	<0,001	0,522	<0,001	-4,103	<0,001
movilidad activa	41,00	35,00	-6,00	15,04	-14,63 %	0,628	<0,001	0,784	<0,001	-3,190	0,001
movilidad total	49,50	45,00	-4,50	16,27	-9,09 %	0,472	<0,001	0,819	<0,001	-2,603	0,009
formas normales	4,00	4,00	0,00	2,705	0,00 %	0,478	0,001	0,817	<0,001	-1,764	0,078
vitalidad	80,0	76,0	-4,00	20,973	-5,00 %	-0,128	0,401	0,889	<0,001	-2,456	0,014

Tabla II. Análisis de los valores tipificados del efecto en el seminograma posterior respecto al previo: medias y medianas y test w de Wilcoxon.

	valores tipificados				W Wilcoxon	
	ref	media	DE	mediana	z	p
volumen	1	0,8833	0,396	0,800	-2,491	0,013
concentración	1	0,7701	0,478	0,6545	-3,544	<0,001
cantidad	1	0,7686	0,826	0,5684	-3,279	0,001
movilidad activa	1	0,8917	0,650	0,8060	-2,782	0,005
movilidad total	1	0,8505	0,374	0,8431	-2,387	0,017
formas normales	1	1,0497	0,795	0,800	-0,674	0,500
vitalidad	1	0,9162	0,261	0,8851	-2,128	0,033

Tabla III. Análisis de los valores tipificados en función de su distanciamiento respecto a la infección (precoz < 100 días *vs.* tardío > 100 días): medias y medianas, test de u de Mann-Withney comparando seminograma precoz *vs.* seminograma tardío y test w de Wilcoxon comparando cada uno de ellos con el previo a la infección.

valores tipificados:	medias				medianas			U M-Whitney		Wilc. precoz		Wilc. tardío	
	ref	precoz	tardío	dif.	precoz	tardía	dif.	Z	p	Z	p	Z	p
volumen	1	0,8097	0,9603	0,15	0,7500	0,8917	0,1417	-1,005	0,315	-2,492	0,013	-1,356	0,175
concentración	1	0,8080	0,7305	-0,08	0,6545	0,6858	0,0313	-1,332	0,183	-2,838	0,005	-3,343	0,001
cantidad	1	0,8068	0,7286	-0,08	0,5072	0,5857	0,0785	-1,320	0,187	-3,099	0,002	-3,029	0,002
movilidad activa	1	0,9733	0,8063	-0,17	0,7857	0,8393	0,0536	-0,094	0,925	-1,718	0,086	-3,261	0,001
movilidad total	1	0,8469	0,8543	0,01	0,8667	0,8216	-0,0451	-0,141	0,888	-1,766	0,077	-2,215	0,027
formas normales	1	1,1439	0,9512	-0,19	0,8333	0,7750	-0,0583	-0,190	0,850	-1,639	0,101	-1,062	0,288
vitalidad	1	0,8976	0,9357	0,04	0,9383	0,8787	-0,0596	-0,130	0,897	-1,830	0,067	-1,830	0,067

Tabla III. Comparación de los valores tipificados de cada parámetro del seminograma posterior respecto al previo a la infección separados por grupos (precoz y tardío) según su distanciamiento respecto al momento de la infección.

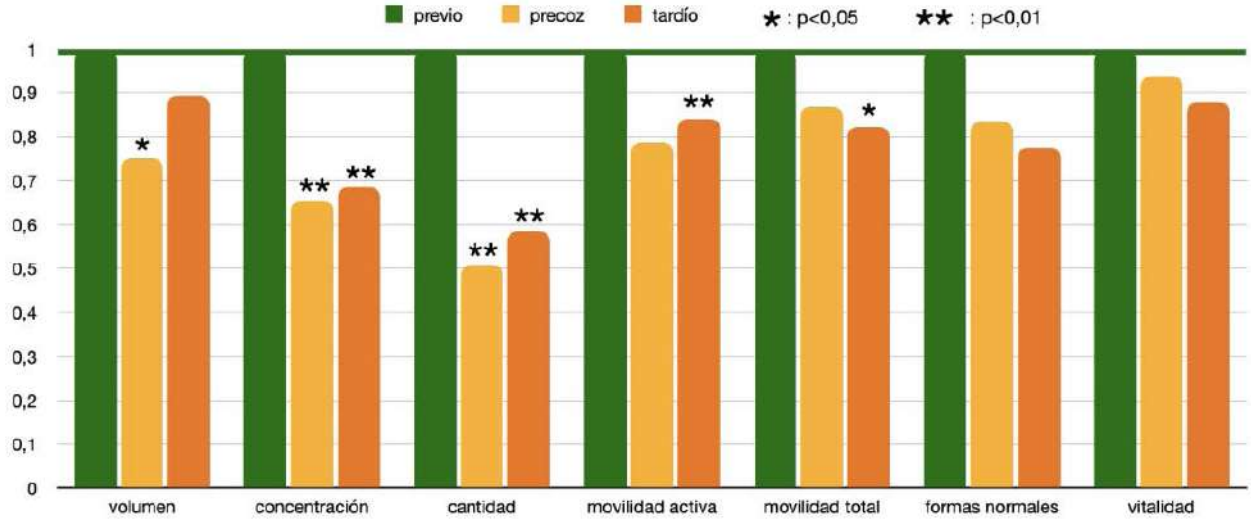
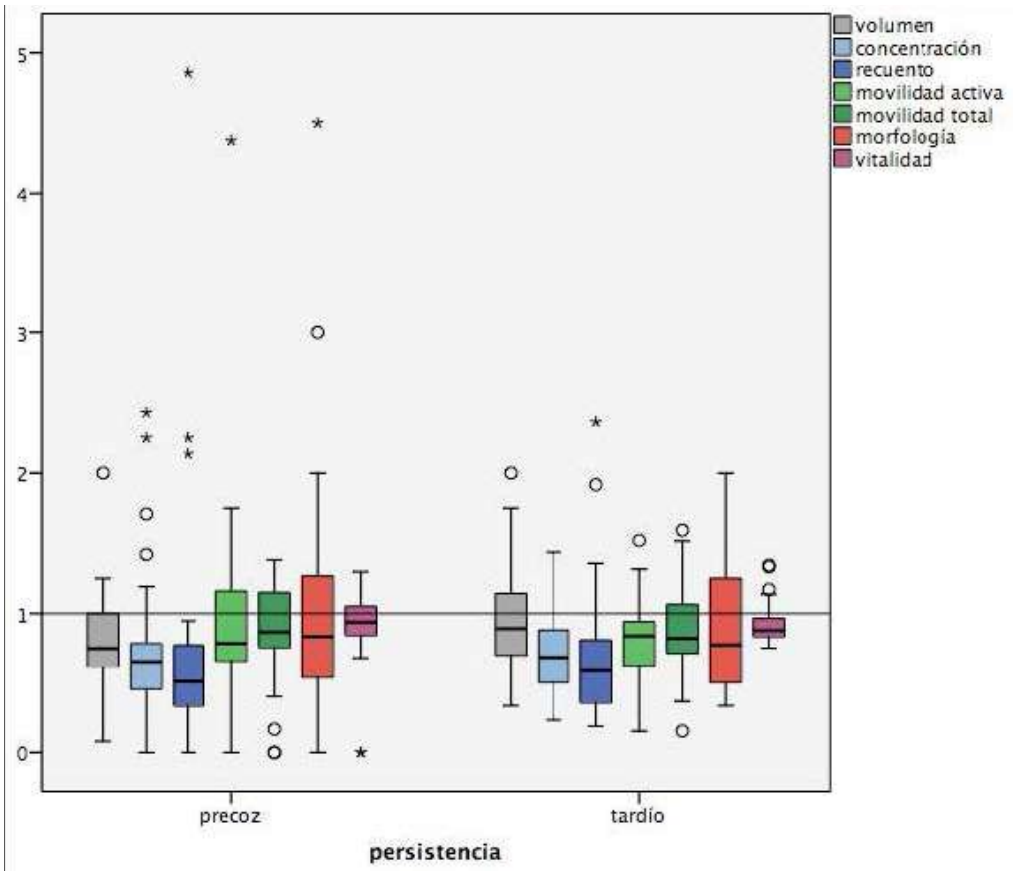


Tabla IV. Comparación de los valores tipificados de cada parámetro del seminograma posterior respecto al previo a la infección separados por grupos (precoz y tardío) según su distanciamiento respecto al momento de la infección.



CO-027

IMPLICIT BIAS IN DIAGNOSING MOSAICISM AMONGST PREIMPLANTATION GENETIC TESTING PROVIDERS: RESULTS FROM A LARGE MULTICENTER ANALYSIS OF 36395 BLASTOCYSTS

Mina Popovic[1], A Lorenzon[2], D Sakkas[3], B Lledó[4], M Parriego[5], M Galain[6], A Pujol Masana[7], D Stoop[8], E Pérez de la Blanca[9], R Vassena[10]

[1]EUGIN Group - Barcelona (Barcelona), [2]Huntington Medicina Reprodutiva - Eugin Group - São Paulo (Brazil), [3]Boston IVF - Eugin Group - Boston (USA), [4]Instituto Bernabéu - Alicante (Alicante), [5]Clínica Dexeus Mujer, Dexeus University Hospital - Barcelona (Barcelona), [6]Cegyr - Medicina y Genética Reproductiva - Eugin Group - Buenos Aires (Argentina), [7]CIRH - Eugin Group - Barcelona (Barcelona), [8]Department of Reproductive Medicine, Ghent University Hospital - Ghent (Belgium), [9]Unidad de Reproducción Asistida, Hospital Quirónsalud Málaga - Málaga (Andalucía), [10]Fecundis Lab - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCTION

Diagnoses consistent with chromosomal mosaicism have emerged as a third category of possible outcomes in preimplantation genetic testing for aneuploidies (PGT-A). However, in the era of mosaicism, embryo selection has become increasingly complex. Uncertainties regarding the risks surrounding chromosomal mosaicism have prompted varying embryo transfer policies across clinics. Coupled to clinical challenges, biological, technical and analytical complexities in interpreting mosaic results have led to substantial variability in mosaicism rates across PGT-A providers and clinics. Critically, it remains unknown whether these differences impact the number of euploid embryos available for transfer. Ultimately, this may significantly affect clinical outcomes, with important implications for PGT-A patients.

OBJECTIVE

We aimed to compare associations between genetic testing providers and PGT-A outcomes, including the number of chromosomally normal (euploid) embryos determined to be suitable for transfer.

MATERIAL AND METHOD

In this international, multicenter, cohort study we reviewed 36,395 consecutive PGT-A results, obtained from 10,035 patients across 11,867 treatment cycles, conducted between October 2015 and October 2021. A total of 17 IVF centers, across 8 PGT-A providers and 5 countries participated in the study. All blastocysts were tested using trophectoderm biopsy and next generation sequencing. Both autologous and donation cycles were assessed. Cycles using preimplantation genetic testing for structural rearrangements were excluded from the analysis. Providers were randomly categorized (A to H). Providers B, C, D, F, G and H all reported mosaicism, while Provider A reported embryos as either euploid or aneuploid. Ploidy rates were analyzed using multilevel mixed linear regression. Analyses were adjusted for maternal age, paternal age, oocyte source, number of embryo biopsied, day of biopsy and provider, as appropriate. Finally, we compared clinical outcomes following the transfer of mosaic (n=245) and euploid (n=5721) blastocysts, performed across ten clinics.

RESULTED

The mean maternal age (±SD) across all providers was 36.2 (±5.2). Our findings reveal a strong association between PGT-A provider and the diagnosis of euploidy and mosaicism. Amongst the seven providers that reported mosaicism, rates varied from 3.1% to 25.0%. After adjusting for confounders we observed a significant difference in the likelihood of diagnosing mosaicism across providers ($p<0.001$), ranging from 6.5% (95%CI: 5.2%-7.4%) for Provider B to 35.6% (95%CI: 32.6%-38.7%) for Provider E. Notably, adjusted euploidy rates were

highest for providers that reported the lowest rates of mosaicism (Provider B: euploidy, 55.7% [95%CI: 54.1-57.4%], mosaicism, 6.5% [95%CI: 5.2-7.4%]; Provider H: euploidy, 44.5% [95%CI: 43.6-45.4%], mosaicism, 9.9% [95%CI: 9.2-10.6%]); Provider D: euploidy, 43.8% [95%CI: 39.2-48.4%], mosaicism, 11.0% [95%CI: 7.5-14.5%]). Moreover, the overall chance of having at least one euploid blastocyst available for transfer was significantly higher when mosaicism was not reported, when we compared Provider A to all other providers (OR=1.30, 95%CI: 1.13-1.50). Differences in diagnosing and interpreting mosaic results across PGT-A laboratories raise further concerns regarding the accuracy and relevance of mosaicism predictions. Finally, we confirmed equivalent clinical outcomes following the transfer of mosaic (n=245) and euploid blastocysts (n=5721). We observed no significant differences in overall clinical pregnancy (p=0.83), miscarriage (p=0.89) or live birth (p=0.98) rates between euploid and low level mosaic blastocysts (diagnosed with <50% abnormal cells). Strikingly, however, we found that close to 90% of all mosaic embryos are not used for IVF treatment.

CONCLUSIONS

Our findings highlight the strong need for standardization and quality assurance in the industry. Not transferring mosaic embryos may ultimately reduce the chance of success of an IVF cycle with PGT-A by limiting the availability of embryos for transfer. Until we can be certain that mosaic diagnoses accurately reflect biological variability, reporting embryos with <50% mosaicism remains difficult to justify.

CO-028

BENEFICIO Y SEGURIDAD DE LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES MOSAICO

Ruth Morales Sabater, B Lledó Bosch, JA Ortiz Salcedo, L Arenas Vicent, J Ten Morro, A Bernabéu García, R Bernabéu Pérez
Instituto Bernabéu
Alicante (Alicante)

INTRODUCCIÓN

Un porcentaje de embriones se clasifican como mosaicos en los ciclos de PGT-A. Aunque sociedades como la PGDIS y la ESHRE han realizado diferentes guías para la transferencia de estos embriones, no existe un consenso acerca de su manejo clínico. Se han publicado estudios sobre los resultados clínicos en términos de implantación y embarazo, y algunos de ellos han informado del nacimiento de niños sanos. Sin embargo, los estudios que evalúan los resultados perinatales, la salud física y el desarrollo durante la infancia son limitados. Esta falta de datos y la inseguridad sobre una posible anomalía en el feto/recién nacido hace que en algunos casos estos embriones sean descartados con el posible efecto negativo en el éxito del tratamiento.

OBJETIVO

Los objetivos del presente estudio han sido:
- Analizar el beneficio de la transferencia de embriones mosaico en los resultados clínicos de los ciclos de PGT-A.
- Evaluar la seguridad de la transferencia de embriones mosaico, analizando los parámetros perinatales y postnatales.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio retrospectivo que incluyó 1.257 ciclos PGT-A en los que al menos un embrión fue transferido (octubre 2017-enero 2023). Se transfirieron 1.796 embriones, de los cuales 236 eran portadores de mosaicismo cromosómico. Se realizó un estudio pareado de los resultados clínicos (tasas

acumuladas de beta positiva, implantación, embarazo clínico y embarazo evolutivo por ciclo de PTG-A/paciente), incluyendo la transferencia del embrión mosaico y sin tenerla en cuenta.

Por otro lado, para evaluar la seguridad de la transferencia de embriones mosaico, se hizo un estudio de cohortes que incluyó 172 niños nacidos tras la transferencia de un embrión único. Los individuos se dividieron en dos grupos, según si procedían de la transferencia de un embrión euploide (n=115) o mosaico (n=57).

Se analizaron parámetros/resultados clínicos durante la gestación, nacimiento y periodo postnatal, incluyendo test prenatal, complicaciones durante embarazo/parto, lactancia, estancia en incubadora, anomalías congénitas, edad materna y gestacional, peso y altura al nacimiento, circunferencia de la cabeza, Apgar-score y enfermedades crónicas.

El análisis estadístico se realizó utilizando el software R (4.2.0).

RESULTADOS

Se compararon los resultados clínicos acumulados por paciente incluyendo la transferencia del embrión mosaico y sin tenerla en cuenta. La transferencia de embriones mosaico aumentó de forma significativa la tasa acumulada de beta positiva (65,1% *vs.* 57,3%), implantación (55,5% *vs.* 48,6%), embarazo clínico (55,8% *vs.* 49,0%) y embarazo evolutivo (49,3 *vs.* 43,0%); (p<0,001).

En cuanto al seguimiento perinatal/postnatal, no se observaron diferencias entre los grupos euploide y mosaico en las complicaciones del embarazo/parto, tipo de parto y edad gestacional (39,22±1,92 semanas, grupo euploide *vs.* 39,00±1,78, mosaico). En cuanto a los parámetros neonatales, no se observaron diferencias en el peso al nacer, la talla y el perímetro cefálico en el grupo euploide en comparación con el grupo mosaico (3222±581g *vs.* 3227±530g, 49,92±2,67cm *vs.* 50,13±2,65cm, 34,50±1,87cm *vs.* 34,50±1,86cm; p>0,05), en el Apgar (8,58±2,48 *vs.* 8,96±1,79; p>0,05) ni en la estancia en incubadora/neonatología. La incidencia de anomalías congénitas fue similar en ambos grupos (8,7%, euploide *vs.* 7,0%, mosaico), siendo en todos los casos anomalías menores. No se registraron enfermedades crónicas en ninguno de los dos grupos, siendo la edad media actual del niño de 3,48±0,81 años en el grupo euploide y 2,92±1,32 años en el grupo mosaico. En el 49,1% de los embarazos de embriones mosaico se realizó un test prenatal (prueba no invasiva/amniocentesis) con resultado normal. Además, se realizó cariotipo postnatal en 6 niños del grupo mosaico.

CONCLUSIONES

La transferencia de embriones mosaico supone una mejora sustancial en los resultados clínicos de las parejas que realizan un PGT-A. Además, este estudio aporta más datos relacionados con la salud del recién nacido, aumentando la seguridad a la hora de dar un adecuado consejo genético.

CO-029

¿QUÉ ESPERAR TRAS LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES MOSAICO? SEGUIMIENTO EN UNA COHORTE DE 53 EMBRIONES

Diana Campos Rodero[1], R Noró Pi[1], E García Guixé[1], Á Gómez Duro[2], E Toro Toro[1], E Fernández García[2], C Giménez Sevilla[1], M Sandalinas Alabert[1]
[1]DiNA Science - Barcelona (Barcelona), [2]DiNA Science - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

Las técnicas de secuenciación masiva (NGS) aplicadas al PGT-A permiten clasificar los embriones en función de la dotación cromosómica que presenten como euploides, aneuploides o mosaicos. El mosaicismo embrionario se define como la coexistencia de dos o más líneas celulares con diferente dotación cromosómica.

Los embriones mosaicos diploides-aneuploides pueden considerarse para su transferencia, previo asesoramiento y aceptación expresa de los pacientes, ya que se ha visto que estos pueden dar lugar a embarazos evolutivos y al nacimiento de niños sanos, aunque presentan una mayor tasa de abortos y fallos de implantación que los embriones euploides.

OBJETIVO

Establecer las tasas de implantación, embarazo evolutivo y aborto de los embriones mosaicos en función del número de aneuploidías ("simple" cuando se detectan una o dos aneuploidías en mosaico o "complejo" cuando se detectan 3 o más), el grado de mosaicismo (se considera "moderado" cuando se detectan aneuploidías entre el 31 y el 50% de las células analizadas y "extenso" cuando se detectan entre el 50 y el 69% de las células analizadas) y el tipo de alteración (completa o segmental).

MATERIAL Y MÉTODO

PGT-A realizados entre 2019 y febrero de 2023 en los que se ha realizado la transferencia de 1 embrión diagnosticado como mosaico diploide-aneuploide (n=53). El análisis se realizó mediante NGS. La edad media de las pacientes fue de 38,1 años.

Se calculan las tasas de implantación, embarazo evolutivo y aborto de los embriones mosaicos diploides-aneuploides transferidos.

RESULTADOS

La tasa de implantación global por transferencia fue de un 60% (32/53) y de embarazo evolutivo del 42% (22/53). Diez transferencias resultaron en abortos espontáneos de primer trimestre (31%).

Todos los embriones transferidos se clasificaron como mosaicos simples y, hasta la fecha, no se ha transferido ningún mosaico complejo.

Teniendo en cuenta la clasificación en base al grado de mosaicismo, el 61% de los embriones transferidos de grado moderado implantaron (23/38). La tasa de embrazo evolutivo fue del 45% (17/38), mientras que el 35% de los implantados resultaron en aborto (6/23). En los embriones con mosaicismo de grado extenso, las tasas de implantación, embarazo evolutivo y aborto observadas fueron del 60% (9/15), 33% (5/15) y 44% (4/9).

En cuanto a la clasificación en función del tipo de aneuploidía (segmental o completa), la tasa de implantación fue del 59% (17/29) en el caso de las segmentales y del 63% (15/24) en las completas. Se observó una tasa de embarazo evolutivo del 48% (14/29) en segmentales respecto al 33% (8/24) en las completas y una tasa de aborto del 18% (3/17) en segmentales frente a un 47% (7/15) en completas.

Según los datos de este estudio, los mosaicos de aneuploidías segmentales tanto moderados como extensos tienen mejores tasas de embarazo evolutivo (9/19, 47% y 5/10, 50% respectivamente) que los de aneuploidías completas (8/19, 42% y 0/5, 0%).

CONCLUSIONES

Los embriones mosaicos diploides-aneuploides pueden tenerse en consideración para su transferencia cuando no hay embriones euploides para transferir. Los datos de este estudio indican una tasa de implantación general de los embriones mosaicos del 60% por transferencia y una tasa de embarazo evolutivo del 42%. La transferencia de embriones mosaicos requiere de un asesoramiento previo a los pacientes donde se indique el potencial en función del tipo de mosaicismo (ya que presentan diferentes tasas de implantación, embarazo evolutivo y aborto en función el grado y el tipo de alteración) y el riesgo en función del cromosoma implicado.

Según datos de este estudio, los embriones con aneuploidías parciales deberían priorizarse en la transferencia a los embriones con aneuploidías completas, independientemente de su extensión. En caso de sólo disponer para la transferencia de embriones con aneuploidías completas, deben priorizarse los de grado moderado.

CO-030

¿HAY LUGAR PARA LA FIV CONVENCIONAL EN EL PGT?

Beatriz Vieira Araújo, S Xavier, I Reis, A Martíns, R Leite, J Faria, M Pinho, A Neto, A Póvoa, L Calejo
Centro Hospitalar Univers
Porto (Porto, Portugal)

INTRODUCCIÓN

Tras la creación de la microinyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), una de las grandes novedades en el área de la reproducción humana asistida fue la posibilidad de realizar test genéticos preimplantacionales (PGT), permitiendo detectar enfermedades genéticas o cromosómicas antes de la transferencia embrionaria.

Hasta el 2019 se consideraba que los ciclos de PGT solo podían realizarse mediante ICSI pues los espermatozoides presentes en la zona pelúcida después llevar a cabo una fecundación *in vitro* (FIV) convencional podrían suponer un riesgo de contaminación. En estos casos, el ADN paterno parecía influir en los resultados del análisis genético. Sin embargo, en 2019, surgieron los primeros estudios probando que el ADN paterno no se amplifica en las mismas condiciones que el ADN de las células trofoectodérmicas, creando una oportunidad para la aplicación de FIV convencional en ciclos de PGT.

OBJETIVO

El objetivo de este estudio es evaluar y comparar el impacto de la técnica de fecundación utilizada (FIV/ICSI o ICSI) sobre el resultado de los tratamientos en ciclos de PGT.

MATERIAL Y MÉTODO

Análisis retrospectivo de los ciclos de PGT realizados (FIV/ICSI o ICSI) en el Centro Hospitalar e Universitário de S. João durante el año 2022.

RESULTADOS

Los resultados demuestran que no existen diferencias significativas ($p>0,05$) entre los diferentes métodos de inseminación (FIV/ICSI *vs*. ICSI) en cuanto a la tasa de fecundación. Además, no se observan diferencias significativas entre FIV/ICSI e ICSI ($p>0,05$) en relación al número de embriones obtenidos en cada categoría de clasificación (A/B y C).

En cuanto a la tasa de embriones biopsiados, esta fue mayor en los ciclos de ICSI en comparación con los ciclos mixtos de FIV ($p=0,008$) e ICSI ($p=0,03$). Sin embargo, esto puede deberse a un mayor número de casos de ciclos ICSI ($n=68$) en comparación con los ciclos mixtos ($n=21$).

CONCLUSIONES

A pesar del reducido número de casos, los resultados indican que el uso de FIV/ICSI en casos de PGT, sin factor masculino asociado, puede ser una alternativa viable, asegurando un resultado comparable, menos invasivo y económicamente más beneficioso para el centro y para la pareja.

Como objetivo futuro se pretende aumentar el número de casos en ciclos mixtos y evaluar si existen diferencias significativas en la tasa de embarazo clínico.

CO-031

POTENCIAL DE LA NGS EN EL PRONÓSTICO DE LOS RESULTADOS DE LOS CICLOS DE TRA EN PACIENTES CON TERATOZOOSPERMIA

Ana Pay García, A Turienzo Díez, E García Hernández, JA Ortiz Salcedo, B Lledó Bosch, R Morales Sabater, A Bernabéu García, R Bernabéu Pérez
Instituto Bernabéu
Alicante (Alicante)

INTRODUCCIÓN

La infertilidad masculina es responsable de la mitad de los casos de infertilidad, sin embargo, su etiología y repercusiones clínicas son aún desconocidas en la mayoría de los pacientes. El estudio de la influencia del factor masculino sobre los resultados clínicos de los ciclos de reproducción asistida es muy escaso debido a las limitaciones que presenta el seminograma como única prueba diagnóstica de referencia en la evaluación de la infertilidad masculina. La alta capacidad analítica que ofrece la NGS en el abordaje genético de estos pacientes, hace de esta técnica una herramienta valiosa para el diagnóstico y pronóstico de los pacientes con factor masculino.

OBJETIVO

El objetivo de este trabajo fue analizar la influencia de variables patogénicas en genes implicados en la espermatogénesis en los resultados clínicos de pacientes con alteraciones del seminograma.

MATERIAL Y MÉTODO

Se llevó a cabo un estudio prospectivo, en el que se incluyeron 58 pacientes varones con el seminograma alterado. Se establecieron 3 grupos de estudio puros: oligozoospérmicos (19), astenozoospérmicos (20) y teratozoospérmicos (23). Cada uno de los grupos fue incluido en el estudio de un panel genético de NGS, que incluye 426 genes relacionados con el proceso de la espermatogénesis.

Tras el análisis, los pacientes de cada grupo fueron divididos a su vez en: portadores y no portadores de variantes patogénicas. A continuación, se estudiaron variables relacionadas con la tasa de fecundación, calidad embrionaria y tasas de beta-HCG positivas, gestación clínica y aborto bioquímico y clínico, de los ciclos realizados por los pacientes incluidos en cada grupo.

La extracción de ADN genómico se realizó de forma automatizada mediante el kit MagMax DNA MultiSample y King-Fisher (ThermoFisher®). Para la NGS se empleó la tecnología Nextera Enrichment (Illumina®). Los datos FASTAQ se procesaron utilizando BWA y GATK y los archivos VCF el software Variant Interpreter.

Se llevó a cabo un análisis estadístico R v.4.2.0 mediante regresión lineal, de las variables entre los pacientes portadores y no portadores de variantes patogénicas; y se aplicaron factores de corrección relativos a la edad de los y las pacientes, así como al origen de los ovocitos.

RESULTADOS

Tras el análisis de los resultados, se observó que tanto en el grupo de los pacientes oligozoospérmicos como astenozoospérmicos, no existían diferencias significativas en ninguna de las variables entre el grupo de pacientes portadores de variantes patogénicas y no portadores. Sin embargo, en el grupo de teratozoospérmicos, se encontraron diferencias significativas en la tasa de fecundación (69,38%; *vs.* 90,32%; p=0,009) así como en la tasa de aborto clínico (45,24% *vs.* 4,63%; p=0,017) entre el grupo de portadores y no portadores de variantes patogénicas, respectivamente.

La presencia de mutaciones en estos genes se relaciona con desórdenes de tipo endocrino, así como alteraciones estructurales y de regulación génica en el espermatozoide. Algunos de los genes en los que se detectaron variantes patogénicas se han asociado con infertilidad primaria (PIWIL3, DNAH9,

KISS1R, CYP21A2, SPATA16 y SPAG16), además, uno de ellos está altamente relacionado con fallos en la activación ovocitaria (SPAG16).

CONCLUSIONES

Alrededor del 40% de los casos de factor masculino son diagnosticados como infertilidad de origen idiopático al desconocerse las causas que lo originan. Nuestros resultados sugieren que los varones con teratozoospermia portadores de variantes patogénicas tienen una mayor probabilidad de fallos de fecundación y de abortos clínicos. Es por ello que la realización de un panel de factor masculino constituye una ventaja diagnóstica y pronóstica en estos pacientes y permite ofrecer un adecuado asesoramiento genético sobre la transmisión a la descendencia o hacia la posibilidad de cambio de gameto masculino.

CO-032

TARGETED NGS APPLIED TO PREIMPLANTATION GENETIC TESTING TO INCREASE DIAGNOSTIC YIELD AND ACCURACY

E Fernández Marcos[1], C Marín Vallejo[1], L Picchetta[2], C García Pascual[1], X Tao[3], Y Zhan[3], C Jalas[3], A Capalbo[2]
[1]Juno Genetics - Valencia (Spain), [2]Juno Genetics Italy – Rome (Italy), [3]Juno Genetic US - New Jersey (US)

INTRODUCTION

Significant advancements in both embryonic culture and genetic technologies have enabled the application of NGS (Next Generation Sequencing) technology to pre-implantation diagnosis. Recently, strategies for adding qualitative data to quantitative analysis have been created through systematic incorporation of genetic polymorphisms (SNPs) and their B-allele frequency analysis (BAF) (2). The addition of genotyping data provides significant advantages above basic PGT-A. These include the detection of ploidy changes, the detection of exogenous contamination, and the investigation of embryonic genetic identity (fingerprinting).

OBJECTIVE

To investigate how the targeted NGS (tNGS) method can help standardize and monitor the embryo biopsy process, as well as the techniques clinical relevance in terms of higher diagnostic yield and accuracy.

MATERIAL AND METHOD

The investigation was conducted retrospectively on 96,660 embryonic samples from 20,187 PGT cycles received at our laboratory from 65 ART clinics between January 2020 and September 2022. Multivariant analysis was performed to investigate the results obtained after tNGS mehod.

RESULTED

97.1% of embryos obtained a diagnosis while 2.9% were classified as "no result". Based on the motivation, the latter were divided into 7 groups thanks to the genotypic definition: non-amplified (52.3%), MAPD>0.3 (12.7%), contamination (6.1%), jumpy chromosome (14.9%), surprising allele frequency (6.7%), high ploidy (0.6%), other (17%). The distribution of no results per clinic and operator revealed significant variation amongst operators. In the multivariate analysis, two biopsy operators and one loading operator had a negative impact (OR>2.0), whereas two biopsy operators and three loading operators had a positive influence (OR=1.0), with a reduced incidence of no-amplification. Exogenous DNA contamination of the biopsy sample was likewise operator dependent for one biopsy operator and two loading operators (OR>2.9). Following contamination evidence during the initial biopsy, 46 embryos were re-biopsied, allowing a diagnostic correction in 32 cases out of 46 (69.6%) from contaminated euploid to aneuploid and vice versa. Furthermore, the inclusion of genotyping data allowed for the identification of 0.8% of biopsies as triploids and 0.2% as haploids from embryos

obtained from 2PN that would have otherwise been classified as euploids. Six couples (0,03%; 95%CI: 0,01-0,06%) were found to have recurrence of ploidy abnormalities (≥3) in the same embryonic cohort and permutation analysis revealed that this cannot be explained by the null hypothesis of a random event. Notably, the incidence of ploidy anomalies was positively correlated with maternal age (OR=1.046 per year; p<0.001). The multivariate analysis, showed no other association with ploidy abnormalities, including paternal age. Triploidy was found to have a stronger correlation (OR=1.059 per year; p=0.00001) than haploidy (OR=0.96 per year; p=0.1).

CONCLUSIONS

The integration of genotyping data allows for the monitoring of operator performance, ensuring the possibility of focused and more efficient intervention. Furthermore, the identification of ploidy and contamination ensures objectively higher diagnostic accuracy in PGT-A. Based only on quantitative chromosomal data, 952 haploid or triploid embryos from normal 2PN fertilizations would have been misclassified as euploid. Finally, for the first time in the literature, a correlation between ploidy alterations and maternal age has been demonstrated, owing to the dataset s unique sample size and the novel PGT-A technology, which detects ploidy alterations as well as single-chromosome anomalies.

CO-033

COMPARACIÓN DE PARÁMETROS DE LABORATORIO, EUPLOIDÍA Y GESTACIÓN DE EMBRIONES PROCEDENTES DE DOBLE ESTIMULACIÓN (FASE FOLICULAR *VERSUS* FASE LÚTEA)

Beatriz Boyano Rodríguez[1], L Herrero Grassa[1], L Cascales Romero[1], M Aparicio González[1], JA Ortiz Salcedo[2], J Ten Morro[3], A Bernabéu García[3], R Bernabéu Pérez[3]

[1]Instituto Bernabéu Madrid - Madrid (Madrid), [2]Instituto Bernabéu Biotech - Alicante (Alicante), [3]Instituto Bernabéu Alicante - Alicante (Alicante)

INTRODUCCIÓN

El diagnóstico genético preimplantacional ha supuesto una ventaja para disminuir el tiempo necesario para conseguir embarazo y también para disminuir la tasa de aborto. Sin embargo, es necesario un número elevado de blastocistos para tener un buen rendimiento de los ciclos, lo que representa un hándicap para pacientes de mal pronóstico (baja reserva ovárica, fallo ovárico precoz, etc.). El protocolo de doble estimulación ha resultado ser útil para este tipo de pacientes puesto que aumenta el número de ovocitos viables para su microinyección (Vaiarelli *et al.* 2018) y también disminuye el tiempo en el que la paciente consigue un embrión euploide (Cerrillo *et al.* 2023).

OBJETIVO

Comparar las tasas de fecundación, formación de blastocistos, tasa de euploidía y tasa de gestación de los embriones procedentes de la estimulación en fase folicular con respecto a los embriones procedentes de estimulación en fase lútea, en pacientes de mal pronóstico que realizan un ciclo de PGTA.

MATERIAL Y MÉTODO

Este estudio retrospectivo multicéntrico evalúa 91 ciclos de doble estimulación en pacientes con mal pronóstico (≤ 5 folículos antrales) que realizaron 182 punciones entre enero y octubre de 2022.

De las 91 fases foliculares, se vitrificaron ovocitos en 53 casos, y luego se desvitrificaron e inyectaron junto con los ovocitos obtenidos en la fase lútea (pacientes menores de 40 años). En los otros 38 casos, se realizaron dos ciclos de PGTA consecutivos con ovocito en fresco, tras ambas estimulaciones (pacientes mayores de 40 años, en los que la vitrificación puede comprometer la calidad ovocitaria).

Todos los ovocitos obtenidos fueron microinyectados y cultivados en medio Global® Total® (LifeGlobal) en incubador GERI® durante 5-6 días, cuando fueron biopsiados o descartados.

Los parámetros de laboratorio comparados fueron: madurez ovocitaria, fecundación y tasa de embriones útiles. La tasa de euploidía y mosaicismo tras la biopsia también fue evaluada y comparada tras el análisis genético de los fragmentos biopsiados.

Los resultados clínicos obtenidos tras la transferencia de los embriones euploides también fueron comparados (gestación bioquímica, clínica y aborto).

El análisis estadístico se realizó con el programa R (v.4.2.0) y los resultados fueron considerados estadísticamente significativos si p valor<0,05.

RESULTADOS

La tasa de supervivencia de los ovocitos vitrificados en fase folicular fue de 90%.

En cuanto a los resultados del laboratorio de FIV, no encontramos diferencias significativas en la media de ovocitos obtenidos en punción en fase folicular *vs.* fase lútea (6,6±3,8 *vs.* 7,2±3,5; p=0,222), tasa de ovocitos maduros (76,1% *vs.* 82,7%; p=0,050), tasa de fecundación (75,1% *vs.* 75,2%; p=0,939) o tasa de blastocistos biopsiados (50,2% *vs.* 56,7%; p=0,186), respectivamente (ver Tabla I).

En cuanto a los resultados del análisis genético, no se hallaron diferencias entre grupos en la tasa de aneuploidía (64,9% *vs.* 70,2%; p=0,430), ni en la tasa de mosaicismo (7,9% *vs.* 3,9%; p=0.194). El número medio de embriones euploides por punción tampoco fue significativamente diferente (0,5±0,8 en fase folicular *vs.* 0.6±1 en fase lútea; p=0,686).

En cuanto a los resultados clínicos, se transfirieron 94 embriones procedentes de fase folicular y 14 resultantes de la fase lútea consecutiva, y no se hallaron diferencias significativas en la tasa de gestación clínica (59,6% *vs.* 50,0%; p=0,668), ni en la tasa de aborto clínico en este análisis preliminar (4,3%*vs.* 0%; p=0,999) (ver Tabla II).

CONCLUSIONES

La doble estimulación supone una estrategia muy útil en este tipo de pacientes, ya que aumenta las posibilidades de tener un blastocisto euploide en el mismo ciclo. Todos los resultados obtenidos tras la estimulación en fase lútea son comparables a los de la fase folicular previa, por lo que esta estrategia debe ser tenida en cuenta ante pacientes de mal pronóstico para aumentar sus posibilidades de éxito y disminuir el tiempo de espera.

REFERENCIAS

1. Alberto Vaiarelli, Danilo Cimadomo, Cindy Argento, Nicolò Ubaldi, Elisabetta Trabucco, Panagiotis Drakopoulos, Roberta Venturella, Alessandro Conforti, Carlo Alviggi, Laura Rienzi, Filippo M Ubaldi. Double stimulation in the same ovarian cycle (DuoStim) is an intriguing strategy to improve oocyte yield and the number of competent embryos in a short timeframe. Minerva Ginecol. 2019 Oct;71(5):372-376.

2. M Cerrillo, G N Cecchino, M Toribio, M J García-Rubio, J A García-Velasco. A randomized, non-inferiority trial on the DuoStim strategy in PGT-A cycles. Reprod Biomed Online. 2023 Mar;46(3):536-542.

TABLAS

Tabla I. Comparación de los parámetros de laboratorio y resultados de análisis genético entre grupos. Análisis no pareado.

Variables:	Fase Folicular, N = 91[1]	Fase Lútea, N = 91[1]	p-value[2]
Número medio de ovocitos obtenidos	6.64 (3.78)	7.20 (3.54)	0.222
Número medio de MII	4.97 (2.80)	5.93 (3.21)	0.050
Tasa de MII	76.10 (23.05)	82.70 (18.66)	0.057
Tasa de Fecundación	75.06 (22.32)	75.18 (23.32)	0.939
Tasa Blastocistos_D5	51.10 (33.60)	57.73 (32.18)	0.186
Número de Embriones útiles	1.82 (1.50)	2.42 (1.75)	0.022
Tasa de Embrión útil	50.17 (33.15)	56.63 (29.94)	0.186
Número medio de Embriones Euploides	0.53 (0.78)	0.65 (0.98)	0.686
Tasa Aneuploidías	64.94 (39.54)	70.25 (37.24)	0.430
Tasa Mosaicismo	7.99 (20.21)	3.91 (14.84)	0.194

[1] Mean (SD)

[2] Wilcoxon rank sum test

Tabla II. Comparación de los resultados clínicos (preliminares) obtenidos en las criotransferencias de embriones euploides.

Variables:	Embriones obtenidos en fase folicular	Embriones obtenidos en fase lútea	p-value
Número de transferencias	94	14	
Tasa de gestación bioquímica	58.0 / 94.0 (61.7%)	8.0 / 14.0 (57.1%)	0.193
Tasa de gestación clínica	56.0 / 94.0 (59.6%)	7.0 / 14.0 (50.0%)	0.668
Tasa de aborto clínico	4.0 / 94.0 (4.3%)	0.0 / 14.0 (0.0%)	>0.999

Mean (SD); n / N (%)

Wilcoxon rank sum test; Fisher's exact test

CO-034

TOWARD THE GENERATION OF HAPLOID OOCYTES BY SOMATIC CELL NUCLEAR TRANSFER (SCNT)

Nuria Martí Gutiérrez, A Mikhalchenko, D Frana, C Van Dyken, Y L, A Koski, P Amato, S Mitalipov
OHSU
Portland (OR, USA)

INTRODUCTION

In vitro gametogenesis (IVG) may provide infertility patients lacking their own sperm or eggs with the opportunity to have genetically related offspring. We are developing a novel IVG approach based on direct transplantation of patient skin cell nuclei into enucleated donor oocytes followed by experimental haploidization and fertilization with sperm.

OBJECTIVE

To explore the mechanism and efficacy of haploidization of somatic cell genomes during SCNT by premature cell division.

MATERIAL AND METHOD

Premature entrance of somatic cell chromatin into the metaphase (M-phase) was induced by transplanting non-replicated somatic cell nuclei at the G0/G1 phase of cell cycle (2n2c) into the M-phase-arrested cytoplasm of enucleated mouse MII oocytes. Such SCNT oocytes were activated artificially to force exit from the M-phase and extrude chromosomes into the polar body and zygote. Both polar body and zygote DNA was collected and subjected to next-generation sequencing to evaluate the pattern of chromosome segregation.

RESULTED

Transplantation of G0/G1 somatic cell nuclei to M-phase arrested oocyte cytoplasm induced nuclear envelope breakdown, premature chromosome condensation and formation of bipolar spindles in approximately 77% of SCNT oocytes. Artificial activation resulted in completion of cell division in such SCNT oocytes as judged by extrusion of pseudo polar bodies. Next-generation sequencing-mediated chromosome tracing in polar bodies and embryos revealed that efficiency of complete haploidization of somatic genomes (proper segregation of all 20 mouse chromosomes) was dependent on the degree of sequence homology between somatic cell homologous chromosomes.

CONCLUSIONS

These results indicate that experimental haploidization of somatic cell genome by premature cell division can be achieved and suggest that improved homology-mediated sequence recognition and homolog pairing is required to increase the success rate of haploidization.

CO-035

USO DE LA INTELIGENCIA ARTIFICIAL PARA PREDECIR EL EMBARAZO CLÍNICO EN CICLOS CON BLASTOCISTOS VITRIFICADOS

Aila Coello Perles, A Cobo Cabal, L Bori Arnal, L Conversa Martínez, M Nohales Córcoles, M Meseguer Escrivá
IVI
Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN

Los modelos de inteligencia artificial se están introduciendo en los laboratorios de fecundación *in vitro* como una ayuda en la toma de decisiones clínicas. Uno de los más novedosos es el IDAScore (Intelligent Data Analysis Score) que, desarrollado con el uso de aprendizaje profundo, considera todos los hitos del desarrollo de un embrión y calcula su probabilidad de implantar, estableciendo un *ranking* en la cohorte.

OBJETIVO

Evaluar el uso de un algoritmo basado en inteligencia artificial (iDAScore) como una herramienta adicional para seleccionar embriones vitrificados con el fin de automatizar completamente este proceso.

MATERIAL Y MÉTODO

El estudio incluyó 3.915 blastocistos vitrificados transferidos entre 2016 y 2021. No se incluyeron ciclos de PGT-A. Tras el ICSI, los embriones fueron incubados en *time-lapse* EmbryoScope y EmbryoScopePlus hasta el momento de ser criopreservados en estadío de blastocisto (en día 5 o 6). El software EmbryoViewer detectó automáticamente los parámetros morfológicos y morfocinéticos. Posteriormente, los blastocistos se clasificaron en diferentes categorías numéricas usando el iDAScore v2 algorithm (Vitrolife, Canadá). Así mismo, los embriones también fueron evaluados morfológicamente por embriólogos sénior de acuerdo a los criterios de la asociación ASEBIR. Los parámetros morfológicos analizados fueron los siguientes: i) día de la vitrificación (5 o 6); ii) grado de expansión: cavitado (B), expandido (EB), eclosionando (iHB) y eclosionado (HB); iii) calidad (A, B y C). Las correlaciones entre el IDAscore, los parámetros morfológicos y la tasa de gestación se analizaron mediante regresión logística. Los datos fueron ajustados por edad, índice de masa corporal, origen del ovocito y protocolo de preparación endometrial. Se calcularon los *odds ratios* (OR) y los intervalos de confianza (IC) al 95%.

RESULTADOS

Se realizó una primera regresión logística por pasos hacia delante con el fin de seleccionar y clasificar morfológicamente las variables para establecer cuáles tenían mayor poder predictivo de embarazo. El análisis identificó la calidad embrionaria como la variable más predictiva seguida del día de vitrificación y el grado de expansión (Tabla I). Posteriormente, se realizó un segundo análisis introduciendo el IDAScore en el modelo previo. Esta variable resultó ser la más predictiva de embarazo (OR: 1,21; 95%IC: 1,17-1,25), desplazando el día de vitrificación y el grado de expansión que dejaron de ser estadísticamente significativos. Aunque la calidad embrionaria continuó correlacionándose estadísticamente con la tasa de embarazo, mostró menos poder predictivo que el iDAScore.

CONCLUSIONES

El iDAScore mostró una correlación mayor con la tasa de embarazo clínico que las variables morfológicas, indicando que es una herramienta útil y automatizada para predecir el embarazo en ciclos con blastocistos vitrificados.

TABLAS

Tabla I. Regresion logística multivariante para la predicción de la tasa de embarazo clínico.

Variable	*OR*	*95% IC*
Calidad embrionaria		
A *vs.* C	2.89	2.20-3.79
B *vs.* C	1.62	1.31-1.99
Día 5 *vs.* 6	1.39	1.09-1.77
Grado de expansión		
B *vs.* iHB	0.47	0.46-1.44
EB *vs.* iHB	0.79	0.68-0.93
HB *vs.* iHB	0.44	0.11-1.76

CO-036

ANÁLISIS SOBRE EL TIEMPO DE DESAPARICIÓN DE PRONÚCLEOS Y EL DESTINO EMBRIONARIO EN CICLOS DE DIAGNÓSTICO GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL

Silvia García Monclús, N Moya Rodríguez, E Lancharro Muñoz, M Soriano Moya, I Vanrell Barbat, S Sanfeliu Capdevila, A Polo Ramos, O Martínez Pasarell
Fundació Puigvert
Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

El tiempo de desaparición de pronúcleos (tPNf) se ha relacionado con algunos aspectos del desarrollo embrionario como la tasa de blastulación o de implantación, con resultados opuestos en algunos trabajos. Sin embargo, hay pocos estudios que relacionen el tPNf con las tasas de euploidía en ciclos de diagnóstico genético preimplantacional (PGT). ASEBIR recomienda observar la fecundación a las 16-18 horas post inseminación (hpi), aunque está descrito que algunos pronúcleos ya no serán visibles en este momento.

OBJETIVO

Analizar si existe relación entre el tPNf y la tasa de biopsia, la calidad embrionaria y la tasa de euploidía en ciclos de PGT.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo en el que se incluyeron 70 ciclos de PGT-M o PGT-A (por abortos de repetición) realizados entre enero de 2021 y marzo de 2023, de 63 pacientes con una media de edad de las pacientes de 34,1±3,5 años. Se analizaron ciclos con ovocitos propios en fresco inseminados mediante ICSI y biopsia de blastocisto en D+5/6, sumando un total de 608 ovocitos correctamente fecundados (2PN+2CP). Los embriones se cultivaron en incubador Geri® con humedad y medio de cultivo único (Geri Medium, Genea-Biomedx), realizándose anotaciones manuales sobre el tPNf. Se clasificaron morfológicamente los embriones siguiendo los criterios de ASEBIR y se consideró desaparición temprana un tPNf inferior a 18hpi. La euploidía de los embriones se analizó mediante NGS y *karyomapping*. Para el análisis estadístico se usó la prueba t-test o chi-cuadrado.

RESULTADOS

La desaparición de pronúcleos se observó de promedio a las 22,9±3,9hpi. El 62,7% de los embriones fecundados fueron biopsiados entre D+5/6. El tPNf de los embriones biopsiados fue inferior (22,2±2,4hpi) que el de los embriones descartados (24,1±5,3hpi), observándose diferencias significativas (p<0,001). De forma similar, el tPNf fue inferior en los embriones biopsiados en D+5 (22,0±2,3hpi) que en D+6 (22,8±2,7hpi), p<0,005. En relación al grado de expansión de los embriones biopsiados, el tPNf observado fue 22,8±2,6hpi en los embriones en expansión, 22,3±2,4hpi en embriones expandidos y 21,8±2,3hpi en embriones eclosionando, observándose diferencias significativas entre los embriones en expansión y los que habían iniciado la eclosión (p<0,05). En cuanto a la calidad embrionaria, el tPNf en embriones con masa celular interna (MCI) de calidad A, B y C fue 21,5±2,3hpi, 22,4±2,5hpi y 22,2±2,4hpi respectivamente, con diferencias significativas entre los embriones de MCI A y B (p<0,05). En cambio, no se observaron diferencias significativas en el tPNf entre los embriones con trofoectodermo de calidad A (22,1±2,5hpi), B (22,2±2,5hpi) y C (22,2±2,4hpi). En el análisis de la euploidía, no se observaron diferencias significativas entre el tPNf en embriones euploides (22,1±2,4hpi), aneuploides (22,3±2,4hpi) y mosaicos (21,9±2,7hpi). La edad materna fue equiparable entre los grupos estudiados.

De los 608 ovocitos fecundados, se observó un tPNf inferior a 18hpi en un 2,1% de los casos. La tasa de blastocisto biopsiado fue un 84,6% cuando se observó un tPNf temprano y un 62,2% cuando los pronúcleos desaparecieron pasadas las 18hpi (p=0,098). La biopsia de los embriones se realizó en D+5 en el 100% de embriones con tPNf temprano y en el 75,7% de embriones con tPNf superior a 18hpi (p=0,061).

CONCLUSIONES

Los embriones con un tPNf inferior presentaron de forma significativa mayores tasas de embrión biopsiado, más biopsias en D+5, mayor grado de expansión y mejor calidad de la MCI. En cambio, no se observaron diferencias significativas en el tPNf entre los embriones euploides, aneuploides o mosaico.

Los embriones con desaparición temprana de pronúcleos presentaron una tasa de blastocisto útil elevada, indicando que pueden tener un elevado potencial reproductivo. Se debería optimizar el tiempo de observación de la fecundación para evitar su descarte, especialmente en ciclos de PGT. No obstante, será necesario valorar en el futuro las tasas de recién nacido vivo en este grupo de embriones.

CO-037

EVALUACIÓN EMBRIONARIA AUTOMÁTICA CON *DEEP LEARNING*: VALIDACIÓN EXTERNA Y PLANTILLA DE IMPLANTACIÓN ESPERADA EN DISTINTOS TIPOS DE TRATAMIENTO

Lorena Bori Arnal[1], C Giménez Rodríguez[1], MA Valera Cerdá[1], F Meseguer Estornell[2], A Delgado Mendibe[2], M Meseguer Escrivá[3]

[1]IVI Foundation, Institut - Valencia (Valencia), [2]IVIRMA Valencia - Valencia (Valencia), [3]IVIRMA Valencia; IVI Foundation, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe (IIS La Fe), IVIRMA Valencia - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN

Recientemente, la inteligencia artificial se ha introducido en los laboratorios de fecundación *in vitro* (FIV) como complemento a la toma de decisiones clínicas. Los modelos de selección embrionaria más novedosos están basados en el aprendizaje profundo (*deep-learning*), que analiza vídeos *time-lapse* sin anotar ni procesar.

OBJETIVO

Nuestros objetivos fueron validar un algoritmo de *deep-learning* para la selección embrionaria y desarrollar una plantilla de implantación esperada en función de la puntuación automática del embrión candidato a ser transferido para cada tipo de tratamiento, con el fin de mejorar el asesoramiento a las pacientes.

MATERIAL Y MÉTODO

Este estudio unicéntrico incluyó 7.352 tratamientos de FIV que dieron lugar a 68.471 embriones incubados en sistemas *time-lapse*. Los embriones fueron evaluados y seleccionados de forma rutinaria según morfología convencional (ASEBIR) por embriólogos sénior y puntuados retrospectivamente por el algoritmo iDAScore v2 de 1 a 9,9. Por un lado, se compararon las puntuaciones automáticas con la morfología convencional, la ploidía y los resultados clínicos. A continuación, se realizó un análisis de regresión logística multivariante (factores de confusión: origen del ovocito, donado-autólogo; tipo de transferencia embrionaria, fresco-congelado; edad del ovocito; índice de masa corporal de la paciente; estrategia de cultivo, individual-grupo; día de transferencia embrionaria, quinto-sexto día de desarrollo embrionario) en diferentes poblaciones de pacientes. Por otro lado, se definieron siete rangos de puntuación como categorías de calidad embrionaria para desarrollar la plantilla de implantación esperada comparando retrospectivamente los resultados de 6.543 embriones KID (datos de implantación conocidos).

RESULTADOS

La media de la puntuación automática fue mayor en embriones con mejor grado morfológico*, en euploides que aneuploides (6,31±2,53 frente a 5,07±2,55; n=7.082)*, en implantados que no implantados (6,83±2,18 frente a 5,75±2,54; n=10.068)* y en embriones que dieron lugar a un recién nacido vivo (RNV) que en aquellos que no lo consiguieron (6,88±2,15 frente a 5,87±2,52; n=10.054)*. El análisis multivariante mostró odds ratios (OR) estadísticamente significativas en la predicción de implantación y RNV*: en tratamientos con ovocitos propios (n=2.314), OR=1.32; 95%IC[1.27–1.37] para implantación y OR=1.28; 95%IC[1.24–1.33] para RNV; y en el programa de donación de ovocitos (n=5.920), OR=1.17; 95%IC[1.14–1.20] para implantación y OR=1.17; 95%IC[1.15–1.20] para RNV. La plantilla de implantación esperada demostró que los embriones con la misma puntuación tuvieron un mayor potencial de implantación en el programa de donación de ovocitos que en los tratamientos con ovocitos propios, tras la transferencia de embriones (TE) en fresco. Esto fue estadísticamente significativo especialmente para las categorías inferiores ($p<0,05$ hasta 6,80 de puntuación). En la TE en congelado, no hubo diferencias significativas entre los ovocitos propios y los donados (excepto para los embriones con puntuación máxima). En el programa de donación de ovocitos, los embriones con la misma puntuación mostraron mayor potencial de implantación en la TE en fresco que en congelado ($p<0,05$ hasta ≥ 9 de puntuación). Sin embargo, la tendencia fue la contraria para los ovocitos propios, aunque en general no fue estadísticamente significativa. *$p<0,001$

CONCLUSIONES

Nuestros resultados muestran una asociación positiva entre la puntuación automática y el éxito de un tratamiento de FIV. Además, la implantación esperada para embriones con la misma puntuación fue diferente según el tratamiento. Las diferencias entre ovocitos de paciente y de donante sólo se observaron en la TE en fresco, lo que pone de manifiesto el efecto de la estimulación ovárica sobre la receptividad endometrial. En el programa de donación de ovocitos se observaron diferencias entre la TE en fresco y en congelado, lo que pone de manifiesto el efecto de la vitrificación/desvitrificación sobre la calidad embrionaria. Sin embargo, en los tratamientos con ovocitos propios este efecto podría estar enmascarado por la estimulación ovárica que reduciría la implantación en las transferencias en fresco.

TABLAS

Tabla I. Plantilla de implantación esperada según la puntuación automática asignada por el algoritmo iDAScore v2 en distintos tipos de tratamiento.

iDAScore v2	Tasa de implantación % [IC 95%]			
	TE en fresco		TE en congelado	
	Ovocitos de paciente	Ovocitos de donante	Ovocitos de paciente	Ovocitos de donante
≤ 3,5	22 [15,5-28,4]	43,4 [35,8-51]	28,5 [21,4-35,6]	33,8 [28,5-39]
3,5-5,1	27,3 [19,5-35,2]	50,2 [43,7-56,8]	37,5 [29,7-45,3]	37,1 [32,1-42,1]
5,1-6,8	48,3 [40,7-55,8]	59 [54-63,9]	50,1 [44,3-57,4]	44,4 [40,4-48,3]
6,8-7,6	54,4 [45,9-62,9]	61,3 [56,1-66,4]	59,4 [51,3-67,6]	53,7 [48,6-58,8]
7,6-8,4	56,4 [48,1-64,7]	66,1 [62,5-69,7]	59,8 [52,8-66,8]	52,7 [48,5-56,9]
8,4-9	66,1 [57,3-74,9]	67,6 [63,5-71,7]	64,9 [57,1-72,6]	56,8 [51,9-61,8]
≥ 9	72,3 [59,1-85,6]	68,2 [61,7-74,7]	75,4 [64,9-85,8]	61 [53,4-68,5]

IC: intervalo de confianza

TE: transferencia embrionaria

CO-038

OOCYTE IMAGE ANALYSIS ARTIFICIAL INTELLIGENCE TOOL, MAGENTA, VALIDATED ON BOTH EMBRYOSCOPE AND GERI *TIME-LAPSE* SYSTEMS

María Isabel Puerta Vega, N Siddique, N Mercuri, W Qi, J Fjeldstad
Future Fertility
Ontario (Canadá)

INTRODUCTION

MAGENTA is a non-invasive oocyte image analysis artificial intelligence (AI) tool that assesses 2-dimensional images of mature (metaphase II, MII) oocytes and provides a score from 0-10 that positively correlates with subsequent blastocyst development and quality. For workflow simplicity, images of MII oocytes can be obtained directly following ICSI from *time-lapse* (TL) systems. There are multiple TL systems in use in the IVF lab, most notably EmbryoScope (Vitrolife) and GERI (Genea Biomedx). It is important to validate MAGENTAs performance on not only various microscope cameras, but also different TL systems to ensure generalizability prior to clinical use, as well as provide greater accessibility for individual labs. Area-under-the-curve (AUC) is an important metric that can be used to assess AI model performance as it evaluates the classification (blastocyst positive or negative) by the tool at various thresholds and accounts for the sensitivity (true positive rate) and specificity (true negative rate) of the model.

OBJECTIVE

To validate the performance of a non-invasive oocyte image analysis AI tool (MAGENTA) on images of MII oocytes obtained from two different *time-lapse* systems immediately post-ICSI, prior to clinical implementation.

MATERIAL AND METHOD

Images of denuded MII oocytes immediately post-ICSI were obtained from EmbryoScope TL systems at two North American lab locations between the years 2014-2021 and from a GERI TL system at a single lab location in Spain between the years 2016-2020.

Baseline performance of MAGENTA is calculated to have an AUC of 0.64 at a 95% CI [0.62, 0.65], a sensitivity of 0.65, and a specificity of 0.55. Performance of the AI tool in predicting blastocyst development on images of MII oocytes obtained from the TL systems (EmbryoScope and GERI) was assessed by calculating the AUCs. 95% confidence intervals of the AUCs were compared by the DeLong's test for two receiver-operating-curves (ROC). AUC comparisons were conducted for performance on 6133 images of MII oocytes from EmbryoScope and 1194 from GERI, all previously unseen to the AI model.

RESULTED

The AUC was 0.65 at a 95% CI [0.64, 0.66] for EmbryoScope, with a sensitivity of 0.71 and a specificity of 0.51. Similarly, for GERI the AUC of the model was 0.65 at a 95% CI [0.62, 0.68], with a sensitivity of 0.52 and a specificity of 0.67. DeLong's test for two ROC curves displayed no significant difference between the performance of MAGENTA on the MII oocyte images obtained from EmbryoScope and those obtained from GERI ($p = 0.91$). Additionally, this indicates no significant difference on model performance between patient populations from North America or Spain.

CONCLUSIONS

Validation studies ensuring similar performance of AI image analysis tools on different image and data sources are crucial to ensure clinical applicability prior to integration and patient use. MAGENTA displays similar performance in predicting blastocyst development from images of denuded MII oocytes post-ICSI obtained from different TL systems, displaying consistency in assessment of oocyte quality for greater implementation. The results highlight the diversity and generalizability of the MAGENTA AI model across both various image sources (Embryoscope and GERI) and patient demographics (North America and Europe).

CO-039

METABOLIC TIMELAPSE REVEALS THAT AN IMPAIRED MITOCHONDRIAL METABOLISM CONTRIBUTES TO REDUCE THE OOCYTE MATURATION RATES IN WOMEN OF ADVANCED MATERNAL AGE

Sara Pietroforte[1], M Martíns[2], E Ibáñez[3], M Popovic[1], R Vassena[1], T Sanchez[4], D Sakkas[2], F Zambelli[1]
[1]Eugin Group - Barcelona (Barcelona), [2]Boston IVF - Eugin Group - Waltham (MA, USA), [3]Department of Cell Biology, Physiology and Immunology - Universitat Autónoma de Barcelona - Barcelona (Barcelona), [4]OPTIVA - Boston (MA, USA)

INTRODUCTION

Oocyte quality decay observed in Advanced Maternal Age (AMA) oocytes is mainly due to higher rates of chromosomal segregation errors during the final phases of meiosis I. Another typical feature of AMA oocytes is an impaired mitochondrial metabolism. Studies in mouse suggest a possible functional link between metabolic dysregulation and meiotic maturation failure, but this relation has yet to be proven in humans. Metabolic dynamics can be visualized indirectly by analyzing mitochondria via immunofluorescence (IF), and more directly quantified using Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy (FLIM). This live-imaging approach can generate metabolic timelapse profiles of oocytes throughout meiosis in terms of NAD(H) and FAD intensity. We performed an extensive characterization of oocyte metabolism in maturing

GVs both young and AMA patients, and performed functional studies in young GVs to establish the importance of mitochondrial metabolism during meiosis.

OBJECTIVE

The present study aims to evaluate whether there is a relationship between poor mitochondrial metabolism and impaired meiotic progression of germinal vesicle (GV) oocytes in AMA women.

MATERIAL AND METHOD

401 GVs from both young (≤35 years, n=264) and AMA (>37 years, n=137) women were included in the study. GVs were matured *in vitro* in G2-plus medium for 30 hours. Maturation was determined by the presence of an extruded polar body. Functional studies aimed at decreasing mitochondrial metabolism were performed by treating young GVs (n=64) with 1µM Trifluoromethoxy-carbonylcyanide-phenylhydrazone (FCCP) for 30 minutes. IF was performed in young and AMA oocytes by staining for Dihydrolipoamide-S-Acetyltransferase (D-LAT) and Translocase-of-outer mitochondrial-membrane (TOMM20), to assess mitochondrial activity and localization, respectively. Fluorescence mean intensities were quantified with ImageJ and compared by t-test; maturation rates were compared by Chi-squared test. Different FLIM parameters (fluorescence intensity, fraction bound, short/long lifetime) were evaluated individually and combined into the Redox ratio (NADH intensity/FAD+ intensity).

RESULTED

Mitochondrial staining showed a uniform distribution of total mitochondria (TOMM20) throughout the ooplasm in both young and AMA oocyte, with the active ones (D-LAT) clustering in the subcortical area. Metabolic timelapse confirmed a similar distribution of NADH signal, with a higher intensity in the outermost part of the oocyte. The total mitochondria abundance was comparable between AMA and young GV oocytes (intensity of 61674±24322 AU in young, 32186±33414 AU in AMA, p=0.195), while active mitochondria and NADH/FAD intensity were diminished in AMA compared to young GVs, (intensity of 78614±58534 AU in young, 12517±10187 AU in AMA, p=0.003; Redox ratio in young 2e+00±0.15, in AMA 1e+00 ± 0.16, p=2.969e-05). Young oocytes matured at a significantly higher rate (86.3%; 63/73) than AMA oocytes (62.3%; 38/61; p=0.002). Moreover, FLIM imaging revealed that GVs with a higher metabolism were more likely to complete meiosis to MII (Redox ratio 2e+00±0.17 in GVs matured to MII, 1e+00±0.18 in non-matured, p=1.054e-06). After treatment with FCCP, young GVs showed a significant decrease in their metabolism (intensity of 78614±58534 IU in untreated and 11554±16131 IU in treated GVs, p=0.019) and a concomitant significant drop in their maturation rates, with only 39.5% (17/43) that reached the MII stage, mirroring the situation observed in AMA oocytes.

CONCLUSIONS

Our results indicate a functional link between oocyte metabolism and impaired meiosis, which may be responsible for the decline in oocyte quality with age. In addition, FLIM imaging may represent a valuable non-invasive tool in oocyte selection, given its ability to discern GVs that will correctly progress through meiosis.

CO-040

NOVEL DEVELOPMENTAL PARAMETERS IMPROVE EMBRYO EVALUATION SYSTEMS AND REACH PLOIDY PREDICTIVE VALUES COMPARABLE TO ARTIFICIAL INTELLIGENCE

Clara Serrano Novillo, L Uroz Brosa, C Márquez Guevara
Gravida
Barcelona (Barcelona)

INTRODUCTION

Can we improve embryo selection and ploidy prediction using novel morphokinetic parameters in blastocyst development, and obtain results comparable to artificial intelligence? *Time-lapse* has allowed us to detect more morphokinetic parameters and improve embryo grading systems. However, ploidy prediction still relies on invasive techniques to obtain a reliable result. The use of AI is promising and can already predict blastulation or implantation with good results, but not ploidy yet. Moreover, AI presents some other limitations at the moment (requires training from embryologists, embryos with aberrant development are often miss-annotated, etc). Besides, there is a known "black box" behind AI decisions, and it would be of great interest to understand what are the actual parameters that these intelligent softwares are using in their prediction algorithms. By focusing on specific or novel parameters, we could further understand not only embryo development, but also shed a light to this black box. Embryologist are still essential for embryo evaluation and selection of the best embryo for transfer. Improving the manual evaluation tools can help improve clinical outcomes until AI is fully introduced in IVF.

OBJECTIVE

l To describe novel morphokinetic parameters in embryo development relevant to ploidy prediction.

l To test if we can improve non-invasive embryo selection using novel morphokinetic parameters in blastocyst development, and obtain ploidy prediction values comparable to artificial intelligence.

MATERIAL AND METHOD

Single center retrospective study. Data included 608 blastocyst from 106 preimplantation genetic testing cycles between January 2018 and July 2022. Embryos were cultured in *time-lapse* systems and were studied for both morphologic and kinetic parameters. Among the cases included in the study, 608 of the embryos developed the blastocyst stage able to be biopsied, and therefore analyzed by PGT for aneuploidies on the fifth or sixth day of culture. Annotation of several morphokinetic characteristics was performed on the analyzed embryos, and the study was blinded to ploidy.

RESULTED

Improved embryo grading systems used by embryologist can reach high predictive values, comparable to artificial intelligence. We present a new parameter, "st2, start of t2", detected at the beginning of the first cell cleavage, as highly implicated in ploidy status ($p < 0.001$). Not only the time, but also the phenotype of the movements appears as related to ploidy. We describe circular cytoplasmic waves prior to cell division as highly associated with euploidy (90% of the cases), while un-patterned random movements show a marked tendency towards aneuploidy ($p < 0.0001$). Aneuploid embryos present slower developmental rates compared to euploid embryos for all of the key markers found in the study (t3, t5, tSB, tB, cc2, cc3 and t5-t3). Our correlation study between several timings and intervals demonstrates a positive correlation among them for euploid embryos, while aneuploid embryos present aberrant and non-sequential behaviors. Euploid blastocysts show compensation times between studied variables, suggesting an ability to correct or adjust some times to achieve a sequential development. A logistic regression study confirmed the implication of the described parameters, showing a

receiver operating curve (ROC) value of 0.69 for ploidy prediction (95% confidence interval (CI), 0.62 to 0.76). Using artificial intelligence systems to process raw *time-lapse* images with an automatic annotation software, we obtained a ploidy predictive value of 0.64. This means that using the optimal parameters in manual embryo evaluation, we are able to improve our grading systems and reach ploidy predictive values comparable (or even better) than with AI.

CONCLUSIONS

To optimize the relevant indicators to select the most suitable blastocyst (such as by including st2) can improve embryo selection, reaching ploidy predictive values comparable to AI and avoiding invasive and expensive methods.

CO-041

ALGORITMO BASADO EN INTELIGENCIA ARTIFICIAL COMO HERRAMIENTA PARA DISMINUIR LA VARIABILIDAD INTERPERSONAL EN EL RECUENTO CELULAR DE LOS BLASTOCISTOS RESULTANTES DE ENSAYOS CON EMBRIONES DE RATÓN

Queralt Matia Algué, M Acacio Espinosa, E Mestres Gonzalvo, S Mas Sabatés, A Casals Acien, A Villamar Marín, A Martínez Casado, A Franco Roig, G Calderón de Oya, N Costa Borges
Embryotools
Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

El punto final más común de un ensayo estándar con embriones de ratón o *mouse embryo assay* (MEA) para la determinación de toxicidad en productos usados en reproducción asistida es la tasa de formación de blastocisto (BFR) a las 96 horas o 120 horas de cultivo. No obstante, la cuantificación del número total de células mediante microscopía de epifluorescencia se ha propuesto como medida adicional para incrementar la sensibilidad del ensayo.

La comparación de la media de células entre los grupos test y control puede ayudar a identificar niveles subletales de embriotoxicidad sin efecto aparente sobre la BFR. Sin embargo, esta técnica requiere de mucho tiempo y carece de un algoritmo estandarizado, lo que puede derivar en variabilidades de resultados entre operadores en función de su experiencia.

OBJETIVO

Evaluar la consistencia y rigor de un nuevo algoritmo desarrollado mediante inteligencia artificial (IA) para el contaje de células en blastocistos resultantes de MEA y comparar sus resultados respecto a un algoritmo interno semimanual.

MATERIAL Y MÉTODO

Se fijaron y tiñeron con Hoechst 63 blastocistos de ratón, que se fotografiaron bajo el microscopio de epifluorescencia y se dividieron aleatoriamente en 3 experimentos de 21 embriones (número de embriones habitualmente usados en un MEA). Las células de cada blastocisto se contaron semimanualmente con la ayuda de un aplicativo interno basado en el programa informático de tratamiento de imágenes Image J, así como con el algoritmo creado por IA.

Los blastocistos asignados al experimento 1 fueron contados con ambos algoritmos por seis embriólogos experimentados y tres miembros del personal no experimentados (ngrupo=567)

para determinar la consistencia y robustez de cada sistema según el operador, mientras que los experimentos 2 y 3 fueron contados por tres expertos y dos no expertos cada uno (ngrupo=315). El número total de células por embrión, y la media y la desviación estándar de cada experimento se compararon entre embriólogos y algoritmos mediante t-test y análisis de varianza (ANOVA). Además, en los experimentos 2 y 3 se calculó el tiempo necesario para completar cada experimento.

RESULTADOS

En el experimento 1, la media de células obtenidas tras el procesamiento con el algoritmo interno fue de 146,4 (SD±49,6) en el grupo de expertos y de 160,6 (SD±59,6) en el grupo de no expertos, con una diferencia absoluta de 14,2 células de media entre ellos, observándose diferencias significativas entre grupos (p=0,0377). Sin embargo, al comparar las medias obtenidas con el algoritmo basado en IA, los resultados fueron mucho más similares entre embriólogos, con 142,2 (SD±48,1) células de media en el grupo de expertos y de 150,3 (SD±52,7) en el grupo de no expertos. Con el nuevo algoritmo no se detectaron diferencias estadísticas (p=0,9293) entre los grupos según la experiencia, y la diferencia absoluta se redujo a una media de 8,2 células.

En los experimentos 2 y 3, también se observó una tendencia a reducir la variabilidad interpersonal en el recuento celular cuando se aplicó el algoritmo basado en IA, pero sin ser significativa. Asimismo, se observó una reducción del tiempo necesario para completar cada experimento: en el experimento 2 una reducción del 17% en el grupo de expertos y del 35% en el grupo de no expertos, mientras que en el experimento 3, esta reducción fue del 21% y del 30%, respectivamente.

CONCLUSIONES

Con el nuevo algoritmo desarrollado mediante IA se muestra una tendencia a reducir la variabilidad en la cuantificación celular entre embriólogos, lo que sugiere que podría ser una estrategia para estandarizar metodologías. No obstante, debería aumentarse el tamaño de la muestra para mejorar la detección automática, ya que varios factores podrían afectar a la apariencia de los núcleos celulares y provocar un mayor error del algoritmo.

CO-042

CUANDO LA OPINIÓN DEL EMBRIÓLOGO Y UN MODELO BASADO EN INTELIGENCIA ARTIFICIAL DIFIEREN: ¿CÓMO TOMAR UNA DECISIÓN ADECUADA?

Marco Toschi[1], L Bori Arnal[2], F Meseguer Estornell[3], T Viloria Samochin[3], A Pellicer Martínez[1], M Meseguer Escrivá[3]

[1]IVIRMA Global Roma - Roma (Lazio), [2]IVIRMA Global - Valencia (Valencia), [3]IVIRMA Global - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN

Los sistemas automatizados ya se utilizan en el laboratorio de fecundación *in vitro* (FIV), por ejemplo, con el testigo electrónico y la evaluación y selección de embriones. Sin embargo, confiar en estos sistemas no es fácil para los profesionales, ya que deben garantizar que los tratamientos no se vean comprometidos.

OBJETIVO

Nuestro objetivo fue analizar la concordancia y discordancia entre embriólogos sénior y la puntuación automática asignada por varios modelos de inteligencia artificial (IA) para cada cohorte de embriones.

MATERIAL Y MÉTODO

Se analizaron un total de 7.742 transferencias de embriones de 4.510 pacientes que se sometieron a tratamientos de FIV en un único centro. Los embriones se cultivaron en sistemas de lapso de tiempo EmbryoScope® (Vitrolife, Dinamarca) y fueron evaluados rutinariamente por embriólogos sénior según los criterios morfológicos ASEBIR. La selección de embriones fue realizada por los embriólogos y los embriones fueron puntuados retrospectivamente con modelos de IA de 1 a 9,9 (KIDScore D5 v3, iDAScore v1 e iDAScore v2). A continuación, se realizó un análisis de cohortes sobre la concordancia entre el embrión seleccionado por el embriólogo y el embrión seleccionado por cada modelo de IA. Por último, se calculó el riesgo relativo (RR o incidencia de implantación) para todos los modelos.

RESULTADOS

Los embriones seleccionados por los embriólogos sénior para la transferencia de un único blastocisto en el ciclo en fresco coincidieron con el embrión mejor puntuado el 74,96% de las veces para KIDScore D5 v3 (n=2.133), el 67,14% para iDAScore v1 (n=2.170) y el 63,79% para iDAScore v2 (n=2.168). En general, teniendo en cuenta todas las transferencias (embriones frescos y desvitrificados) con resultado clínico conocido, la tasa de implantación fue mayor cuando el embrión transferido coincidía con el embrión de puntuación más alta: 58,22% coincidentes frente a 49,33% no coincidentes para KIDScore D5 v3 (n=7.440)*; 56,38% coincidentes frente a 50,42% no coincidentes para iDAScore v1 (n=7.458)*; y 57,36% coincidentes frente a 49,98% no coincidentes para iDAScore v2 (n=7.449)*. El RR mostró que cada paciente tenía 1,18, 1,12 y 1,14 veces más probabilidades de quedarse embarazada si el embrión transferido coincidía con el embrión con la puntuación más alta asignada por KIDScore D5 v3, iDAScore v1 e iDAScore v2 respectivamente. *p<0,001

CONCLUSIONES

En la mayoría de los casos, el primer embrión seleccionado por los embriólogos para la transferencia coincidió con el embrión con mejor puntuación automática, lo cual debería reconfortar a los profesionales de la reproducción asistida y a los pacientes. Además, nuestros resultados mostraron que la tasa de implantación era menor cuando no se transfería el embrión mejor puntuado, pudiendo promover el uso de modelos basados en IA sin riesgo clínico.

COMUNICACIONES PÓSTERS

P-001

TASA ACUMULATIVA DE NACIDO VIVO EN ESPAÑA EN CICLOS DE FIV/CSI CON OVOCITOS PROPIOS: ANÁLISIS DE 516.776 CICLOS DESDE 2009 A 2020

Rocío Núñez Calonge[1], JA Guijarro Ponce[2]
[1]Grupo UR Internacional - Madrid (Madrid), [2]Zaida Espacio de Salud - Cuenca (Cuenca)

INTRODUCCIÓN

El éxito de un tratamiento de fecundación *in vitro* (FIV) se informa generalmente como tasa de nacido vivo por ciclo iniciado o transferencia embrionaria. Sin embargo, no solo se deben tener en cuenta los resultados asociados a transferencias de embriones en fresco, sino también las resultantes de los embriones criopreservados sobrantes. Por ello, se ha propuesto la tasa acumulada de nacidos vivos, que incorpora tanto las transferencias en fresco como las de congelados, como una forma adecuada de resultado. Sin embargo, la mayoría de los registros nacionales no informan de las tasas acumuladas, probablemente debido a la dificultad sobre su cálculo.

OBJETIVO

El objetivo de este estudio es proponer una fórmula para calcular la tasa acumulada de nacido vivo en los ciclos de FIV con ovocitos propios de los últimos once años.

MATERIAL Y MÉTODO

Se han incluido todas las punciones ovocitarias realizadas en España desde 2009 a 2020 (n=680.171 embriones obtenidos de 516.776 ciclos de estimulación ovárica comenzadas) obtenidos del Registro Nacional de Reproducción Asistida de la SEF e incluyendo solamente gametos propios. Se han excluido los ciclos de PGT.

Para el cálculo de la tasa acumulada se recoge la tasa de embarazos potenciales, en el que se incluyen todos los embarazos susceptibles de conseguirse con la utilización de todos los embriones obtenidos tras cada ciclo iniciado, incluyendo segundos y aun terceros hijos.

RESULTADOS

La tasa de parto por transferencia en fresco se mantiene estable en torno a un 24% durante todo el periodo analizado. Sin embargo, la tasa de parto tras transferencia en fresco por ciclo iniciado, estable en un 17% hasta 2013, presenta un marcado descenso desde ese año a un ritmo de un 1% anual. En este mismo periodo existe un progresivo aumento del porcentaje de ciclos con embriones criopreservados (de un 29% a un 48%), de la cantidad de embriones criopreservados (de 0,9 a 1,6 embriones por ciclo iniciado) y un constante descenso desde 2013 del número de embriones en cada criotransferencia (de 2,39 a 1,42 embriones), que conjuntamente suponen una mayor disponibilidad de ciclos de criotransfer por ciclo de estimulación iniciado. Igualmente se registra un constante y marcado aumento desde 2011 de la tasa de embarazos por transferencia de embrión descongelado, de un 13% a un 28% y un incremento de la tasa de partos tras criotransfer por ciclo iniciado de un 4% a un 24%.

Ello supone un progresivo aumento del protagonismo de las transferencias de embriones criopreservados en el total de embarazos conseguidos por ciclo iniciado, de tal modo que han pasado de proporcionar un 19% de los embarazos a suponer hasta un 70% en 2020.

CONCLUSIONES

A pesar de la disminución de la tasa de parto por ciclo iniciado desde 2014, el aumento y la efectividad de los ciclos de criotransferencia ha provocado un aumento constante en la tasa acumulada de nacido vivo del 1,7% anual desde 2012, pasando del 22% al 35% de partos por ciclo iniciado.

Dado que en los registros agrupados de carácter multicéntrico las tasas acumuladas de gestación y/o parto por ciclo de

estimulación deben ser necesariamente estimativas, no existe hoy un consenso sobre el algoritmo a usar para su cálculo. Aunque la fórmula utilizada por nosotros es más compleja y, creemos, más exacta que la propuesta por la ESRHE, los resultados con el uso de ambas son similares.

P-002

SIMPLIFICACIÓN DE LA SELECCIÓN ESPERMÁTICA PARA ICSI MEDIANTE MICROFLUIDOS *IN SITU* DE PAREDES FLUIDAS: RESULTADOS DE UN ESTUDIO PILOTO PROSPECTIVO DE NO INFERIORIDAD EN OVOCITOS DE UNA MISMA COHORTE

Minerva Ferrer Buitrago, E Ferrer Robles, V Antequera Durán, P Muñoz Soriano, N Galiana Artés, B Gómez Giménez, JJ Bataller Sánchez, A Barberá Alberola, C Calatayud Lliso, M Ruiz Jorro
CREA Medicina de la Reproducción
Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN

La microfluídica es una técnica innovadora cada vez más utilizada para selección espermática para ICSI. En la actualidad existen numerosos dispositivos comerciales que están demostrando su funcionalidad. No obstante, son económicamente costosos y no pueden utilizarse para preparar muestras con dispermia severa. En respuesta a esta limitación, nuestro grupo diseñó recientemente un nuevo protocolo de selección espermática basado en microfluidos *in situ* de paredes fluidas. Este nuevo sistema permite simplificar el procedimiento de preparación del semen para ICSI, utilizando la misma placa de microinyección y prescindiendo de centrifugación, lavados y material fungible adicional. El estudio de prueba de concepto mostró que el diseño es eficiente para seleccionar al menos 20 espermatozoides con movilidad progresiva en menos de 15 minutos en una microgota limpia y libre de plasma seminal.

OBJETIVO

El objetivo del presente trabajo fue comparar los resultados de fecundación y desarrollo hasta blastocisto en una misma cohorte de ovocitos tras el uso de dos técnicas de selección espermática: microfluidos *in situ* (isM) y centrifugación por gradientes de densidad (CGD).

MATERIAL Y MÉTODO

El presente estudio piloto incluye 311 MII, distribuidos en una ratio 1:1 entre el grupo de estudio (isM; n=155) y control (CGD; n=156). El poder estadístico se estableció en 80% en un IC 95%. El margen de no inferioridad (Δ) se calculó a partir de la desviación típica de nuestros propios resultados para los siguientes indicadores: tasa de fecundación normal tras ICSI (%2PN; Δ7%) y la tasa de blastocistos útiles en día 5/6 por cigoto (%BUD5/6; Δ10%). Esto significa que las diferencias de resultados entre el grupo control (CGD) y el grupo de estudio (isM) no deberían ser mayores del 7% para la fecundación, y del 10% para la tasa de blastocistos útiles. Además, se compararon los resultados de: tasa de BUD5/6 por MII y el % de bloqueo embrionario. Todos los participantes firmaron un consentimiento informado. El análisis se realizó en 33 ciclos consecutivos de ICSI, en ovocitos frescos de pacientes con un número total de ovocitos MII ≥6 (edad media= 35,6±3,4 años). Todas las muestras de semen tenían un recuento total de espermatozoides móviles progresivos ≥1×106. Para el estudio, las muestras se separaron en tres alícuotas:1) análisis seminal completo (100 µl), 2) isM-ICSI (10 µl), 3) CGD-ICSI (resto del eyaculado). Los embriones se cultivaron en incubadores benchtop *Time-lapse*, en medio de cultivo único GTL a 6,4% de CO2 y en condiciones de hipoxia.

RESULTADOS

Los parámetros seminales de las muestras utilizadas fueron: concentración (44,75±31,18×106/ml), movilidad total (52,78±17,03 %) y concentración de espermatozoides móviles progresivos (30,61±29,08×106/ml). La media de MII por paciente fue 9,72. El %2PN fue: 74,84 % (isM) *vs.* 75,64 % (CGD). La tasa BUD5/6 por cigoto fue de 52,59% (isM) *vs.* 49,15% (CGD). Ambos resultados se sitúan dentro de los límites de no inferioridad y no muestran diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo control. También observamos la tasa de BUD5/6 por MII: 39,35% (isM) *vs.* 37,18 % (CGD) y el porcentaje de bloqueo embrionario (hasta día 6): 31,03% (isM) *vs.* 32,2% (CGD). Estos resultados no muestran diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo control.

CONCLUSIONES

El protocolo isM simplifica la selección espermática para ICSI y reduce costes y riesgos a lo largo del procedimiento, ofreciendo resultados comparables a los obtenidos por CGD en pacientes no seleccionados por patología específica. No obstante, este trabajo presenta algunas limitaciones. Es un estudio piloto realizado con un número limitado de ovocitos. Además, el protocolo isM actual requiere una preparación manual, y aunque el uso de plantillas puede reducir la variabilidad intra-operador, disponer de un modelo prediseñado podría beneficiar la operabilidad. Son necesarios estudios prospectivos para valorar tasas de embarazo y de niño nacido, especialmente en pacientes que pudieran beneficiarse de esta metodología (i. e. Fragmentación de ADN aumentada).

P-003

ESTUDIO DE LAS VARIACIONES DE LOS PARÁMETROS SEMINALES DE VARONES EN 11 LOCALIZACIONES GEOGRÁFICAS EN ESPAÑA

Rocío Núñez Calonge[1], JA Guijarro Ponce[2], P Alberola Cerdán[3], M Poveda García[4], A Mora Carrillo[5], N Santamaría Mollá[6], M Masip Descals[7], S Sánchez Macho[8], S Alonso de Mena[9], T Rubio Asensio[10]

[1]Grupo Internacional UR - Madrid (Madrid), [2]Zaida Espacio de Salud - Cuenca (Cuenca), [3]UR Moncloa - Madrid (Madrid), [4]UR Vistahermosa - Alicante (Alicante), [5]UR Puerta del Sur - Jerez de la Frontera (Cádiz), [6]UR Mediterráneo - Almería (Almería), [7]IMED - Valencia (Valencia), [8]UR Montpellier - Zaragoza (Zaragoza), [9]UR El Ángel - Málaga (Málaga), [10]UR Virgen de la Vega - Murcia (Murcia)

INTRODUCCIÓN

Diversos estudios han demostrado diferencias geográficas en la calidad de semen. Sin embargo, la mayoría de los trabajos estudian únicamente una población de varones jóvenes, en un número limitado de localizaciones y con el posible sesgo de las diferencias entre laboratorios.

OBJETIVO

El objetivo de este estudio fue determinar si existen variaciones en los parámetros seminales de varones en estudio de esterilidad en 11 localizaciones geográficas distintas de España.

MATERIAL Y MÉTODO

El estudio se ha realizado en 11 unidades de reproducción asistida pertenecientes al mismo grupo, localizadas en: Alicante, Madrid, Lérida, Almería, Málaga, Valencia, Zaragoza, Murcia, Granada, Cádiz y Asturias.

Se analizaron un total de 872 muestras de semen de varones que acudieron a realizar un análisis de semen para estudio de fertilidad que incluía: volumen, concentración espermática y movilidad total y activa. El análisis de todos los parámetros fue estandarizado siguiendo el mismo protocolo y según recomendaciones de la OMS. Todos los varo-

nes tenían en el momento del análisis una abstinencia entre 2 y 5 días.

La media de edad de los pacientes fue de 38 años (SD:6,14). No existieron diferencias significativas respecto a la edad entre los diferentes centros (ANOVA p>0,05).

Se utilizó el volumen, concentración espermática, movilidad (total y activa) y el número total de espermatozoides móviles (TEM): volumen x concentración de espermatozoides x porcentaje de movilidad, para compararlo entre grupos.

Se realizaron análisis de varianzas (ANOVA) para la comparación entre centros de las medias de los valores de cada parámetro y el test Chi cuadrado para comparar el porcentaje de diagnósticos anómalos o patológicos según los parámetros de la OMS.

RESULTADOS

Se han hallado diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes centros respecto al volumen, la concentración espermática, la movilidad total y el TEM, (p: 0,020 0,004 0,000 y 0,008 respectivamente) así como la mayor movilidad se encontró en los varones de Asturias, con diferencias estadísticamente significativas respecto al resto. Los varones de Asturias presentaron los mejores datos en todos los parámetros analizados.

El TEM fue significativamente mayor en Asturias, seguido por Lérida, Almería y Málaga, siendo el menor en los varones de Granada seguido por Alicante y Madrid.

CONCLUSIONES

En conclusión, este estudio ha revelado diferencias significativas en la calidad de semen de varones de distintas comunidades españolas. Dado que la determinación de los distintos parámetros se ha realizado con la misma metodología, las diferencias no pueden deberse a las variaciones entre laboratorios. El trabajo tiene algunas limitaciones: faltan datos sobre el estilo de vida, con énfasis en el tabaquismo, el consumo de alcohol y el índice de masa corporal, que podrían estar contribuyendo a algunas de las diferencias observadas. Sin embargo, es el primer estudio que se realiza teniendo en cuenta la mayoría de las regiones geográficas españolas, utilizando la misma metodología.

Aunque es difícil conocer las causas de tales diferencias, una explicación podría ser el estilo de vida u otros factores ambientales. No obstante, queda por ver si tales cambios pueden explicar estas diferencias.

TABLAS

Tabla I. Diferencias del volumen de eyaculado en función de las distintas localizaciones geográficas.

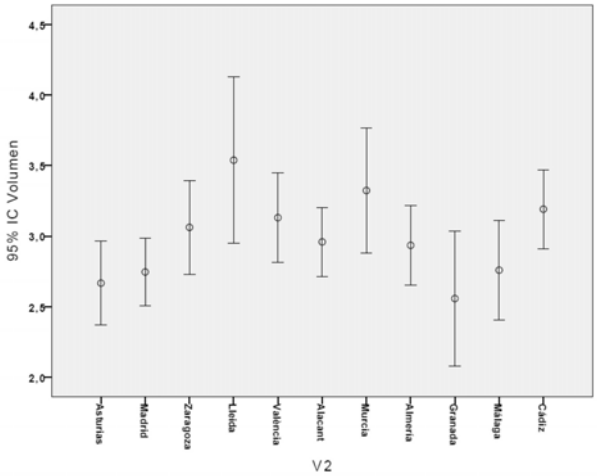
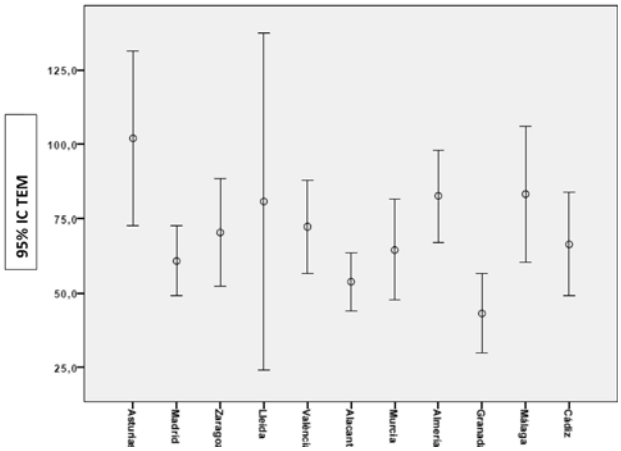


Tabla II. Diferencias en el número total de espermatozoides móviles (TEM) en función de las distintas localizaciones geográficas.



P-004

REPORTING CHROMOSOMAL MOSAICISM REDUCES THE DIAGNOSTIC ACCURACY OF PREIMPLANTATION GENETIC TESTING: RESULTS FROM THE EXTENDED *IN VITRO* CULTURE OF 230 HUMAN EMBRYOS

Mina Popovic[1], F Azpiroz[1], A Pujol Masana[2], B Lledó[3], JM Franco Iriarte[4], R Aurell[5], A Urries[6], C Fernández[7], A Rodríguez Aranda[1], R Vassena[8]

[1]EUGIN Group - Barcelona (Barcelona), [2]CIRH - Eugin Group - Barcelona (Barcelona), [3]Instituto Bernabéu - Alicante (Alicante), [4]Unidad de la Mujer, Hospital Ruber Internacional - Madrid (Madrid), [5]Unidad Reproducción Asistida, Hospital Quirónsalud Barcelona - Barcelona (Barcelona), [6]Unidad Reproducción Asistida, Hospital Quirónsalud Zaragoza - Zaragoza (Aragón), [7]Cegyr - Medicina y Genética Reproductiva - Eugin Group - Buenos Aires (Argentina), [8]Fecundis Lab – Barcelona (Barcelona)

INTRODUCTION

Preimplantation genetic testing for aneuploidies (PGT-A) aims to improve clinical outcomes. However, diagnostic accuracy remains a concern, particularly when interpreting intermediate copy number values. Such profiles suggest embryo mosaicism and have emerged as a third category of possible PGT-A outcomes. In such cases, the inability to distinguish biological variability from technical artefacts inevitably confounds accurate reporting. Coupled to the uncomfortable uncertainty regarding the risks surrounding embryo mosaicism, the lack of standardization amongst PGT-A providers in interpreting and reporting mosaic diagnoses further complicates clinical management. Collectively, these challenges continue to substantiate reservations regarding the clinical predictive value of diagnosing mosaicism. The impact of chromosomal mosaicism has primarily been evaluated in a clinical context. Utilizing a more fundamental approach remains of utmost importance for facilitating clinical management.

OBJECTIVE

We aimed to evaluate the accuracy of PGT-A by using a novel platform for culturing embryos up to 12 days post fertilization (D12). Our platform provides a unique opportunity for assessing chromosomal (in)stability during human peri-implantation development.

MATERIAL AND METHOD

A total of 230 clinically unsuitable PGT blastocysts were included in the study. Embryos were selected based on their original diagnosis, as either uniformly abnormal (n=158), aneuploid and mosaic (n=21), mosaic only (n=36) or euploid (n=15) but carrying a homozygous monogenic disease mutation. Embryos were classified as mosaic if the biopsy indicated 30-70% abnormal cells (with <50% abnormal cells classified as low level and >50% abnormal cells as high-level mosaicism). The VeriSeq platform (Illumina) was used for PGT-A. Vitrified blastocysts were warmed and cultured to D12 using improved protocols to generate embryo outgrowths. Following culture, 39 outgrowths were immunostained for lineage markers, including OCT4 for epiblast, GATA6 for primitive endoderm and CK7 for trophoblast. Additionally, 90 outgrowths were collected for next generation sequencing. For the latter, outgrowths were collected either whole (n=64) or separated into 2-4 portions (n=26). We correlated original PGT-A results to both developmental outcomes and outgrowth profiles. Fisher's Exact test (two-sided) and Mann Whitney test was used for statistical analysis. A p-value

RESULTED

Following culture, 49.1% (113/230) of the embryos attached and formed viable outgrowths, while 50.9% (117/230) degenerated and detached. Euploid blastocysts and embryos with trisomies, duplications or mosaicism were more likely to be viable at D12, while embryos with monosomies, deletions and complex profiles degenerated more readily (78.3% *vs.* 24.8% viable, p<0.0001). Interestingly, euploid and mosaic embryos shared similar phenotypes and formed larger outgrowths compared to viable monosomic and trisomic embryos (p=0.01). Monosomies exerted the most profound effects on development. Compared to euploid and trisomic embryos, monosomic embryos contained fewer epiblast (p=0.001) and hypoblast-like (p=0.002) cells.

When comparing D12 profiles to original diagnoses, we established 100% concordance for euploidy and uniform whole chromosome aneuploidies. Of the blastocysts diagnosed as mosaic only, 80.6% (29/36) remained viable and were sequenced either whole (n=11) or in parts (n=18). At D12, 69.0% (20/29) of these embryos were euploid, while 27.6% (8/29) were uniformly aneuploid across all outgrowth samples. Notably, the latter were all originally diagnosed as high-level mosaic. One embryo (3.4%) had a true mosaic configuration, with evidence of a reciprocal event across different outgrowth samples. Ultimately, 22.9% (8/35) of embryos were accurately diagnosed as euploid.

CONCLUSIONS

We verify the high sensitivity of PGT-A (100%). However, specificity remains a concern. False positives (77.1%, 27/35) involved diagnoses of mosaicism (85.2%, 23/27) or segmental aberrations (14.8%, 4/27) and reduced overall accuracy to 70.0%. We still lack the genetic tools to definitively assess mosaicism. Given the high false positive rate, we see no clinical benefit of reporting <50% mosaicism, as potentially viable embryos continue to be excluded for transfer.

P-005

COMPARACIÓN ENTRE EL NUEVO SISTEMA DE VALORACIÓN DE BLASTOCISTOS PROPUESTO POR EL GIE ASEBIR 2021 Y EL SISTEMA GARDNER: TIPOS DE CAMBIO Y DECISIÓN CLÍNICA

María José Zamora Berlanga[1], M Castany[1], A Vives[1], M Torra-Massana[1], M Regincós[1], I Miguel-Escalada[1], M Popovic[2]
[1]Clínica Eugin - Barcelona (Barcelona), [2]Eugin Group - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

La transferencia de un único blastocisto se ha convertido en la práctica de elección en los laboratorios de FIV por estar asociada con una mayor tasa de implantación y la disminución de la tasa de embarazo múltiple y complicaciones asociadas. El sistema de Gardner y Schoolcraft es el sistema de valoración de blastocistos más conocido y utilizado, sin embargo, existe una falta de consenso sobre cómo valorar la morfología embrionaria, lo que genera variabilidad dentro de un mismo laboratorio y entre laboratorios. En 2021, el Grupo de Interés de Embriología (GIE) de ASEBIR, propuso un sistema objetivo de clasificación de blastocistos que incluye la medición de diferentes parámetros de la masa celular interna (MCI), trofectodermo (TE) y grado de expansión (GE).

OBJETIVO

El objetivo de este estudio es comparar el sistema propuesto por el GIE con el sistema de Gardner y evaluar cómo afectarían las variaciones de clasificación a la toma de decisiones.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo que incluyó una cohorte de 754 embriones en estadio de blastocisto en D+5, proveniente de 377 pacientes que realizaron un primer ciclo de ICSI en una única clínica de reproducción entre enero y diciembre 2021. Los embriones, previamente clasificados con escala Gardner, fueron reevaluados a las 116 hpi siguiendo los criterios propuestos por GIE, incluyendo: la medida del diámetro del blastocisto para evaluar el grado de expansión (GE), la medida del área de la masa celular interna (MCI), y el contaje del número de células del trofectodermo (TE) en el plano ecuatorial. Se emplearon tests univariados para el análisis y un p-valor <0.05 se consideró significativo.

RESULTADOS

En relación a la MCI, 230/754 (30,5%) de embriones modificaron su clasificación. En la cohorte evaluada mediante Gardner, 48,4% de blastocistos eran grado A, el 41,4% grado B y el 10,2 % eran grado C. Siguiendo el criterio ASEBIR 2021, el 44%

eran grado A, el 41,2% grado B y el 14,7% grado C. Para la MCI la mayoría de blastocistos, mantenían la categoría (p>0,05).

En relación al TE, 414/754 (54,9%) de embriones modificaron su clasificación. Un 32,7% eran de grado A, el 49,7% eran grado B y el 17,5% grado C (Gardner). Tras ser reclasificados según ASEBIR 2021, el 14,8% fueron de grado A, el 33,5% grado B y el 51,6% grado C, siendo estas diferencias estadísticamente significativas (p<0,001).

En relación al GE, según Gardner, el 13,5% de blastocistos eran grado 3, el 54,1% grado 4, el 31,9% grado 5 y el 0,4% grado 6. Según ASEBIR 2021, el 52,9% resultaron en grado 3, el 14,7% grado 4, el 31,9% grado 5 y 0,4% grado 6. La aplicación del nuevo criterio incrementó de manera significativa la proporción de embriones grado 3, disminuyendo los de grado 4 (p<0,001).

Al analizar cohortes de ciclos con transferencia en fresco de un blastocisto, observamos que, en la mayoría de casos, la decisión del blastocisto elegido según Gardner (el de mayor calidad) se mantuvo cuando se consideró el nuevo criterio del GIE (63/65, 96,9%).

CONCLUSIONES

La principal limitación de este estudio reside en su carácter retrospectivo y en el número limitado de embriones que fueron transferidos. La reevaluación de una cohorte de blastocistos con un nuevo sistema de clasificación más objetivo basado en mediciones paramétricas resultó en cambios de clasificación significativos (incremento en el porcentaje de blastocistos con TE B y C, y reducción de GE 4), cambios que sin embargo no afectaron la decisión clínica. Esto sugiere que ambos métodos de clasificación embrionaria son útiles en la práctica clínica, siendo un método más objetivo, como el del GIE, apropiado para reducir la variabilidad inter-operador.

P-006

¿ES POSIBLE IDENTIFICAR EMBRIONES ANEUPLOIDES A LAS 48 HORAS DE LA INSEMINACIÓN?

Carla Giménez Rodríguez[1], L Bori Arnal[1], R Maor[2], C Curchoe[2], DS Seidman[2], D Gilboa[2], M Meseguer Escrivá[3]
[1]Fundación IVI, IIS La Fe - Valencia (Valencia), [2]AIVF - Tel Aviv (Israel), [3]IVIRMA Valencia - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN

Características invisibles para el ojo humano pueden identificarse mediante visión computacional permitiendo una discriminación muy temprana de embriones euploides y aneuploides. De este modo, los modelos de *machine learning* pueden mejorar la capacidad de las clínicas para priorizar los embriones candidatos a biopsia y test genético preimplantacional (PGT-A), proporcionando así una herramienta de selección no invasiva.

OBJETIVO

Identificar marcadores tempranos de aneuploidía que puedan detectarse mediante visión computacional e inteligencia artificial (IA) para predecir la ploidía embrionaria.

MATERIAL Y MÉTODO

En este estudio unicéntrico se utilizó un conjunto de datos retrospectivos consistente en imágenes *time-lapse* de 555 embriones con un estado cromosómico conocido (394 blastocistos aneuploides y 261 euploides). Se utilizaron imágenes obtenidas por Embryoscope (Vitrolife, Dinamarca) para me-

dir tres características morfológicas y se construyeron varios modelos matemáticos para comparar las características entre blastocistos euploides y aneuploides con visión computacional y *machine learning*. En primer lugar, medimos la diferencia media en los valores de la escala de grises (claridad frente a oscuridad) entre fotogramas consecutivos como estimación de la actividad embrionaria. En segundo lugar, medimos los cambios en la longitud del perímetro embrionario entre fotogramas consecutivos como estimación del mantenimiento del perímetro. Por último, tomamos las medidas del área total en una única sección transversal del embrión entre dos fotogramas (inseminación y 48 horas después de la inseminación) como estimación del crecimiento.

RESULTADOS

De los posibles valores de la escala de grises (0-255) entre fotogramas consecutivos, los embriones euploides y aneuploides mostraron una variación media similar: 2,26±0,86 frente a 2,42±1,57, respectivamente. Sin embargo, el cálculo detallado de la desviación estándar (DE) mostró que 36 embriones aneuploides tenían una DE >4; mientras que ningún embrión tenía tal desviación en el grupo euploide. Así pues, se pudo evitar la biopsia embrionaria en el 9,1% de los embriones aneuploides en las primeras 24 horas de desarrollo, sin rechazar ningún embrión euploide.

La diferencia media entre fotogramas consecutivos para la longitud del perímetro fue la misma para los embriones euploides (1,42±0,99 µm) y aneuploides (1,42±1,08 µm). Sin embargo, hubo 20 embriones aneuploides con una variación superior a 3,4 µm; mientras que sólo 5 embriones mostraron tal variación en el grupo euploide. De este modo, un umbral fijado en 3,4 µm (36 horas después de la inseminación) podría evitar la biopsia del 5,1% de los embriones aneuploides.

En cuanto al área visible de la sección transversal, los embriones euploides y aneuploides no mostraron una diferencia significativa, con una media de 317±21 µm2 frente a 306±24 µm2, respectivamente. De los embriones aneuploides se encontraron 44 con un área de sección transversal inferior a 275 µm2; mientras que sólo 11 embriones euploides no superaron ese tamaño. Es decir, sería posible evitar la biopsia de un 11,2% de embriones aneuploides con un umbral de 275 µm2 a las 48 horas de la inseminación.

CONCLUSIONES

El análisis por visión computacional es capaz de detectar con gran precisión características invisibles para el ojo humano asociadas con la ploidía embrionaria. De este modo, mediante este estudio demostramos que un modelo de *machine learning* basado en estas características morfológicas puede discriminar una proporción sustancial de blastocistos aptos para la biopsia embrionaria.

P-007

OPTIMIZACIÓN DEL NÚMERO DE EMBRIONES A TRANSFERIR EN BASE A LA PROBABILIDAD DE EMBARAZO GEMELAR SEGÚN LA CALIDAD EMBRIONARIA

José Luis Gámez Prieto, M Lierta Sancho, A Urries López
Quirónsalud Zaragoza
Zaragoza (Zaragoza)

INTRODUCCIÓN

Según el último registro SEF, hemos conseguido bajar por primera vez, en las últimas dos décadas, del 10% en cuanto a tasa de embarazo gemelar, siendo un 9,4% en 2020. Esto ha sido posible gracias a las mejoras continuas que hemos sufrido en nuestros laboratorios para poder seleccionar mejores embriones (optimización de la clasificación embrionaria mediante morfocinética, cultivo largo y transferencia de blastocistos, etc.) y optar cada vez más por la transferencia de un único embrión.

Pese a ello, hoy en día, los pacientes que no tienen embriones de máxima calidad, es difícil que acepten la recomendación de transferencia de un único embrión.

Por ello es imprescindible poder tener la mayor información posible en nuestras consultas de reproducción para asesorar sobre la mejor estrategia a seguir.

OBJETIVO

Nuestro objetivo será optimizar la personalización del número de embriones a transferir por transferencia para seguir reduciendo la tasa de embarazo gemelar.

MATERIAL Y MÉTODO

En base a nuestro propio algoritmo de clasificación que combina la clasificación ASEBIR y morfocinética (presentado en el congreso ASEBIR 2019), obtenemos 6 categorías de embriones que clasificamos como embriones de alto (categorías 1 y 2), medio (categorías 3 y 4) y bajo poder de implantación (categorías 5 y 6).

Realizamos un estudio prospectivo desde junio de 2020 hasta febrero de 2023 en el que incluimos 416 transferencias de embrión único para validar y reajustar las tasas de implantación de las distintas categorías del citado algoritmo. Además, añadimos un desglose por edades de los resultados (<35, 35-37, 38-39 y >39 años).

Realizamos un estudio de cálculo de probabilidades de dos sucesos independientes para estimar la tasa de embarazo gemelar teórico tras la transferencia de cualquier combinación de 2 embriones.

Creamos una tabla de decisión para la recomendación del número de embriones máximo a transferir según sean la probabilidad de embarazo gemelar para cada grupo de edad. Recomendaremos transferir un único embrión en todas las combinaciones que superen el 9,4% de probabilidad de embarazo gemelar.

RESULTADOS

Tras la recopilación de los datos obtenidos, actualizamos las tasas de implantación para cada categoría embrionaria (ver tabla I adjunta).

Con la excepción de las pacientes mayores de 39 años, tras hacer el cálculo de probabilidades para la transferencia de dos embriones de alto o medio potencial de implantación, observamos que las tasas de embarazo gemelar para la transferencia de dos embriones se encuentran muy por encima del punto de corte de 9,4% que nos hemos marcado (ver tabla II adjunta).

En pacientes de más de 39 años, solo se superaría el 9,4% de embarazo gemelar cuando se transfirieran dos embriones de alto poder de implantación (ver tabla II adjunta).

CONCLUSIONES

En base a nuestros resultados, deberíamos descartar siempre la transferencia de dos embriones de alto poder de implantación a todas nuestras pacientes por el alto riesgo de embarazo gemelar (25% global).

Igualmente deberíamos desaconsejar la transferencia doble cuando tengamos un embrión de alto poder de implantación y otro de categoría media, o dos de categoría media, excepto en pacientes mayores de 39 años.

En pacientes de más de 39 años que no consigan embriones de la máxima calidad, podremos ser más laxos a la hora de hacer transferencia doble ya que la probabilidad de embarazo gemelar es muy baja.

TABLAS

	Alto poder de implantación			Medio poder de implantación			Bajo poder de implantación		
Edad (años)	Embriones transferidos	Embriones implantados	Tasa implantación	Embriones transferidos	Embriones implantados	Tasa implantación	Embriones transferidos	Embriones implantados	Tasa implantación
<35	160	90	56,3 %	8	2	25 %	2	0	0 %
35-37	52	25	48,1 %	14	5	35,7 %	8	1	12,5 %
38-39	42	19	45,2 %	3	1	33,3 %	6	0	0 %
>39	86	36	41,9 %	20	1	5 %	15	0	0 %
Globales	340	170	50 %	45	9	20 %	31	1	3,2 %

Tabla I. Tasas de implantación de las distintas categorías embrionarias.

Edad (años)	Alto-Alto	Alto-Medio	Alto-Bajo	Medio-Medio	Medio-Bajo	Bajo-Bajo
<35	31,6 %*	14,1%*	0,0 %	6,3%*	0,0 %	0,0 %
35-37	23,1 %*	17,2%*	6,0 %	12,8%*	4,5 %	1,6 %
38-39	20,5 %*	15,1%*	0,0 %	11,1%*	0,0 %	0,0 %
>39	17,5 %*	2,1 %	0,0 %	0,3 %	0,0 %	0,0 %
Globales	25 %*	10,0%*	1,6 %	4,0 %	0,6 %	0,1 %

* Combinaciones en las que desaconséjanos la transferencia doble.

Tabla II. Probabilidad de embarazo gemelar con las distintas combinaciones de categorías embrionarias.

P-008

COMPARACIÓN DE LAS TASAS DE ÉXITO EN REPRODUCCIÓN ASISTIDA ENTRE DOS CLÍNICAS EMPLEANDO INTELIGENCIA ARTIFICIAL

Jorge Ten Morro[1], MC Tió Marquina[1], L Herrero Grassa[2], J Guerrero Villena[1], A Brualla[3], A Zepeda[4], A Linares Bernabéu[1], A Rodríguez Arnedo[1], A Bernabéu García[1], R Bernabéu Pérez[1]

[1]Instituto Bernabéu - Alicante (Alicante), [2]Instituto Bernabéu - Madrid (Madrid), [3]Fairtility - Barcelona (Barcelona), [4]Fairtility - Rotterdam (Rotterdam)

INTRODUCCIÓN

La FIV es una de las técnicas más utilizadas en la reproducción asistida y su éxito depende en gran medida del rendimiento clínico de la clínica de reproducción asistida. Los indicadores clave de rendimiento (KPI) son una herramienta útil para monitorear el rendimiento clínico en la FIV. Los KPI pueden incluir la tasa de fecundación, la tasa de implantación, la tasa de embarazo clínico, la tasa de nacidos vivos y la calidad de los embriones, entre otros. La evaluación y el análisis de los KPI pueden ayudar a identificar áreas de mejora y a desarrollar estrategias para mejorar el rendimiento clínico.

OBJETIVO

El objetivo del estudio fue comparar las tasas de éxito en la reproducción asistida entre dos clínicas de fertilidad y evaluar si había alguna diferencia significativa en los resultados extraídos y procesados de manera automática.

MATERIAL Y MÉTODO

Se recopilaron datos de 2.872 ciclos de tratamiento en la clínica 1 y 800 ciclos de tratamiento en la clínica 2. La edad media de los ovocitos fue 29,7 en ambos centros. Se compararon las tasas de ovocitos con 0 pronúcleos (PN), 1PN, 2PN y +3PN tras ICSI, la tasa de blastulación, la calidad de los blastocistos, la tasa de éxito en los tratamientos con donantes, la tasa de división de los ovocitos fecundados, y las tasas de embarazo bioquímico, embarazo clínico, nacidos vivos por transferencia embrionaria y aborto clínico. Para la automatización y evaluación de los KPI se utilizó la aplicación CHLOE de Fairtility acoplada a los incubadores *time-lapse* Geri.

RESULTADOS

No hubo diferencias significativas en las tasas de fecundación en 0PN, 1PN, 2PN y +3PN entre las dos clínicas. La tasa general de blastulación fue significativamente mayor en la clínica 2 (66,6%) comparada con la 1 (62%). La tasa de blastulación a las 116 horas de cultivo fue significativamente mayor en 2 (58,1%) que en 1 (52,4%). La calidad de los blastocistos también fue mejor en 2, ya que hubo una proporción significativamente mayor de embriones de buena y media calidad en comparación con los de la clínica 1. Las tasas de éxito en los tratamientos con donantes fueron significativamente mejores en 1 en comparación con 2, tanto para el uso de ovocitos de donante (60,6% *vs.* 55,5%) como para el uso de semen de donante (12,9% *vs.* 7,9%), respectivamente. Hubo una diferencia significativa en la tasa de división en día 2 de cultivo de embriones fecundados entre las dos clínicas, con una tasa significativamente mayor en la 2 (95%) que en la 1 (91,6%). La tasa de éxito en la clínica 2 fue significativamente menor que la 1 en lo que respecta a los nacimientos vivos por transferencia embrionaria (23,1% *vs.* 31,3%). No hubo diferencias significativas en las tasas de embarazo clínico por beta positiva. El promedio del EQ score de CHLOE, predictivo de implantación, en 2 fue de 4,39, y en 1 de 3,78.

CONCLUSIONES

Los resultados sugieren que ambas clínicas tienen un rendimiento similar en la fecundación *in vitro* y la transferencia embrionaria, pero podría haber diferencias sutiles en la calidad de los embriones y la tasa de nacidos vivos. Se requieren más estudios para investigar las causas subyacentes de estas diferencias, que podrían estar relacionadas con las diferencias demográficas y características de las pacientes de los dos

centros. La inteligencia artificial se podría utilizar para evaluar los KPI del consenso de Viena y detectar tempranamente no conformidades. El EQ score tiene el potencial de monitorizar el rendimiento operativo clínico y de laboratorio.

P-009

EDICIÓN GÉNICA EN ANDROGENOTAS HUMANOS MEDIANTE CRISPR-CAS9

María José Escribá Pérez[1], R Bautista Llàcer[2], N Grau Grau1, A Oller[2], L Escrich Albelda[1], X Vendrell Montón[2]
[1]IVIRMA Valencia - Valencia (Valencia), [2]Sistemas Genómicos - Synlab - Paterna (Valencia)

INTRODUCCIÓN

La aplicación de las técnicas de edición génica mediante la tecnología CRISPR-Cas9 en embriones humanos preimplantación centra parte del debate de la investigación traslacional en biomedicina reproductiva. La principal limitación está en los efectos no deseados sobre el genoma embrionario, como son: la generación de variantes patogénicas de novo, mosaicos/quimeras, efectos *off-target*, inducción de deleciones o fragmentación cromosómica. Uno de los principales paradigmas de investigación ha consistido en la aplicación de la técnica en embriones humanos ya constituidos, lo cual complica los mecanismos biológicos de reparación de los sitios diana, en la totalidad del embrión. La aplicación de las técnicas de edición génica en los momentos previos a la fusión de los genomas representa un escenario tremendamente prometedor, ya que provoca la escisión y edición génica antes de la singamia. La aplicación de estas técnicas en bioconstructos humanos uniparentales puede ser el modelo experimental adecuado para escrutar el rendimiento real de esta técnica.

OBJETIVO

Explorar la eficiencia en escisión y edición genómica de un sistema basado en CRISPR-Cas9 para corregir variantes patogénicas de origen espermático empleando el modelo androgenota humano.

MATERIAL Y MÉTODO

Se generaron bioconstructos androgenotas (AG) a partir de un paciente heterocigoto para la variante patogénica c.27dupG en el gen HBB responsable de la beta-talasemia y homocigoto para el polimorfismo c.9T>C en el mismo gen, con ovocitos MII previamente enucleados. En síntesis, la edición del genoma espermático se realizó coinyectando el espermatozoide con una mezcla de g-RNA oligodinucleótidos, una secuencia de ADN donante de cadena sencilla y CRISPR-Cas9 durante la ICSI. Tras 16-20 horas de cultivo, aquellos bioconstructos que presentaron el primer corpúsculo polar y una única estructura pronuclear fueron cultivados en tecnología *time-lapse*. Al tercer día, el número de células fue anotado. En una primera parte, 32 AG editados y 3 AG control fueron secuenciados para la identificación de las variantes del gen HBB. En una segunda fase, los AG editados y controles fueron íntegramente desagregados en sus células constituyentes (androcitos) para su análisis.

RESULTADOS

Tras analizar los AG control, el 47,0% (8/17) fueron portadores de la variante patogénica, mostrando todos el polimorfismo c.9T>C. Tras la coinyección del gRNA, sc-DNA y CRISPR-Cas9 con el espermatozoide, 3/32 AG mostraron c.27dupG (9,4%), no identificándose la variante patogénica en HBB en el 90,6% (29/32) de los AG experimentales, porcentaje significativamente superior a los controles (9/17; 52,9%). Tras la secuenciación los AG se agruparon en 4 grupos, de acuerdo el rendimiento de la edición: 1) alto rendimiento (≥75%): 25% (8/32);

2) moderado (50-74%): 15,6% (5/32); 3) bajo (25-49%): 12,5% (4/32) y 4) muy bajo/nulo (0-24%): 46,9% (15/32).

El estudio individualizado de androcitos editados mostró una elevada tasa de deleciones inespecíficas que afectan a la región diana (95,8%; 23/24) y un gran porcentaje de androcitos con roturas cromosómicas (62,5%; 15/24), incluyendo aneuploidías complejas y segmentales. Por su parte, el estudio de androcitos controles (no editados) mostró un 82% (23/28) de lecturas positivas para las posiciones estudiadas (c.27 y c.9).

CONCLUSIONES

La aplicación de las técnicas de edición génica mediante CRISPR-Cas9 en AG humanos muestra una clara desviación hacia el bajo rendimiento.

La escisión mediante Cas9 demuestra un claro efecto *on-target*, induciendo la doble rotura del ADN (DSB). No obstante, esta actividad endonucleasa afecta gravemente a regiones *off-target*. En androcitos únicos mostramos evidencias de efectos adversos sobre el número y la estructura cromosómica.

La edición/corrección mediante CRISPR es ineficiente. La ausencia de edición *on-target*, en androcitos individuales, puede deberse a: incompetencia del modelo AG haplohaploide para reparar DSB; limitada disponibilidad de gRNA, sc-DNA o; posibles *allele-dropouts*, dados por la limitante cantidad de ADN. Con ello, la tecnología de edición por CRISPR-Cas9 dista aún de su traslación clínica.

P-010

TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA EN HOMBRES TRANSGÉNERO Y MUJERES CISGÉNERO: ¿LA ADMINISTRACIÓN DE TESTOSTERONA ANTES DE LA ESTIMULACIÓN OVÁRICA TIENE UN IMPACTO EN LOS RESULTADOS EMBRIOLÓGICOS Y CLÍNICOS DE UN TRATAMIENTO DE FIV?

Mireia Florensa Bargallo, M Galdú Martínez, S González Juanmartí, A Ballesteros Boluda, M Esbert Algam
IVIRMA Barcelona
Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

El número de personas que se someten a terapia hormonal debido a la disforia de género ha ido en aumento en los últimos años, al igual que la población transgénero que necesita un tratamiento de fertilidad. Es necesario dilucidar si la terapia hormonal de afirmación de género (THAG) tiene un impacto en los resultados de un ciclo de FIV en hombres trans dispuestos a tener su propia descendencia biológica.

OBJETIVO

Este estudio tiene como objetivo evaluar si la THAG con administración de testosterona antes de una estimulación ovárica en hombres transgénero afecta el número y la madurez de los ovocitos recuperados, el desarrollo embrionario y los resultados clínicos de una FIV.

MATERIAL Y MÉTODO

Este es un estudio observacional retrospectivo que incluye 12 ciclos de FIV realizados tras una estimulación ovárica en nueve hombres transgénero que asistieron a nuestras clínicas desde enero de 2019 hasta marzo de 2023. En el momento de la estimulación, siete pacientes ya habían iniciado THAG (grupo de estudio), mientras que dos aún no habían iniciado el tratamiento con testosterona (grupo control).

En todos los casos se utilizó semen de donante para fecundar los ovocitos maduros y los embriones generados se transfirieron a las parejas cis correspondientes después de una preparación endometrial. Se calculó el número de ovocitos recuperados, el porcentaje de óvulos maduros y fecundados, el porcentaje de blastocistos útiles (transferidos y congelados) y las tasas de embarazo, implantación y aborto espontáneo.

RESULTADOS

Los pacientes del grupo de estudio (edad media de los hombres trans = 30,63 ± 4,27; edad media de sus parejas cis = 37,36 ± 5,08) recibieron testosterona en un intervalo de 12 a 47 meses, y todos interrumpieron el tratamiento entre 4 y 11 meses antes de la estimulación ovárica. En total, se sometieron a nueve estimulaciones ováricas y los resultados de sus ciclos de FIV fueron los siguientes: 14,62 ± 6,50 ovocitos recuperados; 76,92% ovocitos maduros; 82,22% ovocitos fecundados; 70,27% blastocistos útiles. Se realizaron diecisiete transferencias embrionarias (número medio de embriones transferidos = 1,12 ± 0,33), once dieron lugar a un embarazo clínico (64,70%) y la tasa de implantación fue del 63,15%. Hasta la fecha, han nacido cinco bebés sanos mientras que cuatro embarazos terminaron en un aborto clínico (36,36%).

Los dos pacientes del grupo control (edad media de los hombres trans = 31,33 ± 0,58; edad media de sus parejas cis = 30,67 ± 1,53), se sometieron a un total de tres ciclos de FIV cuyos resultados fueron los siguientes: 14,00 ± 8,89 ovocitos recuperados; 82,50% ovocitos maduros; 72,72% ovocitos fecundados; 45,83% blastocistos útiles. Se realizaron tres transferencias de un solo blastocisto, pero ninguna de ellas terminó en un embarazo clínico.

CONCLUSIONES

Según nuestros resultados, la administración previa de testosterona no afecta los resultados embriológicos o clínicos siempre que ésta se suspenda antes de un tratamiento de FIV. Sin embargo, son necesarias series más largas de hombres transgénero trans bajo THAG sometidos a un tratamiento de FIV para confirmar estos resultados, especialmente los clínicos.

Dado que los hombres transgénero tienen una buena respuesta a la estimulación ovárica, incluso después de la exposición a la testosterona, la criopreservación de ovocitos o embriones es una opción factible y efectiva de preservar su fertilidad para una futura paternidad biológica. Estos hallazgos pueden ayudar a elaborar protocolos estandarizados de trabajo que guíen a los profesionales en el manejo de las personas transgénero en el transcurso de un tratamiento de fertilidad.

P-011

¿CULTIVAR EN MEDIO ENRIQUECIDO CON ALBÚMINA SÉRICA HUMANA MEJORA LA COMPETENCIA DE LOS OVOCITOS DESVITRIFICADOS?

Marissa Riqueros Arevalo[1], A Tejerina Granado[1], K Kumar[2], D Wells[2], A Ballesteros Boluda[1], M Esbert Algam[1]
[1]IVIRMA Barcelona - Barcelona (Barcelona), [2]JUNO Genetics - Oxford (United Kindom)

INTRODUCCIÓN

La criopreservación de ovocitos ha sido uno de los grandes avances en las técnicas de reproducción asistida (TRA), permitiendo a las mujeres posponer el momento de la maternidad, así como disponer de bancos de ovocitos para facilitar la donación de dicho gameto. Aunque la concentración típica de albúmina sérica humana (HSA) en medios de cultivo de FIV es del 5%, un gran número de bancos de ovocitos recomiendan una incubación rica en proteínas después de la desvitrificación. Esta suplementación proteica sirve como quelante de iones metálicos tóxicos y como agente antioxidante en los me-

dios de cultivo, sin embargo, existe una falta de evidencia en la literatura que sustente que el incremento de la concentración de HSA en el medio de cultivo mejore los resultados clínicos.

OBJETIVO

El objetivo de este estudio fue investigar si el aumento de la concentración de HSA en los medios de cultivo del 5% al 20% mejoraba la competencia ovocitaria, evaluando la tasa de supervivencia a las 2 y 48 horas, la tasa de activación partenogenética y la cantidad de ADN mitocondrial (ADNmt) de los ovocitos desvitrificados.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio prospectivo y aleatorizado en el que se estudiaron 60 ovocitos maduros de donantes fértiles (28-33 años). Dos horas después de la punción ovárica, los ovocitos se vitrificaron usando el método Cryotop. Inmediatamente después de la descongelación, los ovocitos supervivientes fueron asignados de manera aleatoria en 2 grupos de cultivo: con 20% HSA (grupo estudio) y con 5% HSA (grupo control). Tanto las tasas de supervivencia ovocitaria, como las tasas de activación partenogenética se evaluaron a las 2 y a las 48 horas después de la desvitrificación.

Tras 48 horas de cultivo, los ovocitos se transfirieron a un tubo de PCR de 0,2 ml que contenía tampón de carga. Las muestras se almacenaron a -21°C hasta el momento de la cuantificación del ADNmt, que se realizó en 48 ovocitos (24 del grupo estudio y 24 del grupo control). En primer lugar, se amplificó el genoma completo de cada ovocito (SurePlex), seguido de un análisis cuantitativo por PCR de ADNmt y ADN nuclear (repetición Alu) usando ensayos TaqMan específicos de secuencia.

RESULTADOS

Inmediatamente después de la desvitrificación, los 60 ovocitos resultaron intactos. Tras 2 y 48 horas de la desvitrificación se revaluaron en el microscopio y no se observaron signos de degeneración en ningún ovocito de ningún grupo. La tasa de activación partenogenética fue similar en el grupo estudio y el grupo control (16,7% *vs.* 3,3%, p=0,19). Por otro lado, la concentración relativa de ADNmt tampoco mostró diferencias significativas en el grupo estudio *vs.* el control (2,856±1,667 *vs.* 2,226±1,606; p=0,16).

CONCLUSIONES

Según nuestros resultados, la incubación de ovocitos desvitrificados en medios enriquecidos en HSA no mejora los valores de los biomarcadores de competencia evaluados. Un aumento no significativo en la tasa de ovocitos partenogenéticos sugiere que porcentajes elevados de HSA en los medios de cultivo podrían desencadenar eventos celulares que conducen a la división de células haploides.

Dado que no está claro si la incubación de ovocitos desvitrificados en un medio enriquecido con HSA mejore su competencia, los bancos de ovocitos no deberían incluir este paso en los protocolos post-desvitrificación hasta que la evidencia científica con un mayor tamaño de muestra valide su beneficio.

P-012

APLICANDO INTELIGENCIA ARTIFICIAL A EMBRIONES: ¿ES CAPAZ UN ALGORITMO DE *DEEP LEARNING* DE PREDECIR EL ESTADO CROMOSÓMICO DE UN EMBRIÓN?

Carla Giménez Rodríguez[1], L Conversa Martínez[1], L Murria Aguilar[1], L Bori Arnal[1], MA Valera Cerdá[1], J Bellver Pradas[2], M Meseguer Escrivá[2]

[1]Fundación IVI, IIS La Fe - Valencia (Valencia), [2]IVIRMA Valencia - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN

Un embrión con la mejor evaluación morfológica no es necesariamente el mejor embrión. Las características morfológicas normalmente asociadas a la calidad embrionaria no siempre están vinculadas a un estado cromosómico normal. Por lo tanto, es muy importante identificar los embriones con anomalías cromosómicas que, por su aspecto, parecen normales. La técnica más utilizada para analizar el estado cromosómico de un embrión es el test genético preimplantacional (PGT-A). Sin embargo, este proceso implica una biopsia embrionaria muy invasiva que no siempre puede realizarse. El desarrollo de un análisis genético no invasivo basado en imágenes embrionarias y el uso de la inteligencia artificial (IA) sería algo ampliamente deseable en los casos en que la biopsia no sea una opción.

OBJETIVO

Determinar si un algoritmo de IA no invasivo para evaluar la probabilidad de euploidía embrionaria es capaz de identificar un embrión genéticamente normal (euploide).

MATERIAL Y MÉTODO

Este análisis retrospectivo incluyó 664 imágenes de embriones. Los embriones se cultivaron en el sistema *time-lapse* de EmbryoScope. El día 5 después de la fecundación de los embriones (≈120 horas de desarrollo), se obtuvo una foto de estos con la herramienta de EmbryoViewer. A continuación, las imágenes de los embriones se clasificaron mediante un algoritmo de IA (Life Whisperer Genetics) en diferentes categorías de puntuación que iban de una probabilidad baja a alta de ser genéticamente normales (0-10). Todos los embriones se sometieron al test genético preimplantacional de aneuploidías (PGT-A) para analizar si eran euploides o aneuploides.

Se estudió la correlación entre la puntuación del embrión y un estado cromosómico normal o anormal. Los datos se analizaron mediante la prueba ANOVA unidireccional. Se realizó un análisis de regresión logística multivariante que incluía la puntuación embrionaria, la edad de los ovocitos y el número total de MII recuperados tras la punción. Se utilizó el área bajo la curva (AUC) para calcular la evaluación del rendimiento.

RESULTADOS

La comparación entre la puntuación del embrión proporcionada por el algoritmo de IA y el resultado genético realizado por el PGT mostró una asociación directa*. Los embriones con un contenido cromosómico normal obtuvieron una puntuación significativamente mayor que los anormales*. Las medias de las puntuaciones y las desviaciones estándar fueron 4,51 ± 3,01 para los embriones anormales y 6,03 ± 3,23 para los normales. Los embriones con una puntuación más alta tenían una probabilidad significativamente mayor de ser euploides*. Al dividir la puntuación del embrión en categorías, la tasa de euploidía fue del 38,30% para la puntuación <2,5, del 42,60% para la puntuación 2,5-7,5 (Odds Ratio [OR]=1,2 [0,79-1,82]), del 54,00% para la puntuación 7,5-9 (OR=1,68 [1,03-2,77] y del 75,00% para >9 (OR=3,96 [2,28-6,88]*). La contribución de cada unidad incrementada de la puntuación del algoritmo a la tasa de euploidía (OR=1,14 [IC 95%: 1,09-1,21]*) fue estadísticamente significativa. La puntuación del algoritmo de *deep learning* predijo con éxito la implantación con un AUC de 0,75 [IC del 95%: 0,72-0,79]*. *P<0,001

CONCLUSIONES

Este estudio demuestra la capacidad de este nuevo algoritmo basado en IA para distinguir entre embriones euploides y aneuploides con morfología aparentemente normal con

un valor predictivo de AUC de 0,75. La combinación de la selección universal y los modelos automáticos podría mejorar la selección embrionaria. El uso de modelos genéticos predictivos basados en imágenes embrionarias podría utilizarse de forma similar al PGT-A para preseleccionar embriones con probabilidad de ser euploides, seguido de una selección basada en la morfología para la transferencia en los casos en los que el PGT no sea una opción.

P-013

LA FUNCIÓN MITOCONDRIAL ESPERMÁTICA Y EL NÚMERO DE COPIAS DE ADN MITOCONDRIAL EN MUESTRAS NORMOZOOSPÉRMICAS PUEDEN PREDECIR LAS TASAS DE FECUNDACIÓN TRAS ICSI

Montserrat Barragán Monasterio[1], R Messaritaki[1], E Sanz Ventaja[2], R Lafuente Varea[3], M Popovic[1]
[1]Eugin Group - Barcelona (Barcelona), [2]Clínica Eugin - Barcelona (Barcelona), [3]CIRH - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

A pesar de los avances en el campo de la reproducción asistida durante los últimos 45 años, los diagnósticos de infertilidad masculina siguen siendo mayormente descriptivos, lo que limita la identificación de las causas relacionadas con infertilidad. Actualmente, no existen suficientes marcadores moleculares que ayuden a predecir la capacidad de fecundación del semen, y su identificación será clave para desarrollar tratamientos personalizados. Recientemente, se ha descrito que algunas muestras normozoospérmicas que resultan en fallos de fecundación inesperados tras ICSI por ser deficientes en su capacidad para activar óvulos, presentan niveles alterados de proteínas mitocondriales. También se han encontrado niveles elevados en el número de copias de ADN mitocondrial (ADNm) en seminogramas alterados. Sin embargo, la relación existente entre la función mitocondrial y la capacidad de activación ovocitaria de muestras normozoospérmicas sigue siendo desconocida y poco explorada.

OBJETIVO

Caracterizar la asociación entre la función mitocondrial espermática, el número de copias de ADNm y las tasas de fecundación tras ICSI en muestras normozoospérmicas, con el objetivo de identificar marcadores pronósticos de la tasa de fecundación.

MATERIAL Y MÉTODO

Se incluyeron 20 muestras frescas de semen normozoospérmico, utilizadas en ciclos de ICSI con ovocitos de donante entre marzo de 2021 y noviembre de 2022 de una clínica de reproducción. La edad paterna media fue de 40±5,8 años y el ICM de 25±2,3 kg/m2.

Las muestras seminales se analizaron después del lavado y tras selección por *swim up*.

Se utilizaron 5 millones de espermatozoides para aislar ADN genómico (ADNg) y cuantificar el ADNm. El resto de la muestra se utilizó para el análisis de función mitocondrial.

El ADNm se evaluó mediante qPCR (ratio de genes mitocondriales *vs.* nucleares: NT-ND4/B2M). Para los estudios funcionales, se cuantificó el potencial de membrana mitocondrial (PMM) en espermatozoides individuales mediante tinción JC-1 (proporción INTrojo/INTverde) y citometría de flujo. El análisis de citometría de flujo se realizó contando 10.000 espermatozoides por condición, tratados o sin tratar con 1 µM de un desacoplador de la cadena respiratoria mitocondrial durante 10 minutos (carbonilcianuro-p-trifluorometoxifenilhidrazona, FCCP). Se aplicó la correlación Spearman para el análisis estadístico.

RESULTADOS

La población de estudio presentó tasas variables de fecundación después de ICSI (69,0±24,9%). Una de las muestras resultó en fallo total (FTF), por lo que fue analizada independientemente. En muestras lavadas, el ADNm (5,8±2,61 AU) se correlacionó negativamente con la motilidad progresiva (rs =-0,65) y con la tasa de fecundación por ICSI (rs =-0,32). La muestra que presentó FTF presentó el valor más alto de ADNm. El análisis del PMM por citometría de flujo reveló, además, dos poblaciones diferenciadas de espermatozoides, correspondientes a los espermatozoides móviles (2,3±1,83 AU) e inmóviles (1,3±0,5 AU). Además, los espermatozoides móviles, seleccionados por *swim up*, presentaron una correlación positiva entre el PMM y la tasa de fecundación tras ICSI (rs =0,59).

Estos resultados sugieren que una adecuada función mitocondrial, detectable tanto en la muestra lavada como en los espermatozoides seleccionados por movilidad, correlaciona con los espermatozoides que mejor activan y fecundan óvulos de calidad.

CONCLUSIONES

Nuestros resultados sugieren que las determinaciones de PMM y ADNm pueden tener valor pronóstico en casos de infertilidad masculina inexplicable, concretamente en ciclos de ICSI utilizando óvulos de donante. Aunque se sabe que la criopreservación afecta la motilidad de los espermatozoides, alterando posiblemente su actividad mitocondrial, su efecto sobre la intensidad media del PMM por espermatozoide no está estudiado.

El tamaño muestral analizado en este estudio es limitado, por lo que los datos requieren una interpretación cuidadosa. Además, serán necesarios estudios adicionales para validar la utilidad clínica de estos marcadores, que tienen el potencial de facilitar el diagnóstico, tratamiento y asesoramiento del paciente masculino con infertilidad inexplicable.

P-014

PERFIL Y CONDICIONES LABORALES DEL EMBRIÓLOGO CON MEJORES TASAS DE ÉXITO

Iván Ochando Sánchez[1], MT Sánchez Núñez[2], E Güell Penas[3], JI Mazzanti Pérez[3], P Fernández Berrocal[4]
[1]Hospital General de Albacete - Albacete (Albacete), [2]Universidad de Castilla-La Mancha - Cuenca (Cuenca), [3]Centre Procrear - Reus (Tarragona), [4]Universidad de Málaga - Málaga (Málaga)

INTRODUCCIÓN

Los escasos estudios previos muestran que el embriólogo clínico es uno de los profesionales sanitarios que más estrés sufre en el ámbito laboral (López-Lería *et al.* 2014). Es imprescindible evaluar y conocer a fondo las condiciones laborales, así como otras variables que puedan estar influyendo en su estado de salud física y mental y calidad de vida profesional, afectando a su vez a los resultados clínicos y por tanto al éxito de los tratamientos de reproducción humana asistida.

OBJETIVO

El objetivo de este estudio fue describir los factores que influyen en la obtención de resultados clínicos óptimos en los laboratorios de embriología en España.

MATERIAL Y MÉTODO

El estudio fue realizado entre noviembre de 2020 y abril de 2021. Se realizó una encuesta dirigida a todos los especialistas

en embriología clínica en activo en España. El formulario fue cumplimentado por 184 sujetos. Entre los instrumentos de evaluación utilizados se incluía un cuestionario sobre variables sociodemográficas y una serie de test que permiten medir el estado de salud física y mental, calidad de vida profesional y aspectos sobre la personalidad de los encuestados. De la encuesta se pudo derivar un total de 274 variables continuas, sobre las que se realizó un análisis estadístico que consistió en el estudio de correlación entre pares de variables y la comparación de medias mediante t-Student o U de Mann-Whitney, en función del patrón de distribución y varianza de cada variable, para la variable respuesta "P47: Tasa de fecundación individual en ovocitos propios dicotomizada, utilizando como punto de corte el establecido por los indicadores de calidad de ASEBIR: Resultados Subóptimos (RS: P47<75%) y Resultados Óptimos (RO: P47≥75%).

RESULTADOS

Un total de 13 variables fueron estadísticamente significativas en la comparación de medias. Se clasificaron en 5 grupos: salud física, salud mental, calidad de vida profesional, presión laboral y personalidad. En relación a la salud física, las variables "Dolor de cabeza" y "Dolor de espalda" están directamente relacionadas con RS (p=0,005 y p=0,006 respectivamente). Las variables relacionadas con salud mental hacen referencia a dimensiones del síndrome de *burnout*. La variable "MBI_HSS_D" mide el grado de despersonalización y está directamente relacionada con RS (p=0,008). La variable "MBI_HSS_PA" mide el grado de realización personal y está directamente relacionada con RO (p=0,037). El grupo calidad de vida profesional se compone de las variables "Cantidad de trabajo" y "Prisas y agobios por falta de tiempo" y ambas están directamente relacionadas con RS (p=0,02 y p=0,007 respectivamente). El grupo presión laboral se compone de tres variables: la variable "Cargo" está directamente relacionada con RO (p=0,020); la variable "Presión por los resultados" está directamente relacionada con RS (p=0,025) y la variable "Apoyo directivo" está directamente relacionada con RO (p=0,004). Finalmente, el grupo personalidad se compone de cuatro variables: la "bf3" mide la personalidad responsable y está directamente relacionada con RO (p=0,004); las variables "risc2", "risc5" y "risc7" miden la capacidad resiliente y están directamente relacionadas con RO (p=0,016; p=0,048 y p=0,044 respectivamente).

CONCLUSIONES

Las tasas de éxito individuales de los embriólogos clínicos españoles se ven alteradas por múltiples factores. Estos están relacionados con aspectos de salud física y mental, ambiente y condiciones laborales, así como de la personalidad del propio individuo. Es necesario evaluar a fondo las variables que afectan negativamente a las tasas de éxito y establecer un modelo que ayude a prevenir dicha situación, que afecta directamente a los pacientes que acuden a centros de reproducción humana asistida.

P-015

¿PUEDE LA VISIÓN COMPUTACIONAL IDENTIFICAR CARACTERÍSTICAS NO VISIBLES PARA EL OJO HUMANO QUE AYUDEN A LA IDENTIFICACIÓN NO INVASIVA DE EMBRIONES ANEUPLOIDES?

Carla Giménez Rodríguez[1], L Bori Arnal[1], D Gilboa[2], R Maor[2], DS Seidman[2], G Horton[2], M Meseguer Escrivá[3]
[1]Fundación IVI, IIS La Fe - Valencia (Valencia), [2]AIVF - Tel Aviv (Israel), [3]IVIRMA Valencia - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, la visión computacional ha demostrado ser una herramienta prometedora para la identificación de características únicas que podrían pasar desapercibidas para el ojo humano. En el campo de la fecundación *in vitro*, una de las aplicaciones más interesantes de esta tecnología es la identificación no invasiva de embriones euploides y aneuploides.

OBJETIVO

Evaluar una característica identificada únicamente mediante visión computacional que permite la diferenciación no invasiva entre embriones euploides y aneuploides.

MATERIAL Y MÉTODO

En este estudio retrospectivo y unicéntrico se evaluaron imágenes de *time-lapse* de 1.183 embriones con un estado cromosómico conocido (379 embriones euploides y 804 aneuploides). La media de edad de las pacientes entre los grupos no fue estadísticamente significativa. Se analizaron 40 fotogramas *time-lapse* consecutivos antes del momento del inicio visible de la blastulación (TSB) con una frecuencia de imágenes cada 10 minutos.

Se cuantificó la textura citoplasmática mediante la diferencia media de valores en la escala de grises entre píxeles adyacentes, donde un área perfectamente fluida sería 0. Dividimos los fotogramas en 4 periodos de 100 minutos cada uno y utilizamos el valor máximo dentro de cada periodo para cuantificar la textura citoplasmática del embrión en cada periodo.

RESULTADOS

Se observó que los embriones aneuploides presentaban una textura citoplasmática menos fluida cuando se evaluaron utilizando valores en la escala de grises entre píxeles adyacentes. La distribución más amplia de los valores de los embriones aneuploides indica un umbral a partir del cual la mayoría de los embriones son aneuploides.

Utilizando un valor umbral de 2 desviaciones estándar por encima de la media para embriones euploides, encontramos:

Entre los 400-300 minutos antes de la TSB, 17 (4,49%) embriones euploides y 53 (6,59%) embriones aneuploides estaban por encima del umbral. La OR para aneuploidía fue de 1,47*.

Entre 300 y 200 minutos antes de la TSB, 14 (3,69%) embriones euploides y 46 (5,72%) embriones aneuploides estaban por encima del umbral. La OR para aneuploidía fue de 1,55*.

Entre 200 y 100 minutos antes de la TSB, 10 (2,64%) embriones euploides y 53 (6,59%) embriones aneuploides estaban por encima del umbral. La OR para aneuploidía fue de 2,50*.

Entre los 100-0 minutos antes de la TSB, 16 (4,22%) embriones euploides y 48 (5,97%) embriones aneuploides estaban por encima del umbral. La OR para aneuploidía fue de 1,42*.
*p<0,01

CONCLUSIONES

Los embriones aneuploides presentaron con más frecuencia una textura menos fluida que los embriones euploides en la fase previa a la blastulación. Esta diferencia, demasiado pequeña para ser perceptible por el ojo humano, puede ser analizada por visión computacional y utilizarse para rechazar estos embriones aneuploides de forma no invasiva. De esta manera, la visión computacional podría ayudar a seleccionar aquellos embriones candidatos a transferencia y/o pruebas genéticas.

P-016

USO DE LA INTELIGENCIA ARTIFICIAL Y SISTEMA CASA PARA LA PREDICCIÓN DE LA CALIDAD ESPERMÁTICA EN CONDICIONES CAPACITANTES *IN VITRO* Y SU APLICACIÓN EN LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

Paula Cots Rodríguez[1], T Casas Pina[2], EM Serrano López[3], M Avilés González[1], F Huertas López[3], J Gálvez Pradillo[2], J Álvarez Castillo[2], M Avilés[1]

[1]Universidad de Murcia - Murcia (Murcia), [2]Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca - Murcia (Murcia), [3]Marbyt - Smart Solutions for Biotechnology, S. L. - Murcia (Murcia)

INTRODUCCIÓN

A lo largo del tracto reproductor femenino, el espermatozoide sufre una serie de cambios necesarios para que la fecundación tenga lugar, conocidos como capacitación. Uno de ellos es la hiperactivación, caracterizada por un cambio en el movimiento espermático necesario para que el espermatozoide pueda atravesar la zona pelúcida del óvulo. La hiperactivación se puede determinar de un modo no invasivo mediante el sistema automático CASA (Computer Assisted Sperm Analysis). El patrón de motilidad de los espermatozoides es heterogéneo y complejo, por ello el uso de modelos de inteligencia artificial (IA) resultan útiles a la hora de identificar parámetros relacionados con la hiperactivación, permitiendo el desarrollo de modelos computacionales que ayuden a la predicción de la calidad seminal y su potencial aplicación en la predicción del éxito en la inseminación artificial.

OBJETIVO

Desarrollo de un método de predicción de calidad espermática basado en modelos de inteligencia artificial que usan parámetros de motilidad espermática relacionados con el proceso de capacitación.

MATERIAL Y MÉTODO

Las muestras seminales (n=267) procedentes de pacientes del Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca fueron procesadas mediante un gradiente de densidad (80/40, Nidacon, Suecia) y usadas para inseminación artificial. Se usó una alícuota de esta misma muestra para determinar los parámetros de motilidad mediante el sistema CASA (ISAS PROISER, Valencia) analizando al menos doscientos espermatozoides. La motilidad espermática fue analizada a tiempo 0 y tras 2 horas de incubación en medio capacitante (HTF+5%BSA) (CooperSurgical, EEUU) a 37 ºC y 5% CO2.

La estrategia bioinformática consta de: estudio inicial de datos, agrupación, clasificación y validación. Se utilizaron parámetros del sistema CASA para cada espermatozoide, en muestras sin capacitación (231.556 espermatozoides) y tras capacitación (119.478 espermatozoides). Para la fase de agrupación, se ejecutaron modelos de clasificación no supervisados que agruparan espermatozoides con características similares. Los datos resultantes (clústeres) fueron utilizados como partida para la siguiente fase. La fase de clasificación requiere de dos nuevos modelos de IA supervisados. El primero realiza el etiquetado de nuevos espermatozoides desconocidos, mientras que el segundo predecirá la probabilidad de embarazo de las muestras a evaluar. Para la construcción del modelo, se tomó un 80% del set de datos para entrenamiento y el 20% restante para validación, junto a la estrategia Cross-Validation, para mejorar la eficacia del entrenamiento. La evaluación de la eficacia se realizó por el método "Balanced accuracy".

RESULTADOS

El análisis de datos arrojó diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (embarazo *vs.* no embarazo) para las variables ALH, BCF, VSL, LIN y DANCE (VCL×ALH) [1]. Se seleccionó el modelo K-means, que agrupó los espermatozoides en seis clústeres diferentes. Para el primer modelo de IA supervisado, se evaluaron diferentes algoritmos, seleccionándose Linear SVM, que clasificaba a espermatozoides procedentes de nuevas muestras dentro de los clústeres generados con una eficacia

del 98,6% para ambas condiciones (espermatozoides sin/con capacitación). Para el segundo modelo de IA supervisado, encargado de proporcionar el porcentaje de éxito en las muestras, se evaluaron 12 modelos, eligiéndose Decision Tree para las muestras sin capacitación (eficacia del 66%), mientras que para muestras con capacitación se utilizó XGBoost, (eficacia del 83%).

CONCLUSIONES

El estudio de los datos obtenidos mediante el sistema CASA, su agrupación y clasificación, permite el desarrollo de modelos de inteligencia artificial para la clasificación de muestras problema por su probabilidad de éxito reproductivo. Los datos obtenidos de muestras capacitadas *in vitro* sugieren un efecto positivo para esta clasificación.

Trabajo financiado por el Proyecto Acción Estratégica Universidad de Murcia (código 29044).

Agradecer a las personas que han dedicado tiempo y trabajo a este proyecto; Dolores Mouzo, Alba M. Sánchez, Paula del Campo, Mariya Lutsyk, Lucía Camacho, Julia Solano, Noelia López y Alba Paco.

REFERENCIAS

1. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen, sixth edition. Geneva: World Health Organization; 2021. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

P-017

AVANCES EN PGT-M, USO DEL GENOTIPADO ESPERMÁTICO EN CASOS DE NOVO

Carles Giménez Sevilla, A Guzmán Serrano, D Campos Rodero, I Fernández Rodríguez, E García-Guixé, M Sandalinas Alabert, E Toro Toro
DiNA Science
Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

La detección de embriones portadores de enfermedades genéticas ha supuesto siempre un reto para el test genético preimplantacional (PGT-M). El reto es incluso mayor cuando la variante causante de la patología se ha originado *de novo* en uno de los dos miembros de la pareja. En el caso de presencia de una variante patogénica *de novo*, el PGT-M solo será posible si es factible la detección directa de esta. Además, según las recomendaciones de buenas prácticas publicadas por la ESHRE PGT Consortium, el diagnóstico se basará en la presencia o ausencia de la variante patogénica, pero, además, se recomienda el establecimiento de haplotipos de alto o bajo riesgo previamente a la aplicación clínica de la estrategia diagnóstica. Si el portador es varón, se recomienda establecer el haplotipo de riesgo mediante el análisis de espermatozoides aislados. En el caso de las mujeres, el análisis de CPs es una opción, si bien requiere una mayor intervención sobre el embrión, lo que puede no ser aceptable. En cualquier caso, el establecimiento definitivo de las fases que confirmarán el haplotipo de riesgo, deberá establecerse durante el ciclo de FIV-ICSI-PGT-M.

OBJETIVO

Evaluar la utilización de los arrays de SNPs (SNPa) en el establecimiento de los haplotipos en casos de PGT de enfermedades genéticas con variantes de novo en varones.

MATERIAL Y MÉTODO

15 casos en los que el varón era portador de una variante *de novo*. En todos los casos se corroboró la presencia de la variante en ADN genómico. En 9 casos se utilizaron marcadores tipo STR para el establecimiento del haplotipo de riesgo y en los 6 casos restantes, se emplearon SNPa. En los casos en los que se utilizaron marcadores tipo STR, se realizó un estudio de informatividad con la finalidad de determinar cuáles de ellos eran informativos o no.
Mediante micromanipulación se procedió a aislar 30 espermatozoides en cada caso, que se sometieron a una amplificación total del genoma mediante MDA. Una alícuota de la amplificación se utilizó para determinar qué espermatozoides eran portadores o no de la variante. Conocidos los espermatozoides portadores y no portadores, se procedió a establecer el haplotipo de riesgo analizando STRs o SNPs.

RESULTADOS

En todos los casos fue posible determinar el haplotipo de riesgo, pudiendo confirmarse posteriormente durante el PGT-M. Fueron necesarios una media de 5 STRs en 28 espermatozoides para poder establecer el haplotipo de riesgo mediante el uso de STRs. En los casos en los que se utilizó el genotipado, la media de SNPs para establecer el haplotipo de riesgo fue de 48, y el número de espermatozoides para ello de 6.

CONCLUSIONES

Para el establecimiento de haplotipos, típicamente se han utilizado marcadores polimórficos, principalmente STRs. El problema radica en que la puesta a punto de la estrategia diagnóstica es complicada, el número de STRs que podemos utilizar es limitado, así como su informatividad.

Este estudio demuestra la viabilidad de los *arrays* de genotipado para evaluar una gran cantidad de polimorfismos de nucleótido único (SNPs) a la vez. Se ha podido establecer el haplotipo de riesgo con un mayor número de marcadores incrementando así la robustez de la estrategia diagnóstica. Además, los SNPa se ven mucho menos afectados por el efecto del *allele drop-out* (ADO), lo que permite incrementar el rendimiento diagnóstico y minimizar al máximo el riesgo de no resultado en estos casos complejos.

P-018 BLASTOCISTOS EUPLOIDES DE D6 CALIDAD C: SU GRAN OPORTUNIDAD

Arántzazu Delgado Mendive, L Alegre Ferri, A Mercader Bayarri, P Campos Lozano, E Sánchez Chiva, A Coello Perles
IVI Valencia
Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN

La biopsia de blastocisto es una técnica ampliamente utilizada a diario en los laboratorios de fecundación *in vitro*. Los criterios de biopsia son estrictamente morfológicos y muchas veces se plantean dudas acerca de cuáles son los límites que definen si un blastocisto es biopsiable o no, principalmente referidas a la calidad del trofoectodermo. Dentro de ese grupo de blastocistos, los mayores debates surgen en torno a los blastocistos de día 6 con calidad C de ASEBIR, sobre todo aquellos que presentan tanto masa celular interna como trofoectodermo calidad C.

OBJETIVO

Valorar la tasa de recién nacido vivo (RNV) de los blastocistos de día 6 de calidad C de Asebir, considerados *a priori* como de peor pronóstico o incluso "no biopsiables" por morfología subóptima, y que finalmente resultaron euploides y fueron transferidos. Además, se evaluó el efecto de la edad en este grupo.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo que incluyó 389 transferencias únicas de blastocistos euploides desvitrificados de día 6 calidad C. Los blastocistos fueron biopsiados en día 6 de desarrollo y vitrificados a continuación mediante el método Cryotopò. Las muestras de biopsia se analizaron mediante Next Generation Sequencing [NGS]. La tasa media de euploidía para este grupo de blastocistos tipo C de día 6 en el programa de diagnóstico genético preimplantacional fue de 28,26%.

Previamente a la biopsia, los blastocistos se clasificaron en cuatro grupos en función del grado de expansión y de la calidad de la masa celular interna y del trofoectodermo siendo: blastocisto hatching B C (Bhi B C), blastocisto hatching C C (Bhi C C), blastocisto hatched B C (BH B C), y blastocisto hatched C C (BH C C). Posteriormente, los resultados obtenidos por estos blastocistos de calidad C fueron analizados según diferentes grupos de edad: ≤38 años, 39-40 años y ≥41.

Las RNV se compararon entre grupos usando el test chi-cuadrado y se calcularon los intervalos de confianza (IC) al 95%.

RESULTADOS

La tasa total de RNV en los blastocistos de calidad C fue del 30,4%. La tasa de aborto clínico general fue del 21,3%. No se encontraron diferencias significativas en la tasa de RNV entre los BHi BC (33,3%, IC95%: 25,5 – 41,2) *vs.* los BHi CC (33,9%, IC95%: 24,9 – 42,9). Sin embargo, los embriones clasificados como BH BC obtuvieron el doble de tasa de RNV que los clasificados como BH CC (32,8%, IC95%: 21,8 – 43,8 *vs.* 14,9%, IC95%: 6,8 – 23,0). No se encontraron diferencias significativas en la edad media de las pacientes en los diferentes grupos.

Cuando analizamos los resultados por grupos de edad encontramos que la tasa de RNV en las pacientes ≤38 años (37,2%) era superior a la obtenida en las pacientes de edad comprendida entre 39-40 años (27,9%) y a la de aquellas con edad superior a 40 años (25,1%). Sin embargo, no hubo diferencias significativas entre estos grupos de edad.

CONCLUSIONES

Las tasas de RNV obtenidas permiten recomendar la biopsia de estos blastocistos considerados de peor pronóstico debido a su morfología subóptima en todos los grupos de pacientes. La experiencia y la pericia del biopsiador-a son claves para obtener resultados óptimos en este grupo de blastocistos, además de la importancia de contar con un buen programa de vitrificación.

P-019

AHORRO DEL TIEMPO NECESARIO PARA EVALUAR LA CALIDAD EMBRIONARIA CON EL USO DE LA INTELIGENCIA ARTIFICIAL

Minerva Ferrer Buitrago[1], E Ferrer Robles[1], P Muñoz Soriano[1], V Antequera Durán[1], N Galiana Artés[1], A Brualla[2], A Zepeda[3], C Calatayud Lliso[1], M Ruiz Jorro[1]
[1]CREA - Valencia (Valencia), [2]Fairtility - Barcelona (Barcelona), [3]Fairtility - Rotterdam (Holanda)

INTRODUCCIÓN

El uso de herramientas de análisis de imagen y valoración predictiva del potencial reproductivo de los embriones está siendo cada vez más extendido. Antes de considerar su implantación en la práctica diaria, deberían medirse de forma objetiva la efectividad y eficiencia de estas herramientas basadas en inteligencia artificial (IA) para poder compararlas con las obtenidas a partir de la valoración tradicional hecha por personas expertas en embriología clínica (IHEP - inteligencia humana basada en la experiencia profesional). Hay tres factores por los que estos sistemas podrían suponer una ventaja objetiva respecto a la IHEP en el laboratorio de embriología clínica: 1) simplificación de los procesos, 2) mejora de la efectividad y 3) reducción de riesgos, lo cual podríamos concretarlo como: ahorro de tiempo, capacidad de seleccionar los embriones con mayor tasa de implantación e identificación de los embriones con mayor riesgo de presentar aneuploidía, respectivamente.

OBJETIVO

Evaluar de manera prospectiva el tiempo necesario para valorar la calidad embrionaria hasta blastocisto mediante un sistema de evaluación embrionaria automática y objetiva (CHLOE-EQ) en comparación con el tiempo utilizado en la valoración tradicional por IHEP.

MATERIAL Y MÉTODO

Este estudio prospectivo incluye 7 ciclos de FIV con un número medio de embriones en cultivo de 6,9±4,1, desde día 1 hasta día 5/6. Se valoraron diariamente un total de 48 embriones mediante IHEP e IA con el software de análisis de imagen CHLOE-EQ (Fairtility). El cultivo embrionario se realizó durante 5/6 días en incubadores benchtop *time-lapse* (Geri; Genea Biomedx) en medio G-TL (Vitrolife) y en condiciones de cultivo: 6,4% CO2 y en hipoxia. Cada día de cultivo se registró el tiempo necesario por ciclo para realizar las anotaciones de manera manual y mediante la herramienta CHLOE-EQ.

RESULTADOS

La media de tiempo necesario por ciclo de FIV fue de 32 minutos y 2 segundos para la valoración mediante IHEP, mientras que la valoración con CHLOE-EQ requirió 21 minutos y 16 segundos, lo que representa un ahorro de tiempo de 10 minutos y 46 segundos por ciclo analizado. La simplificación del proceso de valoración embrionaria mediante CHLOE-EQ en términos de reducción de tiempos, se observó desde el día 1 de cultivo: D1, 5 minutos y 34 segundos (IHEP) *vs.* de 3 minutos y 49 segundos (CHLOE-EQ); D2, 5 minutos y 35 segundos (IHEP) *vs.* 3 minutos y 42 segundos (CHLOE-EQ); D3, 5 minutos y 21 segundos (IHEP) *vs.* 3 minutos y 31 segundos (CHLOE-EQ); D4, 5 minutos y 8 segundos (IHEP) *vs.* 3 minutos y 23 segundos (CHLOE-EQ); D5, 5 minutos y 8 segundos (IHEP) *vs.* 3 minutos y 21 segundos (CHLOE-EQ); D6, 4 minutos y 54 segundos (IHEP) *vs.* 3 minutos y 16 segundos (CHLOE-EQ). En general, la media total de tiempo necesario por embrión fue de 4 minutos y 40 segundos para (IHEP) y de 3 minutos y 6 segundos para CHLOE-EQ.

CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio indican que el uso de un *software* de análisis de imagen para la valoración embrionaria puede resultar en un ahorro significativo de tiempo, frente a la valoración mediante IHEP. Este ahorro de tiempo puede ser particularmente beneficioso para la mejora de procesos en laboratorios con un volumen alto de ciclos de FIV. Es necesario aumentar el tamaño muestral para corroborar estos resultados.

P-020

BLASTOCISTOS PARA DGP CON ECLOSIÓN ASISTIDA EN DÍA 3. ¿CÓMO EVALUAR EL GRADO DE EXPANSIÓN OBJETIVAMENTE?

Eugenia Rocafort Curià, G Millet Teruel, P Sanz Perera, MJ Torelló Ybáñez, M Moragas Solanas
Quirónsalud Barcelona
Sant Just d'Esvern (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

Actualmente el DGP es una técnica utilizada en prácticamente todos los laboratorios de reproducción asistida, donde la biopsia de los embriones se puede realizar tanto en día 3 como en día 5. Se ha demostrado que la biopsia en día 5 es más consistente a nivel de resultados, sin embargo, no hay consenso en qué metodología de biopsia es mejor. Una posible estrategia es realizar la eclosión asistida en día 3 y esperar a la salida del trofoectodermo, pero la evaluación morfológica de estos blastocistos es complicada y subjetiva ya que no se puede evaluar el grado de expansión ni el afinamiento de la zona pelúcida.

OBJETIVO

Proponer una clasificación más objetiva de los blastocistos para DGP con eclosión asistida en día 3 basada en el porcentaje de trofoectodermo que se encuentra fuera de la zona pelúcida, eclosionando y ver su relación con la euploidía.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio prospectivo en un único centro que incluye 1.023 embriones del programa de DGP desde octubre de 2019 a enero de 2023. Todos los embriones de DGP fueron incluidos para validar la usabilidad de la clasificación, tanto de ovocitos propios como de ovodonación, frescos o vitrificados. La eclosión asistida se realizó en día 3 y los embriones fueron clasificados (a las 114-118 horas en día 5 y 136-140 horas en día 6). La calidad del trofoectodermo y de la MCI se clasificó según las categorías ASEBIR y el grado expansión según nuestra propuesta de clasificación siendo BAH1 con menos del 35% del trofoectodermo fuera, BAH2 entre el 35-65% del trofoectodermo fuera, BAH3 con más del 65% fuera y BH como totalmente eclosionado. El análisis estadístico se realizó mediante SPSS.

RESULTADOS

No se encontraron diferencias entre las características de los grupos comparados. Del total de 1.023 embriones 2,7% (28/1023) fueron biopsiados en el estado BH, 21,7% (222/1023) en BAH3, 28,8% (295/1023) en BAH2 y 46,7% (478/1023) en BAH1. La tasa de euploidía de los blastocistos biopsiados en día 5 fue significativamente más alta cuanto más eclosionado el trofoectodermo (BH: 77,8% (7/9), BAH3: 58,7% (101/172), BAH2: 46,7 (107/229), BAH1: 29,6% (110/371); $p<0,01$). Esta significancia se ve mantenida en los blastocistos biopsiados en día 6 (BH: 52,6% (10/19), BAH3: 52% (26/50), BAH2: 33,3% (22/66), BAH1: 20,6% (22/107) $p<0,01$). Cuando se analizó la tasa de euploidía por calidad de los blastocistos, también se observó esta significancia dependiendo del grado de eclosión, siendo para los blastocistos calidad A, 75% de euploidía cuando eran BH, 61,6% BAH3, 59,4% BAH2 y 48,5% BAH1. Para los blastocistos calidad B, 64,3% cuando eran BH, 55,2% BAH3, 42,1% BAH2 y 35,1% BAH1 y para los blastocistos calidad C, 33,3% cuando eran BH, 43,5% BAH3, 33,3% BAH2 y 14,6% BAH1 ($p<0,05$). Además, esta clasificación ayudó en la organización del laboratorio, ya que otro biólogo distinto del que realiza la biopsia podía evaluar los blastocistos y el embriólogo de la biopsia podía empezar directamente priorizando los pacientes con blastocistos BAH3, evitando más evaluaciones innecesarias.

CONCLUSIONES

Con este estudio preliminar hemos podido validar que la clasificación propuesta para los blastocistos de DGP con eclosión asistida en día 3 no sólo mejora a nivel de practicidad y objetividad en el laboratorio, sino que además vemos su relación con la euploidía. El grado de expansión se relaciona con mejores resultados clínicos y esta propuesta de clasifica-

ción sustituye a este a la hora de categorizar los blastocistos, por lo que podría explicar su relación con mayores tasas de euploidía. Estas nuevas categorías deberían ser validadas en otros estudios para poder aplicarlo de forma más generalizada.

P-021

¿EL PORCENTAJE ES LO ÚNICO QUE IMPORTA? APLICACIÓN RETROSPECTIVA DE LA GUÍA ESHRE

Edurne Martínez Sanz, M de las Heras Martínez, O Gómez Picado, O Aguirre Landaluce, J Barrenetxea Arrinda, R Celis García, G Barrenetxea Ziarrusta
Reproducción Bilbao
Bilbao (Vizcaya)

INTRODUCCIÓN

Durante el 2022 ESHRE publicó una nueva guía de manejo de mosaicos en la que ofrece un sistema de clasificación basado en el porcentaje de mosaicismo hallado durante la realización del PGT-A. Si esta guía hubiese sido publicada con anterioridad probablemente hubiéramos cambiado nuestro criterio de transferencia en algunos casos.

OBJETIVO

Conocer si los nuevos criterios de transferencia aplicados a los embriones con diagnóstico posible mosaico que tienen en cuenta el porcentaje de mosaicismo independientemente del tipo (segmental o de cromosoma entero) y del número de cromosomas implicados son certeros. Es decir, ¿podemos ceñirnos al porcentaje para priorizar la transferencia sin valorar otros aspectos del diagnóstico?

Evaluar el potencial de desarrollo de los embriones posible mosaico de alto grado.

MATERIAL Y MÉTODO

Se evaluaron los resultados de las transferencias de 265 embriones a los que se les realizó PGT-A, durante los años 2021, 2022 y 2023 y se reclasificaron de acuerdo con los nuevos criterios de manejo de mosaicos de ESHRE publicados en 2022. Siendo euploides N=212, mosaicos de bajo de bajo grado N=37 y mosaicos de alto grado N=13.Todas las transferencias fueron de un único embrión. Se aplicó Chi cuadrado con la corrección de Yates para comparar la tasa de prueba de embarazo positiva, embarazo evolutivo y porcentaje de abortos.

RESULTADOS

Se comprobó que tanto la edad, como el IMC era similar entre euploide, mosaicos de bajo grado y mosaicos de alto grado. La prueba de embarazo positiva encontrada fue 52,2% *vs.* 62,2% *vs.* 38% para euploides, bajo grado y alto grado respectivamente. La tasa de embarazo evolutiva 46,70% *vs.* 48,65% *vs.* 38,46% respectivamente. La tasa de aborto fue 23,23% *vs.* 27,78% *vs.* 20%

CONCLUSIONES

Las diferencias encontradas tanto en la tasa de prueba positiva, embarazo evolutivo, así como en la tasa de aborto no han resultado significativas. Es decir, que aparentemente basarse únicamente en el porcentaje de mosaicismo como único criterio de priorización de transferencias no parece ofrecer una mayor probabilidad de embarazo.

Aunque es cierto que el número de casos de transferencia de posibles mosaicos es limitado y a pesar de que se ha aplicado una corrección estadística para su correcto estudio, es

necesario ampliar el número de casos para poder corroborar los resultados obtenidos.

Parece razonable añadir criterios como el tipo y número de cromosomas implicados a los criterios de transferencia, ya que según los resultados obtenidos por Viotti et al (2021), caracterizar los distintos tipos de mosaicismo puede resultar realmente útil en su manejo clínico.

En vista de los resultados que ofrecen los resultados de las transferencias de embriones posible mosaico de alto grado, estas no deberían descartarse por completo, siempre que se ofrezca un adecuado asesoramiento genético a los pacientes y cuando no exista la posibilidad de transferir embriones euploides o mosaico de bajo grado cuya transferencia no implica la recomendación de una prueba prenatal invasiva.

REFERENCIAS

1. Viotti et al. Using outcome data from one thousand mosaic embryo transfers to formulate an embryo ranking system for clinical use. Fertility and Sterility® Vol. 115, No. 5, May 2021.

TABLAS

Tabla I. Tras PGT-A y tras decisión de no re-biopsia.

	N
Embrión euploide	212
Posible mosaico bajo grado	37
Posible diagnóstico alto grado	13
Sin diagnóstico (*)	3

Tabla II. Los 3 grupos a analizar no variaron ni en la edad media ni en el IMC.

		Edad		IMC	
	N	Media±Error estándar	95% IC	Media±Error estándar	95% IC
Embrión euploide	212	36,78±0,23	36,34-37,23	23,12±0,26	22,60-23,63
Posible mosaico bajo grado	37	36,19±0,48	35,22-37,16	22,09±0,50	21,07-23,10
Posible mosaico alto grado	13	36,38±1,09	32,01-36,76	23,41±1,63	19,78-27,04
Sin diagnóstico (*)	3	40,00±2,08	31,04-48,96	21,37±0,85	10,62-32,10
Total	265	36,72±0,20	36,32-37,11	22,96±0,23	22,50-23,42
		F=1,407		F=1,034	
		p=0,241		P=0,378	

Tabla III. Las tasas de PE positiva fueron similares en los 3 grupos estudiados.

		Prueba de embarazo		Saco gestacional		Tasa embarazo	Embarazo evolutivo		Tasa embarazo evolutivo
	N	Positiva N (porcentaje)	Negativa N (porcentaje)	Sí	No		Presente	Ausente	
Embrión euploide	212	108 (52,2%)	99 (47,8%)	99*	9	46,70%	76*	23	38,85%
Posible mosaico bajo grado	37	23 (62,2%)	14 (37,8%)	18	5	48,65%	13	5	35,14%
Posible mosaico alto grado	13	5 (38,5%)	8 (61,5%)	5	0	38,46%	4	1	30,77%
Sin diagnóstico (*)	3	1 (33,3%	2 (66,6%)	1	0	33,3%)	1	0	33,33%
Total	265	137 (52,7%)	123 (47,3%)	123	14	46,42%	93	30	35,09%
		Chi-cuadrado de Pearson 2,861							
		p= 0,414							

Tabla IV.

PRUEBA DE EMBARAZO POSITIVA			SACO GESTACIONAL			Embarazo evolutivo		
	Chi cuadrado	p		Chi cuadrado	p		Chi cuadrado	p
EUPLOIDE vs. POS.MOS.AG	0,92	0,3373	EUPLOIDE vs. POS.MOS.AG	0,03	0,8635	EUPLOIDE vs. POS.MOS.AG	0,01	0,9418
EUPLOIDE VS POS MOS BG	1,26	0,2617	EUPLOIDE VS POS MOS BG	3,57	0,0588	EUPLOIDE VS POS MOS BG	0,01	0,9334
POS MOS BG VS POS AG	1,34	0,2476	POS MOS BG VS POS AG	0,26	0,6128	POS MOS BG VS POS AG	0,00	0,9566

Tabla V. *: en 3 casos se produjo una implantación doble Tasas de implantación similares.

		Saco gestacional	
	N	Presente N (porcentaje)	Ausente N (porcentaje)
Embrión euploide	212	99*	9
Posible mosaico bajo grado	37	18	5
Posible mosaico alto grado	13	5	0
Sin diagnóstico (*)	3	1	0
Total	265	123	14
		Chi-cuadrado de Pearson 5,310	
		p= 0,505	

Tabla VI. *: 1 caso de embarazo doble evolutivo.

		Embarazo evolutivo			
	N	Presente N (porcentaje)	Ausente N (porcentaje)	Total	% aborto
Embrión euploide	212	76*	23	99	23,23%
Posible mosaico bajo grado	37	13	5	18	27,78%
Posible mosaico alto grado	13	4	1	5	20,00%
Sin diagnóstico (*)	3	1	0	1	0%
Total	265	93	30	123	24,39%
		Chi-cuadrado de Pearson 4,597			
		p= 0,596			

P-022

ANÁLISIS DEL ÍNDICE DE FRAGMENTACIÓN DE ADN DE DOBLE CADENA COMO BIOMARCADOR MOLECULAR DE INFERTILIDAD MASCULINA

Isabel Sánchez Lozoya[1], E Fernández García[1], E García-Guixé[2], M Sandalinas Alabert[2], C Giménez Sevilla[2], A Gómez Duro[1]
[1]DiNA Science - Madrid (Madrid), [2]DiNA Science - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

El valor diagnóstico del seminograma en cuanto a la evaluación de la competencia de la fecundación de los espermatozoides es limitado. Si además buscamos evaluar la integridad del genoma espermático, esencial para el desarrollo normal del embrión, se pone de manifiesto la necesidad de analizar nuevos biomarcadores moleculares relacionados con la infertilidad masculina.

El estudio de la fragmentación del ADN de los espermatozoides (SDF) permite detectar roturas de cadena simple (SS-DBs) y de cadena doble (DS-DBs). Las SS-DBs están presentes de forma generalizada en todas las regiones del genoma, se relacionan con el estrés oxidativo, reducción de las tasas de fecundación y ausencia de embarazo clínico, alargando el tiempo para la concepción. Las DS-DBs se localizan en regiones concretas del genoma y provocan un mayor riesgo de aborto y de fallo de implantación.

OBJETIVO

Analizar el índice de fragmentación de ADN espermático de cadena doble de varones incluidos en tratamientos de reproducción asistida, y su relación con los parámetros del seminograma.

MATERIAL Y MÉTODO

Se analizaron muestras seminales criopreservadas, de 704 pacientes sometidos a tratamientos de reproducción asistida. La media de edad fue de 41 años (36-44). Trescientas sesenta muestras presentaban un seminograma normal según criterios de la OMS, mientras que 265 mostraron un resultado alterado. En 79 muestras no se contaba con información del seminograma.

Mediante el ensayo cometa se analizaron las roturas DS-DBs en 300 espermatozoides por muestra. Se siguió la clasificación de Ribas-Maynou (2012): controles fértiles (valores del 6%-58%), zona gris (valores del 51%-58%), y pacientes infértiles (valores del 51%-85%).

La correlación entre variables continuas se determinó usando el coeficiente de correlación de Pearson. Los valores de $p<0,05$ fueron considerados estadísticamente significativos.

RESULTADOS

El 79,2% de los pacientes (553) presentan un índice de fragmentación (IF) en el rango de controles fértiles; el 8,45% (59) en la zona gris, y el 12,3% (86) en el rango de pacientes infértiles. La mediana [rango intercuartílico] del IF obtenido en cada uno de los grupos fue de 21,0 [15-32], 53,0 [52-56] y 66,5 [63-75], respectivamente.

El 18,3% de los pacientes con seminograma alterado presentaron un IF en el rango de pacientes infértiles, *versus* el 7,30% de los pacientes con seminograma normal ($p<0,001$).

El análisis de correlación de los resultados de fragmentación de ADN en pacientes con seminograma normal, confirma que a menor porcentaje de movilidad (a+b) espermática se produce un aumento del IF ($p<0,05$).

El análisis de correlación de los resultados de fragmentación de ADN en el grupo de pacientes con seminograma alterado, confirma un aumento del IF cuanto menor es el porcentaje de movilidad (a+b) y concentración espermática ($p <0,05$).

En la población analizada, el IF de DS-DBs es directamente proporcional a la edad del varón ($p<0,05$).

CONCLUSIONES

Los resultados indican que los valores de fragmentación del ADN espermático dependen del seminograma: el aumento en el IF de doble cadena está relacionado con una peor calidad seminal, determinada por un descenso en la movilidad y concentración espermática. A su vez, el aumento en la edad del varón conlleva un aumento en la fragmentación del ADN espermático.

El estudio de la fragmentación del ADN debe considerarse una opción más en el estudio del varón, ya que permite detectar factores que pueden producir resultados adversos del ciclo de reproducción asistida.

P-023

USO DEL ANALIZADOR CON INTELIGENCIA ARTIFICIAL LENSHOOKE X1 PRO PARA EVALUACIÓN SEMINAL EN COMPARACIÓN CON EL SISTEMA CASA Y ESTUDIO MANUAL DE LA MORFOLOGÍA ESPERMÁTICA

Gemma López Granollers[1], A Hernando Curto[2], R Lafuente Varea[1], E Carballo Pulido[1], J Canals Gracia[1], A Pujol Masana[1], D Mataró Marsal[1]

[1]CIRH - Grupo Eugin - Barcelona (Barcelona), [2]Universidad Autónoma de Barcelona - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

La infertilidad masculina es responsable de más del 40% de los casos de infertilidad de pareja, siendo el deterioro de la calidad seminal el factor con mayor incidencia. Un análisis seminal preciso y objetivo es crucial para el diagnóstico y el tratamiento del factor masculino.

Durante las últimas décadas, se han desarrollado sistemas de análisis con el objetivo de superar las limitaciones de precisión y consistencia obtenidos con el análisis microscópico convencional. Con este objetivo, sistemas de análisis semiautomatizado como CASA han sido implementados en el laboratorio, proporcionando datos precisos acerca de la cinética y la concentración. Aunque sigue siendo necesaria la intervención manual para la valoración de algunos parámetros, siendo menos reproducibles los resultados obtenidos.

Recientemente, han sido desarrollados nuevos sistemas completamente automatizados basados en inteligencia artificial con el objetivo de obtener resultados más objetivos y estandarizados. Uno de estos sistemas es LensHooke X1 PRO, que evalúa concentración, movilidad, pH y morfología de un modo preciso y comparable a los sistemas semiautomáticos.

OBJETIVO

Nuestro principal objetivo es evaluar si la valoración morfológica realizada mediante el sistema automático LensHooke X1 PRO es comparable a los resultados obtenidos con nuestro método microscópico convencional.

Adicionalmente, se pretende comparar los resultados de la evaluación seminal (concentración, movilidad y pH) realizada mediante el método convencional de nuestro laboratorio: sistema CASA (ISAS, Proiser); y el sistema LensHooke X1 PRO.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio consecutivo, prospectivo, pareado y unicéntrico, que incluyó 84 muestras de semen de pacientes analizadas entre febrero y septiembre de 2022.

Las muestras fueron analizadas mediante nuestro sistema semiautomático convencional ISAS, tinción Diff-Quick, valoración manual de morfología espermática mediante microscopía de contraste de fases (100X) y tiras colorimétricas para pH; y mediante el sistema automatizado LENSHooke X1 PRO.

Para cada muestra se valoraron los siguientes parámetros: concentración espermática (M/mL), movilidad (% movilidad progresiva. % movilidad no-progresiva, % movilidad total), pH y % formas normales.

Se utilizó el test de Spearman para estudio de correlaciones y el test Kruskal-Wallis para comparación de medias entre las diferentes variables estudiadas.

RESULTADOS

La media del porcentaje de formas normales valorada mediante el sistema LENSHooke resultó significativamente superior a las formas normales valoradas mediante nuestro sistema microscópico convencional (4,62 *vs.* 3,07, p< 0,00001).

El estudio estadístico de las variables mostró una buena correlación entre los valores registrados por ambos sistemas para la concentración espermática. En cambio, para las variables de movilidad, se observó una correlación débil en el porcentaje de movilidad total, el porcentaje de movilidad progresiva y el porcentaje de espermatozoides inmóviles; pero la correlación de la movilidad no-progresiva entre ambos sistemas resultó no significativa.

En cuanto a la comparación entre las medias de las diferentes variables, todas mostraron diferencias estadísticamente significativas excepto para la concentración.

CONCLUSIONES

Nuestro estudio reveló diferencias estadísticamente significativas en todas las variables analizadas, exceptuando la concentración espermática, para los dos sistemas de análisis. Se observó que el sistema LENSHooke sobreestimaba tanto el porcentaje de formas normales como la movilidad progresiva en comparación a los valores obtenidos mediante nuestro sistema habitual.

Dado que el principal objetivo de la incorporación de sistemas de análisis completamente automáticos a la rutina diaria del laboratorio debería ser la minimización de la objetividad y la mejora de la precisión en los resultados, consideramos necesarios más estudios comparativos entre los diferentes sistemas disponibles en el mercado, tanto automáticos como semiautomáticos, con el objetivo de establecer el sistema más preciso y reproducible y corregir los patrones de movilidad y morfología de los sistemas automáticos.

P-024

RESULTADOS DEL ÍNDICE DE FRAGMENTACIÓN DE ADN ESPERMÁTICO EN POBLACIÓN CONTROL

Esther Fernández García[1], R Pandolfi[2], A Gómez Duro[1], E García-Guixé[3], M Sandalinas Alabert[3], C Giménez Sevilla[3], J Gosálvez[4]

[1]DiNA Science - Madrid (Madrid), [2]Clínica Tambre - Madrid (Madrid), [3]DiNA Science - Barcelona (Barcelona), [4]Halotech DNA - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

La fragmentación del ADN espermático es un biomarcador relacionado con la fertilidad del varón. Un alto porcentaje de espermatozoides con el ADN fragmentado en el eyaculado se asocia con una mayor dificultad para la concepción y un mayor riesgo de aborto. Las roturas de cadena sencilla se asocian a una menor fertilidad, mientras que las de cadena doble se relacionan con alteraciones cromosómicas, retraso en el crecimiento del embrión y menor tasa de implantación.

OBJETIVO

Determinar los valores de normalidad para las roturas de cadena doble y sencilla del ADN espermático mediante la técnica de ensayo Cometa.

MATERIAL Y MÉTODO

Se estudió una población de 50 donantes anónimos de semen con fertilidad probada, cuya media de edad era de 25,2 años (18-38). Las muestras fueron criopreservadas entre 2007 y 2017. Todos los donantes presentaron análisis seminal (concentración, movilidad y morfología) dentro de los parámetros de normalidad definidos por la OMS.

El ensayo Cometa consiste en la inclusión de los espermatozoides en un microgel de agarosa y su posterior desproteinización y electroforesis en gel. Cuando la electroforesis se realiza en pH neutro, el ADN permanece en forma de doble cadena y solo se observa un cometa en aquellos espermatozoides en los que se han producido roturas en las dos cadenas del ADN. Si la electroforesis se realiza en dos dimensiones (ensayo de cometa doble), primero en pH neutro, y luego en pH alcalino, se pueden detectar tanto las roturas de cadena sencilla (SS-DBs) como las de cadena doble (DS-DBs).

A todas las muestras se les realizó el test de dispersión de la cromatina espermática (SCD, Halosperm®).

RESULTADOS

La distribución de los valores obtenidos de fragmentación de ADN en la población control se han representado gráficamente en las figuras 1, 2, y 3. Se consideran normales los valores iguales o inferiores a la mediana (percentil 50, p50) y patológicos aquellos valores de fragmentación superiores al percentil 99 (p99) de la población control. Los valores comprendidos entre el p50 y p84 (1 desviación estándar) se consideran "zona gris" o "zona de incertidumbre".

Los percentiles obtenidos de la distribución de las variables de fragmentación de doble cadena para el ensayo Cometa Neutro fueron: 13 (p50), 26 (p84) y 53 (p99) (Fig. I).

Los percentiles obtenidos de la distribución de las variables de fragmentación de doble cadena para el ensayo de Doble Cometa fueron: 10 (p50), 19 (p84) y 43 (p99) (Fig. II). Y para la de cadena sencilla: 18 (p50), 29 (p84) y 44 (p99) (Fig. III).

CONCLUSIONES

El estudio de los índices de fragmentación espermática en una población control de donantes de semen mediante las técnicas de Cometa Neutro y Doble Cometa, ha permitido establecer los puntos de corte que definen población fértil, zona gris o población infértil, mediante los valores obtenidos de las roturas del ADN tanto de cadena doble como de cadena sencilla.

FIGURAS

Figura I. Cometa Neutro: índice de fragmentación de cadena doble. Los puntos representan los valores de la población fértil incluidos en la variable. La barra vertical es un ejemplo del resultado para un paciente (40% de IF).

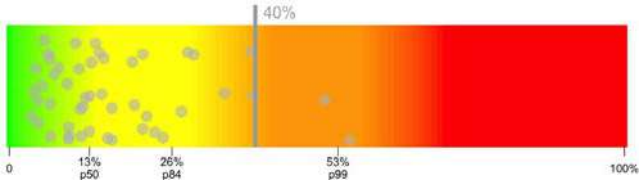


Figura II. Doble Cometa: índice de fragmentación de cadena doble. Los puntos representan los valores de la población fértil incluidos en la variable. La barra vertical es un ejemplo del resultado para un paciente (40% de IF).

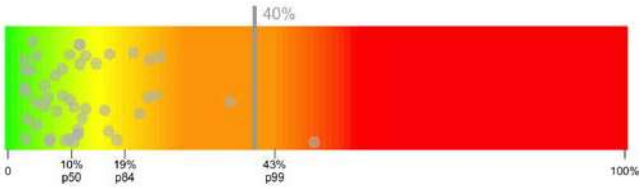
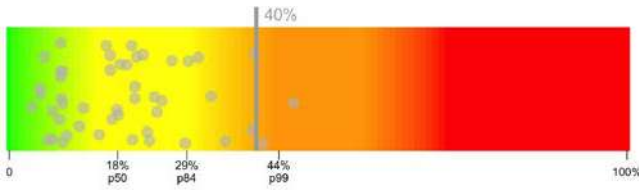


Figura III. Doble Cometa: índice de fragmentación de cadena sencilla. Los puntos representan los valores de la población fértil incluidos en la variable. La barra vertical es un ejemplo del resultado para un paciente (40% de IF).



P-025

TRES SNPS EN LOS GENES MYO18B, SYNGR1 Y GJB3, IDENTIFICADOS MEDIANTE GWAS, PREDISPONEN A UN MAYOR RIESGO DE ANEUPLOIDÍAS EMBRIONARIAS

Belén Lledo Bosch, A Marco Llopis, R Morales Sabater, JA Ortiz Salcedo, E García Hernández, FM Lozano García, H Fernández Cobas, J Guerrero Villena, A Bernabéu García, R Bernabéu Pérez
Instituto Bernabéu
Alicante (Alicante)

INTRODUCCIÓN

Las aneuploidías embrionarias son frecuentes en los embriones humanos. Aunque el principal factor de riesgo es la edad materna, recientemente se ha demostrado que determinadas variantes genéticas en mujeres jóvenes pueden aumentar la tasa de aneuploidías embrionarias y explicar su variabilidad entre pacientes de una misma edad. Los estudios de asociación de todo el genoma (GWAS) permiten identificar variantes genéticas asociadas a enfermedades o rasgos complejos.

OBJETIVO

El objetivo del presente trabajo ha sido identificar variantes genéticas asociadas a una mayor tasa de aneuploidías embrionarias.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio prospectivo que incluyó 511 biopsias de trofectodermo de 160 parejas que realizaron genotipado mediante secuenciación de exoma clínico (WES) y PGT-A entre noviembre de 2019 y noviembre de 2022. Los criterios de inclusión fueron: edad de la mujer inferior a 36 años y cariotipo normal en ambos miembros de la pareja. Los pacientes se dividieron en dos grupos según la tasa de aneuploidía embrionaria esperada por la edad materna: ≤ 50% como grupo control (n=94) y >50% grupo de estudio (n=66). La secuenciación de todo el exoma se realizó empleando Trusight One Expanded Sequencing Panel (Illumina®). Para el análisis estadístico de GWAS se realizó un análisis de regresión lineal asumiendo el efecto aditivo de cada alelo, empleando PLINK v2.1 y rMVP. Los resultados se visualizaron mediante gráficas Manhattan. Los p-valores iguales o menores a 10-4 fueron considerados como sugestivos de asociación. Los resultados del GWAS se validaron en una muestra independiente (n=110). El test exacto de Fisher se utilizó para comparar la distribución de los genotipos.

RESULTADOS

La edad media de las pacientes incluidas en el estudio fue 25,69+4,01 años, sin diferencias entre el grupo control y estudio (26,63 *vs.* 25,81 p=0,84). Tampoco se observaron diferencias en las características clínicas de las pacientes entre los grupos. En cuanto a los resultados de PGT-A, no se observaron diferencias entre el número de ovocitos y MII recuperados. Sin embargo, el número medio de embriones biopsiados por paciente fue menor en el grupo de estudio (4,52 *vs.* 3,25; p<0,05). Por último, como era de esperar, el porcentaje de aneuploidías fue mayor en el grupo de estudio (14,2 *vs.* 66,49; p<0.05). En el análisis de GWAS se incluyeron 50.289 variantes. Se identificaron 3 SNPs sugestivos de asociación: rs4822668, rs35983826 y rs4821888, localizados en los genes MYO18B, GJB3 y SNGR1 respectivamente. En una segunda fase se realizó el estudio de validación que mostró una distribución diferente para cada genotipo en el grupo de estudio y control. El genotipo GG del rs4822668 en el gen MYO18B fue más prevalente en el grupo de estudio (25,4 *vs.* 48,8%; OR 2,78 IC 95%:1,152-6,850). En el rs35983826 localizado en el gen GJB3, el genotipo CC fue más prevalente en la población de estudio que control (68,7% *vs.* 93,0%; OR 0,17 IC 95%:0,027-0,620). Por último, el genotipo AA del rs4821888 en el gen SYNGR1 fue más prevalente en el grupo de estudio que en el control (11,9% *vs.* 27,9%; OR 0,35 IC 95%:0,112-1,056).

CONCLUSIONES

Se han identificado 3 SNPs asociados a una alta tasa de aneuploidías embrionarias en mujeres jóvenes. El riesgo de incre-

mento de aneuploidías puede llegar a ser 6 veces mayor en aquellas pacientes portadoras del genotipo de riesgo frente al resto de genotipos. La identificación de variantes genéticas asociadas al riesgo de aneuploidías embrionarias pone de manifiesto el potencial de los datos genómicos para predecir un mayor riesgo de aneuploidías embrionarias, lo que permitiría dar un consejo genético anticipado e individualizado a los pacientes.

P-026

EL ÍNDICE DE MASA CORPORAL PATERNO AFECTA EL DESARROLLO EMBRIONARIO TEMPRANO PERO NO TIENE IMPACTO EN LOS RESULTADOS CLÍNICOS: ESTUDIO *TIME-LAPSE* DE 7.656 EMBRIONES DE CICLOS DE DONACIÓN DE OVOCITOS

Andreu Quintana Vehí[1], MJ Zamora Berlanga[1], A Pujol Massana[2], F Zambelli[3], A Rodríguez Aranda[3], I Miguel Escalada[1], M Popovic[3]

[1]Clínica Eugin - Barcelona (Barcelona), [2]CIRH - Barcelona (Barcelona), [3]Eugin Group - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

El sobrepeso y la obesidad son problemas de salud a nivel mundial, desde 1980 el número de personas con un índice de masa corporal (IMC) elevado se ha triplicado. Múltiples estudios sugieren que la obesidad materna afecta negativamente a los resultados reproductivos, pero existe cierta controversia sobre su efecto sobre el desarrollo embrionario preimplantacional. En cambio, se ha prestado menos atención en la literatura al efecto del IMC paterno. Varios estudios lo han asociado con infertilidad y parámetros seminales alterados, pero pocos han evaluado el efecto del IMC en el desarrollo embrionario, evidenciando la necesidad de investigar la relación existente entre la obesidad masculina en el desarrollo preimplantacional.

OBJETIVO

Determinar si el desarrollo embrionario preimplantacional y el éxito reproductivo se ven afectados por la obesidad paterna.

MATERIAL Y MÉTODO

En este estudio retrospectivo se incluyeron 7.656 embriones de 1.342 ciclos de donación de ovocitos con ICSI, realizados entre abril de 2018 y diciembre de 2021 en dos centros de reproducción asistida. El esperma provenía de pareja (n=1087) o donante (n=255), en fresco (n=460) o congelado (n=835). Sólo se tuvo en cuenta el resultado de la primera transferencia embrionaria, bien fuera en fresco (n=1140) o congelado (n=202). Se transfirió un único embrión en 1.089 casos y dos embriones en 238. Las transferencias se realizaron tanto a (n=424) como en blastocisto (n=903). Los pacientes se separaron en tres grupos, basándose en indicaciones de la OMS: normopeso (IMC<24,9, n=677); preobesos, (IMC=20,0-29,9, n=533); y obesos (IMC>30, n=132). Se excluyeron del estudio los pacientes con factor masculino severo y los ciclos con test genético preimplantacional. Para evaluar la asociación entre IMC y morfocinética embrionaria o resultados clínicos, se realizaron análisis univariados y modelos multivariantes ajustados por las siguientes variables: origen y estado de la muestra de semen, estado ovocitos, numero de ovocitos inseminados, día de la transferencia, y número de embriones transferidos. Un p-valor<0,05 se consideró estadísticamente significativo.

RESULTADOS

La tasa de fecundación no se vio afectada por el IMC masculino (77,0%±18,9 normopeso; 77,4%±18,1 preobesos; 75,3%±19,9 obesos; p=0,62), tampoco en el análisis ajustado. Se observó un retraso en algunos parámetros morfocinéticos de embriones provenientes de varones obesos y preobesos: borrado de los pronúcleos (tPNf, p=0,0064) y divisiones de 2 a

5 células (t2-t3-t4-t5, p<0,005). Consecuentemente, la proporción de embriones tempranos de buena calidad también fue significativamente menor en pacientes con IMC más alto (normopeso, 62%; preobesos, 59%; obesos, 50,8%; p=0,02). Por el contrario, una vez pasado el estadio de 5 células, el tiempo de división a 8 células (t8), blastulación (tSB) y expansion (tB) fue comparable entre los tres grupos (p>0,05). El IMC paterno tampoco afectó al porcentaje de blastocistos de buena calidad (normopeso, 70,2%; preobesos, 73,4%; obesos, 75,5%; p=0,06). A pesar de encontrar diferencias de desarrollo embrionario en los estadios más tempranos, no se observaron efectos significativos en el embarazo bioquímico (normopeso, 64,7%; preobesos 64,1%; obesos, 58,7%; p=0,45), evolutivo (normopeso, 60,0%; preobesos, 58,8%; obesos, 52,9%; p=0,35) y tasa de recién nacido vivo (normopeso, 41,9%; preobesos, 42,0%; obesos, 34,9%; p=0,27). Los análisis multivariados ajustados corroboraron estos hallazgos.

CONCLUSIONES

Los embriones que provienen de varones obesos realizaron las primeras divisiones celulares más tarde que los normopeso, y en concordancia presentaron un menor número de embriones de buena calidad a día 3. Ni los eventos morfocinéticos posteriores a t5 ni el número de blastocistos de buena calidad se vieron alterados. Las diferencias tempranas tampoco afectaron a los resultados reproductivos, ya que tanto las tasas de embarazo como de recién nacido fueron comparables entre los tres grupos de IMC, sugiriendo que no se requiere un asesoramiento específico en pacientes obesos.

P-027

UN ALGORITMO DE APRENDIZAJE PROFUNDO PREDICE EL RESULTADO CLÍNICO A PARTIR DE UNA SOLA IMAGEN DEL BLASTOCISTO DESVITRIFICADO: EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD PREDICTIVA EN DIFERENTES ESCENARIOS

Arántzazu Delgado Mendive, L Conversa Martínez, TA Viloria Samochín, A Coello Perles, AC Cobo Cabal, M Meseguer Escrivá
IVI Valencia
Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN

Dado que la inteligencia artificial (IA) ha mostrado ser útil para evaluar la calidad embrionaria en fresco, también podría utilizarse para predecir el resultado de las transferencias de blastocistos congelados. La vitrificación es actualmente la técnica más segura y eficaz para este fin, pero muchos de los embriones mejor clasificados morfológicamente antes de la vitrificación no mantienen sus características al volver a la temperatura ambiente. Así pues, el periodo entre la desvitrificación y la transferencia podría ser clave a la hora de determinar la competencia de estos embriones.

OBJETIVO

Determinar si la puntuación asignada por un algoritmo de IA a una imagen de un embrión se relaciona con el resultado clínico en blastocistos vitrificados. Comprobar si su capacidad predictiva varía cuando las imágenes son tomadas antes o después de la vitrificación, y en función del tiempo de incubación posterior a la desvitrificación.

MATERIAL Y MÉTODO

Este estudio retrospectivo de cohortes emparejadas incluyó 749 blastocistos de día 5/6 con resultado clínico conocido. 356 blastocistos se cultivaron en incubadores *time-lapse*

EmbryoScope y se transfirieron frescos como controles, y se proporcionó una imagen de cada embrión previa a la transferencia al algoritmo (Life Whisperer Viability), que devolvió puntuaciones de 0,0 a 10,0. 393 embriones se vitrificaron y desvitrificaron con el método Cryotop, y se colocaron en incubadores EmbryoScope durante 1-6 horas entre la desvitrificación y la transferencia, momento en el que se tomó una imagen y se obtuvo una puntuación de IA. Se tomó una imagen *time-lapse* previa a la vitrificación de 319 de los embriones vitrificados y se obtuvo una puntuación de IA. Los datos se analizaron mediante la prueba chi-cuadrado o ANOVA unidireccional, y se realizó un análisis de regresión logística. Se calculó el rendimiento de la evaluación mediante el área bajo la curva (AUC) ROC (*receiver operating characteristic*).

RESULTADOS

La puntuación de IA de cada grupo fue significativamente diferente***: 5,39±2,81 para las imágenes tomadas después de la desvitrificación (DVi), 6,26±2,98 para las imágenes tomadas antes de la vitrificación (AVi), y 7,36±2,44 para las imágenes de embriones transferidos en fresco (TFi). Las puntuaciones medias para cada grupo en embriones implantados y no implantados, respectivamente, fueron: 5,76±2,7 frente a 5,02±2,88 para DVi**, 6,38±3,04 frente a 6,15±2,92 para AVi, y 7,70±2,12 frente a 7,09±2,63 para TFi*. La contribución de cada unidad de la puntuación del algoritmo a la implantación fue estadísticamente significativa para DVi y TFi: DVi Odds Ratio (OR)=1,1 [IC 95%: 1,03-1,19]**, AVi OR=1,03 [0,95-1,11], y TFi OR=1,11 [1,02-1,22]*. Para DVi, la puntuación de IA predijo con éxito el embarazo evolutivo de embriones vitrificados no analizados mediante test genético preimplantacional (PGT) con un AUC de 0,65 [IC 95%: 0,59-0,71]***. Combinando el algoritmo y la morfología ASEBIR, se alcanzó un AUC de 0,68 [0,62-0,74]*** en la predicción del embarazo evolutivo en blastocistos no sometidos a PGT. La capacidad del algoritmo para predecir la implantación aumentó con tiempos de incubación post-desvitrificación más largos: Q1 (<2,8 h) OR=1,05, Q2 (2,8-3,41 h) OR=1,01, Q3 (3,41-4,07 h) OR=1,19 [1,02-1,38]*, y Q4 (>4,07 h) OR=1,27 [1,07-1,5]**. *P < 0,05, **P < 0,01, ***P < 0,001

CONCLUSIONES

El algoritmo predijo el embarazo evolutivo en blastocistos vitrificados no PGT con un AUC de 0,65. Los resultados sugieren que el algoritmo predice mejor la implantación a partir de una imagen del embrión descongelado que a partir de una imagen previtrificación, y con tiempos de incubación post-desvitrificación más largos, pero esto debería confirmarse en un tamaño muestral mayor. El uso de modelos predictivos que puedan evaluar la morfología embrionaria tras la descongelación puede ayudar a predecir qué embriones darán lugar a un fallo de implantación con suficiente antelación para descongelar otro con más posibilidades de éxito.

P-028

SÍNDROME DE LA EMBRIÓLOGA

Iván Ochando Sánchez[1], MT Sánchez Núñez[2], E Güell Penas[3], JI Mazzanti Pérez[3], P Fernández Berrocal[4]
[1]Hospital General de Albacete - Albacete (Albacete), [2]Universidad de Castilla-La Mancha - Cuenca (Cuenca), [3]Centre Procrear - Reus (Tarragona), [4]Universidad de Málaga - Málaga (Málaga)

INTRODUCCIÓN

Una de las mayores preocupaciones de los embriólogos clínicos es mantener unas tasas de éxito óptimas que reflejen un desempeño adecuado de sus funciones y permitan a los pacientes obtener los mejores resultados. En ocasiones dichas tasas se ven disminuidas, pudiendo ser múltiples los factores que lo provocan.

OBJETIVO

El objetivo del estudio fue crear un modelo estadístico que, mediante el análisis de variables relacionadas con el perfil y condiciones laborales de los embriólogos clínicos, permitiera predecir la disminución de tasas de éxito individuales, definiendo este conjunto de fenómenos como síndrome de la embrióloga.

MATERIAL Y MÉTODO

El estudio fue realizado entre noviembre de 2020 y abril de 2021. Se realizó una encuesta dirigida a todos los especialistas en embriología clínica en activo en España. El formulario fue cumplimentado por 184 sujetos. Entre los instrumentos de evaluación utilizados se incluía un cuestionario sobre variables sociodemográficas y test que permiten analizar el estado de salud física y mental de los trabajadores, así como su calidad de vida profesional. Se obtuvo un total de 274 variables continuas, sobre las que se realizó el estudio de correlación entre pares de variables y la comparación de medias mediante t-Student o U de Mann-Whitney, en función del patrón de distribución y varianza de cada variable, para la variable respuesta "P47: Tasa de fecundación individual en ovocitos propios dicotomizada, utilizando como punto de corte el establecido por los indicadores de calidad de ASEBIR: Resultados Subóptimos (RS: P47<75%) y Resultados Óptimos (RO: P47≥75%) y considerando el nivel de significación en p<0,05. Se construyó un Modelo Lineal Generalizado (GLM) con las variables con resultados significativos en las pruebas estadísticas realizadas, eliminando las que mantenían elevado grado de correlación entre ellas. Se calcularon las Odds Ratios ajustadas (aOR, 95% IC) para las variables que conformaron el modelo. Se entrenó el modelo GLM para predecir la variable P47 dicotomizada usando la V-fold Cross-Validation (80%/20% train/test) en un total de 1.000 interacciones, obteniéndose una matriz de confusión y metrics asociadas (F1-SCORE, AUC, Acierto, etc.).

RESULTADOS

Un total de 13 variables fueron estadísticamente significativas en la comparación de medias. Entre ellas, 6 conformaron el modelo GLM (Figura I): la variable "bf3" mide la personalidad responsable y obtuvo un valor de p=0,002 y una Odds Ratio (OR)=1,90; la variable "Cargo" obtuvo un valor de p=0,001 y una OR= 1,65; la variable "Dolor de espalda" obtuvo un valor de p=0,002 y OR=0,67; la variable "MBI_HSS_D" mide el grado de despersonalización en *burnout* y obtuvo un valor de p=0,90 y OR=0,77; la variable "MBI_HSS_PA" mide el grado de realización personal y obtuvo un valor de p=0,106 y OR=1,23 y la variable "Medios_QC" mide la cantidad de medios disponibles de un centro para realizar controles de calidad y obtuvo un valor de p=0,101 y una OR=1,88. Las tres últimas variables a pesar de tener una OR no significativa, la exclusión de las mismas provocaba una disminución en el rendimiento del modelo. El modelo obtuvo una predicción con un buen equilibrio entre la precisión y recall (F1-Score=73,8%), con una AUC de 0,73 tras predecir el resultado de P47 en la validación cruzada.

CONCLUSIONES

Existe una relación entre las tasas de éxito individuales de los embriólogos clínicos y distintas variables relacionadas con su salud física y mental, condiciones laborales y personalidad. A este conjunto de signos se le otorga el nombre de síndrome de la embrióloga que es una fenómeno medible y predecible por un modelo lineal generalizado. Esto sirve de ayuda para poder establecer medidas que permitan prevenir, reducir y tratar la aparición del síndrome de la embrióloga en los profesionales de los laboratorios de embriología clínica.

P-029

CADHERIN1 ES ESENCIAL PARA LA BLASTULACIÓN: UN ENFOQUE *KNOCKOUT* MEDIANTE CRISPR-CAS9 EN EMBRIONES HUMANOS

Anna Ferrer Vaquer, A Pujol, J Bello, A Rodríguez Aranda, R Vassena, G Tiscornia
Euvitro
Barcelona (Cataluña)

INTRODUCCIÓN

La compactación embrionaria implica un aumento de la adhesión intracelular mediada por E-cadherina. Al mismo tiempo, los blastómeros externos experimentan una polarización apical-basal y están destinados a generar el trofectodermo, el primer epitelio del embrión. Los embriones de ratones desprovistos de E-cadherina pueden completar la compactación impulsada por la E-cadherina materna, pero no logran formar un epitelio trofoectodérmico ni un blastocele. Si bien el desarrollo preimplantacional en ratones y humanos comparte eventos comunes, también existen diferencias significativas específicas de especie. Para determinar el papel de Cadherin1 (CDH1) en el desarrollo preimplantacional humano, se mutagenizó el gen E-Cadherin utilizando el sistema Crisper-Cas9 en embriones humanos 3PN.

OBJETIVO

Evaluar el rol de Cadherin1 en el desarrollo preimplantacional humano.

MATERIAL Y MÉTODO

Este es un estudio prospectivo de investigación básica. Se recolectaron 64 cigotos tripronucleares (3PN) de pacientes que se sometieron a FIV entre octubre de 2018 y octubre de 2019. Los cigotos 3PN se vitrificaron con pronúcleos aún visibles, se almacenaron y calentaron antes del procesamiento. 58 cigotos 3PN sobrevivieron al calentamiento y se les inyectó una combinación equimolar de 3 guías dirigidas al exón 2 de CDH1 (200 ng/ul) o una guía control junto con Cas9. El desarrollo de 3PN fue monitoreado por microscopía de lapso de tiempo, tomando el tiempo de ICSI como T=0. El cultivo se detuvo en D6 o cuando los embriones se detuvieron durante 24 horas. El ADN genómico se obtuvo por amplificación de desplazamiento múltiple. Se realizó la secuenciación de amplicón del locus mutagenizado y de otros similares para evaluar efectos no específicos.

RESULTADOS

Se inyectaron con éxito 23 embriones 3PN de control y 29 tratados. En el grupo de control y tratado respectivamente, 10/23 (43,5%) y 15/29 (51,7%) embriones no se desarrollaron más allá de la etapa de 8 células; 1/23 (4,3%) y 3/29 (10,3%) embriones no se desarrollaron más allá de la etapa de 16 células; 4/23 (17,4%) y 3/29 (10,3%) embriones comenzaron a compactarse, pero no iniciaron la cavitación. 8/23 (34,8%) y 8/29 (22,8%) comenzaron a cavitar (todas las diferencias fueron no significativas, $p<0,05$, prueba exacta de Fisher). Curiosamente, mientras que 6/23 (26,1%) de los embriones de control formaron blastocistos estables, solo 1/29 (3,4%) alcanzaron la etapa de blastocisto estable después de la ablación de CDH1 ($p = 0,035$, prueba exacta de Fisher). Para determinar la eficiencia de edición, secuenciamos tanto el exón 2 de CDH1 como 7 sitios similares en secuencia al blanco para cada una de las 3 guías utilizadas, en 6 embriones de control y 26 embriones tratados. 14/26 (53,8%) de los embriones tratados presentaron alteraciones graves en el exón 2 de CDH1, presentando hasta 3 deleciones e indeles cortos entre y alrededor de los sitios guía en el exón 2, mientras que 13/26 (46,2%) de los embriones tratados no se vieron afectados. No se observaron ediciones fuera del locus blanco. Ninguno de los embriones editados alcanzó la etapa de blastocisto.

CONCLUSIONES

La pérdida de CDH1 compromete la cavitación en el desarrollo de embriones humanos, presumiblemente al afectar las uniones célula-célula y la integridad de las células trofoblásticas, lo que resulta en una menor tasa de formación de blastocistos.

P-030

PATRONES DE FORMACIÓN DE LA MÓRULA Y REPERCUSIÓN CLÍNICA

Ana Munuera Puigvert, V Montalvo Pallès, J Galache Poveda, C Buza Tarna, B Marquès López-Teijón, M López-Teijón
Institut Marquès
Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

La tecnología *time-lapse* nos permite detectar fenómenos hasta entonces no valorables con la microscopía óptica. La mayoría de laboratorios excluyen el D+4 de cultivo en la valoración morfocinética, momento en el que se alcanza el estadio de mórula, por lo que esta fase ha recibido poca atención como fuente de información del desarrollo embrionario. La compactación es el primer evento en la morfogénesis de la mórula y se basa en la formación de una masa celular compacta. El proceso de compactación puede implicar la integración de todos, o algunos blastómeros en la mórula. Las células discriminadas no se reincorporarán al embrión y no constituirán parte blastocisto.

En estudios previos, se ha observado que aquellos embriones que sufren eventos de mal pronóstico como la división directa en sus primeras divisiones exhibían una mayor tasa de exclusión y/o extrusión de blastómeros que aquellos con un desarrollo uniforme.

Por todo ello, la compactación podría estar involucrada en un posible control de calidad del desarrollo embrionario, apoyando la hipótesis que defiende la existencia de un mecanismo de autocorrección embrionaria cuyo objetivo es reducir la carga aneuploide y poder así dar lugar a blastocistos potencialmente sanos.

OBJETIVO

Estudiar los patrones de formación de la mórula y establecer una relación entre las dinámicas observadas y los resultados de laboratorio y clínicos.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo que incluye 488 embriones que alcanzaron el estadio de mórula provenientes de 106 ciclos de donación de óvulos sin PGT realizados en 2021. Todos los embriones fueron cultivados en Embryoscope® y evaluados restrospectivamente después de haber sido descartados, transferidos o vitrificados; habiendo evaluado inicialmente su evolución morfocinética hasta D+5/6 excluyendo el D+4. Anotamos si alguna célula quedaba fuera de la mórula sin llegar a fusionarse (exclusión) o si el embrión expulsó alguna célula después de iniciar la compactación (extrusión).

En función del patrón de formación de la mórula se establecieron los siguientes grupos de embriones en orden creciente de complejidad morfodinámica. GC (Grupo Control; N=247): incluyen todos los blastómeros en la formación del embrión, EXCL (N=117): embriones que excluyen células, EXTR (N=63): extruyen células y EXCL-EXTR (N=61): realizan ambas acciones.

Se transfirió un único embrión y los resultados clínicos obtenidos fueron comparados con los patrones morfodinámicos de compactación con el test de Chi-cuadrado.

RESULTADOS

Un 63,8% de los embriones que alcanzan el estadio de mórula resultan blastocistos de buena calidad (BBC).
Dentro de los tres grupos de estudio, el que presentó la tasa de BBC más elevada fue el Grupo EXCL. A medida que el patrón de formación de la mórula era más complejo se observaba una menor tasa de formación de blastocisto de buena calidad, siendo los grupos EXTR y EXCL-EXTR los que presentaban las tasas más alejadas del GC; todas ellas estadísticamente

significativas (p<0,0005). Una vez transferidos, estos embriones alcanzan tasas de embarazo, aborto y nacido equivalentes al GC (p>0,0005); (Tabla I).

CONCLUSIONES

Gracias al *time-lapse* advertimos que ciertos patrones anómalos de compactación durante la formación de la mórula podrían tener una razón de supervivencia embrionaria, reubicando y dejando fuera del blastocisto aquellas células que podrían afectar negativamente al porvenir del blastocisto. Considerando la exclusión el patrón menos complejo ya que los blastómeros no llegan a incluirse en la mórula y la extrusión el patrón más aberrante debido a la complejidad dinámica que conlleva, podemos afirmar que a más complejidad de compactación, menos capacidad de alcanzar el estadio de blastocisto. Sin embargo, aquellos que llegan a blastocisto tienen el mismo potencial reproductivo que los embriones cuya mórula compacta con todas sus células.

TABLAS

Tabla I. Resultados de laboratorio y clínicos obtenidos en el estudio. Superíndices diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,005).

	N	Tasa BBC	Tasa Embarazo	Tasa Embarazo Clínico	Tasa Aborto	Tasa Nacido
EXCL	23,98% (117)	65,45%[a] (72)	51,52% (17)	51,52% (17)	15,15% (5)	36,36% (12)
EXTR	12,91% (63)	42,03%[b] (29)	36,84% (7)	36,84% (7)	5,26% (1)	31,58% (6)
EXCL-EXTR	12,50% (61)	15,12%[c] (13)	28,57% (2)	28,57% (2)	0,00% (0)	28,57% (2)
GC	50,61% (247)	85,11%[d] (200)	56,07% (60)	57,01% (61)	5,61% (6)	37,38% (40)

P-031

PERFIL ENDOMETRIAL DE PACIENTES CON FALLO DE IMPLANTACIÓN: RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE RECEPTIVIDAD, ESTUDIO DEL MICROBIOMA Y PERFIL INMUNOLÓGICO

Leire Díez Tercero, D Campos Rodero, A Martínez Lara, C Díaz López, D Cotán, C Giménez Sevilla, M Sandalinas Alabert
DiNA Science
Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

Los estudios endometriales proporcionan un conocimiento exhaustivo de la receptividad endometrial con la determinación de la ventana de implantación, así como de la funcionalidad con el análisis del estado inmunológico y la composición del microbioma endometrial. Estos resultados permiten obtener una visión general del estado del endometrio y así proporcionar recomendaciones personalizadas para cada paciente. Sin embargo, estas pruebas están en constante evolución debido a las nuevas evidencias que se van generando en base a los resultados de la prueba combinados con el seguimiento clínico.

OBJETIVO

Determinar cuáles son los perfiles endometriales más frecuentes en pacientes con fallos de implantación.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio retrospectivo con un total de 861 muestras de 833 pacientes (edad media=39±4,7 años) que se sometieron a un análisis de receptividad endometrial y/o microbioma y/o perfil inmunológico. Las pacientes se sometieron a una biopsia endometrial para el análisis de, al menos, una de las pruebas mencionadas.

El estudio de la receptividad se realizó mediante el análisis por qPCR del perfil de expresión génica de 48 genes relacionados con la receptividad y la respuesta inmune feto-materna. El análisis del microbioma se basó en la determinación de la presencia de bacterias lácticas, bacterias oportunistas y patógenos (bacterias, hongos y virus) mediante qPCR en tiempo real. Por último, la evaluación del perfil inmunológico se realizó mediante citometría de flujo, determinando la proporción de distintos subtipos de células NK relacionadas con la funcionalidad endometrial. Las tasas de resultado de cada perfil se calcularon en términos de porcentaje con respecto al total de muestras analizadas.

RESULTADOS

El estudio de receptividad se realizó en 713 muestras. El 24% mostró una ventana de implantación desplazada, bien con un endometrio prereceptivo (que aún no ha alcanzado la ventana de implantación), o bien con un endometrio postreceptivo (que ha dejado atrás la ventana de implantación), lo que podría explicar los fallos de implantación previos en estas pacientes. El resto de las muestras presentaron resultados de receptividad normales (76%).

El análisis del estado inmunológico se realizó en 73 muestras, de las que el 8,2% presentaban un perfil equilibrado. De las muestras con un resultado alterado (91,8%), la mayoría mostraron un desequilibrio en la distribución de las células NK que conduce a un ambiente endometrial inflamatorio (76,7%).

El microbioma endometrial se analizó en 616 muestras. El 20,5% de las muestras se clasificaron como eubióticas (*Lactobacillus* dominante) mientras que el 79,5% se clasificaron como disbióticas (*Lactobacillus* no dominante). La presencia de patógenos (bacterias facultativas y patógenos estrictos) se detectó en el 34,9% de las muestras analizadas. Los patógenos encontrados con mayor frecuencia fueron *Ureaplasma* spp. (64 muestras) y *Gardnerella vaginalis* (99 muestras), seguidos de otros patógenos con menor presencia (*Mycoplasma, Chlamydia, Trichomonas, Streptococcus* y *Actinomyces*). Se

detectó la presencia de hongos (*Candida*) y virus en el 7% y el 1,6% de las muestras analizadas, respectivamente.

CONCLUSIONES

Diversos estudios han indicado que las pruebas endometriales podrían ser de utilidad en pacientes en las que previamente se han descartado otras causas de fallo de implantación (como, por ejemplo, el estado cromosómico del embrión). Los resultados obtenidos muestran que, a pesar de que un elevado porcentaje de las pacientes presentaron un estudio de receptividad con una ventana de implantación receptiva (76%), el análisis de la funcionalidad endometrial (microbioma endometrial y/o estado inmunológico) mostró perfiles alterados en un 86,4% de estas pacientes, que podrían explicar los fallos de implantación. Estas observaciones permiten valorar nuevas estrategias para mejorar el entorno endometrial y lograr así una implantación exitosa.

P-032

RECUPERACIÓN DE LA CAPACIDAD REPRODUCTIVA EN VARONES CON LINFOMA DE HODGKIN

Javier del Río Riego, L Pascual García, T Rodríguez Pérez, A García Belda, M Segovia Amaro, C González Varea, E Gómez García
Hospital U. La Paz
Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

El linfoma de Hodgkin (LH) es la neoplasia más frecuente en la población entre 15 y 24 años. Aunque el 30-40% de los casos se diagnostican en fases avanzadas, el pronóstico en general es muy bueno, dado que la supervivencia se estima alrededor del 80%.

Los dos tratamientos terapéuticos más utilizados en el LH en adultos son el régimen ABVD (Adriamicina, Bleomicina, Vinblastina, Dacarbazina) y el BEACOPP (Bleomicina, Etopósido, Adriamicina, Ciclofosfamida, Oncovín, Procarbazina, Prednisona) escalado. Uno de los efectos secundarios más graves de la quimioterapia y la radioterapia es el daño que producen sobre la función gonadal. El tipo de quimioterapia, las dosis totales acumuladas, la necesidad de consolidación con radioterapia en campos de irradiación concretos, así como la edad del paciente en el momento del tratamiento, son factores que determinan el impacto en la fertilidad.

Además, se sabe que la propia enfermedad podría afectar a la producción espermática, pues en el momento de la presentación clínica del LH sólo el 23% de los pacientes presentan normozoospermia al diagnóstico.

En el tipo BEACOPP se observa azoospermia en el 89% de los casos, mientras que con ABVD se presenta sólo en un 4%. Aunque la criopreservación seminal se encuentra estandarizada previamente al tratamiento, sería interesante evaluar el estado de la función reproductora tras éste. En la actualidad, el análisis de semen y su congelación antes del tratamiento del LH es un procedimiento estandarizado para subsanar parcialmente la infertilidad masculina. Por otro lado, la espermatogénesis se mantiene alterada al menos durante 6 meses tras el tratamiento y puede tardar hasta 2 años en recuperarse.

OBJETIVO

Conocer el estado de la función reproductora de los pacientes con LH antes del tratamiento quimioterápico y/o radioterápico y además comprobar si ha existido efecto gonadotóxico por los mismos.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio observacional retrospectivo desde 2003 a 2020 de pacientes con LH en la Unidad de Reproducción Asistida de un hospital terciario. Se recogió el tipo de tratamiento que habían recibido y el resultado del seminograma posterior.

RESULTADOS

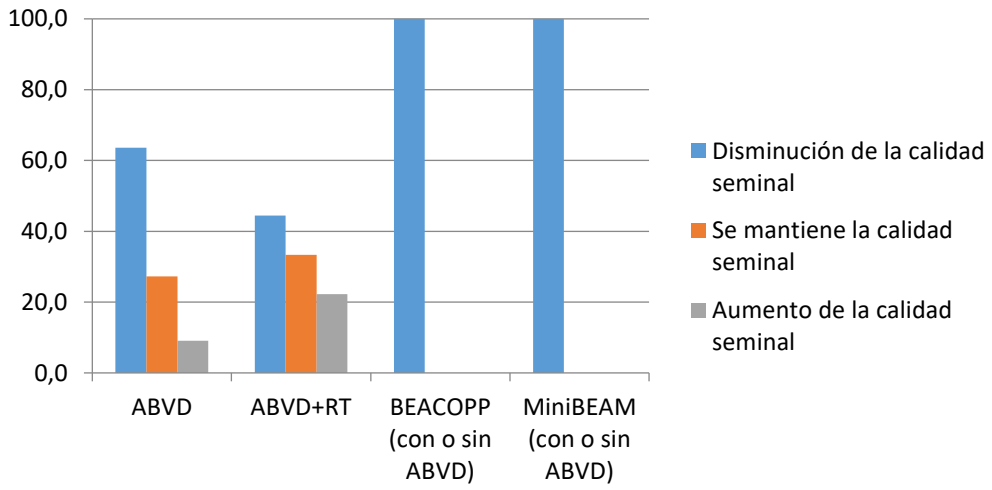
Se revisaron 83 pacientes diagnosticados de LH, de los cuales se seleccionaron 25 que se habían realizado un seminograma tras el tratamiento oncológico, de los que se excluyeron 4 sin datos y 2 exitus. La media de edad fue de 27,9 años. Se observó en los seminogramas posteriores al tratamiento que un 28% presentaron un diagnóstico patológico siendo al inicio normal, un 20% permanecieron con normozoospermia, el 40% permanecieron patológicos con respecto al inicio de la enfermedad y un 12% mejoraron los valores de su seminograma. En general en el 64% de los pacientes presentan alteraciones en su muestra seminal tras el tratamiento oncológico, que llegó a ser del 100% en pacientes con BEACOPP y MiniBEAM (Carmus, Citarabina, Melfalán, Etopósido).

CONCLUSIONES

El LH afecta negativamente a la fertilidad masculina. Este efecto se ve incrementado por el tratamiento quimioterápico con regímenes ABVD, BEACOPP y MiniBEAM que presenta un efecto gonadotóxico. Por ello, se debe recomendar la criopreservación de muestra seminal antes de estas terapias. No obstante, sería necesario realizar estudios con un mayor tamaño muestral para evaluar el cambio en la función reproductora antes y después de la enfermedad, así como el efecto de los diferentes tratamientos farmacológicos.

TABLAS

Tabla I.



P-033

IMPACTO DE LA VITRIFICACIÓN EN LAS CARACTERÍSTICAS MORFOMÉTRICAS DE OVOCITOS HUMANOS PROFASE I Y MADURADOS *IN VITRO*

Isabel Moya Marín[1], P Sáez Espinosa[2], MJ Gómez Torres[2], P Torres Gómez[1], PJ Fernández Colom[1], JM Rubio Rubio[1], A Monzó Miralles[1], I Peinado Casas[1]

[1]Hospital U. P. La Fe - Valencia (Valencia), [2]Universidad de Alicante - San Vicente del Raspeig (Alicante)

INTRODUCCIÓN

Combinar la vitrificación de ovocitos con la maduración *in vitro* (MIV) permite ampliar el rango aplicaciones clínicas. El estudio morfométrico ayudaría a definir el efecto de la vitrificación en estos ovocitos.

OBJETIVO

Evaluar (1) efecto de la vitrificación sobre las características morfométricas de los ovocitos profase I (PI) y metafase II MIV (MIIMIV), y (2) si algún parámetro morfométrico podría ser predictor de la estructura del material genético y de su capacidad madurativa.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio prospectivo y aleatorizado de 1.001 ovocitos PI humanos. Diseño experimental con dos fases: (Fase A) PI divididos en dos grupos (control (GACONTROL) y vitrificación (GAVO)) y (Fase B) MIIMIV en tres grupos (control (GBCONTROL), vitrificación en PI (GBVO-PI) y MII (GBVO-MII)). Los parámetros evaluados fueron: edad, IMC, ovocitos totales y PI, tamaño del ovocito y ooplasma, espacio perivitelino (EP), grosor de zona pelúcida (ZP), tamaño y posición de vesícula germinal (VG), tamaño y fragmentación del primer corpúsculo polar (CP), nivel de compactación de cromatina en VG, tasa de maduración (TM) y configuración de placa metafásica.

RESULTADOS

Comprobada la homogeneidad de los grupos respecto a: edad, IMC, ovocitos totales, PI y características morfométricas, se realizaron los estudios estadísticos correspondientes.

Fase A: Las variables morfométricas evaluadas fueron similares a lo reportado en la REFERENCIAS (tabla I). La vitrificación disminuyó significativamente el tamaño (diámetro) del ovocito y (diámetro y área) de la VG y, aumentó el grosor (diámetro y área) de la ZP (tabla II). En el GACONTROL el 64,07% de los ovocitos presentó una posición periférica de la VG *versus* el 35,93% que la presentó céntrica. Además, la vitrificación no modificó la posición de la VG. Por último, el tamaño del ovocito y del EP fueron significativamente menores en los ovocitos con conformaciones de la cromatina más laxas en comparación con cromatina más compactada, produciéndose un aumento del grosor de la ZP con los primeros signos de compactación. Por el contrario, el tamaño de la VG fue significativamente mayor en ovocitos con cromatina más laxa (tabla III).

Fase B: Los ovocitos capaces de romper la VG durante su MIV mostraron un tamaño (diámetro y área) de ooplasma y ovocito significativamente superior: diámetros ooplasma [sí 110,90±6,89µm *vs.* no 108,76±5,81µm; pvalor=0,006] y ovocito [sí 157,36±9,55µm *vs.* no 154,24±9,0µm; pvalor=0,005], áreas ooplasma [sí 98,48±12,47µm2 *vs.* no 93,94±10,14µm2; pvalor=0,001] y ovocito [sí 192,89±26,76µm2 *vs.* no 184,95±27,69µm2; pvalor=0,011]. Asimismo, la TM a las 24 horas fue superior en los ovocitos con un diámetro de VG significativamente inferior [sí 28,96±4,30µm *vs.* no 29,95±3,85µm; pvalor=0,006]. Además, las tasas de rotura de la VG y la TM fueron significativamente superiores (pvalor≤0,036) en los ovocitos con VG periférica. Las variables morfométricas evaluadas fueron similares a lo reportado en la REFERENCIAS (tabla I). La vitrificación, en PI y MIIMIV, aumenta el tamaño del ovocito y del área de la ZP y disminuye el tamaño del CP en comparación con el grupo control (tabla IV). No se estableció relación significativa entre ninguna de las variables morfométricas y la configuración de la placa metafásica.

CONCLUSIONES

La vitrificación altera la morfometría del ovocito, independientemente del estadio madurativo previo. El tamaño del ovocito y de la ZP pueden actuar como factores predictores del patrón de compactación de la cromatina dispuesta en la VG. El tamaño del ovocito y de la VG, así como la posición de ésta en el ooplasma, serían factores predictores de la competencia de maduración ovocitaria. Sin embargo, ninguna de las variables morfométricas predice la configuración de la placa metafásica.

TABLAS

Tabla I. Características morfométricas de ovocitos PI y MIIMIV de los grupos control. Valores expresados en media ± desviación típica. CP: corpúsculo polar; EP: espacio perivitelino; VG: vesícula germinal; ZP: zona pelúcida.

MORFOMETRÍA

	Diámetro (µm)					Área (µm²)					
	Ooplasma	Ovocito	VG	CP	ZP	Ooplasma	Ovocito	VG	CP	EP	ZP
GA$_{CONTROL}$ n=757	110,91 ± 6,52	157,98 ± 9,50	29,56 ± 4,16	-	17,84 ± 2,82	98,32 ± 11,62	194,52 ± 26,61	7,65 ± 1,93	-	18,85 ± 9,03	77,42 ± 17,71
GB$_{CONTROL}$ n=334	111,66 ± 7,05	154,36 ± 7,09*	-	21,10 ± 4,43	17,43 ± 2,53		193,21 ± 25,23	-	3,74 ± 1,45	20,61 ± 8,54	73,00 ± 17,23

Tabla II. Efecto de la vitrificación sobre las características morfométricas de los ovocitos PI. Valores expresados en media ± desviación típica. EP: espacio perivitelino; VG: vesícula germinal; ZP: zona pelúcida.

MORFOMETRÍA

	Diámetro (µm)				Área (µm²)				
	Ooplasma	Ovocito	VG	ZP	Ooplasma	Ovocito	VG	EP	ZP
GA$_{CONTROL}$ n=757	110,91 ± 6,52	157,98 ± 9,50	29,56 ± 4,16	17,84 ± 2,82	98,32 ± 11,62	194,52 ± 26,61	7,65 ± 1,93	18,85 ± 9,03	77,42 ± 17,71
GA$_{VO}$ n=150	110,76 ± 9,24	155,79 ± 8,36	28,47 ± 4,44	18,35 ± 2,84	96,53 ± 14,89	197,90 ± 22,11	7,26 ± 1,86	20,72 ± 16,36	80,66 ± 16,92
p-valor	*> 0,05*	***0,009***	***0,004***	***0,041***	*> 0,05*	*> 0,05*	***0,023***	*> 0,05*	***0,040***

Tabla III. Descripción de las variables morfométricas de ovocitos PI en función del patrón de compactación de la cromatina. Valores expresados en media ± desviación típica. EP: espacio perivitelino; VG: vesícula germinal; ZP: zona pelúcida.

MORFOMETRÍA

	Diámetro (µm)				Área (µm²)				
	Ooplasma	Ovocito	VG	ZP	Ooplasma	Ovocito	VG	EP	ZP
NSN	110,03 ± 6,12	154,50 ± 11,23*	31,03 ± 5,50	17,37 ± 2,33*	98,03 ± 9,97	185,38 ± 26,92*	7,93 ± 1,60	14,04 ± 9,78*	73,30 ± 11,63*
pNSN	111,57 ± 4,41	163,28 ± 5,81*	30,63 ± 3,38*	19,97 ± 2,52*	98,93 ± 6,90	202,40 ± 21,95	7,66 ± 1,13	19,23 ± 4,93	84,24 ± 19,17
cpNSN	111,50 ± 6,12	159,34 ± 9,76	30,74 ± 4,69	19,21 ± 2,91*	99,74 ± 10,60	200,88 ± 25,45	8,08 ± 2,00*	16,51 ± 7,63**	83,44 ± 15,11*
cpSN	111,95 ± 7,68	162,74 ± 8,72*	29,42 ± 2,98	18,37 ± 2,45	99,80 ± 12,24	205,62 ± 21,97*	7,65 ± 1,74	20,89 ± 13,78	85,52 ± 15,67*
pSN	110,13 ± 6,09	158,59 ± 7,58	28,08 ± 3,14*	19,10 ± 1,93*	96,01 ± 10,03	205,82 ± 28,36	7,37 ± 1,37	22,36 ± 13,63	87,44 ± 16,72*
SN	113,51 ± 5,30	162,83 ± 8,33*	28,66 ± 4,17	19,44 ± 2,71*	100,98 ± 9,36	208,95 ± 21,13*	6,96 ± 1,68*	21,71 ± 9,67*/**	87,38 ± 15,24*
GVBDi	111,09 ± 3,66	161,28 ± 6,26	30,02 ± 5,77	18,31 ± 2,43	99,79 ± 5,85	204,01 ± 21,18	7,61 ± 2,25	20,33 ± 9,78	83,89 ± 14,24*
p-valor	*> 0,05*	***(*) ≤ 0,017***	***(*) 0,047***	***(*) ≤ 0,048***	*> 0,05*	***(*) ≤ 0,017***	***(*) 0,020***	***(*) 0,016*** ***(**) 0,025***	***(*) ≤ 0,044***

Tabla IV. Análisis morfométrico en función del grupo de estudio. CP: corpúsculo polar; EP: espacio perivitelino; ZP: zona pelúcida.

MORFOMETRÍA

	Diámetro (µm)				Área (µm²)				
	Ooplasma	Ovocito	CP	ZP	Ooplasma	Ovocito	CP	EP	ZP
$GB_{CONTROL}$ n=334	111,66 ± 7,05	154,36 ± 7,09*	21,10 ± 4,43*	17,43 ± 2,53	99,60 ± 13,12	193,21 ± 25,23*	3,74 ± 1,45*	20,61 ± 8,54	73,00 ± 17,23*
$GB_{VO\text{-}PI}$ n=71	110,79 ± 5,20	158,22 ± 8,01*	18,86 ± 3,76*	17,53 ± 2,47	97,21 ± 8,43	199,36 ± 19,64*	3,03 ± 1,08*	23,35 ± 13,21	81,16 ± 14,28*
$GB_{VO\text{-}MII}$ n=54	111,81 ± 4,90	160,62 ± 6,79*	19,40 ± 3,66*	17,37 ± 2,34	99,25 ± 7,77	205,24 ± 19,37*	3,17 ± 1,10*	21,97 ± 8,02	84,02 ± 13,98*
p-valor	*> 0,05*	***(*) ≤ 0,001***	***(*) ≤ 0,008***	*> 0,05*	*> 0,05*	***(*) ≤ 0,025***	***(*) ≤ 0,006***	*> 0,05*	***(*) ≤ 0,004***

P-034

¿AFECTAN LAS CONDICIONES DE CULTIVO A LA CAPACIDAD PREDICTIVA DE LA MORFOCINÉTICA? DESARROLLO DE UN NUEVO MODELO DE SELECCIÓN PARA EMBRIONES CULTIVADOS EN DIFERENTES CONDICIONES

María Ángeles Valera Cerdá[1], C Giménez Rodríguez[1], L Bori Arnal[1], L Murria Aguilar[2], M Meseguer Escrivá[3]
[1]IVI Foundation - Valencia (Valencia), [2]IVIRMA Global Research Alliance, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe (IIS La Fe) - Valencia (Valencia), [3]IVIRMA Global Research Alliance, IVI Valencia - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN

Desde la introducción de la tecnología *time-lapse* en los incubadores utilizados para el cultivo embrionario, se han desarrollado muchos algoritmos predictivos basados en anotaciones de parámetros morfocinéticos, lo que aporta objetividad al proceso de selección de embriones. La eficacia y reproducibilidad de estos algoritmos han sido cuestionadas por otros autores, ya que pueden estar potencialmente influenciados por las características de los pacientes y las diferentes condiciones de cultivo. En la actualidad existen en el mercado diversos modelos de estos incubadores, algunos de los cuales proporcionan características como el cultivo en condiciones de alta humedad, que se ha relacionado con mejores tasas de gestación y diferencias en la morfocinética del desarrollo embrionario.

OBJETIVO

Comprobar si el rendimiento de un algoritmo de selección embrionaria basado en anotaciones de morfocinética se ve afectado por el porcentaje de humedad relativa de la atmósfera de cultivo, y en caso afirmativo, crear un modelo alternativo igualmente válido en ambas condiciones.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo realizado sobre 555 blastocistos transferidos, pertenecientes a ciclos de ICSI autólogos y de donación de ovocitos realizados en una clínica durante 3 años. Los embriones fueron cultivados en un incubador Geri (Genea Biomedx) en una atmósfera seca (CS, n=281) o humidificada (CH, n=274). Las variables morfocinéticas de su desarrollo se anotaron automáticamente mediante el software Connect and Assess 2.0. El rendimiento del algoritmo publicado por Motato *et al.* 2016, predictivo de probabilidad de implantación, fue evaluado mediante ecuaciones de estimación generalizada (GEE), considerando posibles factores de confusión. El rendimiento del modelo en los dos conjuntos de embriones (cultivados en CS y CH) fue comparado mediante el área bajo la curva ROC (AUC), su intervalo de confianza del 95% (IC) y la significancia estadística se evaluó mediante la prueba de Mann-Whitney ($P \leq 0.05$). Por último, se desarrolló un nuevo modelo de selección considerando anotaciones morfocinéticas de los dos grupos de blastocistos con la ayuda de la herramienta visual FertAI (Merck).

RESULTADOS

Los blastocistos transferidos fueron clasificados de A a D en base al algoritmo publicado por Motato *et al.* 2016, según el rango óptimo de dos parámetros morfocinéticos, tEB y s3, obtenidos empíricamente en embriones cultivados en un incubador EmbryoScope en una atmósfera seca. El algoritmo tuvo un AUC=0,591, IC del 95% (0,542-0,64), resultando significativamente predictivo de la implantación ($P<0,001$), pero menor que el rendimiento reportado por los autores (AUC=0,602, IC del 95% (0,559-0,645)). El rendimiento del algoritmo fue diferente en las dos condiciones de cultivo: AUC(CS)=0,608, IC del 95% (0,54-0,676), P=0,002; AUC (CH)= 0,588, IC del 95% (0,518-0,657), P=0,103. La menor eficacia mostrada por este algoritmo para nuestros embriones podría estar asociada con un diferente desarrollo morfocinético de los embriones cultivados en un incubador y condiciones de cultivo diferentes. Por tanto, se desarrolló un nuevo algoritmo usando rangos óptimos de tres parámetros morfocinéticos, determinados empíricamente en nuestro conjunto de embriones considerando, por primera vez, embriones cultivados en CS y CH: $tEB<113.874$; $0.521 \leq [(t5-t3)/(t5-t2)] \leq 0.554$ y $10.34 \leq cc2 \leq 11.58$, dando una puntuación de 0 a 3. El modelo de selección ob-

tuvo un AUC=0,637, IC del 95% (0,59-0,684), y fue igualmente eficiente en CS y HC: AUC(CS)=0,645, IC del 95% (0,579-0,712); AUC(CH)=0,645, IC del 95% (0,579-0,711); P<0,001).

CONCLUSIONES

La menor eficacia demostrada por un algoritmo de selección desarrollado en un incubador diferente respalda la necesidad de ajustar las herramientas de selección para las condiciones de cultivo específicas empleadas por cada laboratorio de FIV. Este es el primer modelo de puntuación desarrollado para la selección de blastocistos utilizando parámetros morfocinéticos registrados en un incubador *time-lapse* Geri. Su reproducibilidad y validez deben ser probados en un conjunto de datos externo.

P-035

UN NUEVO MÉTODO DE PREPARACIÓN DE LOS ESPERMATOZOIDES PARA FECUNDACIÓN *IN VITRO* (FIV) MEJORA EL DESARROLLO EMBRIONARIO: RESULTADO DE UN ESTUDIO PILOTO EN PACIENTES NORMOZOOSPÉRMICOS

Matías Gómez-Elías[1], G Luque[1], C Stival[2], V Julianelli[3], M Lavolpe[3], M Geller[3], M Attie[3], R Vassena[4], M Buffone[1], D Krapf[1]

[1]Fecundis - Barcelona (Barcelona), [2]IBR-CONICET - Rosario (Santa Fe), [3]*In Vitro* Buenos Aires - Ciudad Autónoma de Buenos Aires (Argentina), [4]Fecundis Lab - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

La capacitación espermática es el proceso por el cual los espermatozoides adquieren capacidad fecundante, tras su tránsito por el tracto reproductor femenino. Este proceso conlleva cambios bioquímicos, funcionales y estructurales regulados por complejas vías de señalización tanto en el flagelo como en la cabeza espermática. Si bien en el pasado se creía que el espermatozoide sólo aportaba su material genético y centriolos al ovocito, cada vez existe más evidencia de que también posee un rol fundamental en el desarrollo del embrión resultante. Optimizar la capacitación espermática antes de la fecundación *in vitro* (FIV) podría tener un efecto sobre el correcto desarrollo embrionario.

OBJETIVO

Evaluar si un nuevo método de preparación del semen que maximiza la capacitación espermática se asocia a mejores resultados reproductivos en FIV.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio prospectivo monocéntrico con un diseño de ovocitos emparejados, en 10 parejas sujetas a FIV con ovocitos donados, tratadas entre noviembre de 2021 y julio de 2022. Criterios de inclusión: mujeres de 20 a 45 años; hombres de 20 a 50 años, recuento espermático ≥ 5x10^6 tras *swim up*, motilidad ≥ 40%; morfología ≥6% y fragmentación del ADN (TUNEL) <20%. Cada muestra de semen fue dividida en dos alícuotas, que fueron procesadas por *swim up*, con posterior incubación en condiciones estándar (Control) o tratadas con un método mejorado de capacitación espermática (Tratado). A cada paciente se asignaron 14 complejos cúmulo-ovocito, 7 en cada brazo del estudio, y se inseminaron con la preparación espermática correspondiente. En D+1, los embriones con 2 pronúcleos (2PN) fueron transferidos a una incubadora *time-lapse* para el cultivo hasta blastocisto. El resultado primario fue la tasa de desarrollo a blastocisto. Los resultados secundarios fueron la tasa de fecundación, la calidad embrionaria según escala de Gardner y los parámetros morfocinéticos del desarrollo (t2, t3, t4, cc2, s2, t5, t8, cc3, tM, tB). Las diferencias

entre los 2 grupos fueron analizadas mediante la prueba exacta de Fisher para las tasas de fecundación y de blastocistos, y la de rangos logarítmicos (Mantel-Cox) para los tiempos de desarrollo. Se consideró significativa una p<0,05.

RESULTADOS

Tras excluir los ovocitos inmaduros, la tasa de fecundación no fue diferente entre el grupo Tratado y el Control (53/67, 79,1% *vs.* 47/63, 74,6%, p=0,344). Sin embargo, la tasa de desarrollo a blastocisto fue mayor en la rama del Tratado (36/53, 67,9% *vs.* 21/47, 44,7%; p=0,0159). En 8/10 casos, el tratamiento de mejora de la capacitación aumentó el número de blastocistos, con un promedio de 1,5 blastocistos adicionales disponibles para cada paciente. Además, según la clasificación de Gardner, los blastocistos del brazo Tratado fueron de calidad superior en un 55,5% (AA, grado 3 o superior) y de buena calidad en un 41,7% (AB/BA/BB, grado 3 o superior). El desarrollo morfocinético de los blastocistos no fue diferente en ninguno de los parámetros analizados (p>0.05). Al momento del envío de esta comunicación, hay 2 embarazos en curso y 1 nacido vivo varón, sano y a término procedentes del grupo Tratado.

CONCLUSIONES

La mejor capacitación espermática produjo un aumento en la tasa de blastocistos de alta calidad en FIV, posiblemente a través de una mejor reprogramación nuclear y de un tránsito más eficiente a través del día 3 de desarrollo. Estos resultados indican que la optimización de la preparación de la muestra espermática podría aumentar el número de blastocistos de alta calidad disponibles en cada ciclo, y aumentar la eficiencia de los tratamientos a través de mayores tasas de éxito acumuladas y disminución de las repeticiones.

P-036

NIVEL DE OXIDACIÓN DEL SEMEN Y GRADO DE FRAGMENTACIÓN DEL DNA ESPERMÁTICO DE CADENA SIMPLE. ¿EXISTE UNA RELACIÓN ENTRE AMBOS?

Raquel Blanes Zamora, J González López, R Vaca Sánchez, C Concepción Lorenzo, S Rodríguez Fiestas, R Rodríguez Díaz, T López Salgado, D Báez Quintana
URH del HUC
La Cuesta. La Laguna (Tenerife)

INTRODUCCIÓN

La fragmentación del DNA (DNAf) es un tipo de lesión del DNA espermático que se caracteriza por la rotura de la doble hélice. Puede ser de una sola de las cadenas (DNAf de cadena sencilla) o de ambas (DNAf de cadena doble). Varios estudios han observado que los varones con mayor índice de DNAf, tienen un riesgo hasta 8 veces mayor de esterilidad, da lugar a una disminución de la capacidad de fertilización de los espermatozoides y abortos de repetición incluso con seminogramas con características normales. Entre múltiples causas que lo pueden inducir, se encuentran las especies reactivas de oxígeno (ROS).

OBJETIVO

El objetivo de este estudio es valorar algunos de los factores que inducen un mayor estrés oxidativo en el semen del varón estéril o un mayor índice de DNAf de sus espermatozoides y analizar si existe alguna relación entre ambos que permita orientar el estudio del varón.

MATERIAL Y MÉTODO

Se analizó un total de 231 pacientes en estudio para TRA con los criterios de inclusión de: abortos de repetición, fallos de implantación repetidos y varones con esterilidad idiopática.

La media de edad fue de 37,1±5,42 años. A todos ellos se les realizó un espermiograma (OMS 2010), se valoró el nivel de oxidación del semen con el test OxiSperm® y se realizó el test de fragmentación de cadena simple Halotech® G2, en el que se considera fragmentado a partir de nivel 30%. A todos los pacientes se les realizó una entrevista para valoración de hábitos de vida, alimentación y tóxicos.

Los resultados se analizaron con el paquete estadístico spss 22.0 para Windows.

RESULTADOS

Se encontró asociación estadística entre la edad y mayores cifras de DNAf (p=0,002) (36,35 *vs.* 38,71 años). No así con las cifras de oxidación (p=0,941).

No observamos asociación entre el consumo de alcohol y el nivel de oxidación o de fragmentación. Y tampoco se observó respecto al consumo de tabaco.

El IMC medio de la muestra fue de 26,87±4.3. El 45,22% de los pacientes tenía sobrepeso y el 19,91% cumplía criterios de obesidad. Se observó una tendencia de IMC≥30 a presentar mayores índices de DNAf (31,66 *vs.* 24,96%). Sin embargo, esta tendencia no fue significativa (p=0,097). No hubo asociación con la oxidación.

Se observó una relación estadísticamente significativa (p=0,014) entre niveles de oxidación y fragmentación cuando se dividió a los pacientes en dos grupos con respecto a su oxidación: aquellos con niveles de oxidación <3.5 y con niveles >3.5 (Fig. I), cuando la oxidación es elevada se asocia significativamente con mayores índices de fragmentación.

También se observó una disminución significativa (p=0.002) de la concentración espermática en pacientes con niveles de oxidación ≥3.5 (Fig. II).

CONCLUSIONES

Los radicales libres (ROS) pueden interactuar con la doble cadena del DNA y causar roturas en la doble hélice. Estas roturas pueden tener otras múltiples causas, y su reparación es mucho más accesible cuando se trata de cadena sencilla. Cuando el ovocito es de una mujer joven, la capacidad de reparación de este DNA es mucho mayor, y si la causa es el exceso de ROS, el suplemento con antioxidantes puede contribuir a mejorar estos niveles.

En este estudio vemos que en pacientes con niveles altos de oxidación hay un aumento significativo del porcentaje de fragmentación, por lo que decidimos incorporar el test de oxidación sistemáticamente a todos los pacientes que entran en estudio, y cuando el nivel de oxidación es ≥ 3,5 ampliamos el estudio realizando el test de fragmentación y optamos por recomendar tratamiento antioxidante y si es necesario implementamos técnica de selección espermática (MACS o Microfluidos) en TRA.

FIGURAS

Figura I. Nivel Oxidación-% Fragmentación.

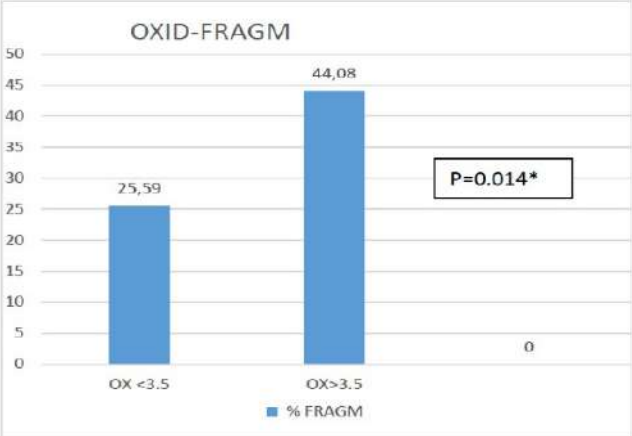
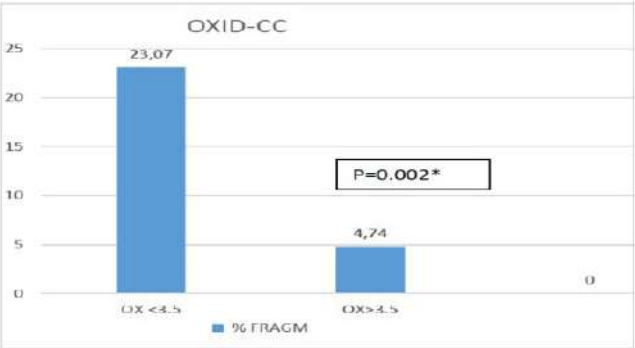


Figura II. Nivel Oxidación-cc espermática(mill/cc).



P-037

RESULTADOS DE IMPLANTACIÓN EMBRIONARIA CON SEMEN VITRIFICADO

María Luisa López Regalado, L Martínez Granados, CJ Rodríguez Izquierdo, B López Lería, E Cano Oliva, L Baños Gavilán, C García Pinar
H. U. Príncipe de Asturias
Alcalá de Henares (Madrid)

INTRODUCCIÓN

Aunque las primeras publicaciones de vitrificaciones de espermatozoides datan de los años 40 no ha sido un método que se haya implantado en la conservación de espermatozoides humanos. Sin embargo, publicaciones recientes indican que la vitrificación puede ser un método valioso para criopreservar espermatozoides eyaculados. En la actualidad, existe una evidencia limitada sobre la superioridad del semen vitrificado respecto a los parámetros seminales tras descriopreservación. Cabe destacar que la OMS, en la sexta edición del manual para el análisis de semen, incluye un protocolo de vitrificación y desvitrificación de muestras seminales. Sin embargo, también indica que la vitrificación de espermatozoides debería considerarse un procedimiento experimental.

OBJETIVO

Evaluar si existen diferencias en las tasas de implantación en función del método de congelación, al utilizar semen de donante criopreservado.

MATERIAL Y MÉTODO

Se analizan los ciclos realizados con semen de donante durante los años 2021-2022 comparando la tasa de implantación por transferencia en fresco entre muestras de semen donadas criopreservadas por congelación convencional frente a las criopreservadas por vitrificación.

Se analizan un total de 56 ciclos, 33 utilizando muestras congeladas y 23 utilizando muestras vitrificadas.

RESULTADOS

Las tasas de implantación fueron de 42,1% al usar semen congelado y 40,9% al usar semen vitrificado. No se observan diferencias significativas al comparar la tasa de implantación por transferencia en fresco, en función del método de congelación utilizado para criopreservar muestras seminales de donante.

CONCLUSIONES

La vitrificación, como método de criopreservación de semen de donante, parece no afectar a las tasas de implantación. Podría plantearse como método a utilizar si logística y organizativamente presenta ventajas frente a la congelación/descongelación convencional.

P-038

COMPARACIÓN DE LAS TASAS DE ÉXITO TRAS TRANSFERENCIA DE EMBRIONES EUPLOIDES INICIANDO ECLOSIÓN O TOTALMENTE ECLOSIONADOS

Jaime Guerrero Villena, J Ten Morro, A Rodríguez Arnedo, M Herreros Hergueta, N Díaz Hernández, A Bernabéu García, R Bernabéu Pérez
Instituto Bernabéu
Alicante (Alicante))

INTRODUCCIÓN

En los últimos años el PGT-A se ha convertido en una parte esencial del laboratorio de FIV. De forma rutinaria, se realiza la perforación de la zona pelúcida (ZP) coincidiendo con el día 3 y la biopsia del trofoectodermo (TE) del blastocisto iniciando eclosión (BEi) en día 5. En ocasiones, la biopsia del blastocisto debe posponerse al día 6, lo que aumenta la posibilidad de que el blastocisto eclosione por completo de la ZP. En estas condiciones, surge cierta preocupación sobre la tolerancia del blastocisto eclosionado (BE) a la manipulación durante la biopsia, vitrificación o la transferencia al carecer de la protección de la ZP, de forma que la probabilidad de éxito de estos embriones pudiera verse comprometida.

OBJETIVO

El objetivo de este estudio fue evaluar si existen diferencias en los resultados clínicos de acuerdo al grado de eclosión del blastocisto, parcial o total, en el momento de la biopsia.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo de cohortes realizado entre enero de 2018 y mayo de 2022. No se incluyeron ciclos de recepción de ovocitos y biopsias en d7. Se biopsiaron un total de 3.157 blastocistos. Los embriones se evaluaron en día 5, y aquellos en los que el TE había extruido fueron biopsiados, mientras que la biopsia se demoró hasta el día 6 en embriones que mostraron un desarrollo lento, la extrusión de células de TE fue limitada, se produjo el colapso del blastocisto o existía una posición comprometida de la masa celular interna (ICM) que dificultaba la biopsia. Los blastocistos en d6 se distribuyeron en dos grupos de acuerdo al grado de eclosión: iniciando eclosión (BEi) o eclosión completa (BE). Los blastocistos se vitrificaron individualmente y la transferencia se difirió hasta la disponibilidad del diagnóstico. Se comparó la tasa de beta positiva, la tasa de embarazo clínico y la tasa de aborto espontáneo en ambos grupos tras la criotransferencia de un único embrión euploide. Para el análisis estadístico se utilizaron las pruebas de chi-cuadrado de Pearson para variables categóricas.

RESULTADOS

De los 3157 blastocistos biopsiados, 1740 (55,1%) se biopsiaron en d5 y 1417 (44,9%) en d6. La biopsia de los embriones se demoró hasta día 6 debido al desarrollo lento del embrión (38,9 %), la extrusión limitada de células del TE (41,0%) o el colapso de la cavidad del blastocele antes o durante la biopsia y la ubicación incorrecta del ICM con riesgo de daño durante la disección con láser (20,1%). En d6, 274 blastocistos (19,3%) habían eclosionado. Se realizaron 302 criotransferencias de blastocistos euploides en d6 (232 BEi y 70 BE) con una tasa de supervivencia del 98,4%, sin que se observaran diferencias significativas entre grupos. La beta positiva no difirió con la transferencia de BEi y BE (45,9% y 37,7%, respectivamente; p=0,19). Del mismo modo, la tasa de embarazo clínico no se vio afectada significativamente entre ambos grupos (37,5% *vs.* 30,7%; p=0,24). La tasa de aborto del primer trimestre transfiriendo BEi y BE (18,0% *vs.* 10,5% respectivamente; p= 0,82) fue comparable.

CONCLUSIONES

De acuerdo con nuestros datos, no se observó un impacto negativo ni en tasa de supervivencia ni en los resultados clínicos tras la criotransferencia de BE, lo que sugiere que dichos blastocistos son capaces de tolerar la manipulación que requiere la biopsia y la vitrificación en las mismas condiciones

que aquellos que aún cuentan con la protección de la ZP. Las limitaciones de estudio son las inherentes a su diseño retrospectivo, por lo que se requieren estudios randomizados que tengan en cuenta posibles sesgos.

P-039

LA TRANSFERENCIA DEL HUSO MATERNO RESTAURA EL POTENCIAL DE DESARROLLO DE OVOCITOS CON UN PERFIL METABÓLICO ALTERADO IDENTIFICADOS DE FORMA NO INVASIVA POR TECNOLOGÍA HIPERESPECTRAL: PRUEBA DE CONCEPTO EN RATÓN

Nuno Luis Costa Borges[1], E Mestres[1], M Acacio[1], A Parra[2], C Castelló[1], Q Matía[1], X Paolo Burgos-Artizzu[3], A Seriola[2], S Ojosnegros[2], G Calderón[1]

[1]Embryotools - Barcelona (Barcelona), [2]IBEC - Barcelona (Barcelona), [3]MovumTech - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

Un estudio piloto clínico reciente con la técnica de transferencia de huso materno (MST, del inglés) confirmó el potencial de la MST para el tratamiento de casos extremos de infertilidad asociados con mala calidad ovocitaria. Sin embargo, faltan herramientas de diagnóstico que permitan evaluar de forma objetiva la calidad de los ovocitos para evitar el uso indiscriminado de esta técnica. Recientemente, se ha propuesto un nuevo enfoque basado en tecnología hiperespectral para clasificar los ovocitos de forma no invasiva en función de su perfil metabólico, lo que podría ayudar en la evaluación de la calidad de los ovocitos susceptibles de la aplicación de la MST.

OBJETIVO

Determinar si la técnica de MST puede restaurar el potencial de desarrollo de ovocitos con perfil metabólico alterado identificados de forma no invasiva por tecnología hiperespectral.

MATERIAL Y MÉTODO

Ovocitos de ratón de la cepa B6CBAF1 se obtuvieron de hembras superovuladas y se analizaron a ciegas mediante imágenes hiperespectrales inmediatamente después de su obtención (grupo en fresco), después de un cultivo prolongado durante una noche (grupo envejecido *in vitro*) o posteriormente a la aplicación de la técnica de MST, donde el huso meiótico de ovocitos envejecidos *in vitro* se transfirió al citoplasma de ovocitos frescos previamente enucleados. Después de analizados, los ovocitos de los diferentes grupos fueron inseminados por Piezo-ICSI y cultivados *in vitro* individualmente hasta estadio de blastocisto para mantener su identidad. Posteriormente, se compararon y correlacionaron los perfiles metabólicos de los ovocitos analizados, la distribución mitocondrial en estos y las tasas de desarrollo embrionario entre los diferentes grupos. Además, se analizó la morfología del huso meiótico y la distribución de los cromosomas en ovocitos de los grupos experimentales mediante inmunofluorescencia y microscopía confocal.

RESULTADOS

Las imágenes hiperespectrales revelaron dos parámetros que diferían significativamente entre los ovocitos frescos y los envejecidos *in vitro*. En primer lugar, los ovocitos envejecidos *in vitro* presentaron un desequilibrio en la relación REDOX en comparación con los ovocitos frescos y, en segundo lugar, los perfiles de distribución mitocondrial en el ooplasma de los ovocitos envejecidos *in vitro* fueron significativamente distintos al observado en el grupo en fresco. Además, mientras que en el grupo de control fresco (n=205), el 71,4% de los ovocitos formaron blastocistos expandidos, ninguno de los ovocitos envejecidos *in vitro* (n=80) se desarrolló hasta blastocisto (0%, p<1x10-05). Sorprendentemente, los ovocitos del grupo de MST de los que se tomaron imágenes hiperespectrales entre 1 y 2 horas des-

pués de la reconstrucción nuclear mostraron un espectro metabólico restaurado y una distribución mitocondrial a lo largo del citoplasma correspondiente a la observada en los controles en fresco. Esto se asoció con una mejora de la competencia del desarrollo embrionario, con tasas de formación de blastocistos expandidos (61,8%, n=89) comparables a las del grupo en fresco (p=0,1368). Además, los ovocitos envejecidos *in vitro* presentaron husos meióticos anormalmente alargados y sobredimensionados, con cromosomas desalineados, mientras que los grupos de control fresco y MST mostraron husos con forma de barril normal y cromosomas alineados en la placa metafásica. Actualmente, se están realizando transferencias de embriones para correlacionar los perfiles metabólicos de ovocitos en los grupos fresco y MST con las tasas de implantación.

CONCLUSIONES

Los experimentos de transferencia del huso materno confirman que la disminución del desarrollo embrionario de los ovocitos de mala calidad se atribuye principalmente a una disfunción en factores citoplasmáticos involucrados en el metabolismo, mientras que el genoma nuclear mantiene su integridad cuando transferido a citoplasma competente. La MST aplicada junto con la tecnología hiperespectral puede representar una estrategia valiosa para realizar medicina personalizada y de precisión identificando y restaurando la competencia de desarrollo sólo de aquellos ovocitos de mala calidad, caracterizados por una actividad metabólica alterada.

P-040

VALIDATION OF PREIMPLANTATION GENETIC TESTING FOR MONOGENIC DISORDERS (PGT-M) USING TARGETED NEXT GENERATION SEQUENCING

Carmen María García Pascual[1], E Fernández Marcos[1], V Guo N/A[2], Y Zhan N/A[2], M Cheng N/A[3], L Ma N/A[2], A Czyrsznic N/A[2], A Capalbo N/A[4], C Jalas N/A[2], X Tao N/A[2]

[1]Juno Genetics - Paterna (Valencia), [2]Juno Genetics US - New Jersey (New Jersey), [3]IVIRMA - Basking Ridge (New Jersey), [4]Juno Genetics Italy - Rome (Rome)

INTRODUCTION

Preimplantation genetic testing for monogenic disorders (PGT-M) is a genetic test that can detect genetic alterations associated with specific single gene disorders in a trophectoderm (TE) biopsy from an IVF embryo. However, the reliability of PGT-M is compromised by both allele dropout (ADO) and amplification failure (AF).

OBJECTIVE

The aim of this study was to evaluate the reliability of PGT-M using targeted next generation sequencing (tNGS) in samples of multiple cells and validate this method in TE biopsies.

MATERIAL AND METHOD

Phase I - Reliability: To demonstrate that a single TE biopsy of 4-5 or more cells is sufficient for PGT-M, fibroblasts were used to prepare 1, 2, 3, 4, or 5 cell samples. Twenty heterozygous single nucleotide polymorphisms (SNP) were tested using tNGS. Phase II – TE validation: Embryos from patients that had undergone PGT-M with clinically established Taqman qPCR genotyping were analyzed. Sequencing primers were designed for 12 different variants, including single nucleotide alterations, deletions, and insertions, and then validated on parental genomic DNA. Linkage primers were also included. Additional primers were designed to target SNPs in which parents had opposite homozygous alleles. Abnormal embryos donated for research were thawed, re-biopsied, and processed with tNGS-based PGT-M while simultaneously being screened for aneuploidy (PGT-A).

RESULTED

Phase I: The one-cell samples exhibited a 20% AF (142/720) and 6% ADO (42/720) rate. The 2-cell samples had a 6% AF (42/720) and 2% ADO (12/720) rate. However, the 3-cell, 4-cell, and 5-cell samples exhibited 0% AF and 0% ADO. The PGT-A call rates were 61% for 1-cell samples, 92% for 2-cell samples, 97% for 3-cell samples, and 100% for 4 or 5-cell samples. The median absolute pairwise difference (MAPD) decreased with the increased cell number. Phase II: One or two TE biopsies of 23 embryos from 8 families, tested for 1 to 3 of the 12 variants (MLH1 c.199G>A, RB1 c.1589A>G, SLC16A2 c.604G>A, GNPTAB c.1123C>T, GNPTAB c.3314A>G, WFS1 c.1391C>G, USH2A c.10073G>A, USH2A del exons 5-11, F5 c.1601G>A, GAA c.693-1G>C, GAA c.875A>G, and HEXA c.1274_1277dupTATC), were 100% concordant with previous PGT-M results based on Taqman qPCR genotyping. All the linkage markers showed expected genotype. All the additional expected heterozygous SNPs showed 0% AF and 0% ADO in the TE samples unless aneuploidy caused loss or gain of the SNP on that chromosome. PGT-A analysis of multiple biopsies from the same embryo demonstrated consistent karyotypes.

CONCLUSIONS

This study demonstrates that a tNGS-based platform can reliably produce PGT-M diagnoses with extremely low AF and ADO when a TE biopsy consists of 3 or more cells.

P-041

LOS EMBRIONES MOSAICOS Y ANEUPLOIDES TRAS EL TEST GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL PARA LA DETECCIÓN DE ANEUPLOIDÍAS PRESENTAN MAYORES NIVELES DE APOPTOSIS EN LAS CÉLULAS DEL TROFOECTODERMO

Amparo Mercader Bayarri[1], A Martín Bastida[2], D Ortega Jaén[2], ML Pardiñas García[2], A Delgado Mendibe[3], F Insua Piontti[3], A Tejera Pastor[3], MJ De los Santos Molina[3]

[1]IVIRMA Valencia - Valencia (Valencia), [2]Fundación IVI-IIS La Fe - Valencia (Valencia), [3]IVIRMA Valencia - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN

Los embriones mosaicos tras el test genético preimplantacional para la detección de aneuploidías (PGT-A) pueden dar lugar a bebés sanos. Sin embargo, se desconoce la razón por la cual dichos embriones adquieren competencia reproductiva. Una de las hipótesis que se barajan es que las células aneuploides son seleccionadas negativamente durante el desarrollo embrionario mediante mecanismos de competición celular, como la apoptosis o la regulación de la proliferación celular. Estos mecanismos han sido demostrados en embriones de ratón, en los cuales la apoptosis ocurre con mayor frecuencia en las células de la masa celular interna (MCI). Sin embargo, en embriones humanos, la evidencia disponible es escasa y, tan solo en un estudio previo, se ha reportado una asociación entre el mosaicismo y las aneuploidías tras PGT-A y un aumento en los niveles de apoptosis, que fue mayor en las células del trofoectodermo (TE).

OBJETIVO

Determinar si existen diferencias en los niveles de apoptosis de las células de la MCI y el TE entre embriones clasificados como euploides, mosaicos y aneuploides tras PGT-A.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio prospectivo de cohorte en el que se evaluó la colocalización de marcadores de apoptosis y linaje celular mediante inmunofluorescencia (IF). Se analizaron un total de 53 blastocistos humanos con diagnóstico previo de PGT-A y vitrificados en día 5 (D5) o día 6 (D6) de desarrollo: n=13 embriones

euploides (n=11 en D5; n=2 en D6), n=22 embriones mosaicos (n=16 en D5; n=6 en D6) y n=18 embriones aneuploides (n=11 en D5; n=7 en D6). Tras su donación a investigación, los blastocistos fueron desvitrificados y cultivados hasta su reexpansión. Posteriormente, se fijaron en paraformaldehído al 4%, se procesaron para IF y se analizaron mediante microscopía confocal. Anticuerpos primarios: Nanog 1:80, Gata3 1:100 y Caspasa3 1:1000. Marcaje nuclear: DAPI 165 µM. Células totales: células DAPI+. TE: células Gata3+. MCI: células Gata3-/Nanog+. Incidencia de apoptosis: % de células Caspasa3+ (por embrión). Los datos se analizaron usando Chi-cuadrado o ANOVA (*P<0,05; **P<0,01; ****P<0,0001; ns: no significativo).

RESULTADOS

El número total de células fue similar entre embriones euploides (59,2±20,6 en D5; 78,5±0,7 en D6), embriones mosaicos (49,6±15 en D5; 58,8±16,9 en D6) y embriones aneuploides (48,6±14,2 en D5; 59,6±23,6 en D6) (P>0,05). La expresión de Nanog y Gata3 evidenció el establecimiento de los linajes celulares de MCI y TE durante el estadio de blastocisto: mientras que la proporción de células Nanog+ disminuyó del 38,2% (755/1979) en D5 al 20.3% (188/927) en D6 (P<0,0001), la proporción de células Gata3+ aumentó del 77.8% (1540/1979) en D5 al 83,1% (770/927) en D6 (P<0,01). La retención de la expresión de Nanog en las células del TE se asoció con el estatus cromosómico del embrión. De hecho, la proporción de células Gata3+/Nanog+ fue significativamente mayor en embriones aneuploides (27,9%=149/534 en D5; 4,6%=19/417 en D6) en comparación con embriones mosaicos (13,1%=104/794 en D5; 3,4%=12/353 en D6) y embriones euploides (9,7%=63/651 en D5; 0%=0/157 en D6) (P<0,05). La incidencia de apoptosis en el TE fue significativamente mayor en embriones aneuploides (45,9%±16.1 en D5; 49%±15,1 en D6) y embriones mosaicos (44,1%±19,6 en D5; 43%±16,8 en D6), en comparación con embriones euploides (26,6%±16,6 en D5; 17,5%±14,8 en D6) (P<0,05). Por el contrario, la apoptosis fue mucho menos frecuente en la MCI (2,2%±7,7), y no se observaron diferencias significativas entre los grupos de estudio (P>0,05).

CONCLUSIONES

Nuestros hallazgos demuestran que la apoptosis es un fenómeno frecuente en los blastocistos humanos, particularmente en las células del TE. El aumento de los niveles de apoptosis en las células del TE en embriones con anomalías cromosómicas respalda su función como mecanismo de eliminación de células aneuploides. De hecho, dicho mecanismo podría estar relacionado con el potencial reproductivo de los embriones mosaicos.

P-042

PLURIPOTENCIALIDAD DE LAS CÉLULAS DE LA GRANULOSA LUTEINIZADAS DE OVARIO HUMANO

Sara García Cano[1], S Suárez Sancho[2], V Plasencia Martín[2], A Acosta Ocampo[2], R Gómez Casaseca[3], A Fernández Ávila[2], M.ª E Fernández Santos[2], F Pérez Milán[2]

[1]Hospital Universitario Fundación Alcorcón (HUFA) - Madrid (Madrid), [2]Hospital General Universitario Gregorio Marañón - Madrid (Madrid), [3]Hospital Universitario La Paz - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

La identificación de nuevos nichos de células pluripotentes con características similares a las de origen mesenquimal se revela como una aproximación prometedora al desarrollo de nuevas aplicaciones protectoras y regenerativas en terapia celular. Las células de la granulosa luteinizadas de ovario humano (CGLOH) constituyen un producto residual obtenido de la aspiración folicular realizada en el contexto de los ciclos de FIV.

La posibilidad de caracterizar y expandir mediante cultivo prolongado la fracción pluripotente de las CGLOH ha sido ya establecida y parece suficientemente reproducible (Kossowska-Tomaszczuk *et al.*, 2009).

Por todo ello nuestro estudio se orienta hacia la identificación de los procedimientos más eficientes para la expansión, selección y caracterización de las células de la granulosa progenitoras expandidas (CGPE).

OBJETIVO

- Evaluar la eficiencia de la expansión de la población inicial de las CGLOH con características de célula progenitora (CP).
- Identificar y caracterizar la población de CGLOH que muestran marcadores inmunofenotípicos y capacidades de diferenciación propias de CP.
- Evaluar la capacidad de expresión de marcadores de pluripotencialidad.

MATERIAL Y MÉTODO

Para este estudio utilizamos el líquido folicular tras recuperar los complejos Cúmulo Corona Ovocito para su uso en FIV de 122 pacientes sometidas a una hiperestimulación ovárica controlada.

La obtención de las CGLOH se realizó mediante gradiente Ficoll. La suspensión celular final se sembró a una concentración de 160.000 células/cm2 en medio DMEM completo con LIF, y se incubó a 37 °C; 5% de CO2, 90% de humedad. La renovación del medio se realizó cada tres días, manteniendo los cultivos hasta obtener una confluencia celular de la superficie de cultivo superior al 80%. Alcanzada dicha confluencia las células se levantaban, sembrándolas en nuevos frascos de cultivo a una concentración de 5.000 células/cm2. Una vez obtenidas suficientes CGPE, se procedió a su caracterización, comparándolas con células mesenquimales de médula ósea (MSCMO) y las células de partida, las CGLOH. El perfil inmunofenotípico de las CGLOH, CGPE y MSCMO se estudió mediante identificación, por citometría de flujo, de los marcadores de referencia para células progenitoras pluripotentes de origen mesenquimal, según la ISCT. También se analizó la capacidad de las CGPE a diferenciarse a otros tipos celulares, mediante diferenciación *in vitro* inducida con medios condicionados a tres líneas específicas: osteoblástica, adipocítica y condrocítica.

Finalmente, se analizó la expresión de genes relacionados con la actividad funcional de las células, y en especial con su receptividad a las gonadotropinas y con su actividad esteroidogénica, así como genes relacionados con multipotencialidad.

RESULTADOS

El cultivo prolongado de las CGLOH en presencia de LIF determinó la progresiva desaparición de la morfología esferoidea, que se ve sustituida por una morfología fusiforme, observándose adherencia al sustrato, y por tanto, adquiriendo características similares a las presentes en células stem mesenquimales (MSC).

En nuestras manos las CGPE se diferenciaron a líneas adipogénica, condrogénica y osteogénica, y presentan características inmunofenotípicas propias de MSCMO y de tejido adiposo establecidos por la ISCT.

Además, las CGPE presentan características funcionales diferenciadoras respecto de las CGLOH, que incluyen menor expresión de marcadores funcionales propios de CG y mayor de actividades relacionadas con la promoción de la proliferación celular, de la angiogénesis y de la protección frente a la apoptosis.

CONCLUSIONES

- El cultivo prolongado de CGLOH permite identificar, una subpoblación de células con morfología mesenquimal.
- Las CGPE, expresan marcadores propios de MSC y son susceptibles de diferenciación selectiva a líneas mesenquimales específicas.
- Las CGPE presentan menor expresión de marcadores funcionales propios de CGLOH y mayor de actividades relacionadas con la promoción de la proliferación celular, de la angiogénesis y de la protección frente a la apoptosis.

P-043

EFECTOS DE LA SELECCIÓN ESPERMÁTICA MEDIANTE MICROFLUIDOS EN LA MEJORA DE LA CALIDAD EMBRIONARIA

Fernando Meseguer Estornell[1], R Rivera[2], L Carrión[3], L Murria[3], L Bori[2], M A Valera[3], C Giménez[3], L Conversa[3], M Meseguer[2]

[1]IVI Valencia - Valencia (Valencia), [2]IVIRMA Global Research Alliance, IVI Valencia - Valencia (Valencia), [3]IVI Foundation - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN

Antes de realizar cualquier tratamiento de reproducción asistida se precisa realizar una selección espermática. Existen varias técnicas de selección, las más utilizadas son el *swim up* y los gradientes de densidad. Ambas técnicas implican el uso de la centrifugación, que expone al espermatozoide a un alto nivel de especies reactivas de oxígeno que pueden desencadenar en un aumento de la fragmentación del ADN. Asimismo, ambas técnicas requieren de muchos pasos, consumiendo mucho tiempo y aumentando el riesgo de error. La microfluídica posee la capacidad de imitar el entorno *in vivo* del tracto reproductor femenino al controlar la dinámica de fluidos dentro de capilares de un reducido diámetro.

OBJETIVO

Comparar tanto la calidad espermática, como la tasa de fecundación, blastocisto útil, euploidía y calidad embrionaria de las dos técnicas de selección espermática, SwimCount Harvester y *swim up* mediante un análisis intermedio sobre un estudio prospectivo.

MATERIAL Y MÉTODO

Es un análisis intermedio sobre un estudio prospectivo randomizado que se está llevando a cabo en IVI Valencia, en el que se reclutaron 50 pacientes, con una edad media de 38±4,3 años, índice de masa corporal de 23,7±4,4 y hormona antimulleriana de 2,9±3,0. Las muestras espermáticas en fresco y las muestras procesadas de cada paciente se analizaron de acuerdo con los criterios de la OMS 2021. La muestra de semen se dividió en dos volúmenes, uno de los volúmenes se procesó utilizando *swim up* y el otro utilizando el dispositivo basado en microfluídica SwimCount Harvester. Posteriormente, la mitad de los ovocitos maduros se microinyectaron con el semen seleccionado por SwimCount Harvester y la otra mitad con el semen procesado por *swim up* de manera aleatorizada y doble ciego. Con la muestra de semen sobrante, de los grupos Harvester y *swim up*, se analizó la morfología, vitalidad, estabilidad de la estructura de la cromatina y la fragmentación del ADN. Una vez microinyectados los ovocitos se recogieron los datos de desarrollo embrionario. Finalmente, se realizó la prueba T de Student de muestras emparejadas para analizar los parámetros de calidad espermática y chi cuadrado para evaluar las diferencias estadísticas para las tasas de fecundación, blastocisto útil, euploidía y calidad embrionaria.

RESULTADOS

El total de espermatozoides móviles progresivos fue estadísticamente mayor para el grupo Harvester en comparación con el grupo Swim up 7,1±7,7x106 y 3,4±3,5 x106 respectivamente ($p<0,05$). La vitalidad, morfología y estabilidad de la estructura de la cromatina fue mayor para el grupo procesado por microfluídica, no obteniendo diferencias significativas. Por el contrario, la fragmentación del ADN espermático fue significativamente inferior para SwimCount Harvester 5,2±4,8% con respecto al Swim up 7,6±6,7% ($p<0,05$).

La tasa de fecundación para el grupo de ovocitos microinyectados con el semen procesado por SwimCount Harvester fue de 77,9% y similar en el grupo Swim up 78,1%. En referencia al desarrollo embrionario, para la tasa de blastocisto útil se observó un aumento no significativo para el grupo SwimCount Harvester 49,0% en comparación al grupo Swim up 43,9. Del mismo modo, la tasa de euploidía fue mayor para el grupo SwimCount Harvester 51% con respecto al grupo Swim up

36,0% (p=N.S). Por último, la tasa de blastocistos de buena calidad (Calidad ASEBIR A+B) fue mayor para el grupo SwimCount Harvester 61,4% comparándolo con el grupo Swim up 50,0%, sin observarse diferencias significativas.

CONCLUSIONES

El SwimCount Harvester se presenta como una metodología de selección espermática a tener en cuenta en los próximos años. Las observaciones proporcionadas en el análisis intermedio muestran tendencias de aumento en las tasas de blastocisto útil, euploidía y mejora de la calidad embrionaria que serán confirmadas o refutadas al finalizar el estudio aleatorizado siendo la continuidad del mismo. Destaca ya preliminarmente la mejora significativa de la calidad espermática. Asimismo, reducimos al máximo los pasos necesarios para realizar la técnica de selección, reduciendo el riesgo de error humano, ahorrando tiempo y medios de cultivo necesarios.

P-044

EVALUACIÓN DEL DAÑO TOTAL Y DE DOBLE CADENA EN EL ADN ESPERMÁTICO: CINCO AÑOS DE EXPERIENCIA

Estela Fernández Alegre[1], E Lacalle Fernández[1], C Lanza González[1], A Hernández Barriuso[1], B Martín Fernández[2], L Martínez Pastor[2]

[1]Bianor Biotech - León (León), [2]Bianor Biotech / INDEGSAL y Dept. Biología Molecular - León (León)

INTRODUCCIÓN

Las alteraciones en la cromatina espermática pueden resultar en infertilidad, abortos de repetición o incluso pueden causar alteraciones heredables. Los daños en la cadena del ADN pueden ser de cadena sencilla (SSB) o doble (DSB), de distinta etología y pronóstico. En general, las técnicas de evaluación de la integridad del ADN espermático no discriminan entre ambos tipos de daño, pero es posible evaluar DSB específicamente con Comet neutro y técnicas de inmunodetección. Nuestro centro especializado en análisis seminales ofrece evaluación de daño total y DSB, además de evaluación de la madurez de la cromatina, desde 2018. Esta comunicación presenta los resultados de estos análisis y la relación entre los parámetros ofrecidos a los pacientes.

OBJETIVO

- Evaluar la prevalencia de daño total, DSB y madurez de la cromatina en las muestras analizadas en nuestro laboratorio durante los últimos cinco años.
- Evaluar la asociación entre los parámetros evaluados.
- Determinar la influencia de las clínicas y el mes de recogida de la muestra en los resultados de daño en la hebra del ADN espermático.

MATERIAL Y MÉTODO

Desde 2018, nuestro centro recibió 407 muestras seminales de 16 clínicas para análisis mediante Cytosperm (evaluación de la fragmentación total del ADN espermático y de la madurez de la cromatina; desnaturalización ácida y naranja de acridina [1]) y Doublesperm (evaluación del DSB mediante inmunodetección de gH2AX [2]). Brevemente, las muestras se fijan, permeabilizan y se incuban al menos 1 hora con un anticuerpo específico anti-H2AX (Ser139) y con un marcador fluorescente. Las muestras se analizaron con un citómetro MACSQuant, evaluando 10.000 espermatozoides en ambos tipos de pruebas. Los datos se analizan con scripts específicos en el entorno estadístico R, obteniendo para cada muestra la estimación de DSB, fragmentación total (%DFI) e inmadurez espermática (%HDS). Los efectos de la clínica y del mes se evaluaron mediante ANOVA (para las clínicas, sólo aquellas >15 muestras). La asociación entre parámetros se evaluó mediante el coeficiente de correlación de Spearman.

RESULTADOS

La prevalencia de las alteraciones evaluadas fue relativamente bajo y en línea con la línea de Cytosperm general. Las muestras con %DFI elevado fueron 28 (6,9%), con 52 (12,8%) presentando elevada inmadurez espermática y 26 muestras (6,4%) con DSB elevado. En total, el 88,9% de las muestras se consideraron normales para fragmentación, un 4,7% fueron positivas para DSS (sin DSB), un 4,2% fueron positivas sólo para DSB y sólo un 2,2% fueron positivas para ambos. El efecto de la clínica fue significativo para daño total y DSB (P<0,001). El mes tuvo un efecto significativo sólo para DSB (P=0,016, con tendencia a menor daño entre verano-otoño). La inmadurez espermática no fue afectada por estos factores. %DFI se asoció moderadamente con DSB (σ=0,67), y ambos parámetros se asociaron débilmente con %HDS (0,36 y 0,31, respectivamente), con P<0,001.

CONCLUSIONES

Aunque la prevalencia fue baja, la proporción de muestras con algún tipo de alteración es relevante, especialmente considerando DSB (que puede tener consecuencias como abortos de repetición) y la madurez de la cromatina, generalmente ignorada. La asociación intermedia entre %DFI y DSB sugiere que podrían estar relacionadas en algunos casos, aunque serían en buena parte independientes. El efecto de la clínica y del mes en la fragmentación del ADN espermático sugiere la relevancia de factores intrínsecos y extrínsecos que deberían estudiarse en profundidad.

REFERENCIAS

1. Evenson D, Jost L. Sperm chromatin structure assay is useful for fertility assessment. Methods Cell Sci 2000;22:169-89.
2. Kuo LJ, Yang LX. Gamma-H2AX - a novel biomarker for DNA double-strand breaks. In Vivo 2008;22:305-9.

P-045

CONTRIBUCIÓN PARENTAL A LA ANOMALÍA CROMOSÓMICA EMBRIONARIA

Estefanía Toro Toro, D Campos Rodero, E García-Guixé, A Guzmán Serrano, R Noró Pi, C Giménez Sevilla, M Sandalinas Alabert
DiNA Science, S. A.
Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

El genotipado de SNPs aplicado al test genético preimplantacional (PGT) permite, siempre y cuando se analicen conjuntamente muestras embrionarias y parentales, determinar con fiabilidad anomalías meióticas y establecer el origen parental de los cromosomas en el embrión. Por ello, gracias a la combinación de análisis cualitativo y cuantitativo que ofrece la técnica, podemos identificar de qué gameto proceden los errores meióticos observados.

OBJETIVO

Evaluar el origen parental, incidencia y tipología de las anomalías cromosómicas meióticas observadas en blastocistos procedentes de parejas con riesgo de enfermedades genéticas que solicitan PGT-M.

MATERIAL Y MÉTODO

Se incluyeron en el estudio un total de 1.599 embriones procedentes de 327 ciclos de PGT-M (edad materna promedio de 34,1 años [18-44]) para análisis mediante genotipado de SNP.

Se analizó la presencia de anomalías cromosómicas meióticas con evaluación del origen parental (materno/paterno), tipología (trisomía/monosomía, completa/parcial), alteraciones de ploidía y diploidía/disomía uniparental. Los embriones se clasificaron como: aneuploide (1-2 anomalías cromosómicas), anormal complejo (>2 anomalías cromosómicas), haploide, triploide, diploide uniparental, disomía uniparental (DUP) y anomalías cromosómicas no detectadas.

RESULTADOS

El 66,8% de los embriones analizados no presentaban alteraciones cromosómicas. Los embriones aneuploides y anormales complejos (32,0%), presentaban un total de 701 eventos de aneuploidía, mayoritariamente de origen materno (81,5%), (Tabla I). El 79,3% de estos embriones presentaba solamente eventos aneuploides de origen materno, un 15,3% solo paternos y un 5,4% tanto maternos como paternos.

En las anomalías de origen materno, se observó que el 95,8% correspondía a eventos de cromosoma completo, mientras que solo un 4,2% eran aneuploidías parciales. De los eventos de cromosoma completo, el 60,7% fueron monosomías, y el 39,3% trisomías. Respecto a las aneuploidías parciales, la proporción fue un 79,2% monosomías y 20,8%, trisomías.

Referente a los eventos paternos, se observó un 60,8% de eventos de cromosoma completo y un 36,9% de eventos parciales, siendo el 93,1% de las aneuploidías monosomías completas o parciales. Solamente se observaron 9 trisomías paternas (6 completas y 3 parciales). (Tabla II).

En relación a la ploidía, el análisis mostró un 0,4% de embriones triploides (92,5% de origen materno y 7,5% de origen paterno) y un 0,5% de embriones haploides (62% de origen materno y 38% de origen paterno).

Se detectaron dos embriones con diploidía uniparental materna y dos embriones con DUP, uno con dos copias del cromosoma 15 paterno y otro con dos copias del cromosoma 22 materno.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos muestran que la gran mayoría de las aneuploidías observadas proceden de errores meióticos maternos (81,5% *vs.* 18,5%), con un porcentaje aún mayor si nos centramos en aneuploidías de cromosoma completo (87,4% *vs.* 12,6%). Asimismo, se observa una predominancia de monosomías respecto a trisomías, independientemente del origen parental.

Las trisomías observadas (completas o parciales), raramente se producen por errores meióticos paternos. Sin embargo, sí se observa una mayor prevalencia de aneuploidías parciales en los eventos paternos en comparación con los maternos (39,2% *vs.* 4,2%). Del mismo modo, si solo consideramos las aneuploidías parciales, observamos una mayor proporción de eventos paternos (68% *vs.* 32%).

En relación a las anomalías que afectan a la ploidía embrionaria, los resultados indican que menos del 1% de los embriones analizados son haploides o triploides, y generalmente, estos se deben a errores de la meiosis materna.

El genotipado de SNPs ha permitido la detección de 2 embriones con diploidía uniparental materna, uno con DUP del cromosoma 15 paterno y uno con DUP del cromosoma 22 materno. Aunque la incidencia de estas anomalías es extremadamente baja, sus repercusiones clínicas pueden ser muy graves en forma de teratoma ovárico (asociado a diploidía uniparental materna) o de enfermedades genéticas en la descendencia (la DUP15 de origen paterno se asocia a Síndrome de Angelman).

TABLAS

Tabla I.

	N	(%)
No detectadas	**1069**	**(66,85%)**
Aneuploide	**460**	**(28,77%)**
Anormal complejo	**51**	**(3,19%)**
Diploide uniparental materno	**2**	**(0,13%)**
Disomía uniparental	**2**	**(0,13%)**
Haploide	**8**	**(0,50%)**
Haploide materno	*5*	*(0,31%)*
Haploide paterno	*3*	*(0,19%)*
Triploide	**7**	**(0,44%)**
Triploide materno	*6*	*(0,37%)*
Triploide paterno	*1*	*(0,07%)*
TOTAL GENERAL	**1599**	**(100,00%)**

Tabla II.

	EVENTOS ANEUPLOIDES					
	MATERNOS		PATERNOS		TOTAL (respecto eventos aneuploides)	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)
COMPLETA	**547**	(87,4%)	**79**	(12,6%)	**626**	(89,3%)
Trisomía	*215*	*(97,3%)*	*6*	*(2,7%)*	*221*	*(35,5%)*
Monosomía	*332*	*(82,0%)*	*73*	*(18,0%)*	*405*	*(57,8%)*
PARCIAL	**24**	(32,0%)	**51**	(68,0%)	**75**	(10,7%)
Trisomía	*5*	*(62,5%)*	*3*	*(37,5%)*	*8*	*(1,1%)*
Monosomía	*19*	*(28,4%)*	*48*	*(71,6%)*	*67*	*(9,6%)*
TOTAL	**571**	(81,5%)	**130**	(18,5%)	**701**	(100,0%)

P-046

¿DEBERÍAMOS RECLASIFICAR LOS EMBRIONES DE CINÉTICA RÁPIDA DE DÍA +2?

Marina Benavent Martínez, M Escribá Suárez, C Miret Lucio, A García Esteve, D González Abreu, J Aibar Manero, M Lozano Zamora, V López Martínez, J Crespo Simó, J Teruel López
Equipo Juana Crespo
Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN

Los embriones de cinética muy rápida en día +2 han sido clasificados tradicionalmente como de mal pronóstico y puntuados como tipo D en la clasificación ASEBIR. Esta clasificación tiene en cuenta, además del número de células, otros aspectos como la simetría, porcentaje de fragmentación, multinucleación y otros aspectos. Sin embargo, hemos observado que estos embriones rápidos podrían no presentar tan mal pronóstico.

OBJETIVO

El objetivo del estudio es analizar los embriones de día +2 cuya división cinética es muy rápida (siete células o más; D>7) comparándolos con el resto de los embriones tipo D de día +2 (de menos de 7 células; D<7) y las categorías A, B y C.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo observacional donde se analizaron 795 embriones de día +2 procedentes de ovocitos frescos de pacientes y donantes obtenidos entre enero de 2018 y diciembre de 2022. Estos embriones presentaban 7 o más células,

observados entre las 43-45 horas post ICSI. Los embriones fueron cultivados en medio único y se hizo el seguimiento de su desarrollo a lo largo del día +3, +5 y +6. La comparativa se realizó con el histórico de los embriones de la clínica en ese periodo: 16210 embriones tipo A, 6233 embriones tipo B, 10468 embriones tipo C y 1536 embriones tipo D (<7).

RESULTADOS

Se encontraron diferencias significativas entre el grupo D>7 y los grupos A, B, C y D<7 en cuanto a la tasa de formación de blasto (57,18%, 83,62%, 68,79%, 48,40% y 14,79% respectivamente; p<0,05) y la tasa de formación de blastocisto útil (46,35%, 72,16%, 52,17%, 33,58% y 7,93%; p<0,05).

Del grupo D>7 fueron transferidos 128 embriones obteniéndose una tasa de implantación de 64,84%, no observándose diferencias significativas con los embriones transferidos del grupo A (n=889), B (n=219) y D<7 (n=27) (63,44%, 54,79% y 77,77%; p>0,05). En cambio, sí que se encontraron diferencias significativas con el grupo C (n=180) (46,11%; p<0,05).

La tasa de aborto para el grupo D>7 fue del 18,07%, no encontrando diferencias significativas con el grupo A, B, C y D<7 (13,30%, 15,83%, 14,46% y 24, 09%; p>0,05).

Cuando se compararon los grupos D>7, A, B, C y D<7 para la tasa de euploidía (32,91%, 28,50%, 31,30%, 26,6% y 20,7%) y para la tasa de mosaicismo (19,0%, 14,70%, 15,80%, 14,20% y 17,20%) no se obtuvieron diferencias significativas (p>0,05).

CONCLUSIONES

Existe un grupo de embriones de día +2 clasificados como tipo D por su cinética rápida (7 células o más) que presenta un comportamiento en cuanto a tasa de llegada a blastocisto y blastocisto útil que podría situarlo más entre las categorías B y C, que en la D.

Por ello, se debería considerar una reclasificación embrionaria de este tipo de embriones.

P-047

LA ACTIVACIÓN DEL GENOMA CIGÓTICO HUMANO SE INICIA POR GENES DE ORIGEN PATERNO

Xavier Vendrell Montón[1], P de Castro Sansegundo[2], F Domínguez Hernández[2], MJ Escribà Pérez[3]
[1]Sistemas Genómicos-Synlab - Paterna (Valencia), [2]Fundación IVI-IIS La Fe - Valencia (Valencia), [3]IVIRMA Valencia - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN

El estudio de la regulación genómica durante los primeros momentos del desarrollo preimplantación humano es un desafío. En embriones biparentales (BI), correctamente fecundados, no es posible disociar el papel del genoma paterno y materno después de la fusión de los genomas. El estudio de bioconstructos humanos uniparentales, con la única aportación materna (partenogenotas, PG) o paterna (androgenotas, AG), ha demostrado que ambos genomas presentan patrones de expresión génica distintos durante las primeras mitosis. El papel de los genes de efecto materno está relativamente bien estudiado. Sin embargo, no existe información sólida disponible respecto al aporte paterno durante los primeros eventos de la activación embrionaria.

OBJETIVO

Generamos bioconstructos AG para estudiar longitudinalmente su patrón completo de expresión génica, desde su

génesis hasta el estadio de ocho células (8c). Adicionalmente, se pretende aislar el efecto de genes clave en la activación embrionaria, comparando los patrones de transcripción génica de AG con BI.

MATERIAL Y MÉTODO

Un total de 19 ovocitos MII fueron enucleados por aspiración del huso meiótico. Los ooplastos fueron inseminados mediante ICSI y cultivados en *time-lapse* hasta el estadio de 8c, momento en que se detuvieron los experimentos por la limitación legal establecida por la autoridad sanitara que autorizó el proyecto. Los AG fueron disgregados en sus células constituyentes (androcitos). Los androcitos fueron aislados individualmente en los diferentes estadios (primer ciclo celular (1.er cc), 2.º cc-3.er cc y 4.º cc) para su análisis. Se aislaron 41 androcitos (n=4 en 1.er; n=13 en 2.º-3.er cc; n=24 en 4.º cc), y se procedió a la extracción del ARN, fabricación de librerías y secuenciación completa por técnicas de RNAseq unicelular (plataformas Illumina HiSeq2500 y NovaSeq). Se obtuvo una media de 45.276.912 lecturas/muestra, longitud 300 nucleótidos en *paired-ends* (fragmentos de 150 pdb). Las diferencias de expresión génica (del inglés DEG: *differentiated expressed genes*) entre ciclos se expresaron como *fold-change*. Posteriormente se realizó un estudio de enriquecimiento funcional (*software* g:Profiler y g:GOSt). Además, se realizó un estudio de ontología genética (rutas con KEGG, Reactome y WikiPathways, dianas de miRNA con miRTarBase, motivos regulatorios con TRANSFAC, especificidad de tejidos con Human Protein Atlas, complejos proteicos con CORUM, y fenotipos patológicos con Human Phenotype Ontology). Generamos mapas de procesos biológicos con GSEA (v.4.1.0) y Cytoscape (v.3.7.2). Finalmente, utilizamos Reactome (v.3.7) para la visualización global de rutas afectadas y comparaciones *in silico*.

RESULTADOS

Los AG experimentan una oleada primitiva de transcripción génica *de novo* durante el primer ciclo celular, asociada a genes relacionados con aspectos mecánicos de la división celular (redistribución lipídica, estructura de histonas, síntesis de tubulina, etc.). Destacamos el papel central de los genes NFYA, LEUTX, ZSCANs, ZNFs, MYC, TPRX1, GATAs y KLFs, que son los disparadores de la activación del genoma cigótico en humanos y otros vertebrados. La activación de estas funciones revela la importancia capital del genoma paterno, actuando como promotor de la transcripción y trasmisor de la información necesaria para la RNA polimerasa II; la preconfiguración de la maquinaria de transcripción y la organización de la cromatina para la activación del genoma. Adicionalmente, aportamos las primeras evidencias del papel principal del genoma paterno en la activación de genes cruciales para el desarrollo como SOX2 y MYC, así como los factores de transcripción DUX4 y DUXA. Finalmente, demostramos la relevancia de estos genes al compararlo con embriones normales biparentales.

CONCLUSIONES

Presentamos las primeras evidencias de que la activación del genoma cigótico se inicia en el primer ciclo celular por la acción de genes expresados por el genoma paterno. Además, la mecánica de las primeras mitosis está regulada por genes paternos, antes de la activación completa del genoma embrionario. Describimos, por primera vez, la existencia de una activación primaria del genoma embrionario mucho antes del estadio de 4-8 células.

P-048

GENERACIÓN DE ORGANOIDES TESTICULARES A PARTIR DE CÉLULAS DEL TESTÍCULO DE PACIENTES CON SÍNDROME DE KLINEFELTER

Myriam Martín Inaraja[1], I Romayor[1], A Sáez de Cámara[1], S Santos[2], C Rodríguez[2], JP Alves-Lopes[3], JB Stukenborg[3], C Eguizabal[1]

[1]IIS Biocruces Bizkaia - Barakaldo (Bizkaia), [2]Centro Vasco de Transfusión y Tejidos Humanos - Galdakao (Bizkaia), [3]Karolinska Institutet - Solna (Estocolmo)

INTRODUCCIÓN

El síndrome de Klinefelter (SK) es una enfermedad genética aneuploide en la que el varón tiene una copia adicional del cromosoma X, cariotipo 47,XXY. Debido a la degeneración fibrótica de los testículos, estos pacientes sufren infertilidad en el futuro. El mecanismo patogénico no se conoce bien, y las células madre espermatogenicas (SSC) son escasas en estos pacientes. Por lo tanto, se requiere un sistema *in vitro* que permita la expansión eficiente de las SSC. Una estrategia para abordar la mejora de la expansión *in vitro* de SSC es mediante la generación de organoides testiculares. Para ello, generamos células madre pluripotentes inducidas (iPSC) a partir de pacientes con SK, con el objetivo de diferenciar esas iPSC hacia células testiculares y crear organoides testiculares.

OBJETIVO

Los objetivos de este estudio son, por un lado, generar una línea celular iPSC a partir de un paciente SK y, por otro lado, realizar el análisis de la capacidad proliferativa de SSC en cultivo mediante organoides testiculares.

MATERIAL Y MÉTODO

Se aislaron células somáticas a partir de una biopsia testicular de un paciente prepúber de 12 años con Síndrome de Klinefelter. Las células somáticas testiculares se obtuvieron de la biopsia testicular mediante digestión enzimática en dos pasos. Las células individuales se sembraron overnight en medio DMEM/F12 para eliminar las células germinales. Tras varios pases, confirmamos las células somáticas testiculares en cultivo mediante citometría de flujo (HLA I+ y CD90+). Por otro lado, con otro fragmento de biopsia testicular, después de la digestión enzimática en dos pasos, todas las células se sembraron en placa *ultra-low attachment* para la generación de organoides testiculares durante 14 días.

RESULTADOS

Hemos logrado la generación de líneas celulares iPSCs a partir de células somáticas de tejido testicular de un paciente prepuberal con síndrome de Klinefelter. Utilizando un virus no integrativo, virus Sendai, hemos logrado obtener líneas celulares iPS 47, XXY. Estas células mantienen el estadio de pluripotencia y son capaces de diferenciarse a las tres capas germinales, endodermo, mesodermo y ectodermo. Esto demuestra que las iPSC generadas tienen características de células madre pluripotentes.

Además, demostramos que las biopsias testiculares congeladas de pacientes con SK pueden formar organoides testiculares y mantener células germinales y de Sertoli en cultivo durante 14 días.

CONCLUSIONES

Diferenciándose con éxito a células germinales y células somáticas testiculares, nuestras líneas iPSC generadas podrían ser el primer paso para proporcionar una plataforma *in vitro* única para estudiar los mecanismos moleculares subyacentes a la fisiopatología testicular en pacientes con SK y además se podría lograr mediante este sistema 3D una futura terapia celular para restaurar la espermatogénesis en estos pacientes.

P-049

OVODONACIÓN: REDUCCIÓN DE COSTES EN UN HOSPITAL PÚBLICO DE TERCER NIVEL

María Dolores Lozano Arana, B Sánchez Andújar, J Guisado Fernández, JC García Lozano, G Antiñolo Gil
Hospital Virgen del Rocío
Sevilla (Sevilla)

INTRODUCCIÓN

Para realizar un ciclo de ovodonación, no hay descrito en la literatura científica un número mínimo o máximo de ovocitos por receptora. No obstante, vemos que el número habitual es entre 6 y 8 ovocitos donados por receptora, siendo el coste por ovocito vitrificado alrededor de los 500 €. Nuestro programa de ovodonación se dotó inicialmente de un presupuesto anual que permitía realizar un determinado número de ciclos. Con idea de incluir a un mayor número de pacientes con ese presupuesto, a partir del año 2018 se decidió reducir el número de ovocitos donados por ciclo.

OBJETIVO

Estudiar si es posible reducir los costes del programa de ovodonación reduciendo el número de ovocitos donados por receptora, sin comprometer las tasas de gestación, y así atender a un mayor número de pacientes al año.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio de coste-efectividad y estudio descriptivo retrospectivo de 114 pacientes a las que se les ha realizado 167 ciclos de ovodonación entre septiembre de 2014 y marzo de 2023 en nuestro hospital, utilizando ovocitos vitrificados adquiridos en un banco externo. Los ciclos realizados se dividen en dos grupos, en función del número de ovocitos donados por ciclo. Se analizan el número de ovocitos donados, tasas de gestación clínica y costes.

RESULTADOS

Entre septiembre de 2014 y marzo de 2023 se realizaron un total de 167 ciclos a 114 pacientes, consiguiendo un total de 90 gestaciones clínicas (76 de transferencias en fresco y 14 de transferencias de embriones vitrificados). Esto supone una tasa de gestación clínica acumulada por ciclo del 53,9 %, y por paciente del 78,9 %.

Entre septiembre de 2014 y diciembre de 2017, se donaron 5 o más ovocitos por ciclo, siendo el total de ovocitos donados de 290. Media de 5,7 ovocitos por ciclo. Se realizaron 51 ciclos a 39 pacientes (media de edad: 36,1 años), obteniéndose 28 gestaciones clínicas (24 de transferencias en fresco y 4 con embriones vitrificados). Esto supone una tasa de gestación clínica acumulada por ciclo del 55%, y por paciente del 71,8%. El coste fue de 145.000 €, lo que supone un coste de 5.178 € por cada gestación clínica conseguida.

Entre enero de 2018 y marzo de 2013, se donaron entre 3 y 4 ovocitos por ciclo, siendo el total de ovocitos donados de 415. Media de 3,5 ovocitos por ciclo. Se realizaron 116 ciclos a 75 pacientes (media de edad: 36,7 años), obteniéndose 62 gestaciones clínicas (52 de transferencias en fresco y 10 con embriones vitrificados). Esto supone una tasa de gestación clínica acumulada por ciclo del 53,4%, y por paciente del 82,6%. El coste fue de 207.500 €, lo que supone un coste de 3.346 € por cada gestación clínica conseguida.

CONCLUSIONES

Con una reducción de 2,1 ovocitos por ciclo, se consigue una reducción del coste por ciclo de 1.055 €, y de 1.832 € por gestación clínica conseguida, manteniendo unas buenas tasas de gestación. Además, este ahorro puede favorecer la inclusión al programa de ovodonación de otro perfil de pacientes, como las bajas reservas ováricas, hasta ahora excluidas del programa de ovodonación en el sistema sanitario de nuestra comunidad autónoma.

P-050

¿PUEDE AFECTAR LA RAZA DE LA PACIENTE A LA SUPERVIVENCIA OVOCITARIA?

Adoración Rodríguez Arnedo, J Ten Morro, J Guerrero Villena, MC Tió Marquina, M Herreros Hergueta, N Díaz Hernández, A Bernabéu García, R Bernabéu Pérez
Instituto Bernabéu
Alicante (Alicante)

INTRODUCCIÓN

Es bien sabido que existen cohortes de ovocitos con una tolerancia menor a los procesos de vitrificación-desvitrificación. La edad de la paciente es un factor clave en la supervivencia de los ovocitos, observándose tasas de supervivencia más bajas en pacientes de mayor edad. Aunque esta no es la situación en los programas de donación de ovocitos, la supervivencia de algunas cohortes puede no ser la esperada. Se han realizado estudios en modelos animales donde se ha establecido una relación entre la presencia de determinadas moléculas en la membrana del ovocito y una mayor o menor supervivencia. Hay factores, como la raza del donante, que podrían condicionar la composición de esta membrana y por tanto las tasas de supervivencia.

OBJETIVO

Determinar si la raza de la paciente puede influir en las tasas de supervivencia de los ovocitos vitrificados.

MATERIAL Y MÉTODO

Se analizó retrospectivamente un total de 2.328 ciclos de desvitrificación de ovocitos de donante realizados desde junio de 2017 hasta enero de 2023. Se evaluó las tasas de supervivencia y porcentaje de fecundación según la raza de la donante.

Las tasas de supervivencia y fertilización fueron analizadas por R Core Team (2022) para cada una de las razas participantes: caucásica (n=1929), latina (n=178), mulata (n=94), africana (n=20), asiática-oriental (n=73), árabe (n=17) e hispana (n=17).

RESULTADOS

Se evaluaron las tasas de supervivencia y fecundación por raza, siendo los valores para cada raza: caucásica (89,57% y 78,17%), latina (89,66% y 78,54%), mulata (90,21% y 79,25%), africana (90,47% y 79,48%), asiático oriental (92,01% y 76,45%), árabe (90,46% y 76,86%) e hispana (92,66% y 77,75%). El análisis estadístico no mostró diferencias significativas en la supervivencia y la fertilización (p=0,5465, p=0,6148 respectivamente) en función de la raza en nuestro programa de donación de óvulos.

CONCLUSIONES

La búsqueda de una asociación entre las tasas de supervivencia de los ovocitos y la raza en pacientes donantes de ovocitos se debe a la observación repetida de algunos casos significativos de bajas tasas de supervivencia en pacientes individuales.

No existe asociación entre la raza de las pacientes y las tasas de supervivencia y fecundación de los ovocitos vitrificados. El hecho de que los ovocitos de algunas pacientes sean menos tolerantes al proceso de vitrificación-desvitrificación debe estar relacionado con otros factores a nivel individual.

P-051

UN MODELO DE INTELIGENCIA ARTIFICIAL CLÍNICAMENTE ROBUSTO PERMITE SELECCIONAR LA PRIMERA DOSIS DE FSH DURANTE ESTIMULACIÓN OVÁRICA CONTROLADA: INCORPORANDO EL CONOCIMIENTO CLÍNICO AL PROCESO DE *MACHINE LEARNING*

Núria Correa Mañas[1], J Cerquides Bueno[2], JL Arcos Rosell[2], R Vassena[1], M Popovic[1]
[1]Eugin Group - Barcelona (Barcelona), [2]IIIA-CSIC - Bellaterra (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

La selección adecuada de la dosis inicial de FSH durante la estimulación ovárica controlada es clave para garantizar el éxito de los ciclos de FIV. El objetivo de la estimulación es obtener un número óptimo de ovocitos maduros para lograr el embarazo, evitando al mismo tiempo complicaciones en la paciente. Si bien los protocolos clínicos logran buenos resultados para la mayoría de pacientes, la personalización de la dosis de FSH puede mejorar la seguridad y reducir el riesgo de una baja respuesta. En los últimos años se han aplicado técnicas de *machine learning* (ML) a problemas de dosis/respuesta con resultados prometedores. Sin embargo, las bases de datos observacionales utilizadas para entrenar estos modelos a menudo están incompletas y sesgadas, lo que lleva a obtener predicciones clínicas menos sólidas.

OBJETIVO

Desarrollar y validar un modelo robusto para la recomendación de la primera dosis de FSH en pacientes de FIV incorporando el conocimiento clínico a métodos de inteligencia artificial (IA).

MATERIAL Y MÉTODO

El modelo fue entrenado con una base de datos consistente en 2.713 primeros ciclos de estimulación ovárica realizados entre enero de 2011 y diciembre de 2019 en cinco clínicas de reproducción asistida. Las variables incluyeron la edad de la paciente, el índice de masa corporal (IMC), los niveles de hormona antimülleriana (AMH) y el recuento de folículos antrales (AFC). También se registraron la primera dosis de FSH y el número de ovocitos maduros recuperados. Para la validación se utilizaron otros 273 ciclos realizados entre enero de 2020 y septiembre de 2021. La dosificación clínica fue realizada por 41 médicos (media de 12 años de experiencia).

El modelo se desarrolló en Python y se entrenó incorporando la evidencia clínica disponible. La relación entre la dosis de FSH y la respuesta (número de ovocitos maduros) se especificó asumiendo una función lineal positiva. Se incorporaron reglas para penalizar los cambios de dosis que dieran lugar a peores resultados en comparación con el clínico y para desalentar las grandes modificaciones de dosis por parte del modelo. Estas mismas reglas se aplicaron durante la fase de validación. Las comparaciones se evaluaron mediante la prueba de Chi-cuadrado con corrección de Bonferroni.

La edad materna media fue de 37,1 ± 4,9 años. Las pacientes tenían un IMC medio de 23,8 ± 4,2, AFC de 11,9 ± 7,7 y AMH de 2,4 ± 2,3. Se les prescribió una primera dosis de 247,0 ± 59,0 UI de FSH y obtuvieron 7,3 ± 5,3 ovocitos maduros tras la punción ovárica. Un resultado óptimo se definió como 10-15 ovocitos maduros recuperados, y se definió una dosis máxima permitida de 300 UI.

RESULTADOS

En la fase de validación observamos que, para obtener un resultado óptimo, el 22,9% de las pacientes podrían haber recibido de su médico una dosis más alta (<10 ovocitos maduros recolectados), el 69,3% se prescribió correctamente (10-15 ovocitos maduros o no se requeriría ningún cambio en la dosis), mientras que el 7,9% hubiera necesitado una disminución de la dosis de FSH (>15 ovocitos maduros). Para las mismas pacientes y en una hipotética aplicación de las recomendaciones proporcionadas por nuestro modelo, el 9,4% de las pacientes aún requeriría un aumento de dosis, el 80,5% se consideraría como prescrita correctamente y el 7,9%

necesitaría una disminución de la dosis. En consecuencia, el modelo rescataría al 11,6% de las pacientes con resultados subóptimos. En concreto, en comparación con los médicos, nuestro algoritmo reduciría significativamente el número de pacientes que requieren un aumento de la dosis y mejoraría significativamente el número de pacientes con una dosis correcta ($p<0,05$).

CONCLUSIONES

La integración del conocimiento clínico en el entrenamiento de modelos de ML mejoró el rendimiento del modelo puesto que recomendó cambios consistentes con la práctica clínica y conservadores, que no incrementarían el riesgo de complicaciones en la paciente, incluyendo hiperestimulación ovárica. Este enfoque es fundamental para la implementación clínica segura y sólida de los modelos intervencionales.

P-052

LA CAPACIDAD DE DETECCIÓN DE ENFERMEDADES LIGADAS AL CROMOSOMA X AUMENTA CON EL NÚMERO DE GENES ANALIZADOS EN LOS TEST GENÉTICOS DE PORTADORES

Eva María García Hernández, B Lledó Bosch, JA Ortiz Salcedo, R Morales Sabater, F Lozano García, M Hortal Foronda, A Pay García, A Turienzo Díez, A Bernabéu García, R Bernabéu Pérez
Instituto Bernabéu
Alicante (Alicante)

INTRODUCCIÓN

Los test genéticos de portadores ampliados, también llamados *carrier genetic test* (CGT)®, nos permiten identificar mutaciones en los genes responsables de enfermedades recesivas y ligadas al cromosoma X. Estas enfermedades ligadas al X, se presentan en los hombres, mientras que las mujeres son portadoras asintomáticas cuando solo portan uno de los alelos mutados, existiendo un riesgo para la descendencia del 50% de los varones afectos. Por lo tanto, es importante estudiar este tipo de mutaciones ligadas al X en aquellas mujeres que van a someterse a TRA, así como en mujeres donantes, ya que identificarlas nos permite poder reducir el riesgo de tener un niño afecto y asegurar una descendencia sana. Gracias al desarrollo de la técnica de secuenciación masiva (NGS), el número de genes a estudiar, ligados al cromosoma X, aumenta considerablemente, ya que nos permite secuenciar un elevado número de genes. Sin embargo, algunos estudios han sugerido que utilizar paneles con un mayor número de genes asociados a enfermedades ligadas al X, no aumenta la probabilidad de detectar un mayor número de mutaciones.

OBJETIVO

El objetivo de este proyecto fue determinar si la inclusión de un mayor número de genes en los test de compatibilidad genética, aumenta la capacidad de detección de mutaciones ligadas al X.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio restrospectivo realizado desde marzo de 2016 a abril de 2023, en el que se incluyeron 7.271 mujeres. Para llevarlo a cabo, se establecieron 3 grupos de estudio. En cada uno de ellos se utilizó un panel de TCG con diferente número de genes: TCG Básico (249 mujeres), TCG (4.561 mujeres) y TCG Ampliado (2.461 mujeres). Estos paneles incluyen un total de 49, 564 y 2.347 genes, respectivamente. El número de genes ligados al cromosoma X incluidos en cada panel es de 5, 89 y 166 genes, respectivamente.

La extracción de ADN genómico a partir de sangre-EDTA de las mujeres se realizó utilizando el kit comercial MagMax DNA

MultiSample Ultra y el extractor automatizado King-Fisher (ThermoFisher®). La detección de mutaciones ligadas al X se llevó a cabo mediante NGS, utilizando la tecnología Nextera Enrichment (Illumina®). Los datos FASTAQ se procesaron utilizando los algoritmos BWA y GATK. Los archivos VCF se analizaron utilizando el *software* Variant Interpreter.

RESULTADOS

Tras el análisis de los datos, se observó que la tasa de detección de mutaciones en genes ligados al cromosoma X aumentaba de forma significativa en los TCG que emplean un mayor número de genes ligados al X. Concretamente, en el grupo de TCG Básico obtuvimos una única mutación ligada al X, siendo la tasa de detección obtenida del 0,41%. En el grupo de TCG se detectaron un total de 99 mutaciones (2,17%) en 17 genes asociados a enfermedades ligadas al X. Por último, en el grupo de TCG Ampliado, se detectaron 69 mutaciones ligadas al cromosoma X (2,80%) en 22 genes.

Las mutaciones ligadas al cromosoma X detectadas con mayor frecuencia en los 3 tipos de TCG empleados, se localizan en el gen G6PD (deficiencia glucosa 6-fosfato deshidrogenasa), así como en el gen FMR1, asociado al síndrome de X-Frágil.

CONCLUSIONES

La elevada prevalencia de enfermedades ligadas al X en la población general, pone de manifiesto la necesidad de utilizar, en la práctica clínica, paneles de TCG con un mayor número de genes asociados a este tipo de enfermedades, con el objetivo de reducir el riesgo de tener descendencia afecta. Esto tiene un claro impacto en los programas de donación, ya que estas donantes deberían ser retiradas del programa.

P-053

ALGORITMO KID SCORE V 3.2 Y EMBRIÓLOGOS, ¿HAY ACUERDO?

María del Rocío Peña Cotarelo, A Cambra Conejero, J Martín Coello, B Gaspar Herrero, M Ardoy Vilches
HGUGM
Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

La selección del mejor embrión a transferir se ha basado tradicionalmente en criterios morfológicos y ritmo de división. Este tipo de clasificación es observador-dependiente. Esto conlleva a que la elección del embrión a transferir, aquel con mayor potencial implantatorio, no siempre sea reproducible. Además, los sistemas habituales de selección no están basados en un algoritmo de decisión.

Entre las ventajas esperadas de los sistemas *time-lapse* está la reproducibilidad en la valoración, la inclusión de numerosos puntos de valoración y la mayor facilidad de crear algoritmos de decisión.

OBJETIVO

El objetivo es valorar la concordancia en la elección del embrión a transferir entre el algoritmo KIDScore V.3.2 del Embryoscope+ y el seleccionado por parte de equipo de embriólogos de nuestro centro.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo de los ciclos realizados en nuestro centro. Se elige un plazo de 6 meses para evitar cambios en la subjetividad del observador, en total 64 pacientes con 292 blastocistos evaluables. Criterios de inclusión: pacientes con al menos 3 blastocistos transferidos o congelados, en los que la visualización en el pocillo fuera completa.

Para la observación y clasificación por parte del equipo de embriólogos se tiene en cuenta la última clasificación de ASEBIR. Se toman medidas de la masa celular interna (MCI) y del diámetro del trofoectodermo (TF), así como el número de células del plano ecuatorial. Se evalúan los blastocistos a las 116 horas postinseminación. El embrión seleccionado para transferir por los embriólogos se hace en base a la calidad del blastocisto, en caso de igualdad, a criterio discrecional. El algoritmo KIDScore V.3.2 tiene en cuenta los siguientes tiempos: división a 2, 3, 4 y 5 células, tiempo de inicio de blastulación y calidad asignada a la MCI y al TF.

Se establece un grupo de estudio por cada embriólogo del laboratorio (E1 a E4), y un grupo adicional de consenso sobre cuál sería el mejor embrión a transferir (Gconsenso) tras haber evaluado independientemente todos los embriones. Cada uno de estos grupos se evalúa frente a la elección del blastocisto con mayor puntuación del algoritmo KIDScore V.3.2 incluido en el incubador Embryoscope+.

Se obtuvo el grado de concordancia entre los grupos con el índice kappa de Fleiss y su IC al 95%, utilizando el *software* STATA (StataCorp., v.15).

RESULTADOS

Grados de concordancia, índice Kappa:
- E1, E2, E3, E4 y Gconsenso *vs.* KIDScore V.3.2, respectivamente 0,79; 0,63; 0,64; 0,77; 0,79, con $p<0,05$ en todos los casos. Todos ellos comprendidos en el rango de "buena concordancia" (Altman, 1990).

CONCLUSIONES

Sería fácil quedar en la simple conclusión de que, en nuestro grupo de estudio, el grado de concordancia del embrión a transferir de cada uno de los embriólogos con la selección del KIDScore V.3.2 es "bueno", mejorando de forma no relevante cuando la selección se hace en conjunto. Más bien concluimos con más preguntas, una vez que la bibliografía va apuntando a la confirmación de este grado de concordancia:

- ¿Es necesario comparar ASEBIR *vs.* KIDScore V.3.2 si seleccionamos de forma comparable?
- En caso de que la respuesta sea sí, ¿cuál acierta más?
- Si la respuesta fuera el de ASEBIR, o que fueran semejantes, ¿deberíamos comenzar a obviar la morfología de D+2 a D+4 en ambos sistemas?

P-054

¿RENOVAR O NO RENOVAR EL MEDIO DE CULTIVO EN INCUBADORES SIN HUMEDAD? ESTUDIO RETROSPECTIVO

Alba Mauri López, A Cabré Fàbregas, S Pizarro Muñoz, E Güell Penas, JI Mazzanti Pérez
Centre Procrear
Reus (Tarragona)

INTRODUCCIÓN

Conseguir unas condiciones óptimas de cultivo es uno de los principales objetivos en el laboratorio de FIV. En el cultivo largo seco ininterrumpido existe un mayor riesgo de que las condiciones de cultivo óptimas se vean alteradas pudiendo comprometer el desarrollo embrionario. Con el uso de medios secuenciales, el cambio de medio en D3 era obligado. Actualmente el uso de incubadores *time-lapse*, los medios únicos y minimizar la manipulación de los embriones durante su cultivo han desplazado esta práctica.

OBJETIVO

Evaluar si existen diferencias en el desarrollo embrionario en cultivo seco con o sin renovación del medio en D3.

MATERIAL Y MÉTODO

Análisis retrospectivo de cohorte que incluyó 2.135 ovocitos MII de 218 ciclos de ICSI realizados entre enero de 2018 y diciembre de 2019. Los ovocitos se dividieron en dos grupos según el estado de renovación del medio (Renovado / No Renovado) y se establecieron varios subgrupos (10) según el tipo de ovocito (fresco/descongelado), origen del ovocito y origen del espermatozoide (propio/donante). Los ovocitos microinyectados MII se cultivaron en un incubador Geri (Genea Biomedx, Australia) en condiciones sin humedad, en placa Geri preparada con 80 µl de medio único G-TL (Vitrolife) y 4 mL de aceite mineral (Fujifilm Irvine Scientific). Se realizó un cultivo prolongado hasta la etapa de blastocisto sin renovar el medio durante el año 2018 y renovando el medio en D3 durante el año 2019. Se registró el número de ovocitos MII microinyectados, cigotos fertilizados en D1 y blastocistos útiles en D5/D6 (blastocistos transferidos + vitrificados) para cada ciclo de ICSI. Se calcularon las tasas de fecundación (T2PN=-Fecundados/MII) y de la tasa de blastocisto útil (TB=blastocistos útiles/Fecundados). Fueron excluidos del estudio: ciclos sin ovocitos maduros, ciclos con fallo total de fecundación, ciclos con muestra espermática de origen testicular. El análisis estadístico consistió en la diferencia de medias de tasa de fecundación y de blastocisto útil mediante Wilcox test y prueba de suma de rangos de Kruskal-Wallis ($p<0,05$), tras verificar la distribución de los datos mediante la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk ($p<0,05$). Se realizó una regresión logística ajustando según tipo de ovocito, origen del ovocito y origen del espermatozoide, se calculó la *Odds Ratio* ajustada (aOR, 95% IC).

RESULTADOS

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las tasas medias de fecundación entre los dos grupos ni subgrupos. Sin embargo, la tasa de blastocisto útil fue significativamente diferente entre el grupo Renovado (61,7%) y el grupo No Renovado (49,1%, $p<0,05$). Un análisis posterior mostró también diferencias significativas en la TB entre los subgrupos según el estado de renovación ($p<0,05$). El análisis confirmó la asociación significativa de la renovación del medio con una mayor tasa de blastocistos (aOR = 1,17, 1,09-1,25, $p < 0,001$).

CONCLUSIONES

Renovar el medio de cultivo en día 3 podría mejorar la tasa de blastocisto útil en el cultivo embrionario seco. El diseño retrospectivo de este estudio puede limitar su robustez debido a la posible presencia de factores de confusión no ajustados ni controlados, por lo que creemos que estos resultados deben interpretarse con precaución y se requieren de estudios adicionales, principalmente de carácter prospectivo, para validar estos hallazgos. Nuestros resultados indican la importancia de evaluar y mejorar continuamente las condiciones del laboratorio para obtener los mejores resultados posibles en la fecundación *in vitro*.

P-055

REVISIÓN DE LA MORFOLOGÍA PRONUCLEAR COMO INDICADOR DE LA EUPLOIDÍA EMBRIONARIA

Jordi Guardiola Parera[1], J Ferrer Balaguer[1], M Hebles Duvison[2], A Bellón Hernando[2], R Fuentes Vera[2], E Lobo González[3]

[1]Ginemed Barcelona - Barcelona (Barcelona), [2]IVIRMA Global Research Alliance-Ginemed Sevilla - Sevilla (Sevilla), [3]IVIRMA Global Research Alliance-Ginemed Madrid Centro - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

Para lograr el recién nacido vivo en casa se han desarrollado varias técnicas en los últimos años para seleccionar el embrión con mayor potencial de implantación, siendo una de ellas el estudio genético para aneuploidías (PGT-A). Ésta es una técnica invasiva, con cierto riesgo para el embrión, y necesita de un equipo costoso y personal muy bien entrenado, por lo que se están buscando otras alternativas no invasivas y de aplicación más sencilla.

Una propuesta reciente ha sido el uso de la morfología pronuclear como indicador de la dotación cromosómica embrionaria en pacientes jóvenes (Frantz *et al.*; 2020). El uso de la clasificación de pronúcleos es controvertido, puesto que no hay una decisión clara sobre su valor en la embriología clínica.

OBJETIVO

El objetivo de este estudio es correlacionar el diagnóstico genético de los embriones analizados mediante PGT-A con la morfología pronuclear en base al grupo de edad de la población estudiada.

MATERIAL Y MÉTODO

Este es un estudio multicentro retrospectivo en el que se incluye el análisis de 395 embriones obtenidos en 104 ciclos de PGT-A entre enero de 2021 y diciembre de 2022. Se incluyeron en el estudio aquellos ciclos con ovocitos propios y PGT-A debido a abortos de repetición, fallos de implantación, edad materna avanzada e infertilidad de origen desconocido. Quedaron descartados ciclos en mujeres mayores de 40 años, en parejas portadoras de translocaciones cromosómicas, FISH alterado, enfermedades monogénicas y ovocitos donados.

Tras una estimulación ovárica controlada, la punción ovárica se realizó 36 horas post-inyección de hCG, los ovocitos se inseminaron mediante ICSI y se cultivaron individualmente tras ICSI en 30 µL de medio GERI (GeneaBioMedx) en incubador *time-lapse* GERI. A las 17±1h, se revisó la fertilización de los ovocitos microinyectados, asignándoles un valor pronuclear Z (Z1 a Z4) basado en el sistema de Scott (2000). Los embriones fueron cultivados hasta el estadio de blastocisto y biopsiados. Las muestras fueron mandadas a Bioarray y analizadas mediante NGS. El test estadístico χ^2 fue usado para determinar la relación entre la morfología pronuclear (grupo Z1-Z2 *vs.* grupo Z3-Z4) y la ploidía embrionaria.

RESULTADOS

Un total 390 embriones informativos obtenidos en 104 ciclos fueron revisados (Tabla I). De esos, 150 (38,5%) fueron euploides y 240 (61,54%) aneuploides, Se observó distribución del grupo Z1-Z2 en 98 embriones euploides (39,8%) y en 148 aneuploides (60,2%), y grupo Z3-Z4 en 52 (36,1%) y 92 (63,9%) embriones respectivamente, con p valor de 0,53.

Si analizamos por grupos de edad (tabla II), en mujeres <35 años (78 embriones), en el grupo Z1-Z2 se obtuvo un 48,1% de euploides y un 51,9% de aneuploides, y en el grupo Z3-Z4 un 38,5% y un 61,5% respectivamente, con p valor de 0,64.

En el rango de 35-38 años (185 embriones), en el grupo Z1-Z2 se encontró un 42% de euploides y un 58% de aneuploides, y para el grupo Z3-Z4 los valores eran de 37,9% y 62,1% respectivamente, con p valor de 0,3.

En mujeres de 39-40 años (127 embriones), en el grupo Z1-Z2 se observó un 30,7% de euploides y un 69,3% de aneuploides, y en el grupo Z3-Z4 un 32,7% y un 67,3% respectivamente, con p valor de 0,058.

No se observan diferencias significativas en ninguno de los grupos estudiados.

CONCLUSIONES

Esta revisión indica que la morfología pronuclear no es un parámetro válido por si solo para determinar la euploidía embrionaria en las pacientes según su grupo de edad. Estudios con una mayor N de muestras analizadas podrían ayudar a esclarecer la relación entre la calidad nuclear y la dotación cromosómica embrionaria y su aplicabilidad como método no invasivo alternativo al PGT-A.

TABLAS

Revisión de la morfología pronuclear como indicador de la euploidía embrionaria

Tabla I. Datos generales del estudio.

Num total de ciclos estudiados	104
Num total de Embriones	395
Num total de Emb. informativos	390
Num total Emb. Euploides	150 (38.5%)
Num Total Emb. Aneuploides (Mosaico+ Alterado)	240 (61.5%)

Tabla II. Desglose de los grupos de distribución Z1-Z2 y Z3-Z4 en base a grupos de edad.

	Total	<35a	35-38a	39-40a
Num Emb	390	78	185	127
Emb Euploides (%)	150 (38.5%)	35 (44.9%)	75 (40.5%)	40 (31.5%)
Emb Aneuploides (%)	240 (61.5%)	43 (55.1%)	110 (59.5%)	87 (68.5%)
Z1-Z2 Euploides (%)	98 (39.8%)	25 (48.1%)	50 (42%)	23 (30.7%)
Z1-Z2 Aneuploides (%)	148 (60.2%)	27 (51.9%)	69 (58%)	52 (69.3%)
Z3-Z4 Euploides (%)	52 (36.1%)	10 (38.5%)	25 (37.9%)	17 (32.7%)
Z3-Z4 Aneuploides (%)	92 (63.9%)	16 (61.5%)	41 (62.1%)	35 (67.3%)
P valor	0.53	0.64	0.3	0.058

P-056

LA TEMPERATURA INTERNA DEL CATÉTER DURANTE LA TRANSFERENCIA: POTENCIALES EFECTOS SOBRE EL MICROAMBIENTE EMBRIONARIO

Catello Scarica[1], M Sánchez de Burgos[2], P Guijarro Ponce[2], S Barberi[2], F Barbarulo[1], G Carconi[1], I Totaro[1], G Delogu[2], J Vespa Hidalgo[2], A Monaco[2]

[1]New Fertility Group - Roma (Italia), [2]Amnios (New Fertility Group) - Madrid (España)

INTRODUCCIÓN

La transferencia embrionaria es uno de los procesos más cruciales dentro de las técnicas de reproducción asistida. Este procedimiento es fundamental para el éxito de los tratamientos de RHA (reproducción humana asistida) y se compone de varias fases, comenzando con la selección de embriones, seguido de la carga de los embriones en el catéter en el laboratorio, y culminando en la sala de transferencia en un ambiente abierto y con temperatura ambiente entre 20 y 24 °C. Aunque la técnica de transferencia se ha perfeccionado con el tiempo y se han propuesto diferentes versiones y sugerencias para estandarizar las distintas fases (ASRM, 2017, D Angelo *et al.*,2022), sigue existiendo una gran variabilidad entre centros y además se ve afectada por la experiencia del operador que la realiza (Cirillo et al., 2020). La carga de embriones se puede realizar a través de dos maneras posibles: aire-líquido, que prevé que el embrión se cargue con una gota de medio de cultivo intercalado con burbujas de aire; o la metodología solo fluido, que implica cargar el embrión en una columna de medio de cultivo, sin intervalos de burbujas de aire. Pocos datos bibliográficos están disponibles sobre las posibles influencias del ambiente externo y de los diferentes procedimientos de carga en condiciones de cultivo de embriones. Recientemente ha sido descrito como la temperatura cae drásticamente durante la transferencia (Macklon *et al.*, 2021).

OBJETIVO

Usando una sonda de temperatura muy delgada (Okolab) colocada dentro de un catéter de transferencia en la posición exacta en la que se carga el embrión, el presente estudio tiene como objetivo primario establecer a qué variación de temperatura está expuesto el embrión durante el procedimiento transferencia y si hay una diferencia en esa temperatura entre los diferentes tipos de carga.

MATERIAL Y MÉTODO

En nuestro centro el catéter se calienta 15 minutos antes del procedimiento y se carga en el laboratorio solo cuando el ginecólogo ha posicionado la guía externa, con la ayuda de una guía de ultrasonido. Todo el procedimiento, desde la carga hasta la transferencia en el útero, dura un promedio de 60 segundos. Simulamos un total de 45 transferencias (27 transferencias con metodología sólo fluido y 18 con aire-líquido). Se registraron los valores de temperatura y humedad ambiental, la temperatura interna del catéter después de 15 minutos de precalentamiento, la temperatura interna del momento de la carga y en los siguientes 60 segundos.

RESULTADOS

Las 45 simulaciones se realizaron a una temperatura ambiente promedio de 22,43°C± 0,85, y una humedad relativa media de 47,4%± 5,1. Después de 15 minutos de precalentamiento, el catéter ha alcanzado una temperatura media de 32,04 °C ± 2,08. Al cargar, la temperatura media dentro del catéter fue 31,22 °C ± 1,67 y después de 60 segundos fue de 29,15 °C ± 1,88. La comparación entre los métodos de sólo líquido y "aire-líquido" muestra los siguientes resultados: temperatura interna con carga "sólo líquido" 31,97 °C ± 1,87, "aire-líquido" 30,11 °C ± 1,48 ($p<0,001$); Temperatura media después de 60 segundos solo líquido 29,98 °C ± 1,71, "aire-líquido" 27,91 °C ± 1,38 ($p<0,001$).

CONCLUSIONES

El procedimiento de transferencia expone al embrión a una drástica disminución de la temperatura internamente en proporción directa al tiempo de ejecución. No obstante, se destaca una temperatura subóptima ya en la primera fase de carga. Los datos del presente estudio apoyan la hipótesis de que la disminución de la temperatura también depende del método de carga del embrión, más específicamente, el método aire-líquido parece exponer a una mayor disminución de la temperatura más rápido que el método solo líquido

REFERENCIAS

1. ASRM, 2017, D Angelo et al., 2022
2. Cirillo et al., 2020
3. Macklon et al., 2021

P-057

LA FIV CONVENCIONAL PROPORCIONA MEJOR DESARROLLO EMBRIONARIO QUE LA ICSI EN PACIENTES SIN FACTOR MASCULINO SEVERO

María Dolores Cuquerella Fernández-Vázquez, S Rafael Fernández, S Veganzones de Castro, M Vidaurreta Lázaro, M Calventus Periago, I Cristóbal García
Hospital Clínico San Carlos
Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

La técnica de ICSI fue originalmente diseñada para casos de factor masculino. Sin embargo, su uso se ha ido extendiendo para otras muchas indicaciones, de modo que se ha convertido en la técnica más empleada. Una de las razones es el miedo a un fallo completo de fecundación cuando se utiliza FIV convencional (FIVc). Sin embargo, no existe consenso en la bibliografía y no sabemos con seguridad si una técnica es superior a la otra en pacientes sin factor masculino.

Hay que tener en consideración que la ICSI es más costosa e invasiva que la FIVc. Por este motivo, es importante saber si está justificado su uso en estos casos.

OBJETIVO

El objetivo de este estudio es comparar FIVc e ICSI en cuanto a fecundación y desarrollo embrionario en casos sin factor masculino severo cuando se aplican en la misma cohorte de ovocitos.

MATERIAL Y MÉTODO

Se trata de un estudio prospectivo y aleatorizado en el que se analizaron 96 ciclos de FIV/ICSI entre enero de 2022 y abril de 2023. Se solicitó la participación a todos los pacientes con al menos 6 ovocitos frescos propios y parámetros seminales adecuados para FIVc. El estudio incluye 1.127 ovocitos y 656 embriones.

En cada ciclo se realizó una técnica mixta usando FIVc e ICSI en la misma cohorte de ovocitos: tras la punción ovárica, los ovocitos se recogieron en 2 placas de cultivo alternativamente según su orden de aparición, de forma que quedasen repartidos equitativamente y sin intervención del embriólogo. Se usó un método de aleatorización para asignar la técnica de fecundación para cada placa.

Posteriormente se registró de forma individualizada los datos de madurez, fecundación y desarrollo embrionario de cada ovocito. Todos los embriones se cultivaron hasta el estadío de blastocisto.

El análisis estadístico se realizó usando modelos de regresión logística multinivel al tratarse de datos con estructura jerárquica.

RESULTADOS

La edad media de las pacientes fue 36,2±2,8 [28-40] y el número de ovocitos por ciclo 11,7±4,7 [6-26]. 551 ovocitos (48,9%) fueron asignados al grupo de FIVc y 576 (51,1%) al de ICSI.

El porcentaje de ovocitos maduros fue significativamente mayor en el grupo de FIVc que en el de ICSI (88,0% *vs.* 80,4%, p<0,01), lo que concuerda con la evaluación de la madurez en día 1 en FIVc.

Se observó diferencia cercana a la significatividad estadística entre los grupos de FIVc e ICSI en cuanto a tasa de fecundación por ovocito recuperado (61,3% *vs.* 55,2%, p=0,053).

Encontramos diferencias estadísticamente significativas entre FIVc e ICSI en la tasa de blastocisto por ovocito recuperado (31,9% *vs.* 23,8%, p=0,01) y en la de blastocisto usado (transferido o criopreservado) por ovocito recuperado (27,2% *vs.* 19,1%, p<0,01). Sin embargo, no se observaron diferencias entre las 2 técnicas en cuanto a la tasa de blastocistos A+B por ovocito recuperado (10,5% *vs.* 9,2%). Además, en el 56,5% de los ciclos, el mejor blastocisto se obtuvo por FIVc y en el 43,5% por ICSI.

Se observó un fallo de fecundación en 3 pacientes con FIVc y en 2 pacientes con ICSI. Todos ellos tenían ≤4 ovocitos maduros.

CONCLUSIONES

Nuestros resultados muestran que la FIVc ofrece mejores resultados en cuanto a desarrollo embrionario que la ICSI en pacientes sin factor masculino cuando se aplican ambas técnicas en la misma cohorte de ovocitos. Considerando que la FIVc es más sencilla y menos invasiva y requiere menos tiempo de trabajo, el uso exclusivo de ICSI en estos pacientes no parece estar justificado de acuerdo a nuestros resultados.

Aunque el número de ovocitos analizado es considerable, estamos ampliando el estudio para poder corroborar estos hallazgos.

P-058

VALIDACIÓN CLÍNICA DE UNA PUNTUACIÓN AUTOMÁTICA DE INTELIGENCIA ARTIFICIAL (CHLOE EQ) Y SU RELACIÓN CON EUPLOIDÍA Y ORIGEN DE LOS GAMETOS Y MUESTRA SEMINAL

Jorge Ten Morro[1], MC Tió Marquina[1], J Guerrero Villena[1], A Rodríguez Arnedo[1], A Brualla[2], A Zepeda[3], M Herreros Hergueta[1], N Díaz Hernández[1], A Bernabéu García[1], R Bernabéu Pérez[1]

[1]Instituto Bernabéu - Alicante (Alicante), [2]Fairtility - Barcelona (Barcelona), [3]Fairtility - Rotterdam (Rotterdam)

INTRODUCCIÓN

La selección de embriones es un aspecto crítico en la reproducción asistida, y la integración de la inteligencia artificial en los sistemas de incubación, como el Geri, puede mejorar significativamente la precisión y eficiencia del proceso. La aplicación de inteligencia artificial CHLOE de Fairtility, integrada con incubadores *time-lapse*, ha demostrado ser una herramienta útil para la evaluación y selección de embriones en el laboratorio de FIV. El EQ Score de CHLOE considera múltiples criterios morfológicos y de cinética para evaluar la calidad del embrión y predecir su potencial de implantación.

OBJETIVO

Este estudio tuvo como objetivos realizar una validación de la puntuación de CHLOE EQ en relación con euploidía y gametos. Para ello se comparó la calidad embrionaria mediante

la puntuación de CHLOE EQ en embriones euploides y aneuploides. Así mismo, entre ovocitos propios y de donante, entre embriones provenientes de semen de donante y propio, entre embriones provenientes de semen eyaculado y espermatozoides testiculares, y la calidad embrionaria entre muestras de semen con normozoospermia e hipospermia. Con estos objetivos, se buscó determinar la eficacia de la puntuación CHLOE EQ en la evaluación de la calidad embrionaria en ciclos de FIV e identificar factores que pudieran afectar dicha calidad.

MATERIAL Y MÉTODO

Se incluyeron en el estudio un total de 3.529 embriones, 2.147 ovocitos de donante y 1.464 ovocitos propios de pacientes de tratamientos de FIV en nuestro centro. Se realizó la medición de la puntuación CHLOE EQ en todos los embriones como marcador de calidad embrionaria. Se comparó la calidad embrionaria (t-test), entre embriones euploides (n=112) y aneuploides (n=225). Así mismo, entre embriones provenientes de semen eyaculado (n=3529) y espermatozoides testiculares (n=94), entre embriones donde la muestra espermática era astenozoospérmica (<32% n=1135 *vs.* >32% n=2488), entre embriones provenientes de semen de donante (n=418) y propio (n=3109), y entre muestras de semen con normozoospermia (n=2105) e hipospermia (n=1518). La predicción de euploidía fue analizada mediante regresión logística binaria (AUC).

RESULTADOS

La puntuación CHLOE EQ en embriones euploides fue mayor en comparación con embriones aneuploides (0,7±0,33 *vs.* 0,59 ± 0,35, p=0,004), así mismo fue predictiva de euploidía (AUC=0,62, n=337, p=0,006).

La puntuación CHLOE EQ en ovocitos de donante fue significativamente mayor que en ovocitos propios (0,42±0,42 *vs.* 0,35±0,39, p<0,001). Los embriones provenientes de espermatozoides de eyaculado mostraron una calidad embrionaria significativamente mayor que los embriones provenientes de espermatozoides testiculares (0,39±0,41 *vs.* 0,32±0,39, p=0,03). Los embriones provenientes de semen con un adecuado porcentaje de motilidad mostraron una calidad embrionaria significativamente mayor que los embriones provenientes de semen con un porcentaje de motilidad más bajo (0,40±0,41 *vs.* 0,36±0,41, p=0,008). No se encontraron diferencias significativas en la calidad embrionaria entre embriones provenientes de semen de donante y propio, ni entre muestras de semen con normozoospermia e hipospermia.

CONCLUSIONES

La puntuación CHLOE EQ es una herramienta útil para evaluar la calidad embrionaria en ciclos de FIV, así como para predecir euploidía. Los ovocitos de donante y los embriones provenientes de espermatozoides de eyaculado mostraron una calidad embrionaria significativamente mayor que los ovocitos propios y los embriones provenientes de espermatozoides testiculares. Además, los embriones provenientes de semen con un adecuado porcentaje de motilidad mostraron una calidad embrionaria significativamente mayor que los embriones provenientes de semen con un porcentaje de motilidad más bajo. Estos hallazgos indican que CHLOE EQ puede ser un instrumento útil para evaluar posibles factores relacionados con la calidad embrionaria. Además, proporciona un indicador de calidad embrionaria de forma automatizada, personalizada y eficiente.

P-059

EFECTO DEL *HATCHING* ASISTIDO EN UN CUARTO DEL EMBRIÓN EN LAS TASAS DE IMPLANTACIÓN, GESTACIÓN CLÍNICA Y RNV EN CASA

Paula Cano Calvo[1], C Mariné Canals[1], B Gunturiz Beltrán[1], M Aura Masip[1], J Llácer Aparicio[2], L Mifsud Elena[1]
[1]Ginefiv Barcelona - Barcelona (Barcelona), [2]Ginefiv Madrid - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

La eclosión asistida es una acción mecánica ejercida sobre la zona pelúcida de los embriones antes de la transferencia, con la intención de ayudarles a eclosionar y alcanzar el útero con mayor facilidad y menor esfuerzo. Muchos han sido los estudios realizados para evaluar la eficacia de realizar eclosión asistida a los embriones previamente a su transferencia, aunque existe controversia sobre su efecto y generalmente no se especifica qué forma se ha usado para realizar el proceso.

OBJETIVO

Analizar si realizando una eclosión asistida en un cuarto del embrión, de forma lineal y completando un agujero en la zona pelúcida en blastocistos, se consiguen mejores resultados en cuanto a la tasa de implantación, gestación clínica y/o RNV en casa.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realiza un estudio retrospectivo de todos los ciclos realizados en nuestro centro en los años 2021 y 2022, donde se compara la transferencia sin realizar *hatching* asistido *vs.* la realización de *hatching* asistido de forma lineal en un cuarto de la zona pelúcida, con el láser Octax (Vitrolife®). Se evalúa el efecto para las variables de implantación, gestación clínica y RNV en casa. El estudio incluye un total de 630 transferencias: 175 en los que no se realizó *hatching* asistido antes de la transferencia, y 455 a los que sí. El estudio se realiza mediante el programa estadístico SPSS, con una prueba de χ^2, considerando estadísticamente significativo un P valor ≤ 0,05.

Se plantean diferentes situaciones: Grupo 1 – Análisis de los datos de todos los ciclos, sin realizar distinciones en cuanto a tipo de tratamiento (n: 630, *hatching* no: 175, *hatching* sí: 455). Grupo 2 – Análisis de los datos de los ciclos con embriones en fresco (n: 99, *hatching* no: 46, *hatching* sí: 53). Grupo 3 – Análisis de los ciclos con embriones desvitrificados (n: 430, *hatching* no: 106, *hatching* sí: 324). En los tres grupos se realizó el estudio con independencia del origen del ovocito.

Se excluyen del estudio los ciclos de PGT y criotransferencias de dos embriones en las que sólo se haya observado un saco gestacional.

RESULTADOS

Grupo 1: No se observan diferencias estadísticamente significativas entre la realización de *hatching* asistido y las tasas de implantación, con un p-valor = 0,114; gestación clínica, con un p-valor = 0,446 y RNV en casa, con un p-valor = 0,384 (TABLAS RESULTADOS GRUPO 1)

Grupo 2: No se observan diferencias estadísticamente significativas entre la realización de *hatching* asistido en embriones en fresco y las tasas de implantación, con un p-valor = 0,558; gestación clínica con un p-valor = 0,726 y RNV en casa con un p-valor = 0,145 (TABLAS RESULTADOS GRUPO 2).

Grupo 3: Se observan diferencias estadísticamente significativas entre la realización de *hatching* asistido en embriones desvitrificados y las tasas de implantación con un p-valor = 0,014; gestación clínica con un p-valor = 0,034 y RNV en casa con un p-valor = 0,011 (TABLAS RESULTADOS GRUPO 3).

CONCLUSIONES

Realizar un *hatching* asistido de forma lineal a un cuarto del embrión tras la desvitrificación embrionaria mejora de forma estadísticamente significativa las tasas de implantación, gestación clínica y RNV, mientras que no tiene ningún efecto estadísticamente significativo en las transferencias de embriones en fresco.

REFERENCIAS

Tablas resultados Grupo 1. Análisis de los datos de todos los ciclos, sin realizar distinciones en cuanto a tipo de tratamiento.

Resumen de procesamiento de casos

	Casos					
	Válido		Perdido		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
HATCHING * IMPLANTACIÓN	630	100,0%	0	0,0%	630	100,0%
HATCHING * EVOLUCIÓN GESTACIÓN	630	100,0%	0	0,0%	630	100,0%
HATCHING * PARTO	630	100,0%	0	0,0%	630	100,0%

HATCHING * IMPLANTACIÓN

			IMPLANTACIÓN		
			No	Sí	Total
HATCHING	No hatching	Recuento	95	80	175
		% dentro de HATCHING	54,3%	45,7%	100,0%
	Hatching	Recuento	215	240	455
		% dentro de HATCHING	47,3%	52,7%	100,0%
Total		Recuento	310	320	630
		% dentro de HATCHING	49,2%	50,8%	100,0%

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	2,501	1	,114		

HATCHING * EVOLUCIÓN GESTACIÓN

			EVOLUCIÓN GESTACIÓN				
			No	Beta	Saco	Latido	Total
HATCHING	No hatching	Recuento	95	16	15	49	175
		% dentro de HATCHING	54,3%	9,1%	8,6%	28,0%	100,0%
	Hatching	Recuento	216	44	40	155	455
		% dentro de HATCHING	47,5%	9,7%	8,8%	34,1%	100,0%
Total		Recuento	311	60	55	204	630
		% dentro de HATCHING	49,4%	9,5%	8,7%	32,4%	100,0%

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	2,669	3	,446

HATCHING * PARTO

			PARTO			
			No	Término	5*	Total
HATCHING	No hatching	Recuento	127	48	0	175
		% dentro de HATCHING	72,6%	27,4%	0,0%	100,0%
	Hatching	Recuento	312	140	3	455
		% dentro de HATCHING	68,6%	30,8%	0,7%	100,0%
Total		Recuento	439	188	3	630
		% dentro de HATCHING	69,7%	29,8%	0,5%	100,0%

*Corresponde a gestaciones que no se ha podido determinar la evolución del embarazo pasada la semana 5 (se ha perdido contacto con el paciente).

Tablas resultados Grupo 2. Análisis de los datos de los ciclos con embriones en fresco.

Resumen de procesamiento de casos

	Casos					
	Válido		Perdido		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
HATCHING * IMPLANTACIÓN	99	100,0%	0	0,0%	99	100,0%
HATCHING * EVOLUCIÓN GESTACIÓN	99	100,0%	0	0,0%	99	100,0%
HATCHING * PARTO	99	100,0%	0	0,0%	99	100,0%

HATCHING * IMPLANTACIÓN

			IMPLANTACIÓN		
			No	Sí	Total
HATCHING	No hatching	Recuento	19	27	46
		% dentro de HATCHING	41,3%	58,7%	100,0%
	Hatching	Recuento	25	28	53
		% dentro de HATCHING	47,2%	52,8%	100,0%
Total		Recuento	44	55	99
		% dentro de HATCHING	44,4%	55,6%	100,0%

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,343	1	,558		

HATCHING * EVOLUCIÓN GESTACIÓN

			EVOLUCIÓN GESTACIÓN				
			No	Beta	Saco	Latido	Total
HATCHING	No hatching	Recuento	19	5	5	17	46
		% dentro de HATCHING	41,3%	10,9%	10,9%	37,0%	100,0%
	Hatching	Recuento	26	7	6	14	53
		% dentro de HATCHING	49,1%	13,2%	11,3%	26,4%	100,0%
Total		Recuento	45	12	11	31	99
		% dentro de HATCHING	45,5%	12,1%	11,1%	31,3%	100,0%

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	Df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	1,315[a]	3	,726

HATCHING * PARTO

			PARTO			
			No	Término	5	Total
HATCHING	No hatching	Recuento	29	17	0	46
		% dentro de HATCHING	63,0%	37,0%	0,0%	100,0%
	Hatching	Recuento	41	11	1	53
		% dentro de HATCHING	77,4%	20,8%	1,9%	100,0%
Total		Recuento	70	28	1	99
		% dentro de HATCHING	70,7%	28,3%	1,0%	100,0%

*Corresponde a gestaciones que no se ha podido determinar la evolución del embarazo pasada la semana 5 (se ha perdido contacto con el paciente).

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	3,867	2	,145

Tablas resultados Grupo 3. Análisis de los ciclos con embriones desvitrificados.

Resumen de procesamiento de casos

	Casos					
	Válido		Perdido		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
HATCHING * IMPLANTACIÓN	430	100,0%	0	0,0%	430	100,0%
HATCHING * EVOLUCIÓN GESTACIÓN	430	100,0%	0	0,0%	430	100,0%
HATCHING * PARTO	430	100,0%	0	0,0%	430	100,0%

HATCHING * IMPLANTACIÓN

			IMPLANTACIÓN		
			No	Sí	Total
HATCHING	No hatching	Recuento	65	41	106
		% dentro de HATCHING	61,3%	38,7%	100,0%
	Hatching	Recuento	154	170	324
		% dentro de HATCHING	47,5%	52,5%	100,0%
Total		Recuento	219	211	430
		% dentro de HATCHING	50,9%	49,1%	100,0%

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	6,077	1	,014		

HATCHING * EVOLUCIÓN GESTACION

			EVOLUCIÓN GESTACIÓN				
			No	Beta	Saco	Latido	Total
HATCHING	No hatching	Recuento	65	10	9	22	106
		% dentro de HATCHING	61,3%	9,4%	8,5%	20,8%	100,0%
	Hatching	Recuento	154	29	25	116	324
		% dentro de HATCHING	47,5%	9,0%	7,7%	35,8%	100,0%
Total		Recuento	219	39	34	138	430
		% dentro de HATCHING	50,9%	9,1%	7,9%	32,1%	100,0%

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	8,699	3	,034

HATCHING * PARTO

			PARTO		
			No	Término	Total
HATCHING	No hatching	Recuento	85	21	106
		% dentro de HATCHING	80,2%	19,8%	100,0%
	Hatching	Recuento	218	106	324
		% dentro de HATCHING	67,3%	32,7%	100,0%
Total		Recuento	303	127	430
		% dentro de HATCHING	70,5%	29,5%	100,0%

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	6,391[a]	1	,011		

P-060

IMPACTO DE LOS DIFERENTES ESTADIOS DE ENDOMETRIOSIS EN LOS RESULTADOS DE GESTACIÓN TRAS TRANSFERENCIA DE UN EMBRIÓN EUPLOIDE ÚNICO

Purificación Hernández Vargas[1], B Gadea Navarro[1], M Esteve Bosch[1], JM Mascarós Martínez[2], M Muñoz Cantero[1]
[1]IVIRMA Alicante - IIS La Fe - Alicante (Alicante), [2]IVIRMA Foundation - IIS La Fe - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN

La endometriosis es la enfermedad ginecológica más frecuente entre las mujeres infértiles que predispone al fracaso reproductivo tanto en intentos de concepción natural como tras recurrir a técnicas de reproducción asistida (TRA). El manejo de la infertilidad y la TRA a emplear en estas pacientes dependen de la severidad de la endometriosis, por lo que además del correcto diagnóstico y categorización, resulta crucial conocer cómo impactan los diferentes estadios de la enfermedad en cada etapa del proceso reproductivo. Mientras que, en las mujeres con mayor afectación, los cambios anatómicos y menor reserva ovárica provocados por los implantes endometriósicos pueden alterar todos los pasos del proceso, la endometriosis mínima/leve parece impactar fundamentalmente en la fecundación y la implantación. Se ha propuesto que, en estos estadios tempranos de la enfermedad con menor cantidad y/o tamaño de esos implantes, otros factores como el deterioro de la calidad y/o maduración ovocitaria conduciría a embriones incompetentes para la implantación. Sin embargo, pocos estudios evalúan los resultados reproductivos en pacientes con endometriosis en los que únicamente se transfieren embriones euploides, ni consideran en su análisis la calidad embrionaria y el grado de severidad de la enfermedad.

OBJETIVO

Evaluar los resultados reproductivos en pacientes con endometriosis mínima/leve o moderada/severa tras transferencia de un único blastocisto euploide.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio de cohortes retrospectivo multicéntrico para comparar los resultados clínicos tras transferencia de embriones euploides únicos entre pacientes con endometriosis mínima/leve (estadios I-II; n=71) y moderada/grave (estadios III-IV; n=122) con los de mujeres sin esa enfermedad (control; n=4682). Se incluyeron ciclos de transferencia en mujeres de 18 a 42 años con embriones analizados mediante PGT-A en clínicas IVIRMA entre 2012 y 2019. Se excluyeron los casos de parejas con infertilidad masculina severa, cariotipos alterados y cromosomopatías en embriones o embarazos previos. Se analizaron las tasas de implantación (TI), prueba de embarazo positiva (β-hCG+), embarazo clínico (EC) y recién nacido vivo (RNV), además de la calidad del blastocisto transferido. La endometriosis se detectó tras cirugía, ecografía pélvica o por RMN, empleando la clasificación ASRM para su categorización y los criterios ASEBIR para la clasificación embrionaria. Se utilizó la prueba ANOVA y una regresión logística multivariante para evaluar la significación estadística ($P<0,05$).

RESULTADOS

El análisis incluyó 182 ciclos de transferencia de embriones euploides únicos en pacientes con endometriosis avanzada (estadios III-IV), 100 en pacientes con endometriosis mínima/leve (estadios I-II) y 6607 en el grupo control. Hasta el 76% de los blastocistos transferidos eran embriones de buena calidad (A+B) sin diferencias significativas entre los distintos grupos. El análisis descriptivo mostró una disminución de las TI en las pacientes con endometriosis (0,46% y 0,50% en los grupos III-IV y I-II, respectivamente) respecto del grupo control (0,55%; p=0,042). Asimismo, se observaron ligeras diferencias no significativas tanto en la β-hCG+ (52,75% y 60,00% frente a 61,40%; p=0,054) como en el EC (45,05% y 50,00% *vs.* 53,64%; p=0,052) al comparar ambos estadios de endometriosis (III-IV y I-II, respectivamente) con el grupo control. Sin embargo, las tasas de RNV no mostraron diferencias significativas entre los tres grupos (III-IV: 39,56%; I-II: 44,00%; control: 42,88%; p=0,576). El modelo de

regresión multivariante para controlar las variables de confusión, incluida la calidad embrionaria, reveló que los peores resultados de gestación resultaban significativos sólo tras transferencia de embriones euploides en pacientes con endometriosis grave [β-hCG +: (OR: 0,643; IC95%: 0,468-0,883; p=0,006), EC (OR: 0,668; IC95%: 0,484-0,922; p=0,014)].

CONCLUSIONES

Aunque se ha sugerido que la infertilidad asociada a la endometriosis se relaciona con un efecto deletéreo sobre la calidad ovocitaria en todos sus estadios, solo las pacientes con endometriosis con menor afectación presentan mejor pronóstico reproductivo una vez se dispone de un embrión euploide de buena calidad para transferir.

P-061 ESTUDIO COMPARATIVO DEL DESARROLLO EMBRIONARIO, LOS RESULTADOS CLÍNICOS Y LA CAPACIDAD DE MANTENIMIENTO DE LA TEMPERATURA DE DOS ACEITES DE ALTA DENSIDAD

David González Abreu, C Miret Lucio, V López Martínez, A García Esteve, M Escribá Suárez, M Benavet Martínez, M Lozano Zamora, M Alavés Navarro, J Crespo Simó, J Teruel López
Equipo Juana Crespo
Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN

Las estrategias actuales de cultivo embrionario *in vitro*, como el cultivo largo ininterrumpido o el uso de incubadores carentes de fuente de humedad, han intensificado la importancia del uso de aceites de cultivo de alta calidad. En estudios previos, hemos comprobado como los aceites de alta densidad presentan mayor eficiencia, respecto a los aceites de baja densidad, en el mantenimiento de la temperatura y en la prevención de la evaporación del medio de cultivo embrionario, dotándolos de una mayor estabilidad del pH y de la osmolalidad, algo crucial para un correcto desarrollo embrionario.

OBJETIVO

Comparar el desarrollo embrionario y los resultados clínicos de ciclos de ovodonación, cultivados con dos tipos aceites de alta densidad. Evaluar la competencia de cada aceite en cuanto al mantenimiento de la temperatura.

MATERIAL Y MÉTODO

Nos encontramos ante un estudio prospectivo realizado entre febrero y noviembre de 2022. Se incluyen 178 donantes y 213 receptoras de ovocitos. Cada caso fue procesado y cultivado en un medio de cultivo único (CSCM-C,IrvineScientific®) cubierto con una capa del aceite de alta densidad, asignado siguiendo un patrón aleatorio definido, aceite mineral (A) o aceite de parafina (B).

Los ovocitos fueron microinyectados mediante ICSI y cultivados en placas de 16 pocillos (EmbryoSlide+®, EmbryoScope+™, Vitrolife) preparadas con cada aceite (1700 µl aceite/placa). Se cultivaron en un incubador *time-lapse* (EmbryoScope+™, Vitrolife) a 37,29±0,05 °C bajo una atmósfera de 6,5% CO2 y 7% O2. Estos parámetros fueron controlados periódicamente (T+Button,BrightSentinel y G100,Geotech). Las condiciones del laboratorio, como temperatura, humedad de la sala y VOCs, fueron monitorizadas continuamente durante el estudio (Octax Log&Guard™, Vitrolife), manteniéndose estable a 21,7±0,4 °C, 66,7±6,9% y 0,098±0,01ppm, respectivamente. El pH fue medido semanalmente, presentando un promedio de 7,26±0,06.

Paralelamente, se llevó a cabo un estudio de la variación de temperatura que experimentaban las placas, constituidas con cada aceite elegido, al sacarlas del incubador y ubicarlas en la campana calefactada de trabajo. La temperatura se registró cada 30 segundos, durante 10 minutos, mediante un termopar de calibre fino (Okolab, con precisión de ±0,12 °C). La temperatura de la superficie calefactada fue monitorizada (37,34±0,20 ºC;T+Buttons, precisión±0,05 °C).

RESULTADOS

Se microinyectaron un total de 2.554 ovocitos metafase II (aceite A,n=1.304; aceite B,n=1.250). La proporción de ovocitos fecundados fue idéntica entre ambos aceites (A:80,00% *vs.* B:80,53%), así como la tasa de fecundación anómala (A:6,85% *vs.* B:5,62%) y de ovocito degenerado post-ICSI (A:6,14% *vs.* B:6,00%). La media de embriones que alcanzó el estadío de blastocisto y la proporción de blastocisto útil para uso clínico (transferido o criopreservado) fue prácticamente la misma, independientemente del aceite empleado (A:69,84% *vs.* B:67,15% y A:62,39% *vs.* B:60,71%, respectivamente). Se llevó a cabo un análisis estadístico de los datos, sin observarse diferencias estadísticas significativas (p>0,05).

205 pacientes han tenido transferencia en día 5 de desarrollo embrionario, en fresco o diferido, de blastocistos cultivados con cada aceite, A(n=101) o B(n=104), con una media de 1,42±0,55 y 1,33±0,53 blastocistos transferidos por paciente en cada grupo, respectivamente. No se observaron diferencias significativas en términos de embarazo clínico (A:69,30% *vs.* B:67,31%) o tasa de implantación (A:62,37% *vs.* B:61,53%) entre ambos grupos. La tasa de aborto clínico fue similar entre el grupo A(11,88%) y el grupo B(12,62%).

Paralelamente, tampoco se observaron diferencias significativas en cuanto al descenso de temperatura registrado en ambos grupos de aceites (A:0,38 ºC±0,12; B:0,38 ºC±0,05).

CONCLUSIONES

El presente estudio sugiere que ambos aceites de alta densidad usados en cultivos extendidos proporcionan tasas de fecundación, blastocisto útil para uso clínico y embarazo clínico similares. Además, se ha mostrado la competencia de ambos aceites en cuanto al mantenimiento de la temperatura de los cultivos embrionarios. Estas características deben de ser validadas en cada laboratorio, con el objetivo de optimizar los procesos, ya que pueden suponer un gran impacto en el desarrollo y calidad embrionaria, así como en los resultados clínicos.

P-062

ESTADO DE IMPLANTACIÓN DE SISTEMAS DE GESTIÓN DE LA CALIDAD EN LOS LABORATORIOS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA

Empar Ferrer Robles[1], C Vilella Mestres[2], BM Lozano Ruiz[3], B Boyano Rodríguez[4], M Iglesias Núñez[5]
[1]CREA - Valencia (Valencia), [2]Departament de Salut. Generalitat de Catalunya - Barcelona (Barcelona), [3]Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca - Murcia (Murcia), [4]Instituto Bernabéu - Madrid (Madrid), [5]Hospital Universitario Quirón-salud - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

La legislación española sobre reproducción asistida (2,3,4) exige que los laboratorios de reproducción humana asistida (LRHA) tengan implementado un sistema de gestión de la calidad (SGC). Así se garantizaría el buen funcionamiento de los laboratorios en cuanto a recursos humanos, físicos, ambientales, cumpliendo los requisitos legales, con un control de los procesos, trazabilidad y seguridad de las células. No existe un SGC obligatorio establecido, cada centro puede elegir crear uno propio o implantar una norma de calidad, como la ISO 9001 (5), que puede aplicarse a cualquier tipo de empresa, o la UNE179007 (6). La UNE es una norma específica para el sector de la reproducción asistida, publicada en el 2013 y fue elaborada desde ASEBIR a través de su Grupo de Interés de Calidad (GICal).

OBJETIVO

Ver el estado de implantación de SGC en los LRHA a través del conocimiento individual de los socios de ASEBIR.

MATERIAL Y MÉTODO

El GICal elaboró una encuesta *on-line* entre el 16 de marzo al 23 abril de 2023, con las siguientes preguntas:

1. Centro de trabajo
2. Hay en tu centro un SGC implantado
3. Qué SGC hay implantado
4. Año de implantación

RESULTADOS

Se obtuvieron 224 encuestas con los siguientes resultados:
No fue posible determinar el número exacto de centros participantes debido a la diferente terminología utilizada por los encuestados para denominarlos. Se identificaron 141 centros, y hubo 15 encuestas de centros indeterminados.

A la pregunta de si hay un SGC implantado se obtuvieron las siguientes respuestas: Sí: 79,0%, No: 12,1%, Desconozco: 1,8%. En vía de implantación: 7,1%.

De los que tienen un SGC implantado, un 12,9% indicaron que utilizan uno propio, 9,3% lo desconocen, 30,9% tenían ISO 9001, 3,6% la UNE179007 y 43,3% ISO 9001 y UNE179007.

En cuanto al año de implantación en los centros, 33,1% de las encuestas indicaron que fue antes del 2014, 45,3%, después del 2014, 21,6% lo desconocen.

Cuando se analizaron los datos agrupando por centros, se observaron resultados dispares entre las encuestas de socios de un mismo centro.

Se obtuvieron 6 encuestas de socios que trabajan en centros en el extranjero.

CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos, se observa que un 12,5% de los encuestados no tienen un SGC implantado. Teniendo en cuenta que su implementación es obligatoria, pensamos que puede deberse, al menos en parte, al desconocimiento de qué es un SGC o que el centro dispone de uno.

Por otro lado, cerca del 80% de las encuestas indican que disponen de un SGC en su centro, de los cuales más del 85% tienen implantada una norma certificada.

Aunque contestaron la encuesta un buen número de participantes, no es posible saber a ciencia cierta cuántos centros tienen un SGC normalizado, no hay un listado oficial donde pueda consultarse. En cuanto a la UNE179007, la única información disponible públicamente es la que consta en la web de ASEBIR (1), según la cual 39 centros cuentan con ella; sin embargo, la comunicación es voluntaria, por lo que el número puede ser superior, ya que en la encuesta constan centros que no están en el listado de ASEBIR.

En conclusión, para conseguir la excelencia en los laboratorios, todo embriólogo debería conocer qué es un SGC ya que contribuye directamente a la optimización de los sistemas de cultivo, mejora de resultados y calidad asistencial. Consideramos que los centros de reproducción asistida deben intentar aumentar el acercamiento de la calidad y en particular de los SGC a todo el personal, independientemente de su puesto en el organigrama.

BIBLIOGRAFÍA

1) ASEBIR, 2022. CENTROS con UNE 179007 | Asebir [WWW Document]. URL https://asebir.com/centros/centros-con-une-179007/ (accessed 12.4.22).
2) BOE, 2014. Real Decreto-ley 9/2014, de 4 de julio, por el que se establecen las normas de calidad y seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos y se aprueban las normas de coordinación y funcionamiento para su uso en humanos.
3) BOE, 2006a. Ley 14/2006, de 26 de mayo, sobre técnicas de reproducción humana asistida.
4) BOE, 2006b. Real Decreto 1301/2006, de 10 de noviembre, por el que se establecen las normas de calidad y seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos y se aprueban las normas de coordinación y funcionamiento para su uso en humanos.
5) UNE, 2015. UNE-EN ISO 9001:2015 Sistemas de gestión de la calidad.
6) UNE, 2013. UNE 179007:2013 Servicios sanitarios. Sistemas de gestión de la calidad para laboratorios de reproducción asistida.

P-063

LA COMPOSICIÓN DE LA MICROBIOTA ENDOMETRIAL AFECTA DE FORMA SIGNIFICATIVA A LOS RESULTADOS CLÍNICOS DE LOS TRATAMIENTOS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA

Laura Medina Ruiz, J Sarasa, M Ferrández Rives, I Jurado, J Aizpurua, M Enciso
IGLS
Alicante (Alicante)

INTRODUCCIÓN

El análisis del microbioma ha permitido caracterizar con precisión la composición de la microbiota vaginal normal. Se considera eubiosis vaginal la presencia de baja diversidad microbiana en este tejido con dominancia de especies del género *Lactobacillus*[1]. Éstas ejercen una función biorreguladora, evitando la expansión de microorganismos patógenos. La disbiosis vaginal se asocia directamente a infertilidad y a problemas durante el embarazo, como abortos espontáneos o parto prematuro[2].

Sin embargo, la composición de la microbiota endometrial y su papel en la fertilidad femenina son aún motivo de estudio. Numerosos trabajos con pacientes de endometritis crónica (EndCr) demuestran que esta patología es común entre las

mujeres infértiles[3,4]. La curación de la patología con antibióticos mejora sus resultados clínicos, sugiriendo que la presencia de patógenos microbianos causa infertilidad[3,4]. Sin embargo, la función biorreguladora de *Lactobacillus* en este tejido, o si su presencia es esencial o beneficiosa, son aún motivo de controversia[5,6].

OBJETIVO

En este estudio queremos determinar si la composición de la microbiota endometrial afecta a los resultados de los tratamientos de reproducción asistida (TRA).

MATERIAL Y MÉTODO

Este es un estudio de control de casos retrospectivo comparando la microbiota endometrial en la ventana de implantación (VI) y los resultados del TRA de 456 mujeres en régimen de donación de óvulos (dOVO) con/sin análisis genético preimplantacional de aneuploidías (PGT-A) (177 y 163, respectivamente), o de uso de óvulos propios con/sin PGT-A (91 y 25, respectivamente).

Se analizaron biopsias endometriales de las pacientes obtenidas durante su VI en un ciclo sustituido previo al de transferencia embrionaria. Se estudió la presencia de 18 microorganismos patógenos causantes de EndCr y de 4 especies del género *Lactobacillus* mediante PCR cuantitativa (QPCR) de alta resolución. Finalmente, se compararon los resultados clínicos (embarazo clínico, EC; nacimiento, NAC) de la transferencia de embrión único en estadio de blastocisto (bTE) inmediatamente posterior al ciclo de obtención de las biopsias, realizada en la VI determinada mediante el análisis de dichas biopsias.

RESULTADOS

Según el perfil microbiano, las pacientes se clasificaron en i) sin detección microbiana (ND, n=142), ii) sólo con *Lactobacillus* (L, n=199), iii) sólo con patógenos (P, n=56) y iv) *Lactobacillus* + patógenos (LP, n=59).

La ausencia de microorganismos endometriales mejora significativamente los TRA. Las pacientes ND obtuvieron tasas significativamente mayores de EC (64,2% *vs.* 50,8%, Test de Fisher p=0,046) y NAC (52,9% *vs.* 37,2%, p=0,03) tras la bTE con embriones euploides (ebTE) que las pacientes con microorganismos. Estas diferencias fueron más marcadas en las pacientes en régimen dOVO (EC 70,2% *vs.* 50,8%, p=0,026; NAC 59,5% *vs.* 40,2%, p=0,046).

La presencia exclusiva de *Lactobacillus* parece ser perjudicial respecto a la ausencia microbiana, ya que las pacientes L tienen menores tasas de EC que las pacientes ND (38,8% *vs.* 52,9%; p=0,084) tras la ebTE.

La detección de patógenos endometriales reduce significativamente las tasas de éxito. Las pacientes P obtuvieron tasas significativamente menores de EC (41,2% *vs.* 64,2%, p=0,038) que las pacientes ND tras la ebTE. De nuevo, los resultados fueron más evidentes en pacientes en régimen dOVO (EC 36% *vs.* 70,2%, p=0,006; NAC (21,7% *vs.* 59,5%, p=0,004). Sin embargo, la dominancia de *Lactobacillus* en las pacientes portadoras de patógenos mejora los resultados clínicos tras la ebTE en comparación con las pacientes con dominancia de patógenos (EC 56,7% *vs.* 42,2%; NAC 41,7% *vs.* 31%).

CONCLUSIONES

Nuestros resultados sugieren que un entorno endometrial estéril ofrece las mejores condiciones para la implantación embrionaria. La presencia de *Lactobacillus* parece no ser esencial para el embarazo, y podría incluso ser perjudicial si se encuentra de forma exclusiva en este tejido. La función biorreguladora de *Lactobacillus* parece ser beneficiosa sólo en presencia de otros microorganismos patógenos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ravel J, Gajer P, Abdo Z, et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011;108(SUPPL. 1):4680-4687. doi:10.1073/pnas.1002611107.
2. Zhu B, Tao Z, Edupuganti L, Serrano MG, Buck GA. Roles of the Microbiota of the Female Reproductive Tract in Gynecological and Reproductive Health. Microbiol Mol Biol Rev. 2022;86(4):e0018121.
3. Cicinelli E, Matteo M, Tinelli R, et al. Chronic endometritis due to common bacteria is prevalent in women with recurrent miscarriage as confirmed by improved pregnancy outcome after antibiotic treatment. Reprod Sci. 2014;21(5):640-647. doi:10.1177/1933719113508817.
4. Cicinelli E, Matteo M, Trojano G, et al. Chronic endometritis in patients with unexplained infertility: Prevalence and effects of antibiotic treatment on spontaneous conception. Am J Reprod

Immunol. 2018;79(1):1-6. doi:10.1111/aji.12782.
5. Kyono K, Hashimoto T, Kikuchi S, Nagai Y, Sakuraba Y. A pilot study and case reports on endometrial microbiota and pregnancy outcome: An analysis using 16S rRNA gene sequencing among IVF patients, and trial therapeutic intervention for dysbiotic endometrium. Reprod Med Biol. 2019;18(1):72-82. doi:10.1002/rmb2.12250.
6. Hashimoto T, Kyono K. Does dysbiotic endometrium affect blastocyst implantation in IVF patients? J Assist Reprod Genet. 2019;36(12):2471-2479. doi:10.1007/s10815-019-01630-7.

P-064

UN NUEVO MÉTODO DE PREPARACIÓN DE LOS ESPERMATOZOIDES PARA FECUNDACIÓN *IN VITRO* (FIV) AUMENTA EL NÚMERO DE BLASTOCISTOS Y SU POTENCIAL IMPLANTATORIO EN UN MODELO MURINO

Guillermina María Luque[1], MD Gomez Elías[1], I Kasparas[2], R Vassena[1], D Krapf[1], MG Buffone[1]
[1]Fecundis - Barcelona (Barcelona), [2]IBYME - Ciudad Autónoma de Buenos Aires (Argentina)

INTRODUCCIÓN

Los espermatozoides adquieren la capacidad de fecundar al ovocito durante su tránsito por el tracto genital femenino en un proceso denominado capacitación. Tras los cambios bioquímicos de la capacitación, se desarrollan funciones esenciales como la hiperactivación y la exocitosis acrosomal. Está establecido que en la fecundación los espermatozoides aportan su centriolo y su ADN, sin embargo, existen evidencias de que también influencian el desarrollo embrionario.

OBJETIVO

Determinar el efecto de un nuevo tratamiento de espermatozoides que maximiza la capacitación sobre las tasas de fecundación, el desarrollo embrionario y la descendencia en un modelo de ratón.

MATERIAL Y MÉTODO

Los experimentos se realizaron en ratones híbridos (BALB/c x C57BL/6). Espermatozoides de cauda epididimario se incubaron en medio TYH-HEPES (Control) o se trataron con un nuevo método de preparación de espermatozoides que maximiza la capacitación (Tratado) antes de inseminar complejos cúmulo-ovocito. Los ovocitos fecundados se incubaron en medio KSOM para su posterior desarrollo hasta el estadio de blastocisto. Los blastocistos obtenidos fueron transferidos a hembras receptoras mediante un dispositivo de transferencia embrionaria no quirúrgica. En un grupo de hembras receptoras se evaluó el número de fetos implantados en día 7, mientras que en otro se analizaron las camadas al momento del parto. La fertilidad de estas crías F1 se analizó luego de alcanzar la madurez sexual. Las diferencias estadísticas entre los grupos se analizaron mediante la prueba t de student pareada; se consideró significativa una $p<0,05$.

RESULTADOS

Los espermatozoides del grupo Tratados dieron lugar a tasas de fecundación más elevadas que los del Control, evidenciado por un aumento de los embriones de 2 células (162/215 *vs.* 112/231 embriones/ovocitos; 71,9±6,4% *vs.* 51,9±5,5%; p=0,032; n=10 experimentos). Los efectos del tratamiento continuaron más allá de la fecundación, con mayores tasas de desarrollo (144/162 *vs.* 75/112 blastocistos/ovocitos fecundados; 85,1±5,8% *vs.* 65,1±6,2%; p=0,029; n=10 experimentos). Sumado a esto, los blastocistos del grupo Tratado implantaron con más eficiencia (31/43 *vs.* 39/66 sitios de implantación/blastocistos transferidos; 76,0±11,2% *vs.* 48,7±10,3%; n=5-7 hembras receptoras), y produjeron camadas significativamente más grandes (16/39 *vs.* 5/57 crías nacidas/blastocistos transferidos;

41,1±4,2% *vs.* 8,3±5,4%; p=0,013; n=4-5 hembras receptoras). Las crías del grupo Tratado presentaron peso normal. Al alcanzar la madurez sexual se determinó su fertilidad mediante cruzamiento con ratones híbridos (BALB/c x C57BL/6). Tanto los machos como las hembras derivadas del grupo tratado resultaron fértiles, sin diferencias en el número y tamaño de las camadas (machos 11,5±0,7 y hembras 10,5±0,7 crías/camada; n=6-5 ratones) en comparación con el grupo Control (machos 10,0±1,2 y hembras 10,8±1,3 crías/camada, n=3-4 ratones). Además, los machos nacidos del grupo Tratado presentaron espermatozoides epididimarios normales, con concentración y motilidad comparable a los del grupo Control.

CONCLUSIONES

La mejora del proceso de capacitación espermática mejora la capacidad fecundante de los espermatozoides y el desarrollo embrionario, la tasa de implantación y la eficiencia global del tratamiento. Estos datos indican que los espermatozoides median efectos de largo alcance sobre el desarrollo embrionario antes y después de la implantación. El tratamiento descrito en el presente trabajo podría mejorar las tasas de éxito de las técnicas de reproducción asistida, con potencial aplicación en tratamientos de FIV en pacientes.

P-065

LO QUE CASSANDRA NOS CUENTA UN AÑO DESPUÉS DE NACER

Carla Olmedo Illueca[1], E Veiga Álvarez[2], L Sánchez Castro[3], E Ferrer Robles[4], A Mauri López[5], M Fernández Díaz[6], N Ortiz Piñate[7]

[1]Hospital General Universitario - Valencia (Valencia), [2]Hospital Clínico Universitario de Santiago - Santiago de Compostela (Coruña), [3]Unidad de Reproducción Humana Asistida/Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA) - Oviedo (Oviedo), [4]Crea - Valencia (Valencia), [5]Centro Procrear - Reus (Tarragona), [6]Clínica ERGO - Gijón (Gijón), [7]Laboratorio de Reproducción. Hospital Universitario Torrejón de Ardoz - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

Uno de los aspectos más importantes en el laboratorio de reproducción humana asistida son los recursos humanos. Sólo teniendo bien dimensionado el laboratorio podremos garantizar la seguridad y la eficiencia de todos los procedimientos, cumplir con los estándares de calidad recomendados, mantener la trazabilidad de las muestras y evitar cualquier evento adverso grave con consecuencias ético-legales severas. Sin embargo, realizar este cálculo no es fácil. En nuestro rol como embriólogos existen multitud de tareas que son difíciles de cuantificar.

Con el objetivo de hacer esta tarea más sencilla, en el año 2022 creamos la calculadora de recursos humanos "Cassandra", disponible en la página web de ASEBIR. Ésta permite el cálculo individualizado del personal necesario para cada laboratorio. Se basa en factores como el tipo de procedimiento, número de ciclos y controles de calidad, jornada laboral, periodos vacacionales y de descanso, así como formación del personal. Con los datos aportados por la herramienta y tras un periodo de uso desde su creación y publicación en una revista de alto impacto en el sector, evaluamos los resultados preliminares que nos proporciona con el fin de evaluar su utilidad.

OBJETIVO

1. Evaluar el acceso a la calculadora Cassandra desde su creación.
2. Evaluar el valor pronóstico de Cassandra.
3. Identificar las necesidades no cubiertas para trabajar en la nueva versión.

MATERIAL Y MÉTODO

Se han evaluado los datos registrados en la plataforma desde la publicación de la calculadora en la web de ASEBIR hasta la fecha. Estos datos fueron facilitados por la empresa gestora de la plataforma Cassandra (Espira Tecnologías Web, S. L.). Mediante Google Analytics 4 (Google), se agrupó el tráfico que llega a la plataforma según la audiencia, adquisición, comportamiento de los usuarios y las conversiones que se llevan a cabo tras acceder. Para evaluar el valor pronóstico utilizamos el número real de embriólogos *vs.* número teórico proporcionados por Casandra calculando el coeficiente de correlación de Spearman mediante SPSS *software* (IBM, USA).

RESULTADOS

Desde el 01/01/2022 al 03/05/2023, Cassandra tuvo 786 visitas. El 74% realizadas indirectamente a través de otra página web, como el artículo publicado en Hum Rep.

El 62,6% de los accesos fueron desde España, 16,9% de países latinoamericanos, 7,3% de otros países americanos (EE. UU. el 6,4%), 7,1% del resto de Europa, 4,1% del Reino Unido, 1,7% de Asia y 0,4% de Oceanía.

Cuando evaluamos la relación entre el número real de embriólogos del centro y el número teórico que según Cassandra debería tener, nos encontramos una buena correlación ($r = 0,785$ y $r2=0,53$). Lo que significa que en el 53% coincide el valor real *vs.* teórico de embriólogos, pero en el 47% restante Cassandra es capaz de pronosticar mejor la necesidad de embriólogos.

CONCLUSIONES

Tras evaluar los datos proporcionados por los usuarios de Cassandra consideramos que el alcance es positivo y se ha cumplido con los objetivos para los que fue creada.

Además, el valor pronóstico de Cassandra es adecuado.

La plataforma Cassandra es una página finalista, dado que la mayoría de los usuarios acuden exclusivamente sin navegar luego por la web de ASEBIR. Por encima del 50% de uso exclusivo, se considera que el usuario acude a ese enlace exclusivamente, siendo un indicador de que la información que encuentra en el mismo es buena y la esperada.

Por ello se va a trabajar en una nueva versión que incluirá modificaciones que faciliten su uso gracias al *feedback* obtenido por los usuarios. Además, su uso nos ha permitido detectar necesidades no cubiertas que se intentarán corregir en una nueva versión.

P-066

VARIACIÓN DEL PRIMER PASO DEL PROTOCOLO DE DESVITRIFICACIÓN DE EMBRIONES: USO DE 1 ML *VS.* 0,45 ML, ¿EXISTEN DIFERENCIAS EN LA IMPLANTACIÓN Y EVOLUCIÓN DEL EMBARAZO O PODEMOS OPTIMIZAR LOS KITS?

Clara Mariné Canals[1], P Cano Calvo[1], B Guntúriz Beltrán[1], M Aura Masip[1], J Llácer Aparicio[2], L Mifsud Elena[1]
[1]Ginefiv Barcelona - Barcelona (Barcelona), [2]Ginefiv Madrid - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

Los medios de desvitrificación de embriones y ovocitos de la casa comercial Kitazato® son ampliamente utilizados en los laboratorios de reproducción asistida. Según el protocolo del fabricante, el primer paso de la desvitrificación consiste en sumergir el soporte con el embrión vitrificado en 4 mL de Thawing solution a 37 ºC para realizar la rampa de temperatura y revertir el medio de Vitrification solution añadido durante la vitrificación. Con el fin de optimizar los medios y limitar gastos, muchos laboratorios han reducido los 4 mL a 1 mL para la desvitrificación de embriones, siendo esta opción conocida en la casa comercial. La pregunta que surge es si podríamos reducir aún más el volumen de Thawing solution, utilizando 0,45 mL para desvitrificar blastocistos sin ver afectados los resultados finales.

OBJETIVO

El objetivo de este estudio es determinar si la reducción del volumen del medio Thawing solution de 1 mL a 0,45 mL puede afectar a los resultados de implantación y embarazo evolutivo en transferencias de blastocistos desvitrificados.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio en el que se incluyen 376 transferencias de embriones desvitrificados entre febrero del 2022 y marzo del 2023. En 82 casos se usó 1 mL de medio Thawing solution (grupo 1) y en 294 se usó 0,45 mL de medio Thawing solution (grupo 2). El volumen de Diluent Solution y Washing Solution se mantuvo estable en 0,1ml en todos los casos. Casa comercial Kitazato®.

Los parámetros analizados fueron implantación y gestación clínica. Se consideró gestación clínica la observación de saco embrionario con latido en semana 4-5 de gestación. No se incluyó en el estudio el porcentaje de supervivencia embrionaria ya que durante el periodo analizado se obtuvo una supervivencia del 100% en los embriones de ambos grupos.

Los datos fueron analizados mediante prueba de χ^2 (SPSS), considerando estadísticamente significativo un p-valor ≤ 0,05.

RESULTADOS

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo 1 (1 mL de Thawing solution) y el grupo 2 (0,45 mL de Thawing solution), ni para el porcentaje de implantación (p-valor = 0,77 (tabla II)), ni para la evolución de la gestación (p-valor = 0,82 (tabla II)).

CONCLUSIONES

Estos datos sugieren que se podría reducir el volumen de Thawing solution del kit de desvitrificación de los medios Kitazato en desvitrificaciones de blastocistos sin ver afectados los parámetros de implantación y gestación clínica, implicando esto una reducción de costes en el laboratorio de reproducción asistida. Se requeriría de la realización de una ampliación de este estudio para comprobar si tampoco existen diferencias en la tasa de RNV en casa con esta reducción.

TABLAS

Análisis de los datos en según el volumen de Thawing solution (TS) utilizado: 0,45 ml *vs.* implantación / 1ml, *vs.* gestación evolutiva.

Resumen de procesamiento de casos

	Casos					
	Válido		Perdido		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
Volumen TS (1=1ml / 0=0,45) * Beta (+/-)	376	100,0%	0	0,0%	376	100,0%
Volumen TS (1=1ml / 0=0,45) * E. evolutivo	376	100,0%	0	0,0%	376	100,0%

Tabla I. Volumen TS * Implantación

			IMPLANTACIÓN		
			No	Sí	Total
Volumen TS (1=1ml / 0=0,45)	0,45 ml	Recuento	120	174	294
		% dentro de Volumen TS (1=1ml / 0=0,45)	40,8%	59,2%	100,0%
	1 ml	Recuento	32	50	82
		% dentro de Volumen TS (1=1ml / 0=0,45)	39,0%	61,0%	100,0%
Total		Recuento	152	224	376
		% dentro de Volumen TS (1=1ml / 0=0,45)	40,4%	59,6%	100,0%

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,085	1	,770		

Tabla II. Volumen TS * Embarazo evolutivo

			Embarazo evolutivo		
			No	Sí	Total
Volumen TS (1=1ml / 0=0,45)	0,45 ml	Recuento	150	144	294
		% dentro de Volumen TS (1=1ml / 0=0,45)	51,0%	49,0%	100,0%
	1 ml	Recuento	43	39	82
		% dentro de Volumen TS (1=1ml / 0=0,45)	52,4%	47,6%	100,0%
Total		Recuento	193	183	376
		% dentro de Volumen TS (1=1ml / 0=0,45)	51,3%	48,7%	100,0%

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,052	1	,820		

P-067

LA TÉCNICA *HATCHING* ASISTIDO (AH) PUEDE SER UNA BUENA OPCIÓN PARA AUMENTAR LAS TASAS DE EMBARAZO

María Velasco Álvarez, M Velasco, R Fernández, S Puerta, M Fernández, E Rodríguez, J Aizpurua
IVF Life Donostia
Donostia - San Sebastián (Guipuzcoa)

INTRODUCCIÓN

La técnica de *hatching* asistido (AH) se utiliza en los laboratorios de FIV para facilitar la salida de los embriones de la zona pelúcida. Se realiza principalmente en los ciclos de diagnóstico genético preimplantacional, no siendo habitual en ciclos con transferencia en fresco.

La eclosión asistida podría aportar un beneficio en aquellas parejas que hayan tenido fallos de implantación ya que, en ocasiones, el blastocisto podría tener dificultades para la rotura de ésta y por ello, tener un resultado negativo en el test de embarazo.

OBJETIVO

El objetivo del estudio es valorar si se podrían mejorar las tasas de embarazo en ciclos con transferencia en fresco Single Embryotransfer (SET) utilizando AH y si el AH influye en la tasa de blastocisto de calidad óptima.

MATERIAL Y MÉTODO

Se ha realizado un estudio prospectivo con dos grupos principales, ciclos con óvulos vitrificados y con óvulos frescos sin diagnóstico genético preimplantacional.

El AH se realiza en el día 4 del desarrollo del embrión al azar a la mitad de los embriones. La fragmentación también se considera y se divide en tres grupos: A-B/C/D.

La selección del embrión para el SET se realiza de acuerdo a la fecha de transferencia, en fechas pares se transfieren embriones con AH, y en impares, sin AH, eligiendo siempre embriones de óptima calidad siguiendo la Clasificación de Gardner.

RESULTADOS

Los resultados con óvulos vitrificados (fragmentación A-B), mostraron una menor tasa de blastocistos de calidad óptima (40,74%) en el grupo AH *vs.* 53,76% en el grupo sin AH, habiendo diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$).

El resto de los grupos de fragmentación, C y D, tuvieron un tamaño de muestra menor y se observaron tasas similares entre sus grupos AH, sin diferencias estadísticamente significativas.

En cuanto a la tasa de embarazo, todos los blastocistos transferidos procedían de embriones con fragmentación A-B. Los blastocistos que provenían de óvulos vitrificados tuvieron una mayor tasa de embarazo del 82,05% para el grupo AH y del 66,67% para el grupo sin AH.

Con respecto a la tasa de embarazo, tanto los óvulos vitrificados como los frescos tuvieron la misma tendencia, mostrando una diferencia estadística ($p<0,05$) entre los grupos AH cuando se sumaron. Se observó una mayor tasa de embarazo en aquellos embriones a los que se les realizó AH antes de la transferencia.

De todos los ciclos realizados, sólo 95 de ellos tuvieron transferencia en fresco, una baja proporción del total de embriones analizados (%).

Con respecto a la tasa de embarazo, tanto los óvulos vitrificados como los frescos tuvieron la misma tendencia, mostrando una diferencia estadísticamente significativa ($p<0,05$) cuando se sumaron, observándose una mayor tasa de embarazo en aquellos embriones a los que se les realizó AH antes de la transferencia.

CONCLUSIONES

- Los embriones procedentes de ciclos con AH lograron mejores tasas de embarazo tras transferencia en fresco (SET).
- Aunque los embriones procedentes del grupo AH de blastocistos conseguidos a partir de óvulos congelados tuvieron una tasa de embriones de calidad óptima más baja, mostraron una tasa de embarazo significativamente más elevada.
- Se debe evaluar la sensibilidad de los embriones procedentes de óvulos congelados a la técnica AH, pero recomendamos realizar AH no sólo en ciclos de test genético preimplantacional, sino también en ciclos con transferencia en fresco de SET para mejorar las tasas de embarazo.
- La principal limitación de este estudio es el tamaño muestral en cada grupo, debido a la tendencia a realizar ciclos *freeze-all*. Por ello, habría que ampliar el estudio para tener un mayor tamaño muestral.

P-068

RELACIÓN ENTRE LA CALIDAD DE LOS BLASTOCISTOS Y LA TASA DE EUPLOIDÍA TRAS PGT-NI

Rocío Quiroga Gil, B Valenzuela Díaz, F González Gómez, VE Rey Caballero
Clínica Victoria Rey
Sevilla (Sevilla)

INTRODUCCIÓN

El método más utilizado para la selección embrionaria en los ciclos de FIV es la clasificación morfológica. Sin embargo, no existe una correlación entre la morfología del embrión y su estado cromosómico. Los avances en genética reproductiva han permitido el desarrollo de técnicas no invasivas (PGT-ni) que mediante el análisis del ADN libre embrionario (cfDNA) liberado al medio de cultivo, determinan la tasa de euploidía del blastocisto sin necesidad de realizar biopsia y sin afectar, por tanto, a la viabilidad embrionaria.

OBJETIVO

Analizar la relación entre la calidad embrionaria/estadio embrionario y la tasa de euploidía otorgada a blastocistos obtenidos en tratamientos de ICSI analizados mediante un método no invasivo de detección de aneuploidías (PGT-ni).

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio observacional de 63 blastocistos en estadio expandido (BE) o en eclosión (BHi) procedentes de ciclos de FIV/ICSI de 19 pacientes que se realizaron un tratamiento entre enero de 2022 y marzo de 2023. Todos los embriones fueron cultivados en incubadores tipo Benchtop hasta día 6 de desarrollo siguiendo un protocolo de PGT-ni. Se recogieron los datos de edad materna, calidad embrionaria y estadio embrionario. La calidad embrionaria se categorizó de manera independiente en función de los criterios morfológicos de masa celular interna (MCI) y de trofoectodermo (TE) establecidos por ASEBIR y se establecieron dos grupos estratificados según combinación de la calidad de ambos parámetros: grupo A o buena calidad (AA, AB, BA, BB) y grupo B o baja calidad (BC, CB, CC). El estadio embrionario se estableció acorde al grado de expansión del blastocisto en el momento de la toma de medio de cultivo para el análisis del cfDNA. Los embriones cuyo análisis del cfDNA fue no informativo fueron excluidos. Las variables categóricas se analizaron usando chi-cuadrado X2. Las variables numéricas se analizaron usando test de suma de rangos de Wilcoxon.

RESULTADOS

Cuando los blastocistos se clasificaron en base a la calidad de su MCI o de su TE (A, B, C), no se observaron diferencias en la edad materna entre los grupos. Sí se observó que los embriones con MCI o TE de calidad A, presentaban una mayor probabilidad de ser euploides que los de calidades B, y éstos a su vez más que los C, pero dicha tendencia entre la calidad y la tasa de euploidía fue no significativa (p>0,4). Al combinar ambas calidades, se observó que embriones del grupo A (buena calidad) tenían una mayor tasa de euploidía que los del grupo B (baja calidad), 51,1 *vs.* 43,9, pero nuevamente sin diferencia estadísticamente significativa (p=0,25) debido al tamaño muestral. El 62% de los embriones seleccionados como primera opción a transferir según priorización por tasa de euploidía tras PGT-ni, correspondían a embriones del grupo A, mientras que el 38% correspondían al grupo B (p= 0,22). Los mismos resultados no significativos se observaron cuando se tuvo en cuenta el grado de expansión de los blastocistos y se relacionó con edad materna y tasa de euploidía.

CONCLUSIONES

No se ha observado una relación significativa entre la calidad embrionaria/estadio embrionario y la tasa de euploidía. Aunque se observa cierta tendencia a obtener tasas de euploidía más altas en blastocistos con mejor calidad embrionaria, son necesarios estudios con un mayor tamaño muestral para determinar la validez de dicha tendencia.

P-069

EXPLORING THE ASSOCIATION OF A PIWIL4 GENETIC VARIANT TARGETED BY MIRNAS WITH SEVERE MALE INFERTILITY PHENOTYPES

Sara González Muñoz[1], M Cerván Martín[1], A Guzmán Jiménez[1], JA Castilla Alcalá[2], N Garrido Puchalt[3], MA Vilches Ferrón [4], S Larriba Bartolomé[5], E NOA Group[1], FD Carmona López[1], R J Palomino Morales[1]

[1]Universidad de Granada - Granada (Granada), [2]Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Unidad de Reproducción, UGC Obstetricia y Ginecología - Granada (Granada), [3]IVI Foundation, Health Research Institute La Fe - Valencia (Valencia), [4]Hospital Universitario Torrecárdenas, Unidad de Reproducción Asistida Humana - Almería (Almería), [5]Human Molecular Genetics Group, Bellvitge Biomedical Research Institute (IDIBELL) - L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona)

INTRODUCTION

PIWI proteins, which interact with non-coding small RNAs called piRNAs, are essential in maintaining the integrity of the germ cell genome through silencing transposable elements. Given their fundamental role in the process of spermatogenesis, the possible association between polymorphic variants of PIWI genes and male infertility has been investigated. One of these genes, PIWIL4, has been studied due to the possible association of the rs508485 single nucleotide polymorphism (SNP) with non-obstructive azoospermia (NOA, characterized by a total absence of spermatozoa in the ejaculate) in European and Asian populations.

OBJECTIVE

Given the controversy over which allele of the PIWIL4-rs508485 variant confers the risk for NOA, our objective was to evaluate the association of this variant with NOA in the Iberian population, and to clarify the effect of each allele.

MATERIAL AND METHOD

We conducted a case-control association study in a cohort of 870 infertile individuals with severe spermatogenic failure and 1,043 controls with proven fertility. The genotypes for the PIWIL4-rs508485 polymorphism were determined using the TaqMan technology. After appropriate quality controls,

statistical analyses through logistic regression were performed to analyze the association between this SNP and NOA or its clinical phenotypes.

RESULTED

Our results indicate that the T allele of PIWIL4-rs508485 confers risk to Sertoli cell-only (SCO) syndrome (P = 0.048, OR = 1.30), the most extreme manifestation of NOA characterized by complete absence of the germ line. Consequently, this variant was also associated with an unsuccessful sperm extraction from a testicular biopsy (TESE) in our study cohort (P = 0.028, OR = 1.48). Therefore, the presence of the T allele could represent a promising molecular marker for the susceptibility to suffer from the SCO syndrome, as well as a good biomarker for TESE outcome. There is evidence that the presence of the T allele of the rs508485 variant promotes the binding of miRNAs with target sequences in the 3'UTR region of the PIWIL4 transcript, thereby potentially favoring its post-transcriptional silencing.

CONCLUSIONS

The results of our study suggest an association between PIWIL4-rs508485 and extreme patterns of male infertility in the Iberian population. Specifically, it has been observed that the T allele of this SNP is a genetic risk factor for both development of SCO syndrome and unsuccessful TESE. This finding could be useful for the future development of biomarkers for the diagnosis and clinical management of male infertility. However, further studies are required to clarify the mechanism by which the T allele of PIWIL4-rs508485 affects spermatogenesis by influencing miRNAs binding.

P-070

ESTUDIO DE LA PLOIDÍA EMBRIONARIA MEDIANTE ARRAY DE SNPS

Elena García Guixé[1], E Rocafort Curia[2], E Toro Toro[1], D Campos Rodero[1], M Moragas Solanas[2], R Aurell Balleste-ros[2], C Giménez Sevilla[1], M Sandalinas Alabert[1]
[1]DiNA Science - Barcelona (Barcelona), [2]Unidad Reproducción Asistida. Hospital Quirón Barcelona - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

El genotipado mediante array de SNPs (SNPa) utilizado en PGT-A, permite la detección de anomalías cromosómicas del tipo triploidía o haploidía, así como también el diagnóstico de disomías/diploidías uniparentales. La detección de este tipo de anomalías es importante, sobre todo en parejas con antecedentes de concepciones triploides, de molas hidatidiformes completas o de un teratoma ovárico.

Se describe el caso de dos parejas con recurrencia de concepciones triploides o diploides uniparentales en los que fue necesario encontrar una alternativa a la aplicación estándar de la NGS como técnica habitual en el PGT-A.

OBJETIVO

Valorar la aplicación de la técnica de array de SNPs en casos de PGT-A en parejas con antecedentes de concepciones triploides o diploides uniparentales.

MATERIAL Y MÉTODO

Pareja 1: Mujer de 34 años y hombre de 34 años con cariotipos normales. Acuden a centro de reproducción asistida (CRA) en 2016 por presentar 2 embarazos consecutivos con molas hidatiformes completas. La primera de ellas pudo ser estudiada molecularmente y clasificada como mola de origen diploide androgenético (2 conjuntos cromosómicos de origen paterno y ninguno materno).

Realiza ciclo de FIV-PGT-A en 2016 en el que se obtuvieron 18 ovocitos de los que 13 resultaron fecundados tras ICSI. 6 embriones fueron evolutivos hasta la etapa de blastocisto y se realizó biopsia con equipo láser en día +5 de desarrollo embrionario, procediendo posteriormente a su vitrificación. Las células de trofoectodermo biopsiadas fueron amplificadas mediante MDA, y analizadas con técnicas de secuenciación masiva (VeriSeq PGS, Illumina). Las muestras diagnosticadas como euploides (sin anomalías cromosómicas numéricas) fueron procesadas mediante un *array* de SNPs (Karyomapping, Illumina) y analizadas mediante el *software* BlueFuse Multi. También se procesaron y analizaron muestras de ADN genómico de ambos miembros de la pareja y de sus madres (ADN de referencia).

Pareja 2: Mujer de 38 años y hombre de 42 años con cariotipos normales. Acuden a CRA en 2022 después de tener 1 hija sana (2014) y 5 abortos, 3 de los cuáles pudieron ser cariotipados: 69,XXX (2018); 69,XXY (2020); 47,XX,+15 (2022).

Realiza ciclo de FIV-PGT-A en 2022 en el que se obtuvieron 20 ovocitos, de los cuales 18 MII. Se realizó ICSI y 3 presentaron una fecundación anómala (3PN), 13 fecundaron correctamente y 2 no fecundaron. De los embriones con fecundación aparentemente normal, se realizó la biopsia de 9 blastocistos mediante equipo láser. Las células de trofoectodermo fueron amplificadas mediante MDA, procesadas con un *array* de SNPs (Karyomapping, Illumina), y analizadas mediante el *software* BlueFuse Multi. También se procesaron y analizaron muestras de ADN genómico de ambos miembros de la pareja.

RESULTADOS

Pareja 1: 4 de las muestras analizadas resultaron ser aneuploides mediante NGS y 2 fueron diagnosticadas como euploides. Estas últimas resultaron ser diploides biparentales cuando fueron analizadas mediante SNPa, por lo que se consideraron aptas para transferencia. Se transfirió 1 de los embriones en 2017 dando lugar al embarazo y nacimiento de una niña sana.

Pareja 2: 6 de las muestras analizadas mediante SNPa resultaron ser aneuploides, todas ellas con aneuploidías de origen materno (5 aneuploidías completas y 1 parcial; 3 monosomías y 3 trisomías). 1 embrión fue diagnosticado como diploide uniparental y aneuploide, al presentar sólo 2 complementos maternos y una monosomía 22. 1 embrión fue diagnosticado como haploide ya que sólo presentaba el complemento materno y 1 embrión como triploide (2 complementos maternos y 1 paterno). Ninguno de los embriones analizados fue apto para transferencia.

CONCLUSIONES

El *array* de SNPs es una herramienta eficaz en los casos de riesgo en los que es necesario conocer la ploidía embrionaria, el origen parental de las aneuploidías o casos de disomía/diploidía uniparental.

P-071

RELACIÓN ENTRE LOS PARÁMETROS CINÉTICOS Y MORFOLÓGICOS EN BLASTOCISTOS DESVITRIFICADOS Y SU POTENCIAL DE IMPLANTACIÓN

Carla Olmedo Illueca, A Andreu Almarcha, KY Rodríguez Trujillo, S Royo Bolea, M Barea Gómez, I Cuevas Saiz
HGUV
Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN

La estrategia "Freeze-all" es una alternativa a la transferencia embrionaria en fresco muy extendida. Los embriones son vitrificados para ser transferidos en un ciclo posterior evitando así el síndrome de hiperestimulación ovárica o mejorando la sincronía con el endometrio. Esto, unido a la alta tasa de supervivencia con los protocolos actuales de vitrificación, remarca la tendencia cada vez mayor a utilizar embriones vitrificados. La morfología del embrión antes de ser vitrificado es una excelente herramienta para evaluar y seleccionar el mejor embrión para transferir. Sin embargo, tras la desvitrificación es necesario disponer también de marcadores de implantación que nos ayuden a decidir si el embrión es apto o no para ser transferido en función de su comportamiento desde que es desvitrificado hasta la transferencia.

OBJETIVO

El objetivo del estudio fue evaluar diferentes parámetros morfológicos y cinéticos en blastocistos desvitrificados y ver su posible relación con el potencial de implantación. Para ello se evaluaron el grado de expansión pre y post vitrificación, el tiempo en cultivo del embrión desde su desvitrificación hasta la transferencia y la duración total del cultivo hasta ser vitrificado.

MATERIAL Y MÉTODO

Este estudio retrospectivo observacional incluyó 248 blastocistos desvitrificados entre 2021 y 2023 con implantación conocida. Los criterios de exclusión fueron las transferencias de dos embriones, el empleo de ovocitos de donantes y pacientes con anomalías uterinas congénitas o adquiridas.

Los blastocistos se cultivaron en un incubador con *time-lapse* (Miri TL®, Esco Medical, Germany) durante todo el cultivo y desde su desvitrificación hasta la transferencia. Los parámetros morfológicos y cinéticos fueron evaluados usando la clasificación ASEBIR.

La vitrificación se realizó usando los medios de cultivo kitazato y Cryotop SC® (Kitazato, Japan). El análisis estadístico fue realizado mediante SPSS *software* V22 (IBM, USA). Las variables continuas se presentaron como media y desviación estándar (SD), comparados usando test Student, Chi-cuadrado para variables nominales y curva ROC para evaluar la capacidad diagnóstica.

La media de edad de las pacientes fue 36,41 ± 3,82. La media del grosor endometrial (mm) pre-transferencia 9,03 ± 1,56. El valor de la progesterona (ngr/mL) 21,82 ± 8,60. En pacientes con valores de progesterona por debajo de 9 ngr/mL el día previo a la transferencia se añadió progesterona intramuscular como suplemento.

Los protocolos de preparación endometrial fueron ciclo natural (72,6%), estimulado (9,7%) y sustituido (17,7%). La tasa de gestación clínica del 42,6%.

RESULTADOS

El intervalo de tiempo entre la desvitrificación y la transferencia fue de 2,55 h ± 0,61 y la duración del cultivo hasta el momento de ser vitrificados los embriones fue de 120,39 ± 17,15.

La clasificación embrionaria de los blastocistos según ASEBIR fue grado A (52,8%), grado B (37,5%) y grado C (8,5%). La clasificación post desvitrificación inmediatamente antes de la transferencia fue grado A (35,9%), grado B (45,1%) y grado C

(19,4%). La mayoría de los blastocistos se encontraban expandiendo (48,8%) y expandidos (9,3%).

Basados en las curvas ROC, los grados de expansión post-desvitrificación y pre-vitrificación (AUC=65,4%) y (AUC=62,5%) podrían ser buenos parámetros predictores de implantación.

Ni la duración total del cultivo desde la desvitrificación hasta la transferencia ni el tiempo total de cultivo hasta la vitrificación se correlacionaron con el potencial de implantación.

CONCLUSIONES

Los grados de expansión pre-vitrificación y post-desvitrificación son buenas herramientas de predicción de implantación en blastocistos y podrían ser incluidos como criterio de selección tras la desvitrificación.

Una de las mayores limitaciones del estudio es la subjetividad de la clasificación de los blastocistos. Se necesitan estudios con mayor tamaño muestral que confirmen nuestra hipótesis.

P-072

LA TASA DE EUPLOIDÍA DEPENDE DE LA CALIDAD EMBRIONARIA Y NO DEL DÍA DE DESARROLLO DEL BLASTOCISTO

María Escribá Suárez, M Benavent Martínez, C Miret Lucio, A García Esteve, D González Abreu, M Alavés Navarro, J Crespo Simó, J Teruel López
Equipo Juana Crespo
Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN

Los embriones humanos alcanzan el estadio de blastocisto de forma óptima tras 5 días de cultivo, pero algunos tienen un desarrollo más lento.

Estudios sobre embriones biopsiados muestran resultados muy diversos, pero la mayoría concluyen que la tasa de euploidía es superior en día 5. Sin embargo, ninguno de estos estudios ha comparado resultados entre embriones de día 5 (D5) y día 6 (D6) de igual calidad.

OBJETIVO

Comparar la tasa de euploidía e implantación en blastocistos de D5 y de D6 de igual calidad embrionaria.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo observacional realizado en un centro privado de reproducción asistida entre mayo de 2017 y diciembre de 2022. El estudio recoge datos de 5.599 blastocistos de D5 y de D6 sometidos a test genético preimplantacional para aneuploidías (PGT-A) de 819 pacientes de 36,9 años de media tras 1.295 ciclos de PGT-A. Tras 789 transferencias de congelados conocemos la implantación de 948 blastocistos euploides.

Según la morfología embrionaria se dividieron los blastocistos en 3 grupos de calidad: A, excelente (embriones AA, BA y AB). B, buena (embriones BB) y C, intermedia y baja calidad (embriones BC, CB y CC) (Clasificación Gardner-Schoolcraft).

PGT de trofectodermo con láser se realizó a pacientes con edad materna avanzada y/o con varios fallos de tratamientos a blastocistos en D5 y/o D6.

Se compararon ambas poblaciones de D5 y de D6 en cuanto a número de blastocistos conseguidos y distribución de la calidad embrionaria en cada población. El objetivo primario fue comparar la euploidía e implantación de estos grupos de igual calidad entre D5 y D6.

El análisis estadístico realizado fue chi-cuadrado.

RESULTADOS

La mayoría de los embriones biopsiados provienen de D5, (71,8%, n=4017) *versus* (28,2%, n=1582), que fueron biopsiados en D6.

La proporción de las 3 categorías de calidad en D5 y D6 es desigual. Blastocistos calidad A: 18,6% D5 *versus* 3,5% D6. Calidad B: 72,4% D5 *versus* 59,6% D6. Calidad C: 9,0% D5 *versus* 36,0% D6 respectivamente, mostrando diferencias significativas de calidad entre D5 y D6 (p valor para los 3 grupos < 0,001). Concluyendo que la calidad global es mejor en D5.

La tasa de euploidía global en D5 fue de 31,3% *versus* 23,3% en D6 (p valor < 0,001), mostrando diferencias significativas a favor de D5, pero si hacemos lo mismo para cada una de las categorías de calidad en D5 y D6, las tasas de euploidía fueron 44,7% (D5) *versus* 51,8% (D6) para calidad A, 29,6% (D5) *versus* 26,6% (D6) para calidad B y 17,6% (D5) *versus* 14,9% (D6) para calidad C respectivamente, sin hallar diferencias significativas entre D5 y D6 (p valor: A=0,331; B=0,067; C=0,280), concluyendo que la ploidía no depende del día de desarrollo cuando comparamos igual calidad, es calidad dependiente.

Edad media de los grupos en años: D5 (A:34,9. B:35,3. C:34,0). D6 (A:37,2. B:35,1. C:35,6).

La implantación global en D5 es más alta (65,9% *versus* 40,4%) (p valor<0.001). Si volvemos a estratificar por grupos de calidad la implantación fue 75,0% *versus* 66,7% para embriones de calidad A, 63,8% *versus* 46,4% para calidad B y 35,3% *versus* 26,3% para calidad C. A pesar de tener una implantación más alta en D5 en los 3 grupos solo el grupo B presenta diferencias significativas (p valor: A=0,651; B=0,000; C=0,360).

CONCLUSIONES

La tasa de euploidía global es más alta en D5 que en D6. Esto nos puede conducir erróneamente a pensar que la causa del aumento de aneuploidías en D6 sea un desarrollo más lento de los embriones, cuando es debido a un mayor porcentaje de embriones de excelente y buena calidad en la población de D5. Si comparamos embriones de igual calidad tienen la misma tasa de euploidía en D5 y en D6, mostrando que la euploidía es calidad dependiente.

La calidad embrionaria es el biomarcador predictivo más importante para seleccionar el mejor embrión a transferir y reducir el tiempo para conseguir embarazo, más que la cinética.

P-073

COMPARATIVA DEL DESARROLLO EMBRIONARIO HUMANO EN CULTIVO PROLONGADO HASTA EL DÍA 11 ENTRE EMBRIONES EUPLOIDES Y ANEUPLOIDES EN DÍA 5 Y DÍA 6 COMO MODELO DE IMPLANTACIÓN SOSTENIDA

David Ortega Jaén[1], A Mifsud Giner[2], P Ramos Ibeas[3], P Bermejo Álvarez[3], A Martín Bastida[1], ML Pardiñas García[1], MJ de los Santos Molina[2]

[1]Fundación IVI - Valencia (Valencia), [2]IVIRMA Valencia, Laboratorio FIV - Valencia (Valencia), [3]Departamento de Reproducción Animal, INIA - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

Los primeros días del desarrollo embrionario humano preimplantacional se han estudiado ampliamente para mejorar los resultados reproductivos. Sin embargo, los acontecimientos de etapas posteriores no están muy claros. Errores en este proceso pueden conducir a resultados adversos, por lo que una mejor comprensión del desarrollo temprano es de gran importancia tanto para la biología básica del desarrollo como para resolver casos de infertilidad y pérdida precoz del embarazo. Gracias al cultivo embrionario extendido hasta el día 14 del desarrollo, se han podido estudiar mejor algunos acontecimientos que ocurren en estas etapas post-implantatorias e incluso observar el comportamiento de ciertas aneuploidías.

OBJETIVO

Investigar el desarrollo de embriones humanos en cultivo prolongado hasta el día 11 (D11) en función de su estatus cromosómico y del día de desarrollo en el que son desvitrificados.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio prospectivo en el que se cultivaron hasta D11 embriones euploides y aneuploides con trisomías o monosomías donados a investigación. Se analizaron un total de 12 blastocistos sometidos previamente a un diagnóstico genético preimplantacional para aneuploidías (PGT-A) y vitrificados en día 5 (D5) o día 6 (D6): n=6 embriones euploides (n=3 en D5; n=3 en D6) y n=6 embriones aneuploides (n=3 en D5; n=3 en D6) (n=3 con monosomías; n=3 con trisomías). Los blastocistos se desvitrificaron, se rebiopsiaron y se pusieron en pocillos con 500 µL de medio de cultivo prolongado. Desde aquí, cada 24 horas se renovaron 250 µL y se observó y evaluó su desarrollo. Finalizado el cultivo, se fijaron en paraformaldehído al 4%, se procesaron para inmunofluorescencia (IF) y se analizaron mediante microscopía confocal. Se consideró buen desarrollo cuando los embriones consiguieron adherirse al fondo de la placa y no presentaron células necrosadas al final del cultivo. La identificación de diferentes linajes celulares se realizó marcando con: DAPI para contabilizar células totales, GATA3 para trofoectodermo, SOX2 para epiblasto y GATA6 para hipoblasto. Los datos se analizaron usando Chi-cuadrado ($P<0,05$ significativo).

RESULTADOS

Los embriones con mayores tasas de desarrollo hasta D11 fueron blastocistos euploides, con un 50% (3/6), frente al 16,67% (1/6) de blastocistos aneuploides ($P>0,05$). El análisis de IF reveló la formación del disco epiblástico y células del hipoblasto en embriones euploides; sin embargo, en el aneuploide no hubo formación del disco embrionario a pesar de haber células epiblásticas. En cuanto a la comparativa entre embriones cultivados hasta D11 desvitrificados en D5 y D6, los embriones euploides de D6 presentaron una mayor tasa de desarrollo, 66,67% (2/3), frente al 33,33% (1/3) de D5 ($P>0,05$). En embriones aneuploides observamos la misma tendencia, aunque en D6 solo un blastocisto finalizó el cultivo, 33,33% (1/3), y ninguno de D5, 0% (0/3) ($P>0,05$). Finalmente, en el desarrollo hasta D11 entre embriones con monosomía y trisomía, solo un embrión con monosomía, 33,33% (1/3), se desarrolló hasta el final del cultivo, y ninguno con trisomías, 0% (0/3) alcanzó este punto ($P>0,05$).

CONCLUSIONES

A pesar de la transferencia de blastocistos euploides, no todos son capaces de dar lugar a una implantación sostenida. El cultivo prolongado más allá del día 6/7 de desarrollo evidencia la capacidad de los embriones euploides de llevar a cabo las etapas iniciales de la implantación, por lo que puede considerarse un buen modelo *in vitro* para evaluar la competencia en estas etapas primeras de la gestación. Según los datos publicados, podríamos considerar que hay diferencias en el desarrollo embrionario de blastocistos sin alteraciones cromosómicas frente a aquellos con trisomías o monosomías. Sin embargo, estos datos también insinúan una mayor tasa de desarrollo de los embriones desvitrificados en D5 frente a los de D6, y aquellos con trisomías frente a aquellos con monosomías, contrario a nuestros resultados. Estos resultados deben interpretarse con cautela ya que todas estas comparaciones no son estadísticamente significativas, posiblemente debido al pequeño tamaño muestral.

P-074

¿PUEDE UNA PAREJA DE MUJERES COMPARTIR EL MISMO EMBRIÓN EN SU INTERIOR? PRESENTACIÓN DEL PRIMER EMBARAZO EN EUROPA

Felipe Gallego Terris, MJ Gil Gimeno, V Vidal Tonn, A Ferrández Pabst, G Daniel Carti, M Mateos Laguna, JL Vidal Sainz
Juaneda Fertility Center
Palma de Mallorca (Islas Baleares)

INTRODUCCIÓN

El método de elección de las parejas de mujeres es el método ROPA, que permite que las pacientes puedan participar estrechamente en el tratamiento, aportando una de ellas los ovocitos y ser la segunda la gestante. Gracias al sistema de incubación INVOcell, que se coloca en el interior del cuerpo, se avanza un paso más a nivel emocional al permitir que el bebé nacido haya estado en el interior de ambas madres.

OBJETIVO

Proporcionar a las parejas de mujeres una nueva alternativa en el que ambas mujeres puedan tener el embrión formado en su interior, una durante los primeros días de desarrollo hasta el estadio de blastocisto y la segunda la gestación en sí hasta el momento del parto. Ofrecer por tanto la oportunidad de poder compartir la maternidad a un mayor nivel emocional.

MATERIAL Y MÉTODO

El material fundamental es un sistema incubador llamado INVOcell que se introduce bajo el cuello uterino de la paciente, permitiendo la fecundación y el desarrollo de los embriones en el interior de la paciente. El INVOcell consta de una cámara interna con una pequeña obertura, donde se introducirá el medio de cultivo gaseado con aceite. En esta cámara interna es donde se introducirán los cúmulos con los espermatozoides (30.000 espermatozoides) si se quiere que la fecundación se produzca en el interior de su cuerpo o los cigotos si los valores del semen no son lo suficientemente buenos para una fecundación convencional. Una vez introducidos los gametos o embriones, la cámara interna se cierra y se introduce en una cámara externa, que se introducirá bajo el cuello uterino junto a un diafragma para su retención.

En estadio de blastocisto se retira el INVOcell y se lleva al laboratorio, donde se extraerá la interna y se extraerán los blastocistos de su interior para la posterior transferencia o congelación embrionaria.

RESULTADOS

Caso clínico: Pareja de mujeres en el que una de ellas por operaciones abdominales sería un riesgo el embarazo. Se utilizaron sus propios óvulos y con semen de donante se procedió a la ICSI. Al día siguiente fecundó correctamente 3 ovocitos. Estos se introdujeron en el INVOcell con medio GTL y OVOIL de Vitrolife gaseados previamente y a 37 grados de temperatura. La cápsula se introdujo en el cuello uterino de la paciente. El quinto día se extrajo y se visualizó un blastocisto. Este se transfirió a la segunda mujer, dando resultado positivo en sangre a los 14 días. En controles posteriores se visualizó saco y latido. Fecha prevista del nacimiento: noviembre de 2023.

CONCLUSIONES

El sistema INVOcell es una incubadora que aunque se ha utilizado ampliamente en América, no obtuvo el sello CE hasta 2021, con lo que aún es un método poco conocido. Su uso principal es para que introducir los óvulos y espermatozoides en su interior y que todo el proceso hasta el momento de la transferencia se realice en su interior, en teoría para abaratar costes y proporcionar una experiencia más íntima y personal a los pacientes. También serviría para algunas religiones que opinan que la fecundación no puede darse dentro del cuerpo.

En nuestra opinión, su uso en parejas de mujeres permitiéndoles compartir el mismo embrión en el tratamiento de reproducción asistida, abre una nueva posibilidad para compartir la maternidad en estas parejas, ya que ambas podrán haber llevado su hijo en su interior, proporcionándoles si cabe una mayor satisfacción a nivel emocional

P-075

DIFERENCIAS MORFOLÓGICAS ENTRE LOS OVOCITOS METAFASE II RESCATADOS Y NO RESCATADOS TRAS LA ESTIMULACIÓN OVÁRICA CONVENCIONAL

Lucía Murria Aguilar[1], A Delgado Mendibe[2], C Giménez Rodríguez[1], MA Valera Cerdá[1], L Bori Arnal[1], M Meseguer Escrivá[3]

[1]IVI Foundation - Valencia (Valencia), [2]IVIRMA Valencia - Valencia (Valencia), [3]IVIRMA Global Research Alliance, IVIRMA Valencia - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN

En los últimos años ha aumentado la práctica del rescate de vesículas germinales (VG) a partir de ciclos de estimulación convencional en las clínicas de reproducción asistida, pero hasta el momento no se utiliza de forma generalizada en todas las pacientes ya que estos ovocitos tienen un potencial de desarrollo inferior en comparación con los ovocitos madurados en el entorno folicular. La mayoría de los estudios se centran en el proceso de la maduración de la VG en el laboratorio, uno de ellos centrado en el crecimiento del diámetro ovocitario durante la MIV, demostró que los ovocitos de la MIV tienen un diámetro menor que los ovocitos madurados en el entorno folicular. Pero hasta donde sabemos, este es el primer

estudio que analiza en detalle las diferencias morfológicas entre los ovocitos rescatados y no rescatados tras la estimulación convencional.

OBJETIVO

Estudiar si existen diferencias morfológicas entre ovocitos en metafase II rescatados y no rescatados tras una estimulación ovárica convencional (EOC).

MATERIAL Y MÉTODO

Este estudio retrospectivo incluye el análisis de 181 imágenes de ovocitos metafase II rescatados y 144 no rescatados tras EOC. Para el rescate de VG, estas se cultivan en medio CSCM-NXC (IrvineScientific) al 5% de CO2 y 5% de O2, después de 24-28 horas. Las imágenes de los ovocitos metafase II se obtuvieron de los sistemas Embryoscope TimeLapse. A continuación, un único operador anotó manualmente los parámetros morfológicos, para reducir la discrepancia de las mediciones, utilizando las herramientas de dibujo del *software* EmbryoViewer: área del ovocito (µm2), área del corpúsculo polar (ACP) (µm2), zona pelúcida (µm), espacio perivitelino (EPV) (µm). Además, se calcularon las relaciones entre los distintos parámetros morfológicos (relación área del ovocito/EPV, relación área del ovocito/zona pelúcida, relación área del ovocito/EPV, relación zona pelúcida/EPV, relación ACP/EPV y relación ACP/zona pelúcida). Se realizaron análisis descriptivos, ANOVA, correlaciones de Pearson y regresión logística multivariable con el Statistical Package for Social Sciences (SPSS) para determinar la existencia de diferencias significativas entre los dos grupos y las correlaciones entre las variables.

RESULTADOS

Tanto en los ovocitos metafase II rescatados como en los no rescatados, se detectó una correlación significativamente positiva entre el área del ovocito y el ACP*, y el grosor de la zona pelúcida*. También se detectó una correlación negativa significativa entre el tamaño del EPV y el ACP*. Para los ovocitos metafase II rescatados, también se encontró una correlación significativamente negativa entre el área del ovocito y el EPV*. La comparación de las medias de edad, IMC, AMH y todos los parámetros morfológicos analizados entre los dos grupos mostró diferencias significativas en edad*, área ovocitaria*, EPV*, relación área ovocitaria/zona pelúcida*, relación área ovocitaria/EPV*, relación zona pelúcida/EPV*, relación ACP/EPV *. La media de estas variables en el grupo de ovocitos metafase II rescatados fue: 28,77 ± 6,25, 9734,70 ± 681,28, 8,79 ± 4,43, 628,10 ± 116,29, 1391,86 ± 689,13, 2,24 ± 1,11, 50,84 ± 40,81; mientras que sus medias en el grupo de ovocitos en metafase II no rescatados fueron: 24,41 ± 4,15, 10152,63 ± 711,3, 11,73 ± 5,62, 675,08 ± 111,48, 1063,32 ± 554,35, 1,60 ± 0,82, 37,65 ± 24,55 respectivamente. Además, la regresión logística multivariable mostró que las diferencias en el tamaño del área ovocitaria y el cociente zona pelúcida/PVS seguían siendo estadísticamente diferentes entre los dos grupos a pesar de la diferencia en la edad de las pacientes*. p<,05*

CONCLUSIONES

Este estudio demuestra que existen diferencias morfológicas entre los ovocitos en metafase II rescatados y los no rescatados tras la EOC. Los ovocitos en metafase II rescatados tienen un diámetro menor y una relación zona pelúcida/espacio perivitelino mayor que los ovocitos en metafase II no rescatados.

P-076

USO DE 3,6:1 MYO-INOSITOL:D-CHIRO INOSITOL EN PACIENTES CON SOP PARA MEJORAR LA CALIDAD OVOCITARIA

Pedro Belchín Fernández[1], A Martín Pascual[1], MJ Gómez Roso[1], V Calvente[1], M Aparicio Fluge[2], E López Gallego[1], D Ordóñez Pérez[1]
[1]Hospital Ruber Juan Bravo - Madrid (Madrid), [2]Universidad Europea - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

El síndrome de ovario poliquístico (SOP) es un trastorno hormonal común entre las mujeres en edad reproductiva, llegando a afectar entre el 4-21%. El origen del SOP es desconocido, pero se caracteriza principalmente por un hiperandrogenismo, hiperinsulinemia y anovulación. Alrededor del 80% de las pacientes diagnosticadas con SOP tienen una alta resistencia a la insulina, llegando a causar hiperandrogenismo. La variación en los niveles de insulina, pueden llegar a afectar a las células de la granulosa, afectando finalmente a la calidad ovocitaria.

Pacientes con SOP, que reciben un tratamiento con metformina e inositol en proporción 3,6:1 Myo-inositol:D-Chiro inositol (3,6:1 MYO:DCI) como adyuvantes pueden mejorar el síndrome metabólico, con lo que mejorarían la calidad ovocitaria, lo cual afectará a la probabilidad de embarazo en pacientes con SOP.

OBJETIVO

Evaluar el efecto del uso de 3,6:1 MYO:DCI como adyuvante y previo a una estimulación ovárica, para mejorar la calidad ovocitaria, lo que podría llevarnos a una mayor probabilidad de embarazo por ciclo en aquellas pacientes con SOP.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo y observacional entre los años 2018 y 2021 en los que se incluyeron un total de 92 pacientes diagnosticadas con SOP, y que se sometieron a un protocolo corto de antagonistas, y en los que se recuperaron al menos 15 óvulos por punción, los cuales se inseminaron mediante ICSI y se llevaron en cultivo largo hasta blastocisto en sistema *time-lapse* (Embryoscope). Comparamos el número de óvulos recuperados, el porcentaje de óvulos maduros (MII), la tasa de fecundación, blastulación y tasa de embarazo, así como el número de ciclos en los que se obtiene al menos un blastocisto de buena calidad para transferencia embrionaria. El análisis de los resultados se realizó por t-Student y Chi cuadrado entre grupos.

RESULTADOS

Cuando comparamos las pacientes tratadas con 3,6:1 MYO:-DCI (46 pacientes en el GRUPO 1), con las pacientes que no recibieron tratamiento previo a la estimulación folicular (46 pacientes en el GRUPO 2), no encontramos diferencias estadísticamente significativas en cuanto al número de óvulos recuperados en punción (21,5 *vs.* 20,7; p.valor=0,56), ni en la tasa de MII por paciente (72,06% *vs.* 71,23%; p.valor=0,68). Cuando analizamos la tasa de embarazo (embarazo clínico) por transferencia, no encontramos diferencias significativas, aunque si clínicamente relevantes, debido al pequeño número por grupo (54,39% grupo 1 *vs.* 42,65% grupo 2; p.valor=0,19). Donde si encontramos diferencias significativas, fue en la tasa de fecundación entre grupos (76,9% *vs.* 70,44%; p.valor=0,007) y en el número de ciclos en los que no se obtuvo al menos un blastocisto de buena calidad para transferir y se acabó cancelando el ciclo (4,35% del grupo 1 *vs.* 17,39% del grupo 2; p.valor=0,04).

CONCLUSIONES

Esto parece indicar que el tratamiento con 3,6:1 Mio:D-Chiro inositol previo a un protocolo de estimulación ovárica mejora la calidad ovocitaria, por lo que tendremos embriones de mejor calidad y sobre todo se reduce la probabilidad de cancelar el ciclo por no tener embriones de buena calidad para transferir. Se necesitaría un mayor número de pacientes con SOP tratados con 3,6:1 Mio:D-Chiro Inositol, para poder tener una mayor fiabilidad en los resultados y realizar un estudio prospectivo.

P-077

¿PUEDE LA SELECCIÓN ESPERMÁTICA MEDIANTE MACS MEJORAR LOS RESULTADOS CLÍNICOS Y DE LABORATORIO?

Nerea Díaz Hernández, E Abellán Amorós, A Rodríguez Arnedo, MC Tió Marquina, J Ten Morro, A Bernabéu García, R Bernabéu Pérez
Instituto Bernabéu
Alicante (Alicante)

INTRODUCCIÓN

La técnica de MACS (*magnetic activated cell sorting*) permite, mediante la aplicación de campos magnéticos, separar los espermatozoides con cadena de DNA íntegra de los espermatozoides preapoptóticos y con elevada fragmentación de DNA, que externalizan la molécula de fosfatidil serina y que presentan afinidad por la anexina V. De esta forma sería posible, en teoría, obtener mejores resultados en los ciclos de reproducción asistida cuando se seleccionan los espermatozoides por dicha técnica.

OBJETIVO

El objetivo principal del estudio es comprobar si hay una mejoría en los resultados clínicos y de laboratorio cuando se utilizan muestras seleccionadas mediante MACS comparado con aquellas muestras capacitadas mediante gradientes de densidad.

MATERIAL Y MÉTODO

Se compararon de manera retrospectiva 163 ciclos procedentes de receptoras de ovocitos y muestra conyugal, realizados entre enero de 2018 y febrero de 2023. A 77 de las muestras seminales se les realizó la técnica de MACS (grupo de estudio) y a las 86 muestras restantes una capacitación mediante gradientes de densidad (grupo control).

Adicionalmente, se hizo una comparativa entre un subgrupo de 123 ciclos en los que la edad del varón que aportaba la muestra seminal era igual o superior a 45 años (92 gradientes *vs.* 31 MACS). También se analizaron las indicaciones clínicas de petición de MACS (fallo repetido de implantación (RIF) y aborto de repetición, fragmentación ADN espermático alterada, ciclo previo de bajo rendimiento embrionario, por petición de los pacientes y otras causas).

Las variables estudiadas fueron: tasa de fecundación normal (FR), tasa de formación de blastocisto (BR), tasa de embrión útil (EU), tasa de gestación clínica (PR), tasa de implantación (IR) y tasa de aborto (MR), tanto en todos los rangos de edad como en el rango de edad de pacientes ≥45 años.

RESULTADOS

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y el grupo de estudio en todos los rangos de edad para ninguna de las variables estudiadas: FR 78% *vs.* 79% (p=0.89), BR 66% *vs.* 64% (p=0.37), EU 54% *vs.* 51% (p=0,28), PR 82% *vs.* 74% (p=0,50), IR 69% *vs.* 65% (p=0,67) y MR 21% *vs.* 27% (p=0,44).

Cuando la edad paterna fue ≥45 años tampoco se encontraron diferencias significativas: FR 77% *vs.* 80% (p=0,39), BR 63% *vs.* 66% (p=0,55), EU 52% *vs.* 53% (p=0,94), PR 83% *vs.* 68% (p=0,31), IR 56% *vs.* 69% (p=0,24) y MR 17% *vs.* 27% (p=0,34).

Respecto a la indicación para la realización de la técnica de MACS no se observaron diferencias estadísticamente significativas para las variables de estudio en cada uno de los grupos.

CONCLUSIONES

En base a nuestros resultados, la utilización de la técnica de selección espermática mediante MACS no mejora los resultados en los ciclos de reproducción asistida ni a nivel clínico ni de laboratorio para las diferentes indicaciones para las que fue realizada.

Este resultado está acorde con un estudio previo realizado en nuestro centro donde se valoraba el potencial de oxidación y la fragmentación de las muestras capacitadas mediante gradientes de densidad, obteniéndose niveles de fragmentación mínimos o indetectables tras la aplicación de la técnica. Una posible explicación de los resultados obtenidos sería que tanto las muestras capacitadas mediante gradientes de densidad como las muestras seleccionadas mediante la técnica de MACS presentan un índice de fragmentación similar y, por tanto, los resultados obtenidos con ambas técnicas son equiparables.

No obstante, sería interesante realizar estudios prospectivos para corroborar dichos resultados.

P-078

¿MEJORAN LAS TÉCNICAS DE SELECCIÓN ESPERMÁTICA LAS TASAS DE EUPLOIDÍA EN BLASTOCISTOS?

Yosu Franco Iriarte, A Villa Milla, I Orozco Gómez, F Sotos Borrás, E Carrillo de Albornoz Riaza, S Iniesta Pérez, E Melia Fullana, A Rexach Vega, F Martínez Hernández, V Cabezuelo Sánchez
Ruber Internacional
Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

Hoy en día, se requieren test moleculares para completar la evaluación andrológica y la integridad del ADN espermático. En este contexto marcadores apoptóticos como es la activación de caspasas, externalización de fosfatidilserina, alteraciones del potencial de membrana mitocondrial y fragmentación de ADN son los más testados. Particularmente hay un aumento de datos clínicos mostrando una correlación negativa entre fragmentación elevada de ADN y éxito en técnicas de reproducción. Se ha afirmado que los espermatozoides aneuploides pueden desencadenar fragmentación de ADN bloqueando el desarrollo espermático y produciendo una célula espermática inefectiva. Por otra parte, se ha correlacionado la alta fragmentación de ADN con bajo porcentaje de embarazo y de implantación, encontrando incluso en sémenes normales una alta fragmentación de ADN no sólo simple sino doble, que se asocia a mayor porcentaje de aneuploidía.

OBJETIVO

Determinar si el uso de técnicas de selección espermática: gradientes, MACS y microfluidos favorecen una mayor probabilidad de euploidía en programa de FIV y ovodonación.

MATERIAL Y MÉTODO

Este estudio retrospectivo incluye el período 2017-2022 donde se han realizado 618 test de aneuploidías mediante NGS en biopsias de blastocistos siendo analizados 1.931 embriones. Todos los pacientes tenían estudiado la fragmentación previa a realizar un ciclo. Se realizaron gradientes en pacientes sin ningún tipo de patología, MACS en pacientes con fragmentación simple y pacientes que, a pesar de tener una fragmentación normal, tenían varios ciclos de FIV previos fallidos. En pacientes con fragmentación doble el uso de microfluidos fue la técnica seleccionada. Tras la aplicación de la técnica correspondiente se analizó el porcentaje de embriones euploides en tres grupos distintos: menores de 38 años, mayor o igual a 38 años y ovodonación, calculando la OR para observar posibles diferencias.

RESULTADOS

De un total de 1931 embriones biopsiados, 1.235 provienen de mujeres mayores de 38 años donde 348 fueron euploides (29%). En ciclos menores de 38 años, 443 blastocistos fueron analizados con un 53% de euploidía, mientras que en ovodonación 231 blastocistos fueron analizados con un 67% normales. Analizando la técnica de selección espermática dentro de cada grupo, observamos que en menores de 38 años el porcentaje de euploidía es muy similar cuando se utilizan gradientes o técnica de selección sin resultados estadísticamente significativos (p=0,7). El mismo resultado obtenemos en las pacientes mayores de 38 años donde no se observan diferencias estadísticas (p=0,6). Si comparamos en el grupo de ovodonación MACS frente a gradientes tenemos 1,43 veces más de tener un blasto euploide con técnica de selección, aunque las diferencias no son estadísticamente significativas (OR 1,43 p =0,1). Si observamos cualquier técnica de selección frente a gradientes, observamos un porcentaje de euploidía mayor con 1,5 más probable de tener un blastocisto euploide (OR=1,51 p=0,18). (Tabla I)

CONCLUSIONES

El estudio en profundidad del semen, concretamente la valoración de la fragmentación tanto de cadena simple como doble, ofrece una visión más específica de la metodología a utilizar, para obtener un mayor rendimiento en los procesos de selección espermática. La eficiencia de los MACS y los microfluidos respecto a la técnica de selección convencional queda evidenciada al comparar la tasa de euploidía en el mejor indicador de calidad que es el blastocito. Incluso cuando la muestra de semen es normal y se aplica MACS, la euploidía aumenta. Por lo tanto, realizar técnica de selección espermática puede ayudar a mejorar el éxito reproductivo sobre todo en programa de ovodonación donde el factor ovocitario está controlado poniendo en evidencia las aneuploidías embrionarias de origen masculino y es en este grupo donde se observa la eficacia de la selección y aumento de euploidía dando lugar en un futuro a un aumento de la tasa acumulada de embarazo. Es necesario aumentar el tamaño muestral para observar el impacto real de estas técnicas.

TABLAS

Tabla I.

PGT-A EN BLASTOCISTOS 2017-2022									
	FIV< 38			FIV ≥ 38			OVODÓN		
	MACS	CHIPS	GRAD/S.UP	MACS	CHIPS	GRAD/S.UP	MACS	CHIPS	GRAD/S.UP
BLASTOS BIOPS	174	151	118	571	358	306	99	78	54
BLASTOS SANOS	95	75	62	146	112	90	67	55	32
% Euploidia	54,50%	49,60%	52,50%	25,50%	31,00%	29,40%	67,50%	70,50%	59,00%

P-079

RESULTADOS CLÍNICOS Y GENÉTICOS DE BLASTOCISTOS DE DÍA 6. ¿EXISTEN DIFERENCIAS EN FUNCIÓN DEL DÍA DE BIOPSIA DEL RESTO DE LA COHORTE EMBRIONARIA?

Laura Cascales Romero[1], L Herrero Grassa[1], M Aparicio González[1], B Boyano Rodríguez[1], J Ten Morro[2], A Bernabéu García[2], R Bernabéu Pérez[2]

[1]Instituto Bernabéu Madrid - Madrid (Madrid), [2]Instituto Bernabéu Alicante - Alicante (Alicante)

INTRODUCCIÓN

El desarrollo *in vitro* de un embrión humano usualmente tiene una duración de 5 días. Sin embargo, algunos embriones requieren más tiempo para alcanzar el estadio de blastocisto y reunir las condiciones para su biopsia. Por lo tanto, en ciclos de diagnóstico genético preimplantacional, es habitual que la biopsia embrionaria se lleve a cabo tanto en día 5 como en día 6 de desarrollo. Aunque menos frecuente, existen casos en los que la totalidad de la cohorte embrionaria alcanza el estadio de blastocisto en día 6 de desarrollo. Todavía no se ha dilucidado si este desarrollo embrionario más lento de forma generalizada supone un impacto en las tasas de euploidía y en los resultados clínicos.

OBJETIVO

Determinar si existen diferencias en los resultados genéticos y clínicos entre cohortes embrionarias de blastocistos formados y biopsiados únicamente en día 6 de desarrollo y cohortes embrionarias compuestas por blastocistos de día 5 y 6 de desarrollo.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo multicéntrico con 5.856 embriones biopsiados de ciclos de ovocito propio entre julio de 2017 y septiembre de 2022. Los embriones fueron cultivados en medio Global® Total® (LifeGlobal) hasta día 5/6 de desarrollo realizándose eclosión asistida con láser en día 3. La biopsia se realizó en día 5/6 de desarrollo. Los blastocistos fueron clasificados según el día de biopsia de la cohorte en 3 grupos: cohortes con embriones biopsiados únicamente en día 5 (grupo 1, 1.197 blastocistos), cohortes con embriones biopsiados en día 5 y 6 (3.627 blastocistos) y cohortes con biopsia únicamente en día 6 (grupo 3, 1.032 blastocistos). Tras el análisis genético, se compararon las tasas de euploidía, aneuplodía y mosaicismo entre grupos. Tras el análisis, 1.332 blastocistos euploides fueron transferidos: 334 del grupo 1, 760 del grupo 2 y 238 del grupo 3. Los resultados clínicos se evaluaron mediante las tasas de implantación, embarazo clínico y aborto clínico. Los embriones de día 6 del grupo 2 también fueron evaluados por separado. Para el análisis estadístico se realizó la prueba de chi-cuadrado utilizando el *software* R (v.4.2.0). Las diferencias se consideraron significativas cuando el valor de $p<0,05$.

RESULTADOS

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo 1 y 3 en cuanto a tasa de euploidía (33% *vs.* 24.7% $p<0.00001$) y aneuploidía (56.1% *vs.* 65.8% $p<0.00001$) respectivamente.

Atendiendo únicamente a los embriones biopsiados en día 6, no se encontraron diferencias en las tasas de euploidía (27,2% *vs.* 24,7% p= 0,1533), aneuploidía (62,3% *vs.* 65.8% p= 0,0673) y mosaicismo (7,3% *vs.* 6,4% p= 0,3672) entre los grupos 2 y 3, respectivamente.

Por edad (< 39 años *vs.* ≥ 39 años) el análisis genético no reveló diferencias entre embriones biopsiados en día 6 (grupo 2 *vs.* grupo 3).

En cuanto a los resultados clínicos, también encontramos diferencias entre los grupos 1 y 3 en las tasas de embarazo clínico (52,1% *vs.* 34,87% p < 0,0001) e implantación (52,4% *vs.* 35,71% p= 0,0001) respectivamente.

Tras la transferencia de los embriones biopsiados en día 6, no encontramos diferencias significativas en las tasas de embara-

zo clínico (40,34% *vs.* 34,87% p=0,2204), implantación (40,77% *vs.* 35,71% p=0,2587) y aborto (13,83% *vs.* 18,07% p=0,4402) entre los grupos 2 y 3, respectivamente.

El detalle de los resultados clínicos puede verse en las tablas I y II.

CONCLUSIONES

En nuestro estudio, constatamos los mejores resultados tanto genéticos como clínicos de los embriones de día 5 frente a los de día 6. Sin embargo, no encontramos diferencias significativas en estos resultados en los embriones biopsiados en día 6, independientemente del día de biopsia del resto de la cohorte embrionaria. A pesar de la no significancia estadística, el descenso en los resultados clínicos en las cohortes de embriones biopsiados únicamente en día 6 nos aporta un valor pronóstico importante.

TABLAS

Tabla I: Comparación de los resultados clínicos de los 3 grupos de estudio, y resultados de Chi2 dos a dos:

	GRUPO 0	GRUPO 1	GRUPO 2
N	334	760	238
TASA SUPERVIVENCIA	100,00%	100,00%	100,00%
TASA ABORTO BIOQUIMICO	8,68%	9,61%	10,92%
TASA GESTACION CLINICA	52,1% a	45,79%	34,87% a
TASA IMPLANTACION	52,4% b	46,84%	35,71% b
TASA ABORTO CLÍNICO	13,22%	15,52%	18,07%

a: p < 0,0001

b: p= 0,0001

Tabla II: Comparación de los resultados clínicos de los 3 grupos de estudio, y resultados de Chi2 dos a dos, separando los resultados del grupo dos según el día de biopsia:

	GRUPO 0	GRUPO 1 D5	GRUPO 1 D6	GRUPO 2
N	334	527	233	238
TASA SUPERVIVENCIA	100,00%	99,81%	100,00%	100,00%
TASA ABORTO BIOQUIMICO	8,68%	8,92%	11,16%	10,92%
TASA GESTACION CLINICA	52,1% c,d	48,2% e	40,34% c	34,87% d,e
TASA IMPLANTACION	52,4% f,g	49,53% h,i	40,77% f,i	35,71% g,h
TASA ABORTO CLÍNICO	13,22%	15,75%	13,83%	18,07%

c: p = 0,0075	d: p=0,0001	e: p=0,0008	
f: p=0,0083	g: p=0,0001	h: p=0,0005	i: p=0,0315

P-080

EVALUACIÓN DE LA RELACIÓN ENTRE LA CALIDAD DEL TROFOECTODERMO Y LA MASA CELULAR INTERNA (MCI), ANALIZADA MEDIANTE INTELIGENCIA ARTIFICIAL (IA) CON CHLOE (FAIRTILITY), Y LA EUPLOIDÍA DE LOS EMBRIONES

Miriam Valcárcel Andreu[1], A Brualla Mora[2], N Almunia Santiago[1], A Zepeda Hernández[3], A Cruz Campos[4], MD Pérez Cárceles[4], R Jiménez Alfaro[1], AM Villaquirán Villalba[1], E Gómez Sánchez[1]

[1]Next Fertility Murcia - Murcia (Murcia), [2]Fairtility - Barcelona (Barcelona), [3]Fairtility - Róterdam (Países Bajos), [4]Área Medicina Legal y Forense. Instituto Murciano de Investigación Biomédica (IMIB). Campus Internacional de Excelencia Mare Nostrum. Facultad de Medicina. Universidad de Murcia - Murcia (Murcia)

INTRODUCCIÓN

El diagnóstico genético preimplantacional para aneuploidías (PGT-A) es una estrategia muy eficaz para la selección de los embriones en un programa de reproducción *in vitro*, pero requiere de la manipulación del embrión, lo que supone una mayor carga de trabajo y costes. En los últimos años se han publicado distintos estudios cuyo fin es determinar la carga cromosómica de los embriones de forma no invasiva. En este contexto surge la utilización de la inteligencia artificial como herramienta para determinar la calidad embrionaria de forma objetiva y automática, teniendo en cuenta la morfocinética y la morfología de los embriones.

OBJETIVO

El objetivo de este estudio fue investigar si la euploidía del embrión está relacionada con la calidad del trofoectodermo y de la MCI analizadas mediante inteligencia artificial, concretamente el programa CHLOE (Fairtility), así como con la puntuación que genera dicho programa (EQ Score).

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo de 534 embriones del programa de PGT-A de Next Fertility Murcia, 251 euploides y 284 aneuploides.

Se evaluó la calidad del trofoectodermo y la MCI en los embriones mediante la clasificación embrionaria de Gardner asignada de forma automática por el programa de inteligencia artificial CHLOE (Fairtility, Israel). Al mismo tiempo, dicho *software* dio a los embriones una puntuación, dependiendo de su morfocinética y morfología (EQ SCORE).

Mediante la prueba de Chi-cuadrado se analizó la relación entre la calidad del trofoectodermo y la MCI asignada por CHLOE con la euploidía de los embriones determinada mediante PGT-A. Además, se utilizó el test de Kruskal-Wallis para comparar la calidad del trofoectodermo y la MCI con el CHLOE EQ. Finalmente, con el fin de determinar si CHLOE EQ era predictivo de la euploidía embrionaria, se usó una regresión logística binaria y se calculó el área bajo la curva ROC (AUC).

RESULTADOS

De los 534 embriones con resultado de PGT-A analizados automáticamente por el sistema CHLOE, a 300 se les pudo asignar la clasificación embrionaria de Gardner de forma automática por CHLOE. 60 presentaron un trofoectodermo calidad A, 104 calidad B, 58 calidad C y 78 calidad D; y 64 tuvieron una MCI A, 91 B, 60 C y 85 D. Al cruzar estos resultados con la euploidía, encontramos que los embriones con trofoectodermo A tuvieron una tasa de euploidía del 70%, mientras que en los embriones de categoría D fue del 34,6% (p=0,001). Por otro lado, el 64% de los embriones con MCI A fueron euploides, y solamente el 36,05% de los de categoría D (p=0,001).

Como era de esperar, también se encontró una diferencia significativa entre la calidad del trofoectodermo y el MCI y la puntuación CHLOE EQ. Los embriones de la categoría A tenían una puntuación CHLOE EQ significativamente más alta que los embriones de la categoría D (9,2 *vs.* 4,6 para el trofoectodermo, y 9,2 *vs.* 0,4 para el MCI, p<0,001 para ambas comparaciones).

La regresión logística binaria obtuvo un resultado de AUC de 0,57 con p=0,003, es decir, mostró que con la cantidad de embriones que se han analizado, la puntuación CHLOE EQ no tiene gran capacidad discriminativa.

CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio muestran que CHLOE es capaz de asignar la calidad del trofoectodermo y la MCI de forma automática, y que ésta se relaciona con la euploidía embrionaria y la puntuación CHLOE EQ. Ésta ha presentado resultados poco significativos a la hora de predecir la euploidía en los embriones de nuestro programa de PGT-A. Estos hallazgos pueden ser útiles para mejorar la selección embrionaria en ciclos de reproducción asistida de forma no invasiva, y mejorar así las tasas de éxito de los tratamientos, aunque más estudios son necesarios para alcanzar resultados más concluyentes.

P-081

COMPARATIVA DEL PERFIL INMUNITARIO ENDOMETRIAL EN PACIENTES NO TRATADOS CON IMPLANTACIÓN EXITOSA Y FALLIDA. ESTABLECIMIENTO DE UNOS VALORES DE REFERENCIA INMUNITARIO MÁS ROBUSTOS

Tamara Mateu Albero[1], J Sarasa[1], J Aizpurua[2], AI Marín Ortiz[1], Y De la Torre Aparicio[1], M Ferrández Rivas[1], I Jurado[1], M Enciso[1]

[1]iGLS - Alicante (Alicante), [2]IVF-Life Alicante - Alicante (Alicante)

INTRODUCCIÓN

El sistema inmunitario participa de forma activa en los cambios anatómicos y fisiológicos que tienen lugar en el útero. Durante la implantación embrionaria, las células del sistema inmunitario promueven la infiltración trofoblástica, la remodelación vascular-tisular, la inmunotolerancia frente al embrión y la protección materno-fetal frente a infecciones. El estudio del perfil inmunitario endometrial permite determinar la presencia de una desegulación inmunitaria y, en estos casos, revertir dicha desregulación mediante tratamiento personalizado. No obstante, la ausencia de consenso en la técnica, las características de las muestras y el tratamiento inespecífico administrado a las pacientes ha provocado que los valores de normalidad durante la ventana de implantación (VI) presenten una heterogeneidad elevada.

OBJETIVO

Se han seleccionado de forma retrospectiva pacientes que no han sido tratadas con ningún fármaco durante el ciclo de reproducción asistida y se ha realizado la comparación del perfil inmunitario endometrial entre el grupo de paciente que ha tenido una implantación exitosa y el grupo de paciente con implantación fallida. Con este estudio se pretende contribuir a la definición del perfil inmunitario endometrial normal durante la ventana de implantación embrionaria.

MATERIAL Y MÉTODO

Muestras de pacientes incluidas en ciclo de reproducción HRT que no han recibido ningún tratamiento inmunomodulador y que han presentado un perfil de expresión génica receptivo en P4 +5,5 (VI) han sido incluidas en el estudio. Los niveles de las células inmunitarias (células NK, uNK, pbNK, linfocitos T, Th, Tc, Th1, Th2, Th17, Treg, linfocitos B) fueron determinados mediante citometría de flujo de pacientes con implantación exitosa (S (successful), n=4) y no exitosa (U (unsuccessful), n=7) fueron analizados y comparados.

RESULTADOS

Los pacientes del grupo S presentaron una ratio T/NK inferior a los pacientes U (0,89 *vs.* 1.31). El incremento de los niveles de las subpoblaciones de linfocitos Th2 (4,2% ± 2,6 *vs.* 2,4% ± 2,1; media ± desviación estándar) y linfocitos T reguladores (1,8% ± 2,8 *vs.* 0,9% ± 2,4) fue asociado con una implantación exitosa. Sorprendentemente, el grupo de pacientes S presentó unos niveles de linfocitos B incrementados en comparación al grupo de pacientes U (2,5% ± 2,8 *vs.* 0.5% ± 1,6), demostrando que los linfocitos B podrían tener un papel más relevante en el proceso de implantación embrionaria.

CONCLUSIONES

El estudio confirma estudios previos donde se ha asociado el fallo de implantación a una disminución de los niveles de células NK o a un incremento de las ratios Th1/Th2 y Th17/Treg. Estos valores de referencia preliminares pueden ayudar a definir de forma más óptima los valores de referencia de las células inmunitarias durante el proceso de implantación. Con ello, la determinación de una desregulación inmunitaria endometrial en las pacientes podría promover un tratamiento inmunomodulador personalizado en los pacientes que inician ciclos de reproducción asistida.

P-082

DESARROLLO EMBRIONARIO EUPLOIDE DE OVOCITOS METAFASE II FRESCOS *VERSUS* VITRIFICADOS EN CICLOS DE OVODONACIÓN. UN ESTUDIO RETROSPECTIVO

Paloma Troncoso Pérez, A Zavala García, C González Navas, D Sosa Rosales, E Criado Scholz
Ovoclinic
Ronda (Málaga)

INTRODUCCIÓN

Actualmente la criopreservación es un procedimiento efectivo que almacena el potencial reproductivo de los ovocitos. Ofrece un beneficio claro en la preservación de la fertilidad y permite la creación de bancos de ovocitos para mujeres que se someten a tratamientos de ovodonación. (1)

Sin embargo, el ovocito puede ser especialmente susceptible a daño físico durante el proceso de criopreservación debido a su abundante volumen de contenido líquido (2). También se puede alterar el grosor de la zona pelúcida y puede ocasionar una exocitosis cortical granular prematura. La disrupción del huso meiótico inducido por el proceso de vitrificación, debido a su sensibilidad a la variación de temperatura y estado de hidratación (3), (4) (2) podría tener un impacto sobre los cambios post microinyección espermática intracitoplasmática (ICSI) y su desarrollo a embriones cromosómicamente euploides. La mayoría de aneuploidías embrionarias se originan de errores durante las divisiones meióticas en el ovocito o durante las primeras divisiones mitóticas del embrión. (5) El estudio cromosómico mediante el test genético preimplantacional para aneuploidías (PGT-A) nos permite valorar el riesgo de daño al huso meiótico y el desarrollo aneuploide de los embriones tras la desvitrificación ovocitaria. (2)

Decidimos comparar la tasa de embriones euploides mediante el estudio de PGT-A usando ovocitos criopreservados y compararlos con el uso de ovocitos en fresco. El objetivo principal fue determinar si los blastocistos obtenidos de ovocitos criopreservados tenían una mayor tasa de aneuploidía en comparación con los ovocitos frescos. Como objetivos secundarios, comparamos las tasas de fertilización, desarrollo a blasto y mosaicismo embrionario.

OBJETIVO

Determinar si la criopreservación de ovocitos MII puede afectar la tasa de euplodía embrionaria en comparación con ovocitos microinyectados en fresco. Como objetivos secundarios, también analizamos las tasas de fertilización, blastulación y mosaicismo embrionario.

MATERIAL Y MÉTODO

Realizamos un estudio descriptivo, comparativo y retrospectivo de tipo cohorte. Se analizaron ciclos de donantes de ovocitos del periodo de enero 2018 a marzo 2023 en un centro privado de reproducción asistida. Todas las donantes tenían entre 18-35 años de edad y fueron seleccionadas según los criterios vigentes de la legislación española para la selección de donación de ovocitos. Se clasificó el total de ovocitos obtenidos en dos grupos: 1) Ovocitos MII criopreservados (CP) y 2) Ovocitos MII en fresco (OF). Los ovocitos criopreservados, posterior a su desvitrificación, siguieron el mismo proceso que aquellos ovocitos del grupo 1: Fueron fertilizados mediante ICSI, fueron cultivados hasta blastocisto en medio monofásico. En aquellos blastocistos que tuvieron un desarrollo adecuado a D5/6 se les realizó biopsia trofoectodérmica para un análisis mediante PGT-A de 24 cromosomas.

RESULTADOS

Analizamos un total de 152 ciclos que generaron un total de 604 embriones (473 de ovocitos criopreservados (CP) y 131 de ovocitos en fresco (OF)). Se utilizó un número promedio de 8,33 ± 1,82 ovocitos del grupo CP y 8,44 ± 1,69 ovocitos del grupo de OF, sin diferencia estadísiticamente significativa (P=0,735). El número de ovocitos fertilizados también fue similar (CP 6,90 ± 1,98 *vs.* OF 6,53 ± 1,64, P=0,292). La tasa de blastulación a día 5 fue de 58,77% en el grupo de CP y 70,23% en el grupo de OF. Sin embargo, la tasa de euploidía fue de 60,04% en el grupo de CP y 60,30% en el grupo de OF, sin encontrar diferencia estadísticamente significativa.

CONCLUSIONES

Los embriones generados a partir de ovocitos criopreservados muestran una menor tasa de blastulación a día 5, pero tasas similares en cuanto a euploidía y aneuploidía/mosaicismo. Esto desmuestra que el proceso de criopreservación no afecta el desarrollo euploide de los embriones en comparación con los ovocitos en fresco.

REFERENCIAS

1. Cornet-Bartolomé D, Rodríguez A, García D, Barragán M, Vassena R. Efficiency and efficacy of vitrification in 35 654 sibling oocytes from donation cycles. Hum Reprod, 1 de octubre de 2020;35(10):2262-71.

2. Goldman KN, Kramer Y, Hodes-Wertz B, Noyes N, McCaffrey C, Grifo JA. Long-term cryopreservation of human oocytes does not increase embryonic aneuploidy. Fertil Steril, marzo de 2015;103(3):662-8.

3. Buderatska N, Gontar J, Ilyin I, Lavrinenko S, Petrushko M, Yurchuk T. Does human oocyte cryopreservation affect equally on embryo chromosome aneuploidy? Cryobiology, abril de 2020;93:33-6.

4. Rienzi L, Romano S, Albricci L, Maggiulli R, Capalbo A, Baroni E, et al. Embryo development of fresh «versus» vitrified metaphase II oocytes after ICSI: a prospective randomized sibling-oocyte study. Hum Reprod, 1 de enero de 2010;25(1):66-73.

5. Thomas C, Cavazza T, Schuh M. Aneuploidy in human eggs: contributions of the meiotic spindle. Biochem Soc Trans., 26 de febrero de 2021;49(1):107-18.

TABLAS

Tabla I. Comparación de resultados de ovocitos obtenidos por ciclos de donación de óvulos. (n= 152)

Variable	Embriones OC + PGT (n= 473)	Embriones OF + PGT (n= 131)	Valor-P**
Ovocitos MII, *n*	8,33 ± 1,82	8,44 ± 1,69	0,735
Número de fertilizados, *n*	6,90 ± 1,98	6,53 ± 1,64	0,292
Tasa de fertilización, %	82,77	77,60	N/A
OC: Ovocitos criopreservados, PGT: Test genético preimplantacional, OF: Ovocitos en fresco, MII: Metafase 2, ICSI: Microinyección espermática intracitoplastmática ***Analizado mediante la Prueba T de Student a dos colas*			

Tabla II. Comparación de la calidad espermática usada en la ICSI de ovocitos OC y OF. (n=152)

Variable	Embriones OC + PGT (n= 473)	Embriones OF + PGT (n= 131)	Valor-P**
Volumen de muestra seminal, *mL*	1,85 ± 1,31	1,46 ± 1,34	0,331
Concentración espermática, *M/mL*	33.705,79 ± 33.538,53	43.745,45 ± 43.672,92	0,156
Motilidad progresiva, *%*	46,21 ± 21,56	32,35 ± 23,70	0,001
OC: Ovocitos criopreservados, PGT: Test genético preimplantacional, OF: Ovocitos en fresco, MII: Metafase 2, ICSI: Microinyección espermática intracitoplastmática ***Analizado mediante la Prueba T de Student a dos colas*			

Tabla III. Comparación de resultados de fertilización de OC y OF en ciclos de ovodonación (n=152)

Variable	OC + PGT (n= 473)	OF + PGT (n= 131)	Valor-P*
Día de biopsia, *n*			
Tasa D5, *n (%)*	278 (58,77)	92 (70,23)	N/A
Tasa D6, *n (%)*	195 (41,23)	39 (29,77)	N/A
Embriones			
Euploides, *n (%)*	284 (60,04)	79 (60,30)	NS
Aneuploides/Mosaico, *n (%)*	189 (39,95)	52 (39,69)	NS
OC: Ovocitos criopreservados, PGT: Test genético preimplantacional, OF: Ovocitos en fresco, MII: Metafase 2, ICSI: Microinyección espermática intracitoplastmática, NS: No Significativo Estadísticamente **Analizado mediante Chi-Cuadrada*			

P-083

PREDICCIÓN DE LA POSICIÓN DE LA MASA CELULAR INTERNA (MCI) EN UN PROGRAMA DE DIAGNÓSTICO GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL (DGP)

Susana Cortés Gallego[1], C Andrés Santé[1], C Cordero Rosales[1], C Rodríguez Roque[1], M Manzanares Crespo[1], A Almoyna Mataix[1], R Pandolfi[1], S Ruiz Díaz[1], G Domínguez de Miguel[1], JA Horcajadas Almansa[2]
[1]Clínica Tambre - Madrid (Madrid), [2]Fundación Tambre - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

Actualmente la mayoría de los programas de DGP se realizan en embriones en estadio de blastocisto (día 5/6), biopsiando una fracción del trofectodermo (TF). Una de las técnicas empleadas para facilitar la biopsia del TF es el *assisted hatching* (AH) en embriones en día 3. Para que la utilización de AH sea satisfactoria, el embrión ha de comenzar a salir por el TF lo más alejado posible de la posición de la MCI, a fin de no dañarla durante el proceso de la biopsia. Sin embargo, es imposible determinar cuál va a ser la posición que va a adquirir la MCI dentro del embrión, no encontrando ninguna referencia bibliográfica que nos permita predecir de manera más o menos eficiente dónde se colocará la MCI dentro del embrión.

OBJETIVO

Determinación de la posición de la MCI con respecto al primer y segundo corpúsculo polar (CP) y predicción de su localización en función de la utilización del mejor indicador.

MATERIAL Y MÉTODO

Para la determinación de la posición de la MCI se han analizado, retrospectivamente, las imágenes de 137 embriones que han llegado a blastocisto y cuya evolución ha sido recogida mediante sistema *time-lapse* (GERI). Serán excluidos del estudio aquellos embriones que por diversas circunstancias se muevan dentro de su pocillo y no sea posible determinar la posición en todo momento de todas las estructuras a estudiar. Se establecen 12 fracciones embrionarias (según las agujas del reloj) y 6 planos de división, determinando las posiciones: coincidente/adyacente/no adyacente/en frente. Se establecerá la posición donde se encuentran el 1.er y el 2.º CP. Para la predicción de la posición de la MCI respecto al 1.er CP se establece un estudio prospectivo-randomizado, analizando la posición de la MCI respecto al AH en 347 embriones.

RESULTADOS

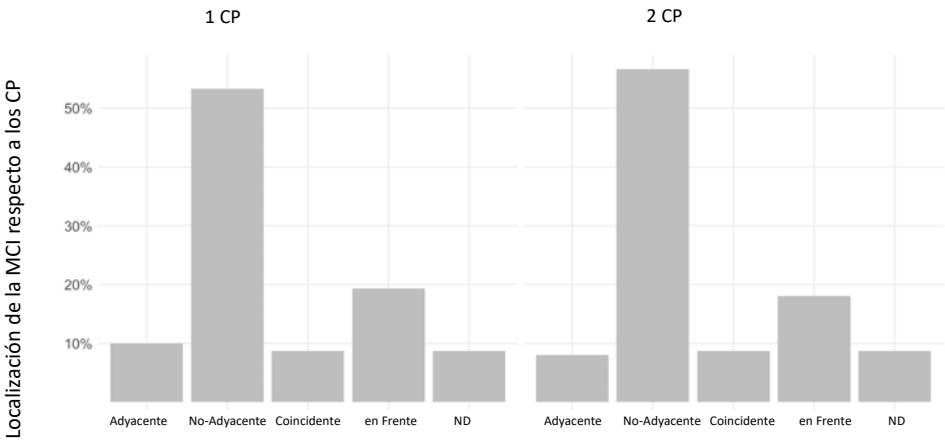
El 8,67% de los embriones tienen la MCI ubicada en el mismo sector (coincidencia) que cualquier CP evaluado por separado. En el 10,00% y 8,00% de los embriones, la MCI está adyacente al primer y segundo CP, respectivamente, descartando el 8,67% por no poderse determinar correctamente su posición. El riesgo de que el MCI se sitúe en estos dos sectores (coincidencia/adyacente) es del 18,70% y 16,70% para el 1.er y el 2.º PB respectivamente. No se observaron diferencias entre los CP con respecto a sus posiciones relativas a la MCI (p=0,9). Las probabilidades de que una ubicación del MCI no adyacente/en frente (situación ideal) al 1.er o el 2.º CP son 72,70% y 74,70%, respectivamente. Los resultados en cuanto a predicción de la posición de la MCI respecto al AH muestran una tendencia positiva de la localización de la MCI respecto al 1.er CP. Comparando la posición de la MCI adyacente a la zona del *hatching* (OR=1), se observa un aumento de la salida por la MCI 19 veces superior (OR=18,8 CI95%=9,7-38,9, p>0,001), mientras que una MCI enfrente de la zona de *hatching* disminuye 12,5 veces el riesgo de salida (OR=0,08, CI 95%=0,003-0,38, p<0,001). Estos cambios parecen ser independientes de que se realice el *hatching* en la localización del corpúsculo o de manera aleatoria.

CONCLUSIONES

La MCI se sitúa alrededor del 80% de forma no adyacente/enfrente respecto al 1.er o el 2.º CP. La utilización del 1.er CP como punto de referencia para la realización del HA parece ser válido y el rasgo más fácil para la predicción de la posición de la MCI, ayudando a facilitar la biopsia embrionaria, si bien se necesita de más estudios para poder llegar a afirmarlo.

TABLAS

Tabla I.



P-084

INFLUENCIA DE LOS PARÁMETROS MORFOCINÉTICOS EN EL SEXO NEONATAL

Teresa Rubio Asensio[1], JA Guijarro Ponce[2], R Núñez Calonge[3], JM Moreno García[4], P Alberola Cerdán[5], A Sola Verdú[6], P Nieto Olmedo[7], S Gili Bonet[8], N Santamaría Mollá[9]

[1]Grupo Internacional UR - Murcia (Murcia), [2]Zaida Espacio de Salud - Cuenca (Cuenca), [3]UR Moncloa - Madrid (Madrid), [4]UR Vistahermosa - Alicante (Alicante), [5]UR Moncloa - Madrid (Madrid), [6]UR Montpellier - Zaragoza (Zaragoza), [7]UR CEFIVA - Oviedo (Oviedo), [8]UR FIV Lleida - Lleida (Lleida), [9]UR Mediterráneo - Almería (Almería)

INTRODUCCIÓN

Desde la llegada del *time-lapse*, la morfocinética se ha convertido en una herramienta esencial en el estudio y selección de los embriones. Varios autores han podido estudiar si existen o no diferencias en las cinéticas de desarrollo entre embriones de diferente sexo. Bo Huang *et al.*, 2018, encontraron diferencias, al igual que Alfawarati, Luna, Menezo... observando que los embriones masculinos se desarrollaban con velocidades más rápidas hasta el estadio de blastocisto que los femeninos. Sin embargo, Juan J. Fraire-Zamora *et al.*, 2023, y previamente otros autores como Ritcher, Weston, Fanchin… no encontraron diferencias, observando similar desarrollo desde la fecundación en ambos sexos.

OBJETIVO

El objetivo principal fue estudiar si en nuestro grupo de estudio existen diferencias significativas en la morfocinética entre embriones femeninos y masculinos cultivados y valorados mediante sistema *time-lapse*. Como objetivo secundario analizamos si otras variables estudiadas pueden influir en el sexo de los recién nacidos.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo multicéntrico que incluye siete de nuestras unidades en España. Se incluyeron 202 ciclos cultivados con *time-lapse*, con ovocitos propios o donados y transferen-

cias con embriones en fresco o vitrificados, con 100% de implantación en SET (181 nacimientos únicos, 81,2%) y DET (42 nacimientos dobles del mismo sexo, 18,8%) y un total de 223 recién nacidos. Todas las transferencias se realizaron en estadio de blastocisto y el sexo se confirmó al nacer.

Se analizaron la edad, la técnica de capacitación espermática, la técnica de fecundación, el medio de cultivo embrionario y la gemelaridad como variables secundarias y como variable principal los parámetros morfocinéticos (t2, t3, t4, t5, tM, tSB, tBc, cc2 y s2) como los principales hitos en el desarrollo embrionario, así como los intervalos entre cada dos hitos consecutivos.

La incidencia global de cada sexo se comparó mediante el test de Kolmogorov-Smirnof con los datos del INE del 2021 del total de nacimientos en España (51,6% niños) ($p<0,05$).

Se utilizó el test T de Student para comparar entre sexos las variables métricas y el test X2 para las variables dicotómicas asumiendo la significación estadística para una $p<0,05$. Se realizó con todas ellas un modelo de regresión logística binaria.

RESULTADOS

Entre los 223 recién nacidos incluidos en el estudio el 58,3% fueron niños (n=130) frente al 41,7% niñas (n=93), encontrando un predominio estadísticamente significativo ($p<0,05$) de varones.

La edad media de las pacientes fue 38,3 años (DE: 4,87), no encontrando diferencias significativas en el sexo de los nacidos al igual que con la técnica de fecundación (57,8% de varones FIV *vs.* 58,4% ICSI, p=0,937), el medio de cultivo (47,6% de niños con SAGE *vs.* 61,7% con GERI/GTL, p=0,096) y la gemelaridad (56,4% de niños en gestaciones únicas *vs.* 66,7% en gemelares, p=0,222).

Observamos una relación estadísticamente significativa entre el sexo del recién nacido y la técnica de capacitación espermática (62,1% de varones con Gradientes frente a 32,1% con *swim up*, p=0,003)

En cuanto a la morfocinética, al analizar respecto al sexo de los nacidos cada uno de los parámetros obtenidos del *time-lapse*, tampoco se encontraron diferencias significativas ni entre los principales hitos en el desarrollo embrionario ni en los intervalos entre cada dos hitos consecutivos ($p>0,05$). Esta falta de significación estadística se mantuvo al analizarlos de manera multivariante con el resto de parámetros incluidos en el estudio.

CONCLUSIONES

Aunque en el grupo estudiado existe un predominio estadísticamente significativo de varones (58,3% niños) respecto al total nacional de nacimientos, no encontramos diferencias significativas en ninguno de los parámetros morfocinéticos estudiados en cuanto al sexo de los recién nacidos.

La técnica de capacitación empleada influye significativamente ($p<0,01$) en el sesgo entre el sexo de los recién nacidos por FIV-ICSI independientemente del resto de variables estudiadas, siendo mayor la proporción de niños con gradientes de densidad y de niñas con *swim up*.

REFERENCIAS

1. Bo Huang, X. Ren, L. Zhu, L. Wu, H. Tan ,N. Guo, Y. Wei, J. Hu, Q. Liu, W. Chen, J. Liu, D. Li ,S. Liao, L. Jin . Is differences in embryo morphokinetic development significantly associated with human embryo sex? Biology of Reproduction, 2019.

2. Fanchin, R; Righini, C., Olivennes, F; Lejeune, V; Volante, M; Frydman, R. Female and male human embryo growth rates are similar before the eight-cell stage. Am. J. Obstet. Gynecol. 1998.

3. JuanJ. Fraire-Zamora, M. Martínez, M. Torra-Massana, I. Miguel-Escalada, R. Vassena. No difference in morphokinetics between male and female preimplantation embryos from ART. Reproductive BioMedicine Online 2023.

4. Luna, M; Duke, M; Copperman, A; Grunfeld, L; Sandler, B; Barritt, J. Blastocyst embryo transfer is associated with a sexratio imbalance in favor of male offspring. Fertil. Steril. 2007.

5. Menezo, Y.J; Chouteau, J; Torello, J; Girard, A; Veiga, A. Birth weight and sex ratio after transfer at the blastocyst stage in humans. Fertil. Steril. 1999.

6. Richter, K.S; Anderson, M; Osborn, B.H. Selection for faster development does not bias sex ratios resulting from blastocyst embryo transfer. Reprod. Biomed. Online 2006.

7. Weston, G; Osianlis, T; Catt, J; Vollenhoven, B. Blastocyst transfer does not cause a sex-ratio imbalance. Fertil. Steril. 2009.

TABLAS Y FIGURAS

Tabla I. Análisis univariante (T Student) y multivariante (Regresión Logística Binaria) para cada uno de los hitos o tiempos acumulados desde la fusión de los pronúcleos.

	varones		mujeres		T Student Univariante	Regresión Logística Multivariante
	media	DE	media	DE	p	p
T2	25,12	2,80	25,29	2,55	0,630	0,080
T3	36,02	3,83	36,13	3,26	0,822	0,546
T4	37,48	4,01	37,21	3,37	0,595	0,142
T5	48,95	5,46	48,57	5,24	0,602	0,199
TM	86,80	9,27	87,26	8,24	0,702	0,206
TsB	98,83	7,69	97,04	12,41	0,186	0,275
TBc	106,61	11,25	105,68	13,24	0,572	0,471

Tabla II. Análisis univariante (T Student) y multivariante (Regresión Logística Binaria) para cada uno de los tiempos entre dos hitos sucesivos.

	varones		mujeres		T Student Univariante	Regresión Logística Multivariante
	media	DE	media	DE	p	p
T2	25,12	2,80	25,29	2,55	0,630	0,609
T3-T2	10,89	1,74	10,84	1,77	0,854	0,703
T4-T3	1,38	2,18	1,07	1,70	0,264	0,722
T5-T4	11,47	3,48	11,36	3,30	0,818	0,669
TM-T5	37,85	9,17	38,69	8,96	0,496	0,644
TsB-TM	12,03	7,13	9,78	11,93	0,080	0,651
TBc-TsB	7,78	8,48	8,64	3,52	0,358	0,484

Figura I. Relación entre los valores de los distintos hitos del *time-lapse* entre embtiones masculinos (X) y femeninos (Y).

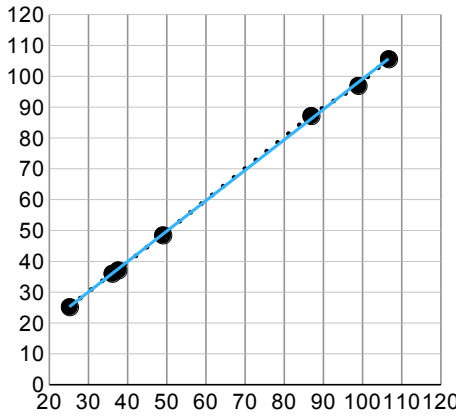
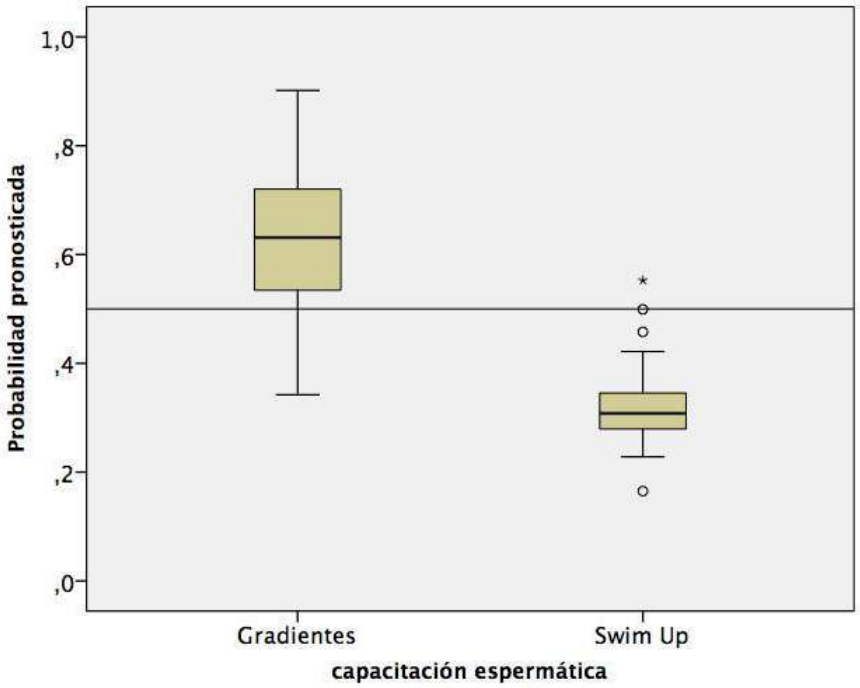


Figura II. Probabilidad de sexo masculino pronosticada por el modelo de regresión logística binaria multivariante para los dos tipos de capacitación espermática utilizados.



P-085

ESTUDIO DEL POTENCIAL REPRODUCTIVO DE EMBRIONES MOSAICO DE RIESGO BAJO Y MEDIO

Alba Martí Alemany[1], C García Trinidad[1], D Royo Cuenca[1], P Sánchez Martín[2], F Sánchez Martín[2]
[1]Ginemed Valencia - Valencia (Valencia), [2]Ginemed Sevilla - Sevilla (Sevilla)

INTRODUCCIÓN

Diferentes estudios consideran que la transferencia de embriones mosaico está asociada con menores tasas de gestación y mayores tasas de aborto en comparación con la transferencia de embriones euploides.

Por esta razón, existe cierta reticencia a la hora de llevar a cabo la transferencia de embriones con este diagnóstico.

Sin embargo, para algunos pacientes es la única opción, tras haber realizado un diagnóstico genético preimplantacional de aneuploidías (PGT-A) y no haber obtenido ningún embrión euploide.

Existen diferentes aspectos a favor de la transferencia de embriones mosaico, como son la baja concordancia entre el resultado del mosaicismo obtenido tras el PGT-A y la detección del mosaicismo real correspondiente al feto o al recién nacido. Además de su baja reproducibilidad, que puede ser comprobada realizando una rebiopsia de los embriones.

OBJETIVO

Estudiar el potencial reproductivo de los embriones diagnosticados como embriones mosaico tras la realización de un PGT-A.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo de 57 embriones mosaico correspondientes a 52 pacientes que no tuvieron ningún embrión euploide tras la realización del PGT-A durante el año 2022. Todos provenían de ovocitos de pacientes.

Los 57 embriones mosaico fueron clasificados en base a su riesgo: 9 de riesgo bajo (Grupo I), 20 de riesgo medio (Grupo II) y 28 de riesgo alto (Grupo III), siendo transferibles los correspondientes a los dos primeros grupos.

Los embriones mosaico transferibles fueron clasificados en función del número de cromosomas afectados (uno, dos o más de dos cromosomas) y el tamaño del mosaicismo (cromosoma completo o parcial).

Se estudiaron las siguientes variables: Edad, Tasa de Beta (TBe) y Tasa de Gestación evolutiva (TG). Las dos últimas variables fueron analizadas en los embriones mosaico transferibles.

Los resultados obtenidos para TG se compararon con el indicador de calidad establecido por ASEBIR llamado "Porcentaje de gestación clínica por transferencia/CT ovocitos propios".

RESULTADOS

Para el Grupo I, de 9 embriones se transfirieron 5, 4 fueron beta positiva y 3 una gestación evolutiva. (TBe=80% y TG=60%). Media de edad = 38,56 años ± 3,16.

Para el Grupo II, de 20 embriones se transfirieron 10, 6 dieron una beta positiva y 5 una gestación evolutiva. (TBe=60% y TG=50%). Media de edad = 38,83 años ± 2,65.

Los embriones del Grupo III no son transferibles. Media de edad = 38,8 años ± 2,96.

Los resultados obtenidos según el número de cromosomas que mostraron mosaicismo fueron:
- Un cromosoma: 20 embriones de los que se transfirieron 13, 9 dieron beta positiva y 7 una gestación evolutiva (TBe=69,23% y TG=53,84%).
- Dos cromosomas: 5 embriones de los que se transfirió 1 que dio beta negativa (TBe y TG=0%).

- Más de dos cromosomas: 4 embriones, se transfirió 1 que dio beta positiva y gestación evolutiva (TBe y TG=100%).

Según el tamaño del mosaicismo:
- Cromosoma completo: 11 embriones de los que se transfirieron 5, 4 fueron beta positiva y 3 una gestación evolutiva. (TBe=80% y TG=60%).
- Cromosoma parcial: 18 embriones, de los cuales se transfirieron 10, 6 fueron beta positiva y 5 gestaciones evolutivas (TBe=60% y TG=50%).

CONCLUSIONES

Los resultados de TG se encuentran dentro del rango óptimo establecido por ASEBIR, excepto para el grupo de dos cromosomas con mosaicismo.
Se obtuvieron mejores tasas de TBe y TG con embriones mosaico de riesgo bajo en comparación con los de riesgo medio. En cuanto al tamaño del mosaicismo, la TBe y TG fue superior cuando afectaba a un cromosoma completo. Este resultado discrepa con el descrito en la bibliografía.

En base a los resultados obtenidos, los embriones mosaico de riesgo bajo y medio tienen un buen potencial reproductivo. Sería necesario aumentar el tamaño de la muestra para obtener resultados concluyentes en cuanto a las diferencias debidas al número de cromosomas implicados y el tamaño del mosaicismo.

P-086

ANÁLISIS PGT-M CON TECNOLOGÍA AMPLISEQ: COMPARATIVA RESPECTO A DIAGNÓSTICO BASADO EN LA TÉCNICA PCR

María Lairón Peris, J Martín Rodríguez, C Abellán Orihuela, J Jiménez Almazán, JA Martínez Conejero, AC Cervero Sanz, P Mir Pardo
Igenomix, Vitrolife Group - Paterna (Valencia)

INTRODUCCIÓN

El diagnóstico genético preimplantacional de enfermedades monogénicas (PGT-M) estudia embriones obtenidos mediante FIV para prevenir la transmisión de estas patologías. La PCR (*polymerase chain reaction*) es aún hoy día la técnica más usada globalmente. Puede requerir de un paso previo de amplificación [*whole genome amplification* (WGA)], y busca detectar mutaciones y marcadores STR (*short tandem repeats*) flanqueando la región de interés.

En los últimos años, la tecnología NGS (*next generation sequencing*) se ha propuesto como alternativa para realizar PGT-M utilizando un mayor número de marcadores, generalmente de tipo SNP (*single nucleotide polymorphism*), y así utilizar el mismo protocolo independientemente de las variantes familiares. En este estudio, se muestra el uso de NGS para alguna de las enfermedades monogénicas más frecuentes en PGT-M y se indican las ventajas y limitaciones frente a la PCR.

OBJETIVO

1. Evaluación y comparación de resultados de PGT-M con NGS frente a la técnica de PCR.
2. Ventajas e inconvenientes de la aplicación de ambas técnicas en rutina clínica.

MATERIAL Y MÉTODO

Análisis doble ciego mediante NGS de casos de PGT-M previamente analizados por PCR para los genes CFTR, HBB y FMR1. Se utilizaron paneles personalizados AmpliSeqTM para la detección de marcadores SNP ligados, con o sin variantes patogénicas.

Se analizaron 80 muestras (49 biopsias de trofoectodermo y 31 ADN genómico) pertenecientes a 12 familias, en carreras de 24 muestras con el chip 520 en el secuenciador S5 XL (ThermoFisher Scientific, Walthan, MA, USA). Los datos se procesaron mediante un *pipeline* bioinformático desarrollado internamente basado en el entorno estadístico de R.

Para establecer el diagnóstico se siguieron las recomendaciones del consorcio de PGT de la ESHRE: un mínimo de 6 SNPs informativos *upstream* y 6 *downstream* del gen (Carvalho *et al.*, 2020), y con al menos un 95% de posiciones concordantes con el haplotipo parental. Se usaron posiciones con más de 30x de profundidad de lectura.

RESULTADOS

En las 12 familias analizadas, el pre PGT-M se pudo completar superando los controles de calidad en todas las muestras, detectando las mutaciones conocidas.

Respecto al análisis de PGT-M, el resultado mediante NGS confirmó el diagnóstico obtenido mediante PCR en los 49 embriones analizados. Usando el *pipeline*, 47 embriones tuvieron un diagnóstico automático; dos requirieron de una inspeccion manual ya que se obtuvo un 90% y 93% de concordancia del haplotipo, por debajo del control de calidad fijado (95%). La revisión manual confirmó el diagnóstico en los dos embriones.

El número medio de SNP informativos superando los controles de calidad fue de 80 por embrión, con un número mínimo de 44 y un máximo de 147. El número medio de SNP para CFTR fue 116 (mín. 92, máx. 147); 87 para HBB (mín. 73 y máx. 102) y 57 para FMR1 (mín. 44 y máx. 74).

CONCLUSIONES

El resultado obtenido por paneles AmpliSeqTM confirmó en todos los casos el diagnóstico clínico. Se obtuvo un número mayor de marcadores informativos que mediante PCR. Aunque no se observó en este estudio, este resultado supone una ventaja diagnóstica en casos con *allele dropout* (ADO) o baja eficiencia de la amplificación.

La principal ventaja de la metodología implementada es el uso del mismo protocolo de NGS para todos los casos, independientemente de la mutación familiar. Además, NGS ofrece una mayor escalabilidad, permitiendo el análisis simultáneo de 96 muestras, lo cual podría suponer una ventaja para su uso en rutina clínica, aunque en escenarios de poco volumen de muestras podría suponer una desventaja.

REFERENCIAS

1. Carvalho, F; Moutou, C; Dimitriadou, E; Dreesen, J; Giménez, C; Goossens, V; Kakourou, G; Vermeulen, N; Zuccarello, D; & De Rycke, M. (2020). ESHRE PGT Consortium good practice recommendations for the detection of monogenic disorders. Human Reproduction Open, 2020(3), 1–18. https://doi.org/10.1093/hropen/hoaa018

P-087

CRYOPRESERVATION OF SUPERNUMERARY OOCYTES IN ICSI CYCLES: PRELIMINARY RESULTS

Alice Fernandes Pinto, F Silva Barbosa, C Pereira Ribeiro, B Silva Cruz, J Mesquita Guimarães
PROCRIAR
Porto (Portugal)

INTRODUCTION

The first step in an intracytoplasmic sperm injection (ICSI) cycle is an ovarian stimulation to increase follicular recruitment and consequently the number of mature oocytes produced. Supernumerary oocytes can either be cryopreserved or inseminated, in the latter case cryopreserving the resulting embryos. If similarly efficient, cryopreservation of supernumerary oocytes rather than embryos, by limiting the number of embryos stored for future use, may avoid ethical, moral and religious dilemmas.

OBJECTIVE

The aim of the present study is to report our experience with the cryopreservation of supernumerary oocytes in order to limit the number of supernumerary frozen embryos.

MATERIAL AND METHOD

This is a descriptive retrospective study. During the period of March 2019 to April 2023, a total of 73 own oocyte cryopreservation cycles were performed. The reasons for cryopreservation were fertility preservation for medical reasons (n=28), social egg freezing (n=9), no sperm found on the day of the retrieval (n=5), oocyte accumulation to increase the inseminated cohort (n=24), and patients' request to reduce the number of embryos stored (n=7) . We define "supernumerary oocytes" as the oocytes exceeding the number of 10 whenever more than 16 oocytes are obtained (10 oocytes to inseminate and a minimum of 7 oocytes to freeze). This policy was adopted once verified that >50% of our patients who had at least 10 inseminated oocytes had delivered at least one child. Ovarian stimulation was performed according to a gonadotropin releasing hormone antagonist protocol, using rec-FSH (Recombinant Follicle Stimulating), and the final maturation was induced with Human Chorionic Gonadotropin or with a GnRH agonist to prevent ovarian hyperstimulation syndrome. Oocytes selected to inseminate were fertilized with ICSI. Embryos were cultured until D5/D6 in one-step medium (Sage, Cooper Surgical®) and incubated in Embryoscope®. Results are presented in absolute counts and percentages.

RESULTED

The present data refers to ICSI cycles where supernumerary oocytes were cryopreserved. The mean female age at the beginning of treatment was 30.7±5.6 years old, with a mean body mass index of 25.1±6.6 kg/m2, a mean Anti-Mullerian Hormone value of 4.8±3.14 ng/ml and a mean rec-FSH dose of 2,175±717.78 UI after a mean of 11.6±1.51 days of stimulation. A total of 198 oocytes were retrieved, 88 were frozen and 89 were inseminated. ICSI with fresh oocytes achieved a fertilization rate and a blastocyst rate of 72.0% and 57.8%, respectively. Our analysis demonstrated that the mean number of embryos used per cycle was 5.3±4.03 and the mean number of blastocysts frozen per cycle was 5.0±4.31. In this data, we made one fresh embryo transfer resulting in pregnancy and live birth, and for the remaining 6 patients a freeze all strategy was adopted. Of these, 2 pregnancies were achieved in 4 patients (pregnancy rate of 50% with thawed embryos). In 2 patients cryopreserved embryos are waiting to be transferred.

CONCLUSIONS

The present study has its limitations, such as the reduced sample size, its retrospective and merely descriptive nature. Nevertheless, our results suggest that insemination of a limited number of oocytes and storage of supernumerary oocytes does not reduce cycle efficiency and can be ethycally less controversial than insemination of all oocytes. More data are needed to confirm the obtained results.

P-088

LA VACUNA DEL CORONAVIRUS NO AFECTA A LA RECUPERACIÓN DE OVOCITOS MADUROS EN CICLOS DE ESTIMULACIÓN DE DONANTES

Bárbara Freijomil Díaz, V Montalvo Pallés, B Marquès López-Teijón, M López-Teijón Pérez
Institut Marquès
Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

Se han publicado numerosos estudios donde se ha visto una clara relación entre la administración de la vacuna de mRNA de la covid-19 en mujeres y los efectos adversos en sus ciclos menstruales a corto y largo plazo (periodos más frecuentes, ciclos irregulares, aumento de la duración de la menstruación, aumento del volumen de la menstruación…). A pesar de esto, otros estudios han demostrado que estas vacunas no tienen efectos en los resultados de ciclos de FIV (ovocitos recuperados, fecundación, tasas de blastocisto, tasas clínicas de embarazo, tasas de aborto…).

OBJETIVO

El objetivo del estudio fue analizar el impacto de la vacunación de la covid-19 en la recuperación de ovocitos maduros en los ciclos de estimulación de donantes.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio retrospectivo de los ciclos de estimulación de donantes de óvulos que acudieron a nuestro centro entre 2019 y 2022. Se incluyeron 63 donantes de las cuales se registró el estado de vacunación de la covid-19. Se analizaron los ciclos realizados antes y después de abril del 2021, fecha en la que se empezó a vacunar a la población general en España. Todas las donantes fueron tratadas con el mismo protocolo de estimulación. Se realizaron dos grupos dependiendo de si las donantes habían sido vacunadas o no. Se contabilizaron el número de ciclos realizados antes y después de abril del 2021, y se registró el número de ovocitos maduros recuperados en cada ciclo. Se analizaron las diferencias entre los ciclos de las donantes vacunadas antes y después de la vacunación, así como entre los ciclos post-vacunación de las vacunadas y los ciclos de las no vacunadas. Se utilizó el estadístico de t-Student.

RESULTADOS

En el Grupo 1 hubo 46 donantes que fueron vacunadas con al menos una dosis y en el Grupo 2 hubo 17 donantes que nunca fueron vacunadas. El Grupo 1 realizó un total de 133 ciclos, de los cuales 33 fueron antes de la vacuna y 100 fueron después de la vacuna. El Grupo 2 realizó un total de 44 ciclos. La media de ovocitos maduros recuperados por ciclo en el Grupo 1 fueron 15,00±7,48 en ciclos de antes de la vacunación y 16,14±7,84 en los ciclos post-vacuna. En el Grupo 2 la media de ovocitos maduros por ciclo fue 13,52±6,23. No se encontraron diferencias significativas en el Grupo 1 antes o después de la vacuna ($p>0,05$). Tampoco se encontraron diferencias entre el grupo 2 y el grupo 1 post-vacunadas ($p>0,05$).

CONCLUSIONES

A pesar de que se han evidenciado efectos adversos en el ciclo menstrual de las mujeres debido a las vacunas de mRNA de la covid-19, no hemos encontrado diferencias en el número de ovocitos recuperados tras la estimulación en donantes. Estas observaciones se han dado tanto entre grupos de mujeres vacunadas y no vacunadas, así como entre las mismas mujeres antes y después de ser vacunadas. De esta forma, podríamos afirmar que las vacunas de mRNA de la covid-19 son seguras y no afectan a la maduración de los óvulos en donantes. Se deberían realizar estudios similares teniendo en cuenta las diferentes marcas comerciales de la vacuna para comprobar la ausencia de diferencias entre éstas.

REFERENCIAS

1. *Menstrual Symptoms After COVID-19 Vaccine: A Cross-Sectional Investigation in the MENA Region. Muhaidat et al., 2022.*
2. *Menstrual cycle disturbances after COVID-19 Vaccination. Quejada et al., 2022.*
3. *Association between RNAm-Based COVID-19 Vaccines and Permanency of Menstrual Cycle Alterations in Spanich Women: A Cross-Sectional Study. Mínguez-Esteban et al., 2022.*
4. *Fresh Embryo Transfer Cycle Characteristics and Outcomes Following In Vitro Fertilization via Intracytoplasmic Sperm Injection Among Patients with and without COVID-19 Vaccination. Jacobs et al., 2022.*

P-089

CLASIFICACIÓN DE VARIANTES PARA *CARRIER SCREENING* MEDIANTE CLINVAR: ¿ES SUFICIENTE PARA TODAS LAS ETNIAS?

Aina Feliu Cuberes, L Lasquibar Rodríguez, M Palahí Bages, I Trujillo Puebla, A Martín Insa, R Moret Turné, C Sedó Lamarca, R Palomares Enrique, D Cotán, M Sandalinas Alabert
FullGenomics, S. L.
Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

La realización de un análisis genético por secuenciación masiva para *carrier screening* (CS) conlleva la obtención de un gran número de variantes respecto a un genoma humano de referencia. Este gran número de variantes es sometido a un proceso bioinformático de filtraje para determinar cuáles pueden ser relevantes para el *screening* de portadores de enfermedades al afectar potencialmente a la función del gen o no. Tras este filtraje inicial, es necesario el análisis y la curación de las variantes obtenidas para así poder determinar cuáles están potencialmente ligadas a enfermedad (patogenicidad).

Existen diferentes bases de datos que ayudan a realizar este análisis de patogenicidad, sin embargo, estas bases de datos solamente recogen aquellas variantes descritas previamente en pacientes y registradas manualmente en ellas. ClinVar es la base de datos más actualizada y comúnmente utilizada por los laboratorios de análisis.

OBJETIVO

Determinar si, para el análisis de CS, la clasificación de variantes patogénicas/probablemente patogénicas exclusivamente con la información disponible en ClinVar supone una menor reducción del riesgo reproductivo dependiendo de la etnia del paciente.

MATERIAL Y MÉTODO

Se ha analizado un panel de 300 genes mediante secuenciación en 3.886 pacientes de diferentes etnias que han decidido someterse a un análisis de CS. Se han agrupado los pacientes según etnia: africana (54 individuos), asiática (43 individuos), mediterránea (689 individuos), europea/caucásica (2402 individuos), latina (449 individuos) y no clasificable (249 individuos). Para los datos de variantes puntuales se ha realizado una curación completa de las variantes (CCV) que incluye búsqueda en diferentes bases de datos (incluida ClinVar), consulta de predictores bioinformáticos y búsqueda en la literatura científica.

Posteriormente, se ha calculado el número medio de variantes por muestra que se detectarían solamente mediante ClinVar respecto a la curación completa. También se ha determinado dividiendo los pacientes según etnia.

RESULTADOS

Al evaluar el número de variantes identificadas por paciente, se observaron 1,51 variantes/paciente (v/p) cuando se utilizó CCV y de 1,27 v/p cuando sólo se utilizó ClinVar. Estas variantes representaron el 88% de todas las variantes identificadas con CCV.

Los resultados de la detección de variantes/paciente por etnia, clasificados y ordenados según tasa de detección por ClinVar, fueron los siguientes: en el grupo asiático se identificaron 0,95 v/p con un 78,05% detectadas mediante ClinVar; africanos 1,70 v/p (82,61% ClinVar); latinos 1,19 v/p (86,01% ClinVar); mediterráneos 1,56 v/p (88,12% ClinVar); europeos/caucásicos 1,57 v/p (89,03% ClinVar) y en los individuos con etnia no clasificable se observaron 1,43 v/p (89,30% detectables por ClinVar).

CONCLUSIONES

Si bien en todas las etnias la curación mediante consulta en ClinVar permite detectar un porcentaje importante de variantes (>75%) y, por lo tanto, reducir de manera importante el riesgo reproductivo, los datos obtenidos indican que, en ciertas etnias, la información disponible en ClinVar no permite identificar un porcentaje de variantes tan elevado como en otras etnias más analizadas tradicionalmente y/o que están más presentes en bases de datos como ClinVar.

Así, para individuos de ciertas etnias como por ejemplo la asiática o la africana, el porcentaje de variantes detectables mediante ClinVar es menor que en el caso de las etnias europea/caucásica o mediterránea, lo que supone que la reducción de riesgo reproductivo para los individuos de estas etnias realizada en el análisis de CS basadas en bases de datos como ClinVar es significativamente menor. Para obtener una reducción de riesgo reproductivo similar a la de individuos de etnias tradicionalmente más analizadas por los laboratorios que actualizan bases de datos como ClinVar, es necesario realizar o ampliar el análisis de individuos con etnias menos representadas con la curación manual de variantes o bases de datos específicas.

P-090

PRECISIÓN DIAGNÓSTICA DEL ANÁLISIS HISTOLÓGICO DE TEJIDO OVÁRICO EN PRESERVACIÓN DE LA FERTILIDAD

Patricia Torres Gómez, I Peinado Casas, L Serralta García, M Andrés Moreno, P Polo Sánchez, M De la Orden Rodríguez, I Moya Marín, PJ Fernández Colom, JM Rubio Rubio
Hospital La Fe
Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN

La terapia oncológica en pacientes jóvenes implica riesgo de insuficiencia ovárica prematura e infertilidad. La criopreservación de corteza ovárica (CCO) es la única opción de preservación de fertilidad (PF) disponible para la población pediátrica y determinados casos de pacientes adultas. Combinada con la maduración *in vitro* (MIV) de ovocitos *ex vivo*, es posible incrementar la eficiencia de la técnica, ofreciendo una opción adicional de PF. Dentro del protocolo de CCO, el estudio histológico (EH) se ha propuesto como una herramienta potencial para descartar micrometástasis y evaluar la densidad folicular de estas pacientes.

OBJETIVO

Evaluar el valor predictivo del EH en la técnica de CCO combinada con la recuperación y MIV de ovocitos *ex vivo* en pacientes pediátricas y adultas.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio prospectivo que incluye pacientes adultas y pediátricas con alto riesgo gonadotóxico, a las que se realizó CCO entre 2011 y 2023. La técnica quirúrgica consistió en ooforectomía parcial por vía laparoscópica. Tras aislar la médula del tejido cortical, éste se segmentó en fragmentos de 5x10 mm y se criopreservó según protocolo de congelación lenta. Durante el procesamiento del tejido se recuperaron *ex vivo* ovocitos, cultivándose durante 24/48 horas en un medio específico de MIV. Aquellos que alcanzaron el estadio de metafase II (MII) se vitrificaron para uso de la paciente. Una biopsia de tejido se estudió histológicamente para descartar lesión neoplásica y confirmar la presencia de folículos primordiales.

RESULTADOS

Se analizaron 52 casos de pacientes adultas (A) con edad media de 27,8 años (16-39) y 33 pediátricas (P) de 10,9 años (2-15). Los diagnósticos más frecuentes fueron (A): cáncer de mama (36,5%) y linfoma de Hodgkin (26,9%) y (P): sarcoma de Ewing (51,5%) y leucemia linfoblástica aguda (9,1%). El 36,4% de niñas y el 11,5% de adultas habían recibido tratamiento gonadotóxico previo a la CCO. El 7,7% de pacientes adultas y 3,0% del grupo pediátrico fallecieron a causa de la neoplasia.

Se encontraron diferencias significativas al comparar la media de fragmentos (A: 12,9±8,705 *vs.* P: 6,75±2,754, p-valor=0.006). El EH no evidenció micrometástasis en ningún caso. Un 79% de pacientes adultas y 87% de pediátricas mostró folículos primordiales y primarios, siendo abundantes en (A): 53,1% y (P): 62,5%, sin diferencias significativas en ambos estudios. Tampoco mostró significación estadística el estudio de pacientes sin tratamiento previo, siendo el porcentaje de pacientes con folículos: (A): 84,6% y (P): 88,9%, alcanzando un valor de folículos óptimo de (A): 59,0% y (P): 72,2%. El número medio de ovocitos obtenidos difirió significativamente: (A: 3,58±3,370 *vs.* P: 0,77±1,608, p=0,016).

Los resultados del estudio histológico no muestran correspondencia con la presencia/ausencia de ovocitos (EH sin folículos = 33,3% *vs.* EH con folículos = 45,2%), ni con el número de éstos obtenido (EH sin folículos = 1.83±2.858 *vs.* EH con folículos =1.68 2.651).

CONCLUSIONES

La CCO es una técnica aplicable en pacientes prepúberes y adultas cuando la estimulación no es factible. El número de fragmentos criopreservados depende de la superficie de tejido extraída, asociado al tamaño medio del ovario según la edad.

Aunque la combinación de CCO y MIV de ovocitos recuperados del tejido ovárico incrementa el rendimiento del protocolo de PF, resulta menos eficiente en la población pediátrica. Probablemente esté influyendo el subgrupo de pacientes premenárquicas que presentan menor número de folículos preantrales y preovulatorios asociado a los niveles de gonadotropinas durante la infancia.

El EH de la biopsia ovárica puede estimar el *pool* de folículos primordiales de la paciente, pero nuestra evidencia no sugiere su uso para predecir el número de ovocitos obtenidos *ex vivo*. Probablemente sea consecuencia de la distribución mayoritariamente heterogénea de éstos en la CO.

P-091

OPTIMIZANDO EL CULTIVO A BLASTOCISTO: ¿CULTIVO HÚMEDO O CULTIVO SECO CON RENOVACIÓN DE MEDIO EN D+3?

Enric Güell Penas, A Mauri López, A Cabré Fàbregas, EM Perulli Espino, VM Chapero Ciurana, JI Mazzanti Pérez
Centre Procrear
Reus (Tarragona)

INTRODUCCIÓN

Con la llegada del cultivo extendido, los medios únicos y los incubadores *time-lapse* (TL), el cultivo con control de humedad se vio desplazado por el cultivo seco. En los últimos años, ha habido varias publicaciones con resultados más favorables para el cultivo húmedo (HR+, ≥45% de humedad relativa) en comparación con el cultivo seco (HR-), al relacionarlo con menores cambios de osmolaridad del medio, debido a una menor evaporación. Además, debemos tener en cuenta que el cultivo extendido conlleva una mayor acumulación COV y metabolitos. Por todo ello, la renovación del medio en D+3 podría ser una alternativa al cultivo en humedad, minimizando los cambios osmolaridad y reduciendo la acumulación de sustancias perjudiciales para el embrión. Sin embargo, no existe literatura sobre la disyuntiva entre cultivo seco con renovación de medio en D+3 y cultivo húmedo.

OBJETIVO

Evaluar el impacto del control de humedad *versus* renovación del medio en D3 en incubadores TL sobre el desarrollo embrionario a nivel de tasa de blastocisto útil, calidad embrionaria y morfocinética.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio unicéntrico prospectivo randomizado con un total de 181 ovocitos MII de 13 pacientes/donantes. Los MII de una misma cohorte microinyectados se dividieron aleatoriamente en dos placas (1:1) para su cultivo en cámaras con (>70% HR+) y sin humedad (HR-) de un incubador *time-lapse* (Genea Biomedx). Se incluyeron los ciclos de ICSI con semen de eyaculado que tuvieran >5 MII por paciente/receptora. El cultivo embrionario en las cámaras HR+ fue ininterrumpido, mientras que en las cámaras HR- se realizó renovación del medio mediante un cambio de placa en D3. Durante la valoración embrionaria se evaluaron fenómenos morfodinámicos adversos como la división directa (DC) y parámetros morfocinéticos. Para la evaluación del desarrollo embrionario entre grupos se calculó la tasa de fecundación, de blastocisto (útiles/fecundados), la proporción de blastocistos calidad A (clasificación ASEBIR) y de embriones con DC. El análisis estadístico ($p<0,05$) consistió en la comparación de proporciones mediante la prueba exacta de Fisher y mediante Chi-cuadrado y la comparación de medias de parámetros morfocinéticos mediante el test t-Student o test Wilcox según correspondiese.

RESULTADOS

No se observaron diferencias significativas entre HR+ y HR-, respectivamente, en la tasa de fecundación del 80% (72/90) *vs.* 74,7% (68/91), de blastocisto útil del 50% *vs.* 45.6%, ni de embriones con DC de 19,4% *vs.* 23,5%. No obstante, si nos fijamos en el fenómeno del DC, sólo lo encontramos en blastocistos del cultivo HR- en un 19,4% (6/31), donde sólo 1 de ellos fue clasificado como A en D+5. El 83,3% (20/24) de los embriones HR+ fueron clasificados como A en D+5 (Figura I) mientras que para los HR- era del 63,2% (12/19), aunque sin significación estadística ($p=0,249$). Sobre los blastocistos útiles, no se encontraron diferencias significativas entre los marcadores morfocinéticos excepto por t5, Cc2 y Cc3, con valores más bajos para HR- (Tabla I). Sin embargo, al separar los embriones DC de los demás las diferencias significativas desaparecían (Tabla II).

CONCLUSIONES

Con nuestros resultados no pudimos concluir que el cultivo seco con cambio de medio en D3 sea subóptimo frente al

cultivo con humedad. Las tendencias observadas en la proporción de embriones de calidad A en D+5 sugirieron poner atención por si alcanzasen significación estadística. Desconocemos hasta qué punto la incidencia de DC sólo en HR- podría ser una manifestación del efecto de la osmolaridad. Hemos podido constatar que los embriones sin DC compartían una cinética similar en ambos tipos de cultivos. Creemos oportuno aumentar el valor muestral y evaluar la tasa de recién nacido vivo como objetivo primario de futuros estudios.

TABLAS Y FIGURAS

Figura I. N.º de embriones según la calidad asignada en su último día de cultivo antes de ser transferidos o vitrificados , en función del tipo de cultivo.
HR+: Cultivo húmedo
HR-: Cultivo seco

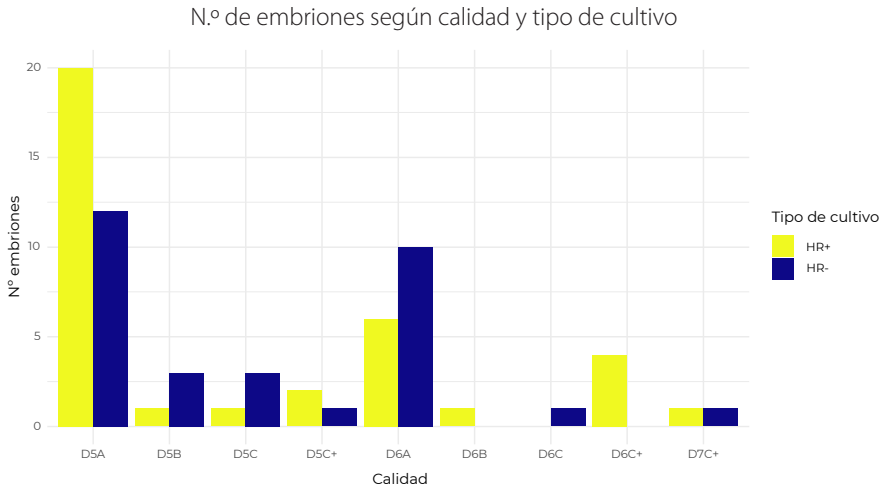


Tabla I. Parámetros morfocinéticos de los blastocistos útiles, incluyendo embriones con división directa.

	HR-	HR+	p-value
t2	25,13 ± 2,79	25,43 ± 2,51	NS
t3	35,32 ± 3,38	36,62 ± 3,04	NS
t4	36,44 ± 2,7	37,47 ± 3,32	NS
t5	46,89 ± 5,86	50,87 ± 5,12	p<0,05
Cc2	10,19 ± 2,31	11,19 ± 0,99	p<0,05
Cc3	11,57 ± 4,55	14,25 ± 2,99	p<0,05
tSB	100,44 ± 12,35	97,95 ± 11,13	NS

Media ± Desviación estándar (SD)
Cc2 = t3-t2
Cc3 = t5-t3
tSB = Tiempo de inicio de cavitación

Tabla II. Parámetros morfocinéticos de los blastocistos útiles, excluyendo embriones con división directa.

	HR-	HR+	p-value
t2	24,88 ± 2,74	25,43 ± 2,51	NS
t3	35,68 ± 2,92	36,62 ± 3,04	NS
t4	36,34 ± 2,84	37,47 ± 3,32	NS
t5	49,12 ± 3,9	50,87 ± 5,12	NS
Cc2	10,8 ± 0,61	11,19 ± 0,99	NS
Cc3	13,44 ± 2,04	14,25 ± 2,99	NS
tSB	100,97 ± 13,58	97,95 ± 11,13	NS

Media ± Desviación estándar (SD)
Cc2 = t3-t2
Cc3 = t5-t3
tSB = Tiempo de inicio de cavitación

P-092

GESTACIONES GEMELARES TRAS TRANSFERENCIA DE UN ÚNICO EMBRIÓN A PROPÓSITO DE VARIOS CASOS CLÍNICOS

Marta Borrallo Fernández, S Molero Romero, I Carreño Pérez, JP Iglesias Rodríguez-Aguilar, R Vázquez Agüero, A Bermejo de la Calzada, V Castro Ortiz
Minfiv
Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

Debido al riesgo que conlleva un embarazo múltiple tanto para la madre como para el feto, ha aumentado el interés para disminuir esta tendencia en los tratamientos de reproducción asistida. Para ello, la transferencia de un único embrión (SET) se ha convertido en la manera más efectiva de reducir las gestaciones múltiples. Las sociedades científicas se han reafirmado en su recomendación de promover la gestación única y reducir las múltiples, por lo que la SET es recomendada en pacientes con diagnósticos favorables, que tengan embriones de buena calidad, que hayan tenido gestaciones previas y en aquellas en las que exista una condición médica que contraindique la gestación múltiple.

Se estima que en la población general el riesgo de embarazo gemelar monoamniótico es del 0,40-0,45%. Sin embargo, aunque la SET disminuya considerablemente la posibilidad de embarazo múltiple, el riesgo no es 0. Hay publicaciones que hablan de que entre el 0,9 y el 2,2% de las transferencias dan lugar a gestaciones gemelares, de las cuales el 82% son monocigóticas. La tasa de gemelos dicigóticos es del 18% y se ha atribuido a concepciones naturales que puedan ocurrir durante el tratamiento de fecundación *in vitro* o durante los ciclos de transferencia de embriones congelados debido a los ovocitos que no se han recuperado tras la punción o a ovulaciones que ocurren durante los protocolos de estimulación.

Cuando el embrión se divide dentro de los 4 primeros días tras la fecundación resulta en un embarazo bicorial biamniótico (dos placentas y dos bolsas amniótcas). En el caso de división ente el día 4-8 de desarrollo embrionario dará lugar a un embarazo monocorial biamniótico (dos placentas, pero misma bolsa amniótica). Y si en la división ocurre pasado el día 8 de desarrollo daría lugar a un embarazo monocorial monoamniótico (misma placenta y misma bolsa).

OBJETIVO

Comprobar si nuestra tasa de gestación gemelar en SET está dentro del porcentaje habitual respecto a estudios publicados.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio restrospectivo en el que se muestran los resultados de gestación gemelar de nuestro laboratorio de reproducción durante 10 años (2013-2023).

Un total de 1.249 transferencias de embrión único se han analizado, de las cuales 21 han dado lugar a gestaciones gemelares.

Los datos se han obtenido a través de nuestra base de datos (SIVIS).

RESULTADOS

Hemos obtenido un porcentaje de 1,7% de gestaciones gemelares, de las cuales el 42% fueron monocoriales monoamnióticas, el 42% monocoriales biamnióticos y el 14% bicoriales biamnióticos.

El sexo en todas las gestaciones gemelares era el mismo y la media del peso de los RNV fue de 2.189 g.

Obtuvimos una tasa de aborto del 19%.

El 43% de los ciclos fue con ovocitos propios, de los cuales el 55,5% fue transferencia en fresco y 44,4% fue transferencia en diferido.

El 57% de los ciclos fue con ovocitos donados, de los cuales el 75% fue transferencia en fresco y el 25% fue transferencia en diferido.

En todos los casos se transfirió un único embrión.

CONCLUSIONES

A pesar de los múltiples beneficios del SET y la intención de reducir el embarazo múltiple, hemos obtenido un porcentaje del 1,7% dentro de los valores habituales que podemos encontrar en la literatura. Fundamentalmente, las transferencias de un único embrión que producen división monocigótica han sido asociadas a la transferencia de blastocistos iniciando *hatching*.

TABLAS

Tabla I.

Nº_CASO	TIPO_TTO	ESTADO_OVO	ESTADO_SEMEN	EDAD_Fem	dias_transfer	EMB_MII_TRF	EM_SEM_8	TIPO_ABORTO	N_RNV	TIPO_PARTO	PESO_RNV	TIPO_GEST
CASO 1	Ovodon/ICSI	Vitrificado	Fresco	46	3	1	2		2			Monocorial biamniótico
CASO 2	T. congelados	Fresco	Congelado	36	3	1	2	Clínico				Monocorial monoamniótico
CASO 3	ICSI	Vitrificado	Congelado	35	3	1	2		2	Cesárea	1460	Monocorial monoamniótico
											2300	
CASO 4	T. congelados	Fresco	Fresco	32	5	1	2		2	Cesárea	1330	Moocorial biamniótico
											1880	
CASO 5	T. congelados	Fresco	Fresco	39	5	1	2		2	Cesárea	1660	Monocorial monoamniótico
											1780	
CASO 6	Ovodon/ICSI	Vitrificado	Fresco	45	5	1	2		2	Cesárea	2550	monocorial biamniótico
											2500	
CASO 7	ICSI	Fresco	Congelado	39	5	1	2	Clínico				Monocorial monoamniótico
CASO 8	Ovodon/ICSI	Vitrificado	Fresco	48	5	1	2		2	Cesárea		
CASO 9	T. congelados	Fresco	Fresco	38	3	1	2		1	Cesárea		monocorial biamniótico
CASO 10	Ovodon/ICSI	Vitrificado	Fresco	43	5	1	2		2	Cesárea	2215	monocorial biamniótico
											2560	
CASO 11	T. congelados	Vitrificado	Congelado	38	3	1	2		2	Cesárea	2390	Monocorial monoamniótico
											2130	
CASO 12	ICSI	Fresco	Fresco	40	5	1	2	Clínico				
CASO 13	ICSI	Fresco	Fresco	38	5	1	2		2	Cesárea	2450	Monocorial monoamniótico
											2880	
CASO 14	ICSI	Fresco	Fresco	31	3	1	2		2	Parto vaginal	2190	Monocorial monoamniótico
											2140	
CASO 15	Ovodon/ICSI	Vitrificado	Fresco	43	5	1	2		2	Cesárea	2530	bicorial biamniótico
											2425	
CASO 16	Ovodon/ICSI	Vitrificado	Fresco	46	5	1	2		2	Parto vaginal	1700	monocorial biamniótico
											1700	
CASO 17	Ovodon/ICSI	Vitrificado	Fresco	46	5	1	2		2	Parto vaginal	2200	monocorial biamniótico
											2340	
CASO 18	T. congelados	Vitrificado	Fresco	45	5		2		2	Cesárea	2300	monocorial biamniótico
											2600	
CASO 19	Ovodon/ICSI	Vitrificado	Congelado	45	5	1	2		2	Cesárea	2500	bicorial biamniótico
											2200	
CASO 20	T. congelados	Vitrificado	Fresco	46	5	1	2	Clínico				Monocorial monoamniótico
CASO 21	Ovodon/ICSI	Vitrificado	Fresco	40	5	1	2					bicorial biamniótico

P-093

ANALYZE THE EMBRYOS WITH LOW RANGE OF PLOIDY AFTER NON-INVASIVE PREIMPLANTATION GENETIC TESTING OF ANEUPLOIDIES (NIPGT-A) TO BE USED AND RESCUE VIABLE EMBRYOS IN IVF CYCLES?

Yosu Franco Iriarte, A Villa Milla, F Sotos Borras, I Orozco Gómez, G Bescós Villa, E Carrillo de Albornoz Riaza, B Bueno Olalla, E Meliá Fullana, A Resach Vega, A Vegas Carrillo de Albornoz
Ruber Internacional
Madrid (Madrid)

INTRODUCTION

One of the greatest challenges in IVF is accurately selecting viable embryos that are more likely to achieve healthy live-births following embryo transfer. Trophectoderm (TE) biopsy and PGT-A provide a direct assessment of chromosome status improving implantation and clinical pregnancy rates per transfer. A non-invasive alternative is to analyse embryonic cfDNA in the culture medium as a biomarker to prioritize blastocyst for transfer. Previous studies have shown that cfDNA testing in culture medium of blastocysts on day 6 of development allows aneuploidy detection with high concordance rates compared to TE biopsy and inner cell mass (Rubio *et al.*, 2020).

OBJECTIVE

Biopsy embryos with low range of ploidy after study (cfDNA) in the culture medium, rescue viable embryos which are, normally, discarded for transfer by patients.

MATERIAL AND METHOD

Observational study to valorate the rescue of the clinical application of niPGT-A (July 2020-December 2022). The study consisted in biopsy embryos with low percentage in ploidy after niPGTA. A total of 49 blastocysts whit 24% ploidy were biopsied. We divided the study in two groups: patients less than 38 years with an average 34 and patients going to egg donation program whose average was 26 years.

Embryos were cultured in a Geri incubator up to day 4, and then individually cultured in 10 µl drops of CCSS (Fujifilm) until day 6 in a bench-top K-system. At day 6, blastocysts were vitrified, and media collected at least 40 hours in culture. After collection, media were immediately frozen and analyzed by Next Generation Sequencing. The embryos with 24% of ploidy, the last option for transfer, were biopsied to know the status ploidy.

RESULTS

The percentage of euploidy after biopsy all embryos with 24% of euploidy was 35%. In the group of patients less than 38 years we biopsy 28 blastocyst with (5/28)18% of euploidy. We perfom two embryo transfers achieving one pregnancy (1/2) 50%. In the group of egg donation we biopsy 21 embryos with (12/21) 57% of euploidy. In this group 5 embriotransfers were realized with three pregnancies (3/5) 60%.

If we focus on embryonic morphology (5/17) 29% of the blastocyst were euploid had trophoectoderm C . If we compare with the aneuploidy embryos 35% of the embryos were trophoectoderm C. The rest of the embryos analyzed were good embryos with A or B indistinctly in the tropho.

CONCLUSIONS

We observed that the embryos with low ploidy that are the last option for transfer or even patients don't want to transfer because are expected to result in a higher implantation failure or risk of miscarriage could help according to what cases get another chance for transfer euploid embryos.

Our results should be enlarged due to the small sample size. Larger number of embryos are needed to verify and extend our findings in each group.

P-094

NO EFFECT OF MATERNAL AGE ON EMBRYO MORPHOKINETICS

Juan José Fraire Zamora[1], MJ Zamora Berlanga[2], A Rodríguez Aranda[1], M Popovic[1]
[1]EUGIN Group - Barcelona (Barcelona), [2]Clínica EUGIN - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCTION

The ability to identify the most viable embryos for transfer is essential for success in assisted reproduction. Improvements in embryo selection become more important in advanced maternal age (AMA, ≥35 years old) patients, who suffer from age-related fertility decline. In severe cases, oocyte donation has increased our ability to restore pregnancy potential, as preimplantation embryos derived from donor oocytes (<35 years old) ultimately improve implantation and live birth rates. Evaluations using embryo morphology criteria remain the most common strategy for selecting embryos with the highest implantation potential. While maternal age is an important factor affecting embryo competence, data regarding the impact of maternal age on embryo morphokinetic parameters remain inconclusive. Evaluating this relationship may provide important insights into factors that predict embryo implantation potential in AMA patients.

OBJETIVE

To determine the effects of maternal age on embryo developmental timings and morphology by comparing morphokinetic parameters and morphological scores of the first transferred blastocyst obtained from oocyte donors (<35 years old) and AMA patients (≥35 years old).

MATERIAL AND METHOD

This is a retrospective single-center study of 324 cycles, performed between September 2019 and September 2022. We compared morphokinetic parameters and morphological grades of transferred blastocysts from AMA patients (n=92) to those obtained from oocyte donation cycles (n=232). Only first fresh ICSI cycles using fresh oocytes, timelapse technology and elective single-blastocyst transfer (SET) on day 5 (D5) were included in the study. Accordingly, only the first transferred embryo was assessed. The morphokinetic parameters evaluated for each embryo were: time to pronuclear fading (tPNf), times to 2–5 and 8 cells (t2, t3, t4, t5, t8), time to start of blastulation (tSB) and time to full blastocyst stage (tB). Blastocyst morphology criteria was based on the Gardner grading system and included the level of cavity expansion (5=expanded and hatching; 4=fully expanded; 3=partially expanded) and the quality score of the inner cell mass and trophectoderm (Excellent=AA; Good=AB, BA; Average=BB, CA, AC; Poor=CC, BC, CB). A two-tailed Student's t-test was used to compare morphokinetic parameters and a Chi-square test to compare live birth outcomes. A $p<0.05$ was considered statistically significant.

RESULTS

Although we observed a statistically significant difference ($p<0.05$) in live birth rates of transferred D5 blastocysts from oocyte donors (38%) compared to AMA patients (18%), there were no significant differences in their morphokinetic parameters: tPNF (22.1±2.5 *vs.* 22.5±2.3, p=0.18); t2 (24.8±2.6 *vs.* 25.0±2.6, p= 0.39); t3 (35.7±3.2 *vs.* 35.9±3.3, p= 0.49); t4 (36.5±3.3 *vs.* 36.6±3.0, p= 0.64); t5 (48.0±5.5 *vs.* 48.5±4.3, p= 0.45); t8 (54.8±7.4 *vs.* 53.9±5.7, p= 0.30); tSB (90.7±7.7 *vs.* 91.9±7.3, p= 0.20); tB (101.4±7.3 *vs.* 103.0±7.3, p=0.08). When comparing morphological grading, we did not observe any statistically significant difference in the expansion score of blastocysts from AMA patients compared to oocyte donors (5= 65% *vs.* 56%; 4= 29% *vs.* 40% and 3= 6% *vs.* 4%, p>0.05) nor in their morphology score (Excellent=61% *vs.* 56%; Good=19% *vs.* 24%; Average=16% *vs.* 13% and Poor=4% *vs.* 5%).

CONCLUSIONS

Despite the reduced reproductive competence of embryos derived from AMA patients, our results suggest that morpho-

kinetic parameters alone are not a reliable indicator of implantation potential in this cohort. In this sense, embryo developmental competence (likely due to embryo aneuploidy) has the greatest effect on implantation potential. Improved clinical outcomes following oocyte donation continue to encourage clinicians towards this procedure in cases of AMA when pregnancy chances are minimal.

P-095

POTENCIAL DE LA CAPACIDAD OXIDATIVA DE EMBRIONES DESVITRIFICADOS COMO BIOMARCADOR DE SU COMPETENCIA PARA DAR LUGAR A UN RECIÉN NACIDO VIVO

Thamara Viloria Samochin, MA Valera Cerdá, F Meseguer Estornell, L Conversa Martínez, L Alegre Ferri, M Meseguer Escrivá
IVI Valencia
Valencia (Valencia

INTRODUCCIÓN

La selección del embrión con mayor potencial de la cohorte es un procedimiento clave en un ciclo de ICSI. Aunque el *gold-standard* sigue siendo la selección por morfología, otras técnicas no invasivas están cada vez más extendidas, como la aplicación de algoritmos basados en la morfocinética observada por tecnología *time-lapse* o el análisis del medio de cultivo. El Fertissimo TCL AnalyzerTM (Carmel Diagnostics, Israel) utiliza la TermoQuimioLuminiscencia (TCL) para cuantificar el estado oxidativo del medio de cultivo, el cual es otro potencial biomarcador no invasivo de viabilidad embrionaria. Por otro lado, aunque la vitrificación ha permitido almacenar los embriones para su posterior transferencia diferida, hay indicios de que algunas características del embrión podrían verse afectadas y que la evaluación a partir de su desarrollo en fresco no sea suficiente para predecir su competencia.

OBJETIVO

Evaluar el potencial de la medición del estado oxidativo del medio de cultivo de blastocistos desvitrificados en reexpansión, como predictor de su potencial para dar lugar a un recién nacido vivo (RNV) en combinación con otras técnicas de selección.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio observacional que incluye 257 blastocistos desvitrificados transferidos en ciclos en diferido realizados en una única clínica de FIV durante 3 años. Los embriones fueron desvitrificados y colocados en gotas de medio de cultivo para su reexpansión durante aproximadamente 2 horas antes de la transferencia. El medio de reexpansión fue analizado en el Analizador TCL, cuyo funcionamiento se basa en la detección de la emisión de fotones por segundo (cps) después del calentamiento de la muestra. El estado oxidativo se expresó como H1sm (cps a 55s). El rendimiento de la medición del estado oxidativo para predecir RNV fue evaluado creando un Modelo Lineal Generalizado junto con otras variables de confusión (M1), y fue comparado mediante el Área bajo las Curvas ROC (AUC) con la de otras herramientas de evaluación embrionaria: la clasificación morfológica de ASEBIR pre-vitrificación (M2) y la puntuación morfocinética del KIDScoreD5 (M3). Por último, se crearon modelos alternativos combinando la medición de TCL con las demás herramientas de evaluación (M4: ASEBIR+H1sm y M5: KIDScoreD5+H1sm).

RESULTADOS

Todos los modelos incluyeron 4 variables de confusión: número de embriones transferidos (1 o 2), estadio de desarrollo

de los embriones, incubador utilizado para su cultivo y tasa de madurez de la cohorte de ovocitos. La variable de oxidación H1sm resultó ser capaz de predecir RNV con un OR de 1,032, P=0,04. El modelo M1 obtuvo un AUC=0,698 (IC95%: 0,634-0,762, P<0,001). En el modelo M2, la clasificación de ASEBIR no mostró una correlación significativa con el resultado (OR(A-*vs*C)=1,652, P=0,333; OR(BvsC)=1,626, P=0,179) y el modelo obtuvo un AUC=0,670 (IC95%: 0,605-0,735; P<0,001). En el modelo M3, el KIDScoreD5 (disponible para 98 embriones) se correlacionó con el resultado con un OR=1,434, P=0,009 y el modelo obtuvo un AUC=0,734 (IC95%: 0,635-0,833, P<0,001). La adición de H1sm a las otras herramientas de selección embrionaria mejoró el rendimiento de ambos modelos: AUC(M4)=0,701 (IC95%: 0.638-0.765, P<0,001); AUC(M5)=0,767 (IC95%: 0,674-0,859, P<0,001).

CONCLUSIONES

El análisis del estado oxidativo de los medios de cultivo utilizados para la reexpansión de blastocistos desvitrificados, puede predecir su potencial para dar lugar a un RNV y parece ser complementario a otros métodos de selección. La combinación de dos técnicas no invasivas: el análisis del estado oxidativo del medio tras la devitrificación y la evaluación morfocinética a través de *time-lapse*, tiene un alto potencial para mejorar la selección embrionaria y las tasas de RNV en transferencias de embriones desvitrificados.

P-096

ANÁLISIS DEL IMPACTO DEL COLAPSO EMBRIONARIO EN LAS TASAS DE RECIÉN NACIDO VIVO EN REPRODUCCIÓN ASISTIDA

Álvaro Martínez Moro, P González Dosal, J García Blanco, A Alarcón Escudero, C Aceituno Caballero, T García Martínez, E Padilla Ruiz, Y Cabello
IVF Spain Madrid
Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

Los sistemas *time-lapse* han permitido un incremento de eventos morfocinéticos, así como la aparición de nuevos marcadores no invasivos que faciliten la selección embrionaria. El colapso embrionario es uno de los eventos morfocinéticos descubiertos con influencia en la expansión y eclosión del blastocisto (1,2). El colapso embrionario se ha relacionado positivamente con el proceso de eclosión cuando el volumen del blastocisto disminuye menos del 50% del volumen previo (2). Pese a la correlación positiva de estos resultados, este evento morfocinético se ha visto negativamente relacionado con la probabilidad de embarazo clínico (3).

OBJETIVO

El objetivo de este estudio ha sido valorar la influencia del colapso embrionario en los resultados de reproducción asistida.

MATERIAL Y MÉTODO

Se analizaron 202 embriones obtenidos ente 2017 y 2020 de tratamientos de ovodonación (18-46 años) o con ovocitos propios (18-40 años) transferidos en fresco de forma individual en estadio de blastocisto. Se excluyeron casos procedentes de ovocitos criopreservados, con transferencia en día +3, PGT, malformaciones uterinas, cirugías previas, o con espermatozoides procedentes de biopsias testiculares o criptozoospermia. El análisis del colapso embrionario precisó la recogida de los si-

guientes parámetros morfocinéticos: diámetros del blastocisto antes, durante y después del colapso, con y sin zona pelúcida; así como los tiempos en los que se producía dicho colapso y posterior recuperación. Los datos fueron analizados estadísticamente mediante los test Chi-cuadrado y Kruskal-Wallis.

RESULTADOS

La tasa de recién nacido vivo (RNV) no presenta diferencias significativas (p=0,39) entre los embriones colapsados y aquellos que no colapsaron. El diámetro de los blastocistos colapsados y la cinética del colapso no presentan diferencias significativas en la tasa de RNV. El número de colapsos del blastocisto mostró diferencias significativas en términos de RNV (p=0,03).

CONCLUSIONES

La tasa de RNV se ve disminuida en aquellos embriones que realicen al menos 2 colapsos. El uso de la morfocinética del colapso embrionario puede servir como metodología de selección en aquellos centros que carecen de sistemas de inteligencia artificial.

REFERENCIAS

1. Cimadomo D, Marconetto A, Trio S, Chiappetta V, Innocenti F, Albricci L, et al. Human blastocyst spontaneous collapse is associated with worse morphological quality and higher degeneration and aneuploidy rates: a comprehensive analysis standardized through artificial intelligence. Hum Reprod. 2022;37(10):2291–306.
2. Sciorio R, Meseguer M. Focus on time-lapse analysis: blastocyst collapse and morphometric assessment as new features of embryo viability. Reprod Biomed Online [Internet]. 2021;43(5):821–32. Available from: https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2021.08.008
3. Sciorio R, Herrer Saura R, Thong KJ, Esbert Algam M, Pickering SJ, Meseguer M. Blastocyst collapse as an embryo marker of low implantation potential: A time-lapse multicentre study. Zygote. 2019;(1999).

P-097

LA FECUNDACIÓN CON MUESTRA DE BIOPSIA TESTICULAR IMPLICA RESULTADOS MÁS DESFAVORABLES EN CICLOS DE FIV-PGT-A

Diana Campos Rodero[1], R Noro Pi[1], E García Guixé[1], A Gómez Duro[2], E Toro Toro[1], C Giménez Sevilla[1], M Sandalinas Alabert[1]
[1]DiNA Science - Barcelona (Barcelona), [2]DiNA Science - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

La extracción testicular de espermatozoides (TESE, por sus siglas en inglés) se realiza mediante biopsia testicular con el objetivo de recuperar espermatozoides testiculares para ser utilizados en ciclos de FIV en aquellos casos en que los pacientes no presentan espermatozoides en el eyaculado (azoospermia).

OBJETIVO

Evaluar los resultados de FIV-PGT-A en pacientes en los que se ha realizado la fecundación con espermatozoides obtenidos mediante biopsia testicular.

MATERIAL Y MÉTODO

PGT-A mediante secuenciación masiva (NGS) realizado en muestras de trofoectodermo entre 2020 y 2022. En el grupo control se incluyen 276 ciclos de FIV-PGT-A de parejas sin indicación previa para realizar PGT (1.186 embriones) mientras

que el grupo estudio incluye 19 ciclos de FIV-PGT-A con TESE (49 embriones).

En el grupo control se seleccionaron pacientes en un rango de edad de 29-37 años para poder equiparar la edad media de ambos grupos (33,7 años).

Se analizó la media de embriones por grupo, así como las tasas de euploidía, aneuploidía y mosaicismo obtenidas en el PGT-A.

RESULTADOS

La media de embriones biopsiados fue de 4,3 (1-16) y 2,7 (1-5) en el grupo control y en el grupo de estudio, respectivamente.

En el grupo de estudio, el PGT-A mostró un 37% de embriones euploides (18), un 53% de embriones aneuploides (26) y un 10% de embriones mosaicos diploides-aneuploides (5).

En el grupo control, se obtuvo resultado del 99,3% de las muestras biopsiadas (1.178 embriones), el 47% de embriones resultaron euploides (554), 39% aneuploides (461) y 13% mosaicos diploides-aneuploides (159).

CONCLUSIONES

El número de embriones que alcanzaron el estadio de blastocisto y que pudieron ser biopsiados fue menor en el grupo de pacientes con TESE.

Asimismo, los resultados obtenidos muestran un mayor porcentaje de embriones aneuploides en el grupo de pacientes que realizó FIV-PGT-A con biopsia testicular en comparación al grupo control.

Sin embargo, sería necesario ampliar el número de casos para determinar si existen diferencias significativas entre ambos grupos.

Se recomienda realizar PGT-A a aquellas parejas en las que sea necesaria realizar una FIV con TESE debido al riesgo observado de generar embriones cromosómicamente anormales.

P-098

ACTUALIZACIÓN DEL SISTEMA DE CLASIFICACIÓN EMBRIONARA PARA BLASTOCISTOS

Montserrat Lierta Sancho, JL Gámez Prieto, A Urries López
Quirónsalud Zaragoza
Zaragoza (Zaragoza)

INTRODUCCIÓN

La selección morfocinética de los embriones es una técnica que puede mejorar significativamente las tasas de éxito en los ciclos de reproducción asistida. Esta técnica se ha convertido en una herramienta importante en la selección de blastocistos. La morfología y el ritmo de división celular proporcionar información valiosa sobre su calidad y capacidad de implantación, ya que permite un seguimiento más dinámico y detallado del desarrollo embrionario mediante el uso de sistemas de *time-lapse*.

OBJETIVO

El objetivo de nuestro estudio es evaluar los parámetros morfocinéticos, mediante un sistema *time-lapse*, que nos permitan mejorar la selección de los blastocistos y así mejorar las tasas de implantación y embarazo en ciclos de reproducción asistida.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo en el que se incluyeron 100 pacientes, con una edad media de 35,24 ± 3,5 años que se sometieron a un tratamiento de FIV en nuestro centro. Se realizó transferencia única en D+5 en todos los casos, de los cuales 54 embriones implantaron y 46 no. El análisis morfocinético se llevó a cabo utilizando el *software* GERI plus. Para la evaluación de la morfología se utilizaron los criterios ASEBIR, y para la cinética se establecieron unos rangos óptimos en base a los porcentajes de implantación basándonos en el árbol de decisión que se presentó en el congreso de ASEBIR 2019, donde se estudiaron eventos hasta la división de embriones a 8 células (t8). En este estudio continuamos analizando nuevos parámetros hasta la formación de blastocisto con el fin de ajustar y mejorar la selección embrionaria.

En nuestro laboratorio para la clasificación de embriones tenemos unos rangos establecidos que se correlacionan con la implantación. Los parámetros más predictivos son: tiempo desde la inseminación hasta que se completa la primera división (t2), tiempo que dura el segundo ciclo celular (cc2), sincronía del segundo ciclo celular (s2) y tiempo que dura el tercer ciclo celular (cc3).

En este estudio queremos comprobar si existe relación entre la tasa de implantación y parámetros como el tiempo que tarda el embrión en la formación de mórula (tM), el tiempo que tarda en comenzar a formar el bastocisto (tB) y la expansión del blastocisto (tEB).

RESULTADOS

La tasa de embarazo de los embriones transferidos es de un 54% (54/100). Tras analizar los tiempos que tardan los embriones en realizar los eventos que queremos estudiar, observamos que aquellos embriones que forman mórula entre las 78-93 horas post inseminación tienen una tasa de implantación 59% (26/44). Los embriones que comienzan la formación del blastocisto entre las 85-100 horas post inseminación tienen una tasa de implantación del 58% (40/68) y en aquellos blastocistos que comienzan a expandirse entre las 90-109 horas post inseminación la tasa es del 61% (42/68).

Aquellos embriones clasificados morfológicamente como categoría A y que entran dentro de los rangos que hemos establecido para t2, cc2, s2, cc3, tM, tB, tEB tienen un porcentaje de implantación de un 70% (28/40).

CONCLUSIONES

La selección embrionaria de blastocistos basada en morfocinética se ha convertido en una técnica valiosa para mejorar las tasas de éxito en reproducción asistida.

El estudio de los eventos morfocineticos propios de cada laboratorio nos va a permitir seleccionar embriones de alta capacidad de implantación mejorando así las tasas de implantación y disminuyendo la necesidad de transferir varios embriones, reduciendo el riesgo de embarazos múltiples.

En nuestro caso los rangos de tiempo establecidos para la formación de mórula (78-93 horas), formación y expansión de blastocisto (85-100 horas) (90-109 horas) además de los criterios que previamente utilizábamos para la clasificación de embriones, nos va a permitir mejorar la selección embrionaria.

En resumen, la selección embrionaria de blastocistos basada en morfocinética puede mejorar significativamente las tasas de éxito en los ciclos de reproducción asistida, ya que permiten identificar los embriones con mayor potencial de implantación.

P-099

¿QUÉ ES MEJOR, TRANSFERIR EN FRESCO UN BLASTOCISTO POCO EVOLUCIONADO O VITRIFICARLO MÁS EVOLUCIONADO EN DÍA 6?

Ignacio Iniesta Mirón, JV Martínez Sanchís, I Peinado Casas, PJ Fernández Colom, LB Serralta García, P Polo Sánchez, T García Gimeno, N García Camuñas, N Blasco Ramos, JM Rubio Rubio
Hospital La Fe
Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN

La transferencia en fresco de blastocistos y criotransferencia de blastocistos son de las técnicas más comunes dentro de los laboratorios de FIV. Está demostrado que estadios embrionarios más evolucionados en fase de blastocisto (Blastocisto Expandido (BE)/Hatching (BH)-criterios ASEBIR) son los que tienen mayor potencial de implantación frente a los menos evolucionados (Blastocisto Temprano (BT)/Blastocisto Cavitando (BC)-criterios ASEBIR). No siempre hay BE o BH para transferir en día 5, en ocasiones solamente hay mórulas o blastocistos de los menos evolucionados. Está descrito que el momento ideal para transferir en estadio de blastocisto es en día 5 endometrial, y que las tasas disminuyen si se realiza en día 6 endomentrial.

OBJETIVO

El objetivo de este trabajo es determinar si es mejor realizar una transferencia en fresco de un blastocisto menos evolucionado o si por el contrario es preferible no realizar la transferencia, esperar un día más y vitrificar en día 6 un blastocisto más evolucionado para una posterior transferencia de congelados en día 5 endometrial. Para ello compararemos las tasas de implantación (TI) de ambos grupos. Al ser transferencias de un único embrión la tasa de gestación (TG) y la TI es la misma.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio prospectivo y comparativo entre 2 grupos, el primer grupo (G1) de transferencia en fresco de blastocistos menos evolucionados (BT o BC) en día 5 (no hay blastocistos más evolucionados en el momento de la transferencia) y un segundo grupo (G2) de transferencia de congelados de día 6 que en principio iban a realizar la transferencia en fresco, pero no se realizó al no tener blastocistos evolucionados, por lo que se les ha dado un día más de desarrollo antes de vitrificarlos en día 6. Factores exclusión; biopsia embrionaria, eclosión asistida, transferencia de dos embriones. Se considera gestación positiva si existe saco en la ecografía. El estudio se realizó con transferencias realizadas entre los años 2019 y 2023. Todas las transferencias fueron de un embrión (SET).

N G1= 48 transferencias. Edad media 37,9 años

N G2= 65 transferencias. Edad media 36,8 años

RESULTADOS

La TI para el G1 fue 12,5% mientras que para el G2 fue de 30,7%. El G2 tuvo una tasa de aborto bioquímico de 4,6%, mientras que en el G1 no hubo ninguno.

CONCLUSIONES

Cuando vamos a realizar una transferencia en fresco pero no tenemos blastocistos evolucionados para transferir (BE o BH), el esperar un día más y vitrificar en día 6 para una posterior transferencia de congelados parece ser la estrategia más acertada para tener un porcentaje de gestación más alto en cada ciclo. Pero hay que tener en cuenta que no en todos los ciclos que esperamos un día más obtenemos BE o BH para poder transferir.

P-100

DESARROLLO DE UN NUEVO FLUJO DE TRABAJO BASADO EN COMPLEMENTOS DE IMAGEJ/FIJI PARA EL ANÁLISIS AUTOMATIZADO DE ANEUPLOIDÍAS Y DIPLOIDÍAS ESPERMÁTICAS IDENTIFICADAS MEDIANTE HIBRIDACIÓN *IN SITU* FLUORESCENTE

Aleix Clarà Molist, C Feliu Hernández, J Pampalona Sala, E Isidro Higueras, E Antón Martorell, Z Sarrate Navas, J Blanco Rodríguez
UAB
Bellaterra (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

La hibridación *in situ* fluorescente o FISH es un método citogenético muy utilizado para detectar anomalías cromosómicas numéricas en núcleos de espermatozoides de pacientes infértiles, y, por lo tanto, para atribuir una causa genética en algunos casos de infertilidad masculina. No obstante, algunas características de la metodología de análisis comprometen su aplicación rutinaria en algunos laboratorios. Entre ellas, destacan los tiempos prolongados de análisis exigidos para valorar un elevado número de espermatozoides y la necesidad de personal capacitado para llevar a cabo el análisis cromosómico en núcleos interfásicos.

La automatización del proceso podría ser una alternativa para superar estas limitaciones. Sin embargo, los sistemas desarrollados hasta la fecha presentan limitaciones importantes que dificultan su implementación clínica: 1) los resultados crudos obtenidos por los sistemas automáticos difieren mucho de los manuales, 2) los sistemas automáticos no son eficientes en la discriminación entre espermatozoides de otros tipos celulares potencialmente presentes en el eyaculado, 3) el tiempo requerido para el análisis automático no reduce significativamente el tiempo necesario para un análisis manual, 4) los sistemas informatizados son costosos de implementar sobre todo en relación a la adquisición de *hardware* y *software*.

OBJETIVO

El objetivo de este estudio fue desarrollar un flujo de trabajo robusto, eficiente y económico para el análisis de aneuploidías y diploidías en espermatozoides humanos a partir del desarrollo de complementos (*Plugins*) del programa de libre acceso de procesamiento de imagen digital ImageJ/FIJI.

MATERIAL Y MÉTODO

Se capturaron 4.947 regiones de interés (ROI) procedentes de seis portaobjetos de distintas muestras de semen hibridados con sondas de DNA específicas para las regiones centroméricas de los cromosomas X (CEP X, locus DXZ1, Spectrum Green), Y (CEP Y, locus DYZ3, Spectrum Orange) y 18 (CEP 18, locus D18Z1, Spectrum Aqua). La captura se realizó utilizando un microscopio de epifluorescencia Nikon Eclipse TE2000-E, equipado con una cámara digital para la adquisición de imágenes y motorizaciones en eje-z, filtros de fluorescencia y cambio de objetivos, permitiendo el control automatizado de estas funciones mediante el programa Metamorph. El análisis de imágenes se realizó a partir del desarrollo de dos complementos diferentes de ImageJ/Fiji. El primer complemento permitió identificar los espermatozoides y descartar otros tipos celulares (según su tamaño y circularidad). El segundo complemento se utilizó para evaluar el contenido cromosómico de las regiones de interés capturadas (considerando el tamaño, la intensidad y la distancia de las señales de hibridación). La especificidad (verdaderos negativos) y la sensibilidad (verdaderos positivos) del sistema automatizado se determinaron comparando los resultados automáticos respecto a la valoración manual.

RESULTADOS

Los resultados mostraron que tanto la especificidad como la sensibilidad del método automatizado en la identificación de células espermáticas (Complemento 1) fueron del

86,75%±10,51 y del 65,79%±23,06, respectivamente. En cuanto a la identificación de las señales de FISH (Complemento 2), se observaron valores elevados en todas las muestras, con valores de especificidad y sensibilidad del 96,44%±5,16 y 92,04%±7,76, respectivamente. Es importante destacar que el sistema automatizado redujo drásticamente el tiempo requerido para la obtención de los resultados.

CONCLUSIONES

Este nuevo flujo de trabajo automatizado de análisis de FISH en espermatozoides cumple con los objetivos propuestos en cuanto a especificidad, fiabilidad, eficiencia y costes reducidos, aunque queda margen de mejora en la identificación de las células espermáticas.

P-101

EVALUACIÓN DE LA INFLUENCIA DE VARIANTES GENÉTICAS RARAS SOBRE EL FALLO ESPERMATOGÉNICO GRAVE EN UNA FAMILIA ESPAÑOLA NO CONSANGUÍNEA MEDIANTE ANÁLISIS DE DATOS GENOTÍPICOS A GRAN ESCALA

Andrea Guzmán Jiménez[1], S González Muñoz[1], M Cerván Martín[1], JA Castilla[2], MC Gonzalvo[2], A Clavero[2], R J Palomino Morales[1], FD Carmona[1], L Bossini Castillo[1]

[1]Universidad de Granada - Granada (Granada), [2]Hospital Universitario Virgen de las Nieves - Granada (Granada)

INTRODUCCIÓN

La infertilidad masculina es una patología que afecta a un 7% de la población mundial masculina en edad fértil. En los pacientes en los que no existen causas obstructivas, las manifestaciones más extremas de esta condición suelen estar causadas por un fallo grave en el proceso espermatogénico (SPGF). Éstas afectan a la cantidad de espermatozoides presentes en el eyaculado, derivando en una disminución radical (oligozoospermia severa, SO) o total (azoospermia no obstructiva, NOA) de los mismos.

OBJETIVO

La aproximación más común para realizar la búsqueda de las variantes raras causales del SPGF implica el uso de tecnologías de secuenciación masiva (NGS), impidiendo, en la mayoría de los casos, el diagnóstico de las causas moleculares debido a los altos costes de estas técnicas. Con objeto de solventar esta limitación, el presente estudio fue diseñado para tratar de identificar el origen del SPGF en una familia española no consanguínea con dos hermanos afectados, el mayor de NOA y el más joven de SO, mediante la estrategia de genotipado a gran escala.

MATERIAL Y MÉTODO

Este enfoque es novedoso en el estudio de familias, puesto que permite obtener información de millones de variantes polimórficas conocidas a bajo coste mediante el uso de *arrays* de genotipado masivo y posterior imputación con amplios paneles de referencia. Así, tras recoger muestras de sangre de los dos hermanos afectados y sus progenitores, extraer el ADN genómico, y realizar una anamnesis clínica completa de los cuatro individuos, se generaron datos genotípicos a genoma completo para todos ellos. Se identificaron todas aquellas variantes que fuesen codificantes y estuviesen localizadas en genes relacionados con SPGF. Además, nuestro análisis biocomputacional se centró en aquellas mutaciones que mostraban muy baja frecuencia en hombres fértiles españoles (frecuencia del alelo minoritario < 0,1%), pero presentes en varios miembros de esta familia.

RESULTADOS

Tras tener en consideración los distintos patrones de herencia concordantes con la historia familiar, se priorizó una variante sin sentido en el exón 10 del gen SORBS1, que estaba presen-

te en heterocigosis tanto en la madre como en los dos hermanos. La variante, cuya frecuencia en la población global sana es menor al 0,001%, produce un cambio aminoacídico y fue seleccionada por diferentes herramientas bioinformáticas, las cuales predicen un efecto muy patogénico y deletéreo de la misma. Además, SORBS1 codifica una proteína implicada en las uniones adherentes entre células, que resultan especialmente relevantes entre células de Sertoli. Estas células conforman el soporte de los túbulos seminíferos del testículo y son cruciales para la correcta formación de gametos masculinos biológicamente viables. Por lo tanto, alteraciones en la estructura tubular podrían derivar en una merma en la generación de espermatozoides funcionales. Finalmente, el locus SORBS1 presenta haploinsuficiencia, lo que nos indica que una sola copia funcional del gen no es suficiente para obtener la dosis adecuada de producto génico requerido para llevar a cabo su función de manera correcta, y otras variantes genéticas en este locus ya se han correlacionado con otra patología altamente ligada al desarrollo de infertilidad masculina, la diabetes tipo II.

CONCLUSIONES

Por tanto, nuestra estrategia ha permitido identificar una variante genética causal que podría explicar la etiología del SPGF en esta familia. Este hallazgo podría implicar el uso de esta nueva metodología de trabajo en el estudio de familias afectadas por SPGF, aportando una opción novedosa para realizar un diagnóstico genético a un coste asequible.

P-102

¿EXISTE CORRELACIÓN ENTRE EL MICROBIOMA ENDOMETRIAL Y VAGINAL?

Diana Campos Rodero[1], L Díez Tercero[1], A Martínez Lara[2], C Díaz López[2], D Cotán[2], C Giménez Sevilla[1], M Sandalinas Alabert[1]
[1]DiNA Science - Barcelona (Barcelona), [2]Pronacera Therapeutics, S. L. - Sevilla (Sevilla)

INTRODUCCIÓN

La microbiota se define como el conjunto de microorganismos presentes en un entorno definido, y el microbioma es el conjunto de microorganismos, genes y metabolitos relacionados.

Una microbiota vaginal sana se caracteriza por la presencia de diferentes especies de bacterias, no sólo del género *Lactobacillus*, que viven en simbiosis y generan un entorno óptimo que protege contra la colonización y la infección por patógenos. Se ha descrito que el endometrio podría presentar una microbiota con una composición similar a la vaginal pero con una variación de géneros y de abundancia relativa de cada una de las especies detectadas.

Estudios recientes han asociado la presencia de un microbioma endometrial alterado con menores tasas de implantación y embarazo evolutivo, destacando su importancia en fertilidad, aunque requiere de la obtención de una biopsia endometrial para su estudio, una prueba que en ocasiones puede resultar dolorosa. Si la microbiota vaginal fuera un reflejo de la microbiota endometrial, sería posible estudiarla con una prueba menos invasiva y molesta.

OBJETIVO

Comparar los resultados de la composición del microbioma vaginal y el endometrial en muestras procedentes de la misma paciente.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio retrospectivo de 10 pacientes a las que se les realizó un análisis del microbioma endometrial y vaginal. Se sometió a las pacientes a una biopsia endometrial para analizar el microbioma endometrial y se tomó una muestra de hisopado vaginal para realizar el estudio de microbioma vaginal. Se calcularon las tasas de eubiosis y disbiosis (presencia de bacterias ácido-lácticas y oportunistas), y se evaluó la presencia de patógenos (estrictos y bacterias facultativas, hongos -*Candida* spp.- y virus) con qPCR en tiempo real.

RESULTADOS

Tres de las muestras vaginales se clasificaron como eubióticas (dominancia de especies del género *Lactobacillus*), mientras que 7 fueron disbióticas (no dominancia de especies del género *Lactobacillus*). En aquellas pacientes con muestras vaginales eubióticas, 2 presentaron disbiosis a nivel endometrial. En el caso de las pacientes con muestras vaginales disbióticas, 2 tuvieron un resultado de eubiosis a nivel endometrial. En global, no se observó una correlación entre el microbioma vaginal y endometrial en cuanto a la dominancia de *Lactobacillus* en 4 de las 10 pacientes.

Se detectaron patógenos en 6 muestras vaginales y en 3 endometriales. En 4 de las 6 muestras vaginales patogénicas, se detectó *Ureaplasma* spp. y *Mycoplasma hominis*, pero estos patógenos no estaban presentes en las muestras endometriales. Las otras 2 muestras vaginales con presencia de patógeno mostraban un sobrecrecimiento de *Mobiluncus* spp., mientras que en sus paralelas en endometrio había una mayor presencia de *Candida* spp. Finalmente, 3 pacientes presentaban una microbiota sin patógenos tanto en la muestra vaginal como en la endometrial. En resumen, se observó correlación en 5 de las pacientes estudiadas en vagina y endometrio, 3 presentaban una microbiota sin patógenos, mientras que otras 2 presentaban una microbiota patogénica en ambas muestras, aunque no se detectaron las mismas especies patogénicas en la muestra vaginal y en la endometrial.

CONCLUSIONES

Los resultados preliminares obtenidos en este estudio muestran que no existe correlación en cuanto a la dominancia o no de las especies del género *Lactobacillus*, ya que un 40% de las muestras vaginales y endometriales analizadas en este estudio presentaban un perfil distinto de eubiosis/disbiosis.

En cuanto a la presencia de patógenos, se observó correlación en cuanto al perfil (patogénico/no patogénico) en un 50% de las pacientes, aunque en algunos casos el patógeno detectado difería entre la muestra vaginal y la endometrial.

Aunque debido al bajo tamaño muestral no es posible extraer conclusiones, los resultados preliminares apuntan a que la microbiota endometrial no es un reflejo de la microbiota vaginal en todas las pacientes, con lo que para su estudio, con los datos disponibles en la actualidad, es necesario la realización de una biopsia endometrial.

P-103

EL PARTENOCITO: UN NUEVO PARADIGMA EN EL DIAGNÓSTICO OVOCITARIO

M José Escribà Pérez[1], N Soler Balaguer[2], L Escrich Albelda[3], R Bautista Llàcer[4], N Grau Grau[3], R Tena Ros[4], A Oller Campillo[4], X Vendrell Montón[4]

[1]IVIRMA Valencia - Valencia (Valencia), [2]IVF-Spain Alicante - Alicante (Alicante), [3]IVIRMA Valencia - Valencia (Valencia), [4]Sistemas Genómicos-Synlab - Paterna (Valencia)

INTRODUCCIÓN

El análisis del primer corpúsculo polar (1CP) permite inferir el contenido genético de un ovocito (OGT, Oocyte Genetic Test). En el contexto de las aneuploidías, OGT ha sido abordado sin éxito; sin embargo, en un contexto de enfermedades monogénicas, no existe claro consenso. El OGT para un determinado haplotipo ha mostrado ser eficiente cuando el estudio genético se complementa con el del segundo corpúsculo polar (2CP); estrategia que requiere de la crioconservación de los cigotos, antes de la fecundación y mientras se obtienen los resultados genéticos.

La meiosis ovocitaria se inicia con la segregación de cromosomas homólogos y culmina con la segregación de cromátidas hermanas; eventos tímidamente escudriñados. Abundar en la meiosis ovocitaria nos instó a presentar un nuevo abordaje de diagnóstico ovocitario, fundamentado en la generación de partenogenotas. Metodológicamente, la activación ovocitaria artificial (AOA) induce y permite el desarrollo partenogenético mitótico y uniparental. El desarrollo inicial sugiere que los partenogenotas están compuestos por células haploides (partenocitos), que podrían ser modelo de estudio del gameto femenino o una nueva posibilidad para la clonación del genoma materno, con finalidad reproductiva.

OBJETIVO

Evaluar la capacidad de diagnosticar los ovocitos mediante estudio genético del 1CP y validar el modelo partenogenota como método de clonación ovocitaria.

MATERIAL Y MÉTODO

La capacidad de inferir el genoma materno, a partir del 1CP, se abordó con el estudio de segregación alélica de cada tríada meiótica (1CP, 2CP y partenogenota) obtenida de ovocitos de una mujer heterocigota para la variante patogénica c.1521_1523delCTT en el gen responsable de la fibrosis quística (CFTR).

En una segunda fase, los partenogenotas fueron cultivados (3 días *in vitro*) y caracterizados en términos de ploidía, mediante FISH (n=3); fórmula cromosómica mediante NGS (n=11); y *fingerprinting* (n=11); destinando una célula para control de ploidía.

RESULTADOS

El estudio de once tríadas mostró una tasa de heterocigosidad en el 1CP del 91%; siendo únicamente posible la inferencia diagnóstica en una tríada (9,1%). Con el análisis del 2CP, la inferencia del haplotipo ovocitario aumentó al 91%.

En la segunda fase, la caracterización genética de los partenogenotas, mostró homogeneidad en términos de ploidía: dos partenogenotas 23,X y uno 46,XX. El estudio de NGS mostró 6 partenogenotas uniformes (cinco 46,XX y uno aneuploide). El 45% de los partenogenotas mostraron aneuploidías en mosaico equilibradas. El 45% de los partenogenotas mostraron la variante normal para CFTR y 6/11 la variante patogénica. El análisis de partenocitos hermanos sugiere isogenicidad intra-partenogenota.

En total, el 90,5% (19/21) fueron haploides (23,X); tres mostraron fórmulas compatibles con la diploidización (46, XX). El

45,5% mostró fórmulas euploides tras NGS; el 54,5% (6/11) fueron portadores de la variante patogénica.

De siete partenogenotas con información genética completa (ploidía, fórmula cromosómica y estudio del CFTR), pudimos identificar 4 partenogenotas haploides, euploides y con haplotipo CFTR salvaje; presentando en promedio 7,2 células.

CONCLUSIONES

Inferir un haplotipo ovocitario mediante análisis del 1CP es posible; no obstante, la participación del segmento interrogado en eventos de recombinación, o patrones de segregación cromosómica alternativos, limitan su traslación clínica.

Los partenogenotas mostraron la existencia de isogenicidad y autodiploidización, indicando su sentido como tecnología de clonación gamética. Este trabajo presenta el partenogenota (y los partenocitos) como modelo para el estudio del gameto materno y abre la puerta a la generación y diagnóstico de células haploides genéticamente testadas, previamente a su concepción.

La posibilidad de diagnosticar los gametos femeninos y masculinos mediante estudio de partenocitos y androcitos queda aquí confirmada; no obstante, su competencia reproductiva para constituir una nueva entidad genética debe ser constrastada.

P-104

¿MEJORA EL *ASSISTED HATCHING* LAS TASAS DE IMPLANTACIÓN EN UN PROGRAMA DE DONACIÓN DE OVOCITOS VITRIFICADOS CON TRANSFERENCIAS EN DIFERIDO?

Sabela García Oro, X Pérez Martín, M Rodríguez Alonso, A Durán Boo, B García García, F López Mourelle, R Devesa Hermida
Equipo Ron - H. Quirónsalud
A Coruña (A Coruña)

INTRODUCCIÓN

La implantación es un proceso biológico extremadamente complicado, en el cual la eclosión del embrión de la zona pelúcida (ZP) que lo rodea es un factor clave para el éxito. Se sabe que la vitrificación altera las propiedades de la ZP, endureciéndola y dificultando el proceso natural de la eclosión. Técnicas como el *assisted hatching* (AH), que facilitan la eclosión de manera artificial, podrían mejorar los resultados de las transferencias embrionarias, aunque actualmente no hay consenso sobre su utilidad.

En nuestro centro, los embriones del programa de ovodonación pasan por una doble vitrificación, vitrificación de ovocitos y posterior vitrificación de blastocistos, ya que todas nuestras transferencias son diferidas. Con la evidencia científica actual, es de esperar que estos embriones presenten más dificultades a la hora de eclosionar, afectando negativamente a la tasa de implantación. Por este motivo y con la finalidad de intentar mejorar los resultados reproductivos, nos planteamos realizar AH a los embriones del programa de ovodonación.

OBJETIVO

Valorar el impacto del *assisted hatching* en un programa de donación de ovocitos vitrificados con transferencias en diferido.

MATERIAL Y MÉTODO

Se analizan los resultados de 504 criotransferencias realizadas entre enero de 2020 y marzo de 2023. En todos los casos se transfirió un único blastocisto en diferido procedente del programa de donación de ovocitos vitrificados.

En el grupo de estudio (n: 67) se realizó AH mecánico (con micropipeta PZD) a todos los embriones tras la desvitrificación (septiembre de 2022 - marzo de 2023). En el grupo control (n: 437), los embriones se transfirieron tras la desvitrificación sin ninguna intervención extra (enero de 2020 - agosto de 2022).

La variable principal analizada es Tasa de Implantación/Tasa de Gestación Clínica (TI/TGC). Como variables secundarias se analizan la Tasa de Aborto (TAB) y la Tasa de Gestación Evolutiva (TGE).

RESULTADOS

En el grupo de estudio se han analizado un total de 67 transferencias. La TI/TGC es de 61,2%. La TAB es de 2,4%. La TGE es de 59,7%.

En el grupo control se han analizado un total de 4.377 transferencias. La TI/TGC es de 47,4%. La TAB es de 15,5%. La TGE es de 40%.

La diferencia observada en TI/TGC en ambos grupos es significativa ($p<0,05$).

La diferencia observada en TAB y TGE en ambos grupos es significativa ($p<0,05$).

CONCLUSIONES

El doble proceso de vitrificación al que están sometidos nuestros embriones puede tener un papel importante en las propiedades de la ZP y estar impidiendo el proceso natural de eclosión que debe realizar el blastocisto. La realización de una mínima intervención (AH) parece que no tiene impacto negativo en el embrión y ayuda a este en el proceso de implantación.

A pesar del reducido número de casos incluidos en el grupo de estudio, se observa que realizando AH a todos los blastocistos del programa de ovodonación, se consiguen mejores tasas de implantación embrionaria/gestación clínica.

También se observa una reducción de la tasa de aborto y, por consiguiente, un aumento en la tasa de gestación evolutiva en el grupo de estudio, pero para poder afirmar que este hallazgo sea debido al AH habría que diseñar un estudio específico.

P-105

PROGRAMA DE DONACIÓN DE OVOCITOS CONGELADOS: CORRELACIÓN ENTRE UN SISTEMA DE PUNTUACIÓN DE ALGORITMO AUTOMÁTICO Y LOS PRINCIPALES PARÁMETROS DE RESULTADOS MORFOLÓGICOS Y REPRODUCTIVOS

Marco Toschi[1], L Maresca[1], L Bori Arnal[2], A Lago González[1], M Verdiglione[1], M Meseguer Escrivà[2], D Galliano[1], A Pellicer Martínez[1]
[1]IVIRMA Global Roma - Roma (Lazio, Italia), [2]IVIRMA Global Valencia - Valencia (España)

INTRODUCCIÓN

Los algoritmos para la selección de embriones ya se utilizan en la práctica clínica en los laboratorios de fecundación asistida. Estos sistemas se han desarrollado a partir de una mina de datos derivados de embriones generados a partir de ovocitos frescos sin tener en cuenta que en los últimos años muchos programas de fecundación asistida se gestionan a partir del uso de gametos vitrificados.

OBJETIVO

Analizar la capacidad del algoritmo KIDScoreTM D5 v3 para clasificar blastocistos provenientes de un programa de dona-

ción de ovocitos congelados de acuerdo a su tasa de implantación (IR) y puntaje morfológico.

MATERIAL Y MÉTODO

Este es un estudio retrospectivo que incluye un total de 430 pacientes sometidos a transferencia de embrión único (SET) entre enero de 2021 y marzo de 2022.

Se incluyeron en el análisis un total de 505 blastocistos cultivados en sistema de lapso de tiempo (Embryoscope Plus, Vitrolife) y evaluados por el algoritmo KIDScoreTM D5 v3 después de la anotación de los parámetros requeridos (tiempo de división a 2 células, 3 células, 4 células, 5 células, tiempo de formación del blastocisto, masa celular interna y calidad del trofectodermo) de 1 a 9,9. Los blastocistos se dividieron en tres grupos: transferencia de embriones frescos (ET fresco), transferencia de embriones congelados (FET) y FET con prueba genética preimplantacional para aneuploidía (PGT-A).

El análisis estadístico se realizó mediante ANOVA, chi-cuadrado y prueba de Bonferroni.

RESULTADOS

Sobre un total de 505 embriones, las puntuaciones automáticas fueron estadísticamente significativas (p<0,001) entre resultados negativos y positivos. Con n=257, la media de IR negativa fue de 6,9 ± 1,7 desviación estándar (DE). Mientras que la media (n=248) de resultado positivo se ubicó en 7,4±1,5 DE. Posteriormente, utilizando un *software* estadístico, dividimos la puntuación automática por su valor mediano en dos grupos; <7,10 frente a >7,10 y el IR fueron significativamente diferentes (p0,001) entre los dos grupos.

Tanto en la transferencia de embriones frescos (n=307) como en los congelados (n=126), la puntuación automática y el IR resultaron ser estadísticamente significativos (valor p<0,001) al comparar el estadio de blastocisto cavitado (BC) *versus* el blastocisto expandido (BE) y blastocisto en eclosión (BHI), pero no fue estadísticamente significativo en BE frente a BHI.

También analizamos para los ciclos frescos y congelados la eventual correlación entre la puntuación automática y la morfología de la masa celular interna (ICM) y el trofoectodermo (TE). El KIDScore y el IR disminuyen significativamente en relación con el empeoramiento de estos parámetros.

Un total de 72 embriones se sometieron a FET con PGT-A. Los resultados subrayan una correlación significativa (p=0,011) entre la puntuación automática y la RI. Con n=41, la media para RI negativa fue de 6,4 ± 1,6 DE, mientras que la media (n=31) para resultado positivo se establece en 7,4±1,3 DE.

CONCLUSIONES

Esta validación externa muestra que incluso en ovocitos congelados embriones de donante existe una correlación entre IR, ICM, TE y estadio de blastocisto con el algoritmo KIDScoreTM D5 v3.

P-106

EFECTO DE LA VITRIFICACIÓN Y LA MADURACIÓN *IN VITRO* EN LA EPIGENÉTICA DE OVOCITOS HUMANOS

Isabel Moya Marín[1], C Gimeno Camps[2], I Zhihuan Piles[2], P Sáez Espinosa[2], P Torres Gómez[1], A Monzó Miralles[1], MJ Gómez Torres[2], I Peinado Casas[1]
[1]Hospital U. P. La Fe - Valencia (Valencia), [2]Universidad de Alicante - San Vicente del Raspeig (Alicante)

INTRODUCCIÓN

La técnica de maduración *in vitro* (MIV) en combinación con la vitrificación ovocitaria amplía el rango de aplicaciones clínicas. Sin embargo, es necesario comprobar la calidad de los ovocitos tras aplicar estas dos técnicas.

OBJETIVO

Evaluar la calidad ovocitaria tras el tratamiento de dos potenciales disruptores meióticos: vitrificación y MIV. En concreto, se ha analizado la configuración del material genético y el patrón de deacetilación de la lisina 9 en la histona H3 (H3K9) en ovocitos profase I (PI) y metafase II MIV (MIIMIV).

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio aleatorio y prospectivo de 1.099 ovocitos PI humanos. El diseño experimental incluyó dos fases: (Fase A) PI distribuidos en dos grupos (control (GACONTROL) y vitrificación (GAVO)) y (Fase B) MIIMIV en 3 grupos (control (GBCONTROL) y vitrificación en distinto estadio madurativo (GBVO-PI y GBVO-MII)). Los parámetros evaluados fueron: edad, IMC, ovocitos totales y PI, nivel de compactación de la cromatina en la vesícula germinal (VG), tasa de supervivencia tras vitrificación (TSu), tasa de maduración (TM), configuración de la placa metafásica y patrón de deacetilación. El análisis estadístico de los datos se realizó con el *software* SPSS18 utilizando un nivel de significancia (a) de 0,05.

RESULTADOS

Comprobada la homogeneidad de los grupos respecto a las variables: edad, IMC, ovocitos totales y PI se realizaron los estudios estadísticos correspondientes.

Fase A: Identificamos siete patrones de organización de la cromatina: nucléolo no rodeado (NSN), nucléolo parcialmente no rodeado (pNSN), nucléolo prematuramente condensado no rodeado (cpNSN), nucléolo prematuramente condensado rodeado (cpSN), nucléolo parcialmente rodeado (pSN), nucléolo rodeado (SN) e inicio de la rotura de vesícula germinal (GVBDi). El patrón mayoritario en el GACONTROL fue la configuración SN (31%), mientras que para el grupo GAVO el predominante fue GVBDi (21,3%). Todos los PI presentaron señal positiva de acetilación en H3K9.

Fase B: La TSu fue similar en los ovocitos PI *vs.* MIIMIV (84,9% *vs.* 89,3%, respectivamente). La TM fue significativamente inferior para los ovocitos vitrificados previa MIV (77,6% *vs.* 85,8%; pvalor=0,008). Se identificaron cuatro patrones de configuración de la placa metafásica: (1) huso polimerizado y alineación cromosómica adecuada (N/N), (2) huso polimerizado y presencia de cromosomas dispuestos fuera del plano ecuatorial (N/PA), (3) huso despolimerizado y presencia de cromosomas dispuestos fuera del plano ecuatorial (A/PA) y (4) huso despolimerizado y cromosomas dispersos por el ooplasma (A/A). El patrón A/A fue significativamente mayor en los ovocitos del GBVO-PI en comparación con GBCONTROL (29,6% *vs.* 12,1%; pvalor=0,003). La tasa de conformación normal del huso fue significativamente inferior en el GBVO-PI que en el GBCONTROL (61,1% *vs.* 81,8%; pvalor=0,011). Con respecto a la acetilación el 100% de los ovocitos vitrificados (GBVO-PI y GBVO-MII) presentaron acetilación en H3K9, valor significativamente superior (pvalor<0,001) al encontrado en el GBCONTROL (72,7%). En estos últimos, se observó acetilación con diferencias significativas entre los ovocitos con maduración temprana y tardía (24h:93,1% *vs.* 49h:56,8%; pvalor=0,001). De los ovocitos del GBCONTROL sin acetilación en el ooplasma (27,3%), en el 9,1% se detectó señal en el corpúsculo polar, mientras que en el 18,2% no. Las tasas de conformación nor-

mal fueron significativamente superiores cuando no había señal de acetilación (94,4% *vs.* 52,1%; pvalor=0,001).

CONCLUSIONES

La vitrificación aumenta el porcentaje de ovocitos con patrón GVBDi. El método de vitrificación empleado es válido tanto para PI como MIIMIV. La capacidad madurativa y la correcta formación de la placa metafásica de los PI se ve comprometida con la vitrificación en PI. La técnica de vitrificación aumenta la presencia de acetilación residual en H3K9 de MIIMIV. Esta acetilación residual tiene un efecto nocivo sobre la correcta formación de la placa metafásica. Así mismo, nuestros resultados sugieren una posible ola de reacetilación tras la rotura de la VG.

P-107

EVALUACIÓN DEL POTENCIAL DE IMPLANTACIÓN DE EMBRIONES EUPLOIDES, ASOCIADO AL USO DE UN ALGORITMO MORFOCINÉTICO EMBRIONARIO, MEDIANTE INTELIGENCIA ARTIFICIAL. (PRIMEROS RESULTADOS DE UNA UNIDAD DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA DE UN CENTRO PÚBICO)

Dina Pabón Realpe, B Lozano, I Torres, M Pérez, C Pérez, S Cortés, I Peinado, MJ Bernad, J Gálvez, J Álvarez
Unidad de Reproducción Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca
Murcia (Murcia)

INTRODUCCIÓN

La selección embrionaria sigue siendo uno de los grandes retos de la embriología para poder realizar más transferencias de un único embrión y mejorar los resultados de los tratamientos. Las aneuploidías son una de las principales causas que limitan las probabilidades de éxito. Actualmente, existen técnicas disponibles para su diagnóstico como el test genético preimplantacional (PGT) que, a pesar del impacto en el proceso, nos ayuda a seleccionar embriones euploides con un mayor potencial de implantación.

Además, la implementación de algoritmos de inteligencia artificial que permiten la clasificación automática de embriones en base a su morfocinética y calidad, ha demostrado ser una herramienta valiosa para reforzar el proceso de selección mediante la evaluación de los pasos del desarrollo embrionario y su clasificación morfológica, estos algoritmos pueden contribuir significativamente a la identificación de los embriones con mayor probabilidad de implantación exitosa.

OBJETIVO

Analizar los primeros resultados de nuestro programa de PGT, evaluando automáticamente la morfocinética del embrión mediante el sistema KIDScoreD5, sistema automatizado que clasifica de uno a diez el embrión, en función de su desarrollo morfocinético y su calidad.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo entre el 1/5/2022 y el 1/4/2023 de pacientes sometidos a PGTA y PGTM/PGTA, a los que se les transfirió un único embrión euploide. Los embriones transferidos se comparan según el KIDScoreD5 v3.2 para cada embrión y se analizan la tasa de implantación, la tasa de gestación clínica y el aborto espontáneo.

RESULTADOS

Se realizaron 77 ciclos con PGT, 39 pacientes tuvieron por lo menos un embrión euploide transferible, de los cuales se han realizado 29 transferencias de embrión único tras PGT, con una tasa de implantación de 65,52% y una tasa de gestación clínica evolutiva por transferencia de 51,72%.

Según el KIDScoreD5 morfocinético del embrión euploide transferido, las pacientes con gestación negativa tuvieron un KIDScoreD5 medio de 6,7±1,4 y las pacientes con gestación positiva de 7,4±1,5 (NS). La edad media materna de las pacientes con gestación negativa y positiva fue de 32,8±3,5 y 34,8±3,9 respectivamente (NS). El KIDScoreD5 medio para tasa de gestación clínica evolutiva fue de 7,5±1,6. La tasa de aborto espontáneo fue de 6,89%. En cuanto a la edad de las pacientes, los datos siguen una distribución normal, el análisis de la correlación de Pearson muestra que no hay asociación entre la edad y el KIDScoreD5, aunque necesitaríamos aumentar el tamaño muestral para obtener resultados concluyentes.

CONCLUSIONES

Nuestros datos sugieren que las transferencias de un único embrión euploide con un KIDScoreD5 más alto, tienen una tendencia a mejorar la tasa de gestación, implantación y embarazo evolutivo. Sin embargo, necesitamos aumentar el número de casos para evaluar mejor esta tendencia.

P-108

IMPACTO DE LOS POLIMORFISMOS CROMOSÓMICOS FEMENINOS EN LOS RESULTADOS CLÍNICOS TRAS TRANSFERENCIA EN FRESCO Y CRIOTRANSFERENCIA DE EMBRIONES EUPLOIDES

Nuria Ruiz Espinosa[1], L Luque Martínez[1], Á Linares Bernabéu[1], J A Ortiz Salcedo[2], B Ayllón Ramos[1], J Bartolomé García[1], E Abellán Amorós[1], J Ten Morro[1]

[1]Instituto Bernabéu - Albacete (Albacete), [2]Instituto Bernabéu Biotech - Alicante (Alicante)

INTRODUCCIÓN

Clásicamente los polimorfismos cromosómicos (PC) han sido considerados como variantes de la normalidad sin repercusión clínica. Sin embargo, en los últimos años existe un interés creciente sobre su posible influencia negativa en la reproducción humana. Aunque no está claro el mecanismo por el cual las variantes polimórficas pueden afectar a la fertilidad, lo que sí se ha constatado es que su prevalencia es mayor en la población infértil, por lo que es razonable considerarla como un posible condicionante de la fertilidad humana.

OBJETIVO

Evaluar la posible correlación entre la presencia de PC femeninos y resultados clínicos tras transferencia en fresco y criotransferencia de embriones euploides biopsiados para PGT-A.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo de una cohorte de parejas sometidas a ciclos de FIV con ovocito propio y cariotipo entre julio de 2017-diciembre de 2022. Analizamos 99 ciclos de transferencia en fresco (TEF), 50 incluidos en el grupo control (GC) y 49 en el grupo estudio (GE); y 102 ciclos de criotransferencia (CT) de embriones tras PGT-A, 59 ciclos del GC y 43 del GE.

Se siguieron las pautas del Sistema Internacional para la Nomenclatura Citogenética Humana (ISCN) para el análisis del cariotipo, realizado antes de iniciar el ciclo FIV. Se analizó mediante el *software* estadístico R (v.4.2.0) la asociación entre diferentes variantes polimórficas (qh- , qh+ , ps+ , inversiones y polimorfismos cromosómicos combinados (PCC)) y las tasas de B-hCG positiva, embarazo bioquímico (ABQ), embarazo clínico (EC), embarazo evolutivo (EEV) y recién nacido vivo (RNV).

El análisis se corrigió por factores de confusión, como edad materna, calidad seminal y embrionaria, entre otros.

RESULTADOS

En las TEF, la media de la edad materna fue de 37,72 ±3,98 años en GC y 36,73±3,59 en GE (p=0,002). No se observaron diferencias estadísticamente significativas en las tasas de B-HCG positiva 60% GC *vs.* 50% GE, ABQ 11% GC *vs.* 29% GE, EEV 40% GC *vs.* 29% GE. Sin embargo, las tasas de EC 53,3% GC *vs.* 35,5% GE (p=0,033) y RNV 37,8% GC *vs.* 19,7% GE (p=0,008) fueron significativamente menores en el GE. Al categorizar por tipo de PC, observamos que las pacientes con PCC tuvieron mayor ABQ 11,1% GC *vs.* 60% GE (p= 0,026) y menores tasas de EC 88,9% GC *vs.* 40% GE (p= 0,027), EEV 63,9% GC *vs.* 20% GE (p= 0,023) y RNV 62,5 GC *vs.* 20% GE (p= 0,007).

En las CT tras PGT-A, se biopsiaron de media 3,46±2,22 embriones en GC y 3,40±1,65 en el GE (p= 0,8). La edad media materna fue 38,27±2,28 años en GC y 38,65±2,73 en GE (p= 0,4). Los resultados globales no mostraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a B-HCG, EC, ABQ y RNV. Tras categorizar los PC, observamos que las pacientes portadoras de "ps+" presentaron: nivel inferior de B-HCG próximo a la significación estadística, 67,2% en GC y 39,1% en GE (p= 0,052) y menores tasas con significación estadística de EC (59,7% *vs.* 30,4%, p= 0,030), EEV (53,7% *vs.* 21,7, p= 0,011) y RNV (p= 0,020).

CONCLUSIONES

A pesar de que la edad materna fue significativamente menor en el GE, la tasa de RNV fue inferior en las TEF. En las criotransferencias de embriones euploides, las tasas clínicas fueron equiparables al GC, excepto en las pacientes portadoras de "ps+". Estos resultados nos permitirían ofrecer un adecuado consejo genético y un tratamiento más personalizado a los pacientes con el objetivo de optimizar los resultados de un tratamiento de FIV. Sin embargo, se necesitarían más estudios prospectivos para corroborar nuestros resultados iniciales.

P-109

REVISANDO EL CONCEPTO Y EL VALOR UMBRAL DE EUBIOSIS ENDOMETRIAL Y DOMINANCIA DEL GÉNERO *LACTOBACILLUS*

Antonio Martínez Lara[1], M Pérez Sánchez[1], C Díaz López[1], D Cotán[1], C Morales Torres[1], D Campos Rodero[2], L Díez Tercero[2], M Sandalinas Alabert[2], JA Horcajadas Almansa[3]
[1]Pronacera Therapeutics - Sevilla (Sevilla), [2]DiNA Science - Barcelona (Barcelona), [3]Sinae - Sevilla (Sevilla)

INTRODUCCIÓN

Comúnmente, la eubiosis endometrial ha sido caracterizada por una presencia dominante del género *Lactobacillus* (al menos el 90%), mientras que una presencia menor de este género ha sido sinónimo de disbiosis endometrial. Sin embargo, en los últimos años esta creencia se ha puesto en duda debido a la teoría de que una abundancia superior al 50% (dominación teórica) podría ser considerada como dominancia de *Lactobacillus*. No obstante, existen pocos estudios que analicen la influencia de la abundancia relativa de este género en la funcionalidad endometrial.

OBJETIVO

Determinar si el perfil de expresión de un conjunto de genes implicados en la funcionalidad endometrial podría verse afectado por la abundancia relativa de *Lactobacillus*.

MATERIAL Y MÉTODO

En el estudio, de tipo prospectivo observacional, se incluyeron un total de 61 pacientes (edad media = 39,04± 3,21 años). Las pacientes se sometieron a una extracción de biopsia endometrial para realizar un análisis del microbioma local. Se realizó una RT-qPCR para la detección de ciertos microorga-

nismos y patógenos relacionados con salud reproductiva. Las muestras se seleccionaron basándose en la ausencia de patógenos y en la presencia de un perfil dentro de rango del resto de microorganismos, y fueron clasificadas según la abundancia del género *Lactobacillus*: 43 muestras <90% (edad media = 39,4±3,04 años) y 18 muestras =>90% (edad media =38,1±3,51 años).

Finalmente, se realizó un análisis de expresión génica de 182 genes relacionados con la implantación y la funcionalidad endometrial mediante RT-qPCR por microfluídica.

Los datos se analizaron mediante el método Delta-Delta Ct, y el valor de *fold change* se determinó mediante la prueba de Wilcoxon.

RESULTADOS

Solo 2 de los 182 genes analizados (1,09 %), PROK1 y IL10 muestran diferencias significativas según el umbral de análisis (*Lactobacillus* =>90% *vs. Lactobacillus* <90%). Particularmente, PROK1, un gen que está relacionado con la invasión del trofoblasto y la placentación, se encontraba sobreexpresado en el "grupo *Lactobacillus* <90%", mientras que IL10, que está relacionado con la respuesta inmune y la regulación de los ratios de las células inmunitarias, está sobreexpresado en el "grupo *Lactobacillus* =>90%".

Además, se observó por la disminución en el umbral de corte de *Lactobacillus* (>80% *vs.* <80% y >70% *vs.* <70%), un cambio significativo (p<0,05) en el perfil de expresión de algunos genes relacionados con la funcionalidad endometrial.

CONCLUSIONES

La abundancia del género *Lactobacillus* en muestras endometriales, como factor único, no parece afectar cualitativamente la funcionalidad endometrial. Por lo tanto, los conceptos de eubiosis y dominancia de *Lactobacillus* deben reevaluarse. Es necesario identificar el nivel exacto de dominancia de *Lactobacillus* que tiene un efecto directo sobre el endometrio, siendo la transcriptómica una herramienta apropiada para ello.

P-110

¿ES EL PGT-A EL NUEVO CAFÉ PARA TODOS DE LA REPRODUCCIÓN ASISTIDA?

M.ª Carmen Cañadas Gálvez, J Gijón de la Santa, C Marquina Barrera, M Ibáñez López, L Martínez de la Cruz, JA Gragera Segura, C Urda Muñoz, M de la Casa Heras, V Badajoz Liébana, J Llácer Aparicio
Ginefiv GeneraLife IVF
Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

La realización del PGT-A sigue siendo un tema controvertido en la actualidad en cuanto al grupo de pacientes en el que es razonable su indicación. En estos tiempos, en los que tantas técnicas disponibles pueden abrumar a los pacientes que buscan información en las redes y llegan solicitando hacer "todo lo que haya disponible para asegurar que todo va a ir bien" resulta de especial importancia disponer de la información más adecuada a nuestras pacientes que ayude a tomar la decisión más adecuada.

OBJETIVO

Evaluar las tasas de aneuploidías por grupos de edad en las pacientes de nuestro medio.

MATERIAL Y MÉTODO

Se computan los casos de PGT-A realizados en el año 2022, teniendo en cuenta la edad de la mujer y el estatus cromosómico, distinguiendo 5 grupos de edad: 35-36 años, 37-38 años, 39-40 años, 41-42 años, >42 años y 2 categorías, según el estatus cromosómico: aneuploide y euploide; siendo un total de 1.289 los embriones biopsiados.

No se consideró el grupo de menores de 35 años al tratarse en general de casos de ovodonación o de mujeres muy jóvenes con indicación de factor masculino, también se han descartado de la comparación los embriones mosaico y aquellos con resultado "no informativo" / "ADN no detectado", etc., debido a la controversia que suscitarían esas situaciones ya que pueden ser dependientes de operador.

Tras la comprobación de que las variables no cumplen la normalidad y por tanto es válido el estudio no paramédico para la comparación entre grupos, que se realiza mediante cálculo de chi-cuadrado, considerando significativos los resultados con $p<0,05$.

RESULTADOS

Ver tabla adjunta.

CONCLUSIONES

Aunque algunas publicaciones parecen abogar por un incremento significativo de aneuploidías en mujeres mayores de 35 años, marcando esa edad como el inicio de "edad materna avanzada", nuestros datos indican una tasa de aneuploidía baja hasta la edad de 37 años siendo independiente del número de embriones obtenidos en el ciclo.

En la era de la medicina personalizada, el "café para todos" respecto al PGT-A no tiene cabida y se trata de valorar cada caso de forma personalizada, atendiendo a las características propias de la paciente (historia previa, respuesta ovárica, idea de familia, situación emocional…).

Si bien por encima de 37 años resulta razonable indicar el PGT-A, entre 35 y 37 años los datos hacen que la decisión deba personalizarse debiendo la paciente participar en la toma de decisiones.

TABLAS

Tabla I.

GRUPO EDAD	MEDIA EMBRIONES (embriones totales= 1210)	TASA EUPLOIDES (euploides totales= 424)
35-36	2,12 (53)	71,69% (35)
37-38	2,66 (208)	40,86% (81)
39-40	2,43 (441)	33,33% (140)
41-42	2,11 (336)	27,97% (149)
>42	1,89 (172)	14,20% (23)

	35-36	37-38	39-40	41-42	>42
TASA GESTACION	63,15%	64,58%	52,56%	49,12%	50%

P-111

TASA DE FECUNDACION COMO VALOR PREDICTIVO DE RECIÉN NACIDO VIVO

Marina Pascual Herranz, A Arnanz Poyatos, F Bronet Campos, JA García Velasco, N López Vacas, M López Rodríguez
IVIRMA
Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años, las condiciones dentro del laboratorio han ido mejorando con el único objetivo de optimizar los cultivos, y, por consiguiente, aumentar las oportunidades de los pacientes para lograr embarazo, y recién nacido vivo sano (RNV) en casa.

Diversos grupos de investigación ya trabajan sobre modelos predictivos que puedan orientar a las pacientes a conocer sus posibilidades reales de RNV en base al recuento de folículos antrales, la respuesta ovárica, o incluso al número de blastocistos vitrificados, ya que el coste emocional de este tipo de tratamientos suele ser elevado.

Con este tipo de modelos, podríamos dar información más individualizada en base a las características de cada paciente, y poder ser más realistas en cuanto a las expectativas de los tratamientos.

OBJETIVO

Nuestro objetivo es crear un modelo predictivo, basado en los datos recopilados en nuestro centro, con el que podamos determinar la posibilidad de RNV, a partir de la tasa de fecundación. Las pacientes fueron estratificadas por grupos de edad: <35; 35-38; >38 años.

Como objetivo secundario, estudiaremos si la tasa de implantación y la tasa de blastocisto útil se correlacionan con la tasa de fecundación.

MATERIAL Y MÉTODO

Se trata de un estudio retrospectivo, incluyendo ciclos de ICSI procedentes de ovocitos propios realizados en IVI Madrid entre enero de 2019 y diciembre de 2021 dividido en grupos de edad del ovocito.

El estudio incluye un total de 1.922 transferencias.

Se incluyeron en el estudio pacientes que completaron un ciclo de ICSI, habiendo tenido una primera transferencia embrionaria (bien en fresco, o bien criotransferencia en los casos de "freeze all"), fallos de fecundación, ovocito fresco y desvitrificado, semen eyaculado propio y donado.

Como criterios de exclusión se encuentran los ciclos en los que no se recuperaron ovocitos, ni ovocitos maduros (MII). Los ciclos con diagnóstico genético preimplantacional y las biopsias de testículo también fueron excluidas.

Se realizó un análisis ROC para determinar la especificidad y sensibilidad predictiva del modelo. Se incluyeron como factores de confusión aquellas variables que salieron significativas en el análisis de homogeneidad (edad del ovocito, edad paterna y tasa de blastocisto útil). Para los objetivos secundarios, se utilizaron modelos de regresión lineal.

RESULTADOS

Los parámetros de estudio incluidos fueron: 35,89 años (±3,7), índice de masa corporal 22,67 kg/m2 (±6,19), tasa de fecundación total (número de ovocitos fecundados/número total de ovocitos microinyectados) 75,22% (±19,99) con una tasa de blastocisto útil (número de embriones congelados o

transferidos/número de ovocitos fecundados) de 74,42% (±27,35).

Según el modelo utilizado, la tasa de fecundación no es predictiva de RNV en ningún grupo de edad; <35 años AUC: 0,55 (0,491-0,614); p=0,762, pacientes 35-38 años AUC: 0,52 (0,437-0,604); p=0,99, pacientes >38 años AUC: 0,59 (0,491-0,694); p=0,787.

La tasa de fecundación no presenta una correlación significativa con la tasa de implantación en ningún grupo de edad analizado (R2ajustada=0,005; p=0,439) pero sí con la tasa de blastocisto útil (R2ajustada=0,005; p=0,0196) en el análisis en conjunto.

CONCLUSIONES

En pacientes que realizan tratamiento de fecundación *in vitro* con ovocito propio, la tasa de fecundación no es predictiva de la tasa de implantación ni de RNV. Sin embargo, nuestro estudio revela que la tasa de blastocisto útil, independiente de la edad materna, es un valor importante a tener en cuenta para el éxito del tratamiento, con lo que debería considerarse para futuras investigaciones.

P-112

ANÁLISIS MOLECULAR DETALLADO DEL ORIGEN DE ANEUPLOIDÍAS POR CROMOSOMA EN BLASTOCISTOS HUMANOS

Mireia Sandalinas Alabert, E Toro Toro, E García Guixé, A Guzmán Serrano, L Álvarez Gómez, D Campos Rodero, C Giménez Sevilla
DiNA Science
Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

Los errores cromosómicos, conocidos como aneuploidías, están considerados como el principal factor de riesgo de aborto espontáneo. Las anomalías cromosómicas letales se consideran comunes en los embriones humanos, y los abortos espontáneos relacionados con aneuploidías son solo una parte observable del problema. La aplicación de herramientas de genotipado como *arrays* de SNPs (SNPa) permite obtener una detallada visión de las anomalías cromosómicas, su origen parental y el origen meiótico/mitótico de la aneuploidía en embriones humanos.

OBJETIVO

Estudio detallado de la aneuploidía observada en estadio de blastocisto según cromosoma en base a su frecuencia, tipología y origen parental.

MATERIAL Y MÉTODO

Se analizan 948 eventos de aneuploidía en un total de 572 embriones procedentes de 327 ciclos de PGT-M (edad materna promedio de 34,1 años [18-44]), diagnosticados mediante genotipado con aSNP como aneuploides (511) y embriones mosaicos (61). Se evalúan según el tipo de aneuploidía (completa o parcial, monosomía [M] o trisomía [T]), el origen (meiótico [materno/paterno] o mitótico), y el cromosoma implicado.

Adicionalmente, se analizaron los puntos de recombinación observados por cromosoma materno y paterno en 87 embriones sin aneuploidía detectada y se evaluó la frecuencia de no recombinación para cada cromosoma.

RESULTADOS

El 75% de los eventos aneuploides detectados son de origen meiótico (n=712) frente a un 25% de origen mitótico (n=236). El 81% de las anomalías meióticas observadas son de origen materno y el 19% de origen paterno. Las anomalías que afectan a un cromosoma entero representan el 90% del total observado frente a sólo un 10% de anomalías que implican segmentos cromosómicos.

El 63% de la aneuploidía meiótica observada afecta a los cromosomas 22,16,21,15,13,19 y 18 (de mayor a menor frecuencia), mientras que los cromosomas más afectados por errores mitóticos (mosaicismo) durante el desarrollo embrionario son el 4,3,6,7,13,10,5 y 1.

En cuanto al origen parental, los errores maternos más frecuentes se observan en los cromosomas 22,16,21,15 y 19 (54,4% del total materno) mientras que la aneuploidía paterna afecta mayoritariamente a los cromosomas X,4,5,6,7,13,9 (51% del total paterno).

La mayoría de las aneuploidías observadas en el estudio son de origen materno, siendo los eventos más frecuentes las siguientes aneuploidías completas maternas: M22, M16, T16, M21, T22, T21 y T15.

La contribución parental a la aneuploidía varía según el cromosoma analizado, siendo las aneuploidías relacionadas con el cromosoma 21 de origen predominantemente materno (97% materno *vs.* 3% paterno), mientras que para el cromosoma 6 la mayoría de aneuploidías observadas son de origen paterno (33% materno *vs.* 67% paterno).

Respecto a los puntos de recombinación, se observó una media de 3 fenómenos de recombinación por cada 10MB en cromosomas paternos y de 5 por cada 10MB en cromosomas maternos. Se analizaron el número de cromosomas maternos con ausencia de recombinación, y se observó que el cromosoma 22 fue el que presentó la frecuencia más elevada (20% del total observado), seguido de los cromosomas 21, 13 y 19.

CONCLUSIONES

El estudio muestra una descripción detallada de las anomalías cromosómicas encontradas en una población de estudio sin problemas reproductivos y con la edad materna como único factor de riesgo de aneuploidía. La mayor parte de las aneuploidías afectan al cromosoma entero y son de origen materno.

Se observan diferencias en la contribución parental a la aneuploidía según el tipo de anomalía observada y cromosoma implicado. Los cromosomas más frecuentemente implicados en aneuploidía de origen meiótico (cromosomas de tamaño pequeño) difieren de los cromosomas implicados en errores mitóticos.

Se observa una elevada prevalencia de anomalías letales de cromosomas completos, siendo la monosomía 22 de origen materno la más prevalente y no descrita en abortos espontáneos ni fetos. Es posible que esta prevalencia observada guarde relación con la elevada frecuencia de ausencia de recombinación observada y sea el cromosoma más predispuesto a sufrir errores durante la segregación. Las trisomías más frecuentes observadas coinciden con las descritas en abortos y diagnóstico prenatal.

P-113

ASOCIACIÓN ENTRE EL ÍNDICE DE MASA CORPORAL, LA LONGITUD TELOMÉRICA Y LA FERTILIDAD EN MUJERES CON DIFERENTES PERFILES REPRODUCTIVOS

Isabel Córdova Oriz[1], I Delgado Sánchez[2], L Sánchez S-Mellado[3], L Chico Sordo[1], AM Polonio[1], M Medrano[1], I Cuadrado Torroglosa[1], A Pacheco[4], JA García Velasco[5], Elisa Varela[6]

[1]Fundación IVI - IIS La Fe - Madrid (Madrid), [2]Fundación IVI - Valencia (Valencia), [3]IVIRMA Madrid - Madrid (Madrid), [4]IVIRMA Madrid, Fundación IVI, URJC - Madrid (Madrid), [5]IVIRMA Madrid, URJC - Madrid (Madrid), [6]Fundación IVI - IIS La Fe, URJC - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

El sobrepeso afecta negativamente a la fertilidad femenina, disminuyendo la tasa de fecundidad y la calidad ovocitaria, y aumentando los trastornos menstruales. Asimismo, se ha comprobado que el exceso de grasa corporal altera el equilibrio hormonal, lo que puede llevar a una disminución del éxito de las estimulaciones ováricas. A su vez, el sobrepeso se ha relacionado con la aceleración del envejecimiento celular, lo que puede llevar a una reducción de la longitud telomérica (LT) en sangre. Sin embargo, se ha demostrado que la pérdida de peso en personas obesas puede contribuir a mejorar la LT y la salud reproductiva.

OBJETIVO

El propósito de esta investigación es explorar la asociación entre el índice de masa corporal (IMC), la LT y la fertilidad en mujeres con diferentes perfiles reproductivos y un amplio rango de edades simultáneamente.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio prospectivo en IVIRMA Madrid con mujeres que acudieron a la clínica entre enero de 2022 y enero de 2023. Las mujeres se dividieron en 3 grupos: donantes de ovocitos (DON; mujeres jóvenes), con reserva ovárica normal (RON; AMH≥2ng/ml; mujeres de mediana edad) y con reserva ovárica disminuida (ROD; AMH<2ng/ml; mujeres de mediana edad). La LT en sangre y células de la granulosa se midió mediante hibridación *in situ* fluorescente cuantitativa. La shelterina del complejo telomérico, TRF1, se midió mediante inmunofluorescencia en granulosas. Las imágenes de ambas técnicas fueron adquiridas con microscopio ScanR, y analizadas con inteligencia artificial (TruAI) basada en Deep learning.

RESULTADOS

Se reclutaron 63 mujeres divididas en tres grupos: 21 DON (IMC de 22,3±2,8 y 22,9±2,8 años), 21 RON (IMC de 22,0 y 37,2±3,4 años) y 21 ROD (IMC de 22,5±2,8 y 35,2±6,3 años). El grupo DON presentó un menor porcentaje de telómeros cortos en sangre en comparación con los grupos RON y ROD (17,2±12,8 *vs.* 49,5±24,0 y 46,7±28,3; p=<0,0001 y p=0,0002 respectivamente), así como una mayor LT en granulosas (8.624±3.349 *vs.* 6.421±3.143 y 6.320±2.889; p=0,006 y p=0,01). Los niveles de TRF1 en granulosas fueron similares en los grupos. No se encontró una asociación significativa entre el IMC y la LT en las granulosas de ningún grupo. Sin embargo, se observó una correlación negativa entre el IMC y la LT en sangre en el grupo ROD (r=-0,4; p=0,04). Además, en granulosas del grupo ROD, se encontró una asociación positiva entre el IMC y TRF1 (r=0,4; p=0,05). Al correlacionar el IMC con los parámetros de fertilidad, se observó una asociación positiva entre el IMC y los niveles de estradiol en el grupo ROD (r=0,4; p=0,04), así como asociaciones negativas con la tasa de maduración de ovocitos (r=-0,4; p=0,05) y la tasa de implantación (r=-0,6; p=0,05) en el mismo grupo.

CONCLUSIONES

En las mujeres con ROD y con IMC corporal elevado, se observó un aumento en los niveles de estradiol junto con una reducción en la calidad ovocitaria y fallos en la implantación, tal como se ha descrito en la literatura. Además, los IMC altos se relacionaron con una disminución en la LT y un aumento en

la protección telomérica (TRF1), lo que podría ser resultado de un ambiente tóxico causado por el desequilibrio hormonal. Sin embargo, el impacto del IMC en la fertilidad no se observó en mujeres DON y RON, lo que podría deberse a una mayor LT y reserva ovárica en estos grupos. Es importante destacar que este estudio se realizó con un rango de IMC limitado sin valores extremos, por lo que se necesitan más estudios para confirmar estos hallazgos.

P-114

ANÁLISIS MEDIANTE *MACHINE LEARNING* DEL IMPACTO DE LA BIOPSIA EMBRIONARIA EN LAS TASAS DE ÉXITO DE LOS CICLOS DE PGT-A

José Antonio Ortiz Salcedo[1], B Lledó Bosch[1], R Morales Sabater[1], J Ten Morro[1], L Herrero Grassa[2], A Bernabéu García[1], R Bernabéu Pérez[1]

[1]Instituto Bernabéu Alicante - Alicante (Alicante), [2]Instituto Bernabéu Madrid - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

El PGT-A requiere la realización de una biopsia embrionaria para la obtención de un número adecuado de células que permita establecer el *status* cromosómico del embrión.

La biopsia podría tener un efecto deletéreo sobre el embrión, aunque no existe un trabajo en el que se analicen de forma pormenorizada las consecuencias sobre cada uno de los eventos que tienen lugar hasta el establecimiento de un embarazo evolutivo.

La inteligencia artificial (IA) se está aplicando de una forma creciente en la medicina reproductiva. Estos algoritmos permiten crear modelos con una elevada capacidad predictiva y son de gran utilidad para identificar relaciones entre variables que no es posible detectar por métodos estadísticos clásicos.

OBJETIVO

Identificar y caracterizar mediante *machine learning* el impacto que producen las diferentes variables de la biopsia embrionaria en los datos clínicos de los ciclos PGT-A: Test de embarazo positivo, Aborto bioquímico y Aborto clínico.

MATERIAL Y MÉTODO

El diseño del estudio es retrospectivo y observacional. Se consideraron 6.020 embriones de 2.879 ciclos PGT-A (febrero de 2013 - septiembre de 2021).

Todos los embriones se someten a *assisted hatching* en día 3. La biopsia se lleva mediante pulsos láser de 0,536 ms (Saturn Active de Research Instruments) los días 5, 6 o 7 del desarrollo embrionario en función de la calidad embrionaria y accesibilidad de las células del trofoectodermo. El análisis cromosómico se realizó mediante NGS (Veriseq -Illumina-).

Se realizaron 3 modelos para predecir el Test de embarazo positivo, Aborto bioquímico y clínico. Se utilizaron 5 algoritmos de *machine learning* de clasificación supervisada. Se incluyeron en el estudio 47 predictores de las cuales 6 estaban relacionados con el embrión y la biopsia: día de biopsia y calidad embrionaria, número de disparos láser y de células biopsiadas, calidad de la biopsia y número de embriones biopsiados.

Para cada uno de los modelos se determinaron los valores SHAP (Shapley-Additive-exPlanations) que permiten cuantificar la capacidad predictiva de las variables y su impacto sobre los eventos clínicos analizados.

RESULTADOS

Para cada uno de los 3 modelos predictivos (Test de embarazo positivo, Aborto bioquímico y Aborto clínico), el algoritmo seleccionado fue aquel que tenía un mayor AUC (área bajo la curva ROC). En todos los casos el algoritmo seleccionado fue Random Forest y los valores de AUC obtenidos fueron 70,3%, 88,8% y 90,8% respectivamente.

Para el modelo "Test de embarazo positivo" sólo 2 variables de la biopsia (día y número de células biopsiadas) están incluidas entre los 10 mejores predictores. Los embriones biopsiados en día 5 y con un número bajo de células biopsiadas tienen una mayor probabilidad de implantación.

En el caso del modelo predictivo "Aborto bioquímico", el impacto de la biopsia embrionaria es muy superior ya que 5 variables aparecen el *ranking* de los mejores predictores: día de la biopsia, calidad embrionaria, número de células biopsiadas, número de disparos láser y número de embriones biopsiados.

Los embriones biopsiados en día 6 o 7 y con peores calidades embrionarias (C) son los que presentan mayor riesgo de sufrir un aborto bioquímico. Esta probabilidad también aumenta a mayor número de disparos láser, células biopsiadas y número de embriones biopsiados.

Finalmente, tan sólo una variable, el número de células biopsiadas, es relevante en el modelo predictivo de "Aborto clínico". El resto de las variables de la biopsia tienen un papel menor en las interrupciones tardías del embarazo.

CONCLUSIONES

La biopsia tiene un papel importante en el establecimiento de un embarazo evolutivo y especialmente el número de células biopsiadas. Los embriones que es posible biopsiar en día 5, de buena calidad (A), con pocos disparos láser y células biopsiadas, tienen una mayor posibilidad de dar lugar a embarazos evolutivos en ciclos de PGT-A.

P-115

LA PRIMERA VISITA HECHA POR UN EMBRIÓLOGO. ¿QUÉ OPINAN LOS PACIENTES?

María Fernández Díaz, A Gayo Lana, D Díaz Fernández, L Viado Vega, B Alonso Cuevas, P López Cañal, P Muñoz Oreña
Clínica ERGO
Gijón (Asturias)

INTRODUCCIÓN

Históricamente han sido siempre los ginecólogos quienes reciben a los pacientes cuando acuden a la primera visita con el centro de reproducción asistida, siendo ellos quienes realizan la historia médica, solicitan las pruebas complementarias necesarias, y quienes indican y explican la técnica de reproducción asistida más adecuada en cada caso. El papel del embriólogo se ha limitado, en el mejor de los casos, a llamar a los pacientes para explicar la evolución morfológica de los embriones, pero poco más.

Sin embargo, recientemente se ha notado un incremento en la demanda de información a embriólogos a través de internet y redes sociales, lo que muestra una necesidad por parte de los pacientes sobre el conocimiento de todos los procesos que ocurren en las unidades de reproducción asistida.

Queriendo dar más valor al papel del embriólogo en una clínica de fertilidad, comenzamos a realizar las primeras visitas exclusivamente por embriólogos séniors, y decidimos evaluar el grado de satisfacción de los pacientes frente a este cambio.

OBJETIVO

Evaluar el grado de satisfacción de los pacientes cuando acuden a un centro de reproducción asistida y esa primera visita la realiza un embriólogo en lugar de un ginecólogo.

MATERIAL Y MÉTODO

Se recibieron 190 encuestas anónimas realizadas por parejas o mujeres solas que realizaron una primera visita para reproducción asistida entre el 24 de noviembre de 2021 y el 1 de mayo de 2023.

La encuesta fue enviada entre 1 y 2 días después de dicha cita a través de mensaje de WhatsApp, accediendo de manera totalmente anónima a una plataforma donde tenían la posibilidad de puntuar sobre 4 cuestiones referentes a su experiencia en la clínica.

En todos los casos, esa primera visita fue el primer y único contacto realizado con el centro antes de responder a la encuesta, sin haber visto con anterioridad a ningún otro profesional del centro.

RESULTADOS

Las cuestiones planteadas fueron las siguientes:

Valore su opinión sobre que la primera visita la realice un embriólogo en lugar de un ginecólogo. El 35,0% de los pacientes que respondieron, indicaron indiferencia en quién les hubiese recibido, el 2,5% habría preferido que fuera un ginecólogo y el 53,4% estaba encantado de que hubiese sido un embriólogo ya que era lo que buscaba.

Valore el nivel de claridad y comprensión de la información aportada en la primera visita. El 81,0% ha comprendido y obtenido incluso más información de la que esperaba.

Valore su experiencia en la primera visita a la clínica. El 84,7% refirió haber sido muy buena, siendo ésta la máxima puntuación permitida en la encuesta.

Valore si se plantea hacer un tratamiento con nosotros tras esta primera consulta. El 85,2% de los que respondieron a la encuesta, refieren que probablemente o incluso sin duda, harán el tratamiento en la clínica.

CONCLUSIONES

Un elevado porcentaje de pacientes aceptan e incluso buscan que esa primera visita la realice un embriólogo en lugar de un ginecólogo, perciben la información de manera mucho más clara y refieren un grado de satisfacción sobresaliente.

Por tanto, podemos concluir que los pacientes se sienten gratamente satisfechos con el trabajo realizado por el embriólogo y supone un elevado porcentaje de retención en el centro.

Gracias a la formación que tienen los embriólogos sénior no solo en conceptos meramente de laboratorio sino también en anatomía reproductiva, ginecología, farmacología o trastornos de fertilidad, entre otros, dota de una preparación suficiente para abordar una primera visita de fertilidad.

TABLAS Y FIGURAS

Figura V. Diversidad alfa. Boxplots showing richness, Shannon, and Simpson metrics on each group. Wilcox test was applied between groups.

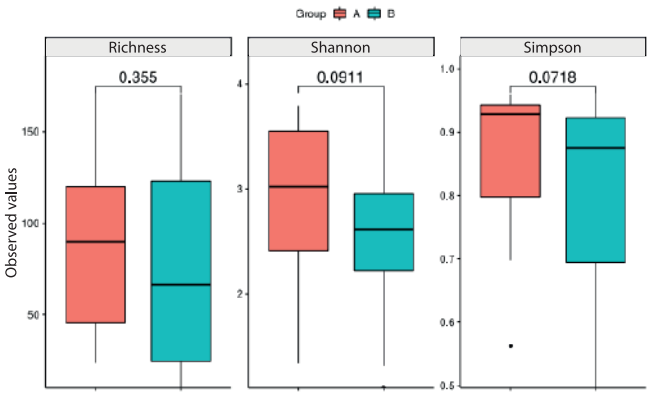


Tabla VI: Diversidad beta. PERMANOVA test results.

	DF	Sum of squeares	R2	F	P-value	Significance
Group	1	0.5337	0.0347	1.3665	0.1	-
Residual	38	14.8412	0.9653	NA	NA	
Total	39	15.3749	1	NA	NA	

P-116

EFECTO DE LA ECLOSIÓN ASISTIDA MEDIANTE LÁSER (LAH) EN BLASTOCISTOS DESCONGELADOS SOBRE LAS TASAS DE IMPLANTACIÓN EMBRIONARIA: ESTUDIO PROSPECTIVO ALEATORIZADO MULTICÉNTRICO

Elisa Serrano Revuelta, E Álvarez Socias, N Ruizz Espinosa, H Fernández Cobas, N Díaz Hernández, M Aparicio González, R Bernabéu Pérez, J Ten Morro
Instituto Bernabéu
Palma (Illes Balears)

INTRODUCCIÓN

La eclosión asistida (AH) fue descrita por primera vez en 1988 por Cohen y col. en un artículo publicado en *The Lancet* después de conseguir el primer embarazo. En ese estudio, se llevó a cabo una disección parcial de la zona pelúcida (ZP) de forma mecánica.

Después de más de 25 años de su aplicación en embriones humanos, el uso de AH en términos de eficacia aún no está claro. No disponemos de suficientes estudios concluyentes que nos permitan a los embriólogos implementar este procedimiento de forma rutinaria en nuestros laboratorios.

A la hora de realizar la eclosión asistida, puede existir gran heterogeneidad a muchos niveles. A nivel técnico se puede realizar de forma mecánica, química o mediante láser. A nivel embrionario se puede realizar en diferentes estadios de desarrollo. También a nivel estratégico se puede realizar en distintos tipos de ciclo (transferencia en fresco y criotransferencia (CT)).

Por ello, nosotros nos hemos querido centrar en el uso de AH mediante pulsos de láser (LAH), al considerarse éste una herramienta ideal para los procedimientos microquirúrgicos. Se trata de una técnica segura y está comúnmente presente en las clínicas de reproducción asistida de todo el mundo.

OBJETIVO

Evaluar la eficacia del uso de LAH en estadio de blastocisto para mejorar las tasas de implantación y gestación en pacientes que realizan una CT.

MATERIAL Y MÉTODO

Se incluyeron en el estudio 150 blastocistos no biopsiados procedentes de 150 pacientes. Los embriones fueron descongelados en ciclos de CT tras preparación endometrial convencional.

Se creó una tabla aleatorizada con dos grupos de estudio: el grupo control (embriones sin LAH) y el grupo LAH (embriones con LAH).

En el grupo LAH, inmediatamente después de la desvitrificación del embrión, se creó una apertura en la ZP de aproximadamente 1/8 de su diámetro realizando repetidos disparos de láser con una energía al 100% y duración del pulso de 400 µs.

Tras la CT de un solo blastocisto previamente vitrificado con calidad superior a CC (de acuerdo a los criterios morfológicos de ASEBIR), se registraron los datos clínicos siguientes: test de embarazo positivo (ß-hCG), implantación y gestación clínica.

Además, se tuvieron en cuenta otras variables como la edad materna, edad ovocitaria, el tipo y origen ovocitario (fresco/vitrificado y propio/donado), la calidad embrionaria, el día de desarrollo embrionario (día 5/día 6) y el medio de vitrificación usado (Irvine/Kitazato).

En el análisis estadístico se empleó el programa R Core Team (2022).

RESULTADOS

Se realizó un primer análisis comparativo de los datos clínicos obtenidos entre los grupos control y LAH. No se vieron dife-

rencias significativas en el embarazo (p=0,95), la implantación (p=0,88) y la gestación clínica (p=0,99) (Test chi-cuadrado).

Los p valores de las demás categorías tampoco dieron resultados significativos: preparación endometrial (0,61), edad materna (0,1), edad ovocitaria (0,35), tipo ovocito (0,79), origen ovocito (0,5), calidad embrionaria (0,8), día desarrollo embrionario (0,99) y medio de congelación (0,55).

Para estos últimos valores se usaron los test de Chi-cuadrado, U de Mann-Whitney y T student.

Los resultados se pueden consultar en las tablas I y II del anexo.

CONCLUSIONES

No existe evidencia de que la realización de LAH resulte en una mejoría de los datos clínicos en los ciclos de CT. También concluimos que no tiene un efecto adverso en los ciclos de los pacientes participantes.

Es posible que necesitemos una muestra más grande para tener una mayor evidencia a la hora de realizar o no el procedimiento.

TABLAS

Tabla I.

	Control	AH	Total	p*
Embarazo				
No	36 (24%)	53 (35%)	89 (59%)	0.9461
Sí	29 (19%)	32 (21%)	61 (41%)	
Implantación				
No	42 (28%)	62 (41%)	104 (69%)	0.8780
Sí	23 (15%)	23 (15%)	46 (31%)	
Gestación clínica				
No	48 (32%)	63 (42%)	111 (74%)	0.9999
Sí	17 (11%)	22 (15%)	39 (26%)	
Calidad del blastocisto				
AA	20 (13%)	26 (17%)	46 (31%)	0.7917
AB	13 (9%)	10 (7%)	23 (15%)	
BA	5 (3%)	3 (2%)	8 (5%)	
BB	22 (15%)	38 (25%)	60 (40%)	
BC	0 (0%)	4 (3%)	4 (3%)	
CB	2 (1%)	0 (0%)	2 (1%)	
CC	3 (2%)	4 (3%)	7 (5%)	
Día del desarrollo embrionario				
D+5	59 (39%)	75 (50%)	134 (89%)	0.9929
D+6	6 (4%)	10 (7%)	16 (11%)	
Origen ovocitario				
Propio	28 (19%)	25 (17%)	53 (35%)	0.5561
Donado	37 (25%)	60 (40%)	97 (65%)	
Tipo de ovocito				
Fresco	49 (33%)	56 (37%)	105 (70%)	0.8117
Vitrificado	16 (11%)	29 (19%)	45 (30%)	
Preparación endometrial				
Natural	18 (12%)	26 (17%)	44 (29%)	0.5133
Sustituido	47 (31%)	53 (35%)	100 (67%)	
Estimulado	0 (0%)	6 (4%)	6 (4%)	
Medio de congelación				
Irvine	55 (37%)	62 (41%)	117 (78%)	0.5704
Kitazato	10 (7%)	23 (15%)	33 (22%)	

** Test de Chi-cuadrado*

Tabla II.

	Media	sd	min	max	n	p
Edad materna						
Control	40.5	4.803	29.45	50.96	65	0.1068*
AH	41.8	4.965	29.63	51.10	85	
Edad ovocitaria						
Control	29.52	6.718	19	43	65	0.3601**
AH	28.59	6.880	18	43	85	

Nota: sd = desviación estándar, min = valor mínimo, max = valor máximo, n = tamaño muestral.

** Test T student (varianzas iguales) ** Test U de Mann-Whitney*

P-117

PGT-SR MEDIANTE *ARRAY* DE SNPS

Elena García Guixé[1], E Toro Toro[1], D Campos Rodero[1], M Sandalinas Alabert[1], A Gómez Duro[2], C Giménez Sevilla[1]
[1]DiNA Science - Barcelona (Barcelona), [2]DiNA Science - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

El genotipado de SNPs utilizado en PGT-SR presenta la ventaja de poder discernir entre embriones portadores equilibrados y no portadores de la reorganización cromosómica, además, también permite la detección de embriones cromosómicamente desequilibrados, incluso cuando ambos puntos de corte de la translocación son muy terminales. Además, los *arrays* de SNPs (SNPa) permiten también detectar anomalías cromosómicas numéricas y, a diferencia de la técnica empleada habitualmente en el estudio de aneuploidías embrionarias (NGS), establecer el origen parental de las anomalías meióticas.

OBJETIVO

Evaluar la aplicación de la técnica de *array* de SNPs en el PGT-SR y los resultados obtenidos.

MATERIAL Y MÉTODO

Se aplicó la técnica de array de SNPs en los siguientes casos de PGT-SR:

- 14 casos de translocaciones terminales (no analizables mediante NGS);
- 6 casos de mujer portadora de translocación recíproca X-autosoma;
- 1 caso de translocación recíproca asociada, en equilibrio, a carcinoma renal de células claras familiar;
- 1 caso de paciente con translocación recíproca y enfermedad monogénica (PGT-SR+PGT-M);
- 1 caso en el que los pacientes deseaban conocer el estatus de portador equilibrado/no portador de los embriones analizados.

En total, se biopsiaron 109 embriones en día +5 o +6 de desarrollo embrionario mediante equipo láser. Las células de trofoectodermo biopsiadas fueron amplificadas mediante MDA, procesadas mediante un *array* de SNPs (Human Karyomap, Illumina) y analizadas mediante el *software* BlueFuse Multi. También se procesaron y analizaron muestras de ADN genómico de ambos miembros de la pareja y, cuando fue posible, de un ADN

de referencia. El producto de amplificación sobrante de las muestras embrionarias en las que no se encontraron anomalías cromosómicas meióticas fue reanalizado con la técnica de NGS (Illumina) para el análisis de posibles anomalías mitóticas.

RESULTADOS

La media de edad materna en los ciclos analizados fue de 34 años.

Se ha obtenido resultado de 105 de los 109 embriones biopsiados (96,3%).

En total, 34 embriones fueron diagnosticados como euploides (32,4%), 11 como diploides-mosaicos (10,5%), 30 embriones como desequilibrados (28,6%), 18 como aneuploides (17,1%) y 12 embriones como desequilibrados y aneuploides (11,4%).

De los embriones euploides o diploides-mosaicos (45), 12 resultaron ser no portadores de la reorganización cromosómica materna/paterna (33,3%) y 24 fueron portadores equilibrados (66,7%). En las 9 muestras restantes no pudo establecerse su estatus de portador/no portador al no disponer de referencia con cariotipo conocido. De los portadores equilibrados, 6 fueron diagnosticados como embriones XY portadores de translocación X-autosoma y 2 como portadores de translocación asociada a carcinoma renal de células claras familiar, con lo que no fueron considerados aptos para transferencia.

El total de los 30 embriones con aneuploidías meióticas presentaron un total de 40 eventos de aneuploidía (media de 1,3 eventos/embrión): 22 monosomías (55%) y 18 trisomías (45%). Mayoritariamente, el 80%, afectaron al cromosoma completo (32), y el resto, 20%, a aneuploidías parciales (8). Finalmente, de los que pudo establecerse su origen, 25 son aneuploidías de origen materno (78,1%) y 7 paterno (21,9%). Es de destacar que, del total de aneuploidías parciales en las que pudo determinarse el origen parental (6), el 83% son de origen paterno (5).

La tasa de mosaicismo global en este estudio es del 13,3%.

CONCLUSIONES

El array de SNPs es una herramienta eficaz en los casos en que sea necesario diferenciar entre los embriones portadores equilibrados y los no portadores de una reorganización cromosómica. Además, permite analizar con fiabilidad casos de translocaciones recíprocas con ambos puntos de corte muy terminales, solucionando la limitación de la NGS en estos casos tan específicos.

P-118

EL USO DE MEDIO DE CULTIVO BAJO EN LACTATO PODRÍA MEJORAR EL ÉXITO EN LOS TRATAMIENTOS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA

Rebeca Fernández Martínez, R Fernández, M Velasco, M Fernández, S Puerta, E Rodríguez, J Aizpurua
IVF Life Donostia - Donostia
San Sebastián (Guipúzcoa)

INTRODUCCIÓN

Los medios de cultivo utilizados en los laboratorios de fecundación *in vitro* (FIV) han evolucionado a lo largo de los años con el objetivo de optimizar los resultados y conseguir más éxito en los tratamientos de reproducción asistida.

La optimización de los niveles de nutrientes o la reducción del estrés oxidativo son algunos de los principales factores que han contribuido a la mejora de los medios de cultivo en la reproducción asistida con el fin de proporcionar a los embriones un ambiente más estable y controlado.

Las últimas investigaciones afirman que el uso de un medio de cultivo con baja concentración de lactato podría mejorar el éxito de los tratamientos de reproducción asistida.

El lactato, un subproducto de la fermentación anaeróbica de la glucosa, está directamente relacionado con la acidificación del medio de cultivo y un aumento del estrés oxidativo, que podría afectar negativamente el desarrollo embrionario.

Por ello, el uso de un medio de cultivo bajo en lactato podría reducir esa acidificación y estrés oxidativo del ambiente, lo cual podría mejorar el desarrollo temprano y aumentar las tasas de implantación.

OBJETIVO

El objetivo del estudio es valorar si el uso de un medio de cultivo con baja concentración de lactato aporta una mejora en las tasas de fecundación, blastocisto útil, euploidía y embarazo en los tratamientos de reproducción asistida.

MATERIAL Y MÉTODO

Se ha realizado un estudio retrospectivo en 418 ciclos de ovodonación, 234 ciclos realizados con medio de cultivo único Irvine ® (CSCM-C) y 184 ciclos con medio de cultivo único de Irvine ® con baja concentración de lactato (CSCM -NXC), con un total de 2.905 embriones (1.992 embriones cultivados con CSCM-C y 913 embriones cultivados con CSCM-NXC).

Fueron analizados la tasa de fecundación, blastocisto útil y calidad óptima, euploidía y tasa de embarazo.

Se ha realizado análisis estadístico Chi-Cuadrado.

Los grupos eran comparables, y las diferencias obtenidas no están relacionadas con otras posibles variables.

RESULTADOS

Tras el análisis de los resultados, la tasa de fecundación con 2 pronúcleos fue de 78,97% en aquellos tratamientos realizados con medio de cultivo CSCM-NXC *vs.* 77,01% en aquellos ciclos cultivados con CSCM-C.

Respecto a la tasa de blastocisto útil, no se encontraron diferencias entre ambos medios de cultivo, pero sí en la tasa de blastocistos de calidad óptima, 69,73% con CSCM-NXC y 66,91% con CSCM-C.

Se encontró una mejor tasa de euploidía en aquellos ciclos realizados con CSCM-NXC, 73,47%, en comparación con 67,57% en aquellos tratamientos realizados con CSCM-C.

La tasa de embarazo tras transferencia en fresco (SET) fue mayor en aquellos tratamientos realizados con baja concentración de lactato, 76,32% *vs.* 67,12%.

Tras el análisis estadístico, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los casos, a pesar de que hay una tendencia hacia mejores tasas en los parámetros analizados.

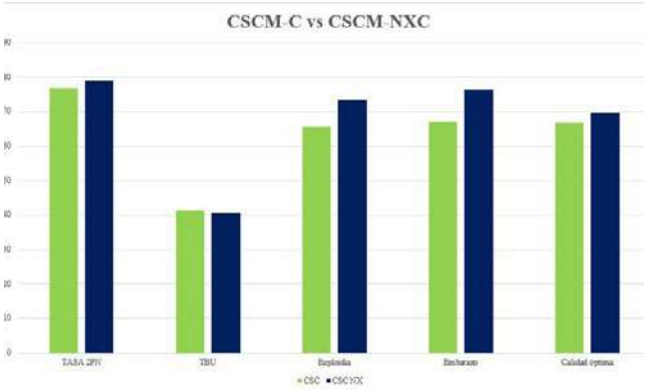
CONCLUSIONES

Los resultados del estudio realizado sugieren que el medio de cultivo con baja concentración de lactato (CSCM-NXC) aporta una mejora en cuanto a la tasa de fecundación con 2 pronúcleos, tasa de euploidía. Además, el medio con baja concentración de lactato mostró una mayor tasa de embriones con calidad óptima y un aumento en la tasa de embarazo tras transferencia en fresco.

Aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, se observa una tendencia a un mejor resultado en los tratamientos de reproducción asistida. Esto puede ser debido a un escaso tamaño muestral de los ciclos realizados con baja concentración en lactato, por lo que se debería continuar el estudio para confirmar esta tendencia.

TABLAS

Tabla I.



P-119

LA ANEUPLOIDÍA PATERNA EXISTE

Mireia Sandalinas Alabert, E Toro Toro, D Campos Rodero, E García-Guixé, A Guzmán Serrano, I Fernández Rodríguez, L Álvarez Gómez, S Afonso Rodríguez, C Giménez Sevilla
DiNA Science, S. A.
Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

La edad materna es el principal factor de riesgo conocido para embarazos con aneuploidías cromosómicas: a medida que aumenta la edad de la mujer, aumenta el riesgo de tener un embarazo con aneuploidía.

El PGT-A permite detectar la aneuploidía en embriones preimplantacionales. No obstante, la técnica empleada habitualmente en el estudio de anomalías cromosómicas embrionarias (NGS) no permite determinar el origen parental de las mismas. El genotipado de SNPs utilizado en ciclos de PGT permite determinar la presencia y el origen parental de las anomalías cromosómicas meióticas.

OBJETIVO

Evaluar la incidencia real de aneuploidías meióticas en función de su origen parental y la edad materna, en pacientes que solicitan PGT-M para prevenir enfermedades hereditarias en su descendencia.

MATERIAL Y MÉTODO

Se incluyeron en el estudio un total de 1.585 embriones procedentes de 326 ciclos de PGT-M (edad materna promedio de 34,1 años [18-44]) para análisis mediante genotipado de SNPs. Se evaluó la presencia de anomalías cromosómicas meióticas en función de su origen parental (materno/paterno) y de la edad materna (Grupo 1 - G1: <30 años, Grupo 2 - G2: 30-37 años y Grupo 3 - G3: >37 años).

RESULTADOS

De los 1.585 embriones analizados, el 31% presentaba anomalías cromosómicas numéricas de origen meiótico (ver tabla 1). De estos, un 79% de los embriones presentaba aneuploidías de origen materno, un 15% de origen paterno y un 5% de errores tanto maternos como paternos.

El análisis por grupos de edad reveló un 19% de embriones aneuploides en el G1 respecto al total de embriones analizados, un 25% en el G2 y un 53% en el G3. El estudio del origen parental de las anomalías detectadas, mostraba en el G1 un 11,4% de embriones con aneuploidías exclusivamente maternas, un 7% con aneuploidías paternas y un 0,5% de los embriones con eventos aneuploides tanto maternos como paternos. El G2 mostraba una mayor proporción de anomalías de origen materno, con un 18,6% de los embriones analizados con aneuploidía solo materna, un 4% con anomalías solo paternas y un 1,6% de los embriones con alteraciones maternas y paternas. Finalmente, en el grupo de pacientes de mayor edad (G3) se observó una mayor proporción de embriones con eventos aneuploides de origen materno (45,8% solo materno y 2,4% mixto) frente a un 5% de los embriones con eventos exclusivamente paternos.

CONCLUSIONES

Se observa una mayor tasa de aneuploidía de origen materno en los embriones analizados, con una mayor incidencia en los grupos de más edad (G1: 11,9%, G2: 20,2% y G3: 48,2%).

En relación a la aneuploidía paterna, se ha detectado que un 20% de los embriones analizados presentaban errores meióticos de origen paterno. El porcentaje de embriones

aneuploides que presentan alteraciones cromosómicas de origen paterno es estable en los diferentes grupos de edad materna establecidos (5% de media). Sin embargo, al haber una menor incidencia de aneuploidías de origen materno en las pacientes de menor edad, podemos observar que el impacto de la aneuploidía paterna en estas pacientes tiene un efecto casi equiparable al de la materna.

Los resultados obtenidos son relevantes para el asesoramiento genético a los pacientes. Si bien en casos de edad materna avanzada los embriones aneuploides que se detecten serán mayoritariamente eventos de origen materno, en el grupo de pacientes de menor edad, la tasa de embriones aneuploides será menor, pero contrariamente a lo supuesto hasta la fecha, las aneuploidías podrán deberse casi tanto a errores de la meiosis materna como de la paterna.

TABLAS

Tabla I.

		Embriones aneuploides total		Embriones con aneuploidía materna		Embriones con aneuploidía materna y paterna		Embriones con aneuploidía paterna	
Edad materna	**Total embriones diagnosticados**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**
<30	**201**	**39**	19%	**23**	11,4%	**1**	0,5%	**15**	7%
30-37	**971**	**240**	25%	**181**	18,6%	**16**	1,6%	**43**	4%
>37	**413**	**218**	53%	**189**	45,8%	**10**	2,4%	**19**	5%
TOTAL	**1585**	**497**	31%	**393**	24,8%	**27**	1,7%	**77**	5%
% Respecto embriones aneuploides		100%		79%		5%		15%	

P-120

PREDICCIÓN DEL SEXO DEL RECIÉN NACIDO VIVO EN FUNCIÓN DEL TAMAÑO DE LA MASA CELULAR EN TRANSFERENCIAS DE UN ÚNICO BLASTOCISTO EN FRESCO

Yolanda Cabello Vives[1], A Martínez Moro[1], P González Dosal[1], J García Blanco[1], A Alarcón Escudero[1], C Aceituno Caballero[1], E Padilla Ruiz[1], T García Martínez[2]

[1]IVF LIFE GROUP - Madrid (Madrid), [2]Departamento de Medicina y Cirugía Animal, Facultad de Veterinaria. Universitat Autònoma de Barcelona - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

Hoy en día no existe ninguna manera de pronosticar si un embrión se convertirá en niño o niña si no es de forma invasiva. Se han visto tendencias como que los blastocistos masculinos tienen un 2,53 más de posibilidades de tener un trofectodermo de calidad A comparados con los femeninos (1). También que, tras criotransferencias de un único blastocisto vitrificado, el trofectodermo podría ser mejor parámetro de predicción que la masa celular interna (MCI) en la tasa de recién nacido vivo (RNV), pero, por otra parte, que la selección basada en la calidad y los parámetros morfológicos puede influir a favor de los nacimientos femeninos (2). El sexo del embrión tampoco se ha asociado con el estado de ploidía, aunque se observó

que los embriones masculinos estaban asociados con puntuaciones más altas de trofectodermo (p<0,02) (3).

OBJETIVO

El objetivo de este trabajo fue averiguar si había alguna relación entre el tamaño de la MCI y el futuro sexo del RNV como método predictivo no invasivo.

MATERIAL Y MÉTODO

Se estudiaron retrospectivamente 103 blastocistos tipo A obtenidos por ICSI con óvulos propios o donados en fresco, desde 2017 a 2020, para averiguar si había relación entre la medida de la MCI y el sexo del RNV en general, o en función de la procedencia de los ovocitos. Los resultados fueron analizados con un modelo ANOVA en regresión lineal.

RESULTADOS

En general, no se encontraron diferencias significativas entre las medias de las medidas de MCI entre los 58 blastocistos que generaron niños (2.772,4 µm2) o los 45 que generaron niñas (2.779,9 µm2). Separando la procedencia de los ovocitos, no se encontraron diferencias entre ovocitos propios niño o niña. Sin embargo, en ovocitos donados, se encontraron diferencias entre los blastocistos niño (2.709,2 µm2) o niña (3.001,6 µm2), aunque no significativas (p=0,09). Al comparar las niñas nacidas a partir de ovocitos propios (2.558,3 µm2) *vs.* las provenientes de ovocitos donados (3.001,6 µm2), sí se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (p≤0,05), no siendo así entre el grupo de los niños.

CONCLUSIONES

- No existen diferencias estadísticamente significativas entre blastocistos niños y niñas sin diferenciar la procedencia de los ovocitos en blastocistos transferidos en fresco.
- Las MCI de los blastocistos niña son mayores que los niños, aunque las diferencias no son estadísticamente significativas.
- Las MCI de los blastocistos niña procedentes de ovocitos frescos de donante son mayores que las MCI de los propios, siendo esta diferencia estadísticamente significativa.
- Se necesita más tamaño muestral para poder señalar una tendencia clara y poder predecir de manera no invasiva el sexo del RNV a partir del tamaño de la MCI.
- La búsqueda de parámetros morfológicos o cinéticos pueden ser de gran utilidad para la selección del blastocisto con mayor posibilidad de implantación en aquellos centros donde todavía no se tienen sistemas de selección basados en la inteligencia artificial.

REFERENCIAS

1. Thomas Ebner, Katja Tritscher, Richard B Mayer, Peter Oppelt, Hans-Christoph Duba, María Maurer, Gudrun Schappacher-Tilp, Erwin Petek, Omar Shebl. Quantitative and qualitative trophectoderm grading allows for prediction of live birth and gender. J Assist Reprod Genet. 2016 Jan;33(1):49-57. doi: 10.1007/s10815-015-0609-9. Epub 2015 Nov 14.

2. Mungunshagai Baatarsuren, Davaakhuu Sengebaljir, Chinzorig Ganbaatar, Tserendolgor Tserendorj, Belguune Erdenekhuyag, Lkhagvasuren Baljinnyam, Enkhdemberel Radnaa, Amarjargal Dorjpurev, Gereltsetseg Ganbat, Tsogzolmaa Boris, Azjargal Khangarid, Jambaldorj Jamiyansuren. The trophectoderm could be better predictable parameter than inner cellular mass (ICM) for live birth rate and gender imbalance. Reprod Biol. 2022 Mar;22(1):100596. doi: 10.1016/j.repbio.2021.100596. Epub 2022 Jan 31.

3. Ange Wang, Jonathan Kort, Barry Behr, Lynn M Westphal. Euploidy in relation to blastocyst sex and morphology. J Assist Reprod Genet. 2018 Sep;35(9):1565-1572. doi: 10.1007/s10815-018-1262-x. Epub 2018 Jul 20.

P-121

¿PUEDE MOJO AISA, UN MICROSCOPIO PARA ANÁLISIS SEMINAL USANDO INTELIGENCIA ARTIFICIAL, MEJORAR LA FIABILIDAD DE LOS RESULTADOS DE ANÁLISIS DE SEMEN?

Javier Luna Romero[1], A Parrella[2], N Rubio Riquelme[2], M Martí Aliaga[3], N Soler Balaguer[2], J Aizpurua Sáenz[2]
[1]IGLS - Alicante (Alicante), [2]IVF Life - Alicante (Alicante), [3]IVF Life - Baden-Baden (Baden-Wurtemberg)

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se han desarrollado diferentes equipos capaces de analizar muestras seminales mediante inteligencia artificial, y uno de los más recientes es Mojo AISA. Este equipo se ha presentado como una herramienta útil para analizar la concentración y la motilidad de muestras espermáticas en fresco en un tiempo corto, minimizando el error humano. Sin embargo, se desconoce su funcionamiento con muestras vitrificadas. En relación con este tema, la vitrificación/desvitrificación es un método actual de criopreservación que mejora significativamente la integridad espermática y su funcionalidad frente a la congelación lenta. Por lo tanto, Mojo AISA podría ser una técnica útil para facilitar la evaluación de muestras espermáticas vitrificadas.

OBJETIVO

Comparar el análisis obtenido del microscopio Mojo AISA frente a los resultados del andrólogo competente en muestras seminales en fresco y vitrificadas.

MATERIAL Y MÉTODO

Desde agosto a diciembre de 2022, se analizó la concentración y motilidad de 84 muestras en fresco y 46 vitrificadas procedentes de 133 pacientes simultáneamente mediante un método de microscopía (MM) y el análisis con Mojo AISA. Estos parámetros se midieron siguiendo los criterios de la 5.ª edición de la OMS. Las muestras en fresco se obtuvieron después de 2-3 días de abstinencia, y las muestras vitrificadas se desvitrificaron siguiendo nuestro protocolo interno. Las muestras en fresco y vitrificadas se eligieron aleatoriamente. En nuestro estudio se analizó la motilidad solamente con dos categorías: Motilidad Total (MT) y Motilidad Progresiva (MP). Mojo AISA realiza el análisis en 7 minutos. Se colocó una alícuota de 10 µL de muestra en fresco/desvitrificada en una cámara de recuento Makler, mientras que para Mojo AISA se colocaron 2 gotas de 10 µL en un portaobjetos. Las correlaciones entre MM y Mojo fueron calculadas para evaluar su dispersión, con los siguientes criterios del valor de r: excelente (0,9-1,0), alto (0,7-0,9), moderado (0,7-0,5), escaso (0,5-0,3), e insignificante (0,3-0).

RESULTADOS

Un total de 87 pacientes (42,5±6,4 años) se sometieron a análisis seminal en fresco (N=84), mientras que 46 pacientes (42,7±7 años) se sometieron al análisis con muestras vitrificadas (N=46). El análisis de semen de muestras en fresco llevado a cabo con el método de microscopía mostró una media y una desviación estándar para la concentración espermática, motilidad total y motilidad progresiva de 43,0±37,0 x 106/ml, 58,1±19,1, y 44,5±19,7, mientras que con Mojo AISA fue de 38,2±34 x 106/ml, 49,3±21,2, y 34,4±19,9, respectivamente. En muestras vitrificadas, la media y la desviación estándar de la concentración espermática, motilidad total y motilidad progresiva con el método de microscopía fue de 7,9±12,1 x 106/ml, 36,1±19,2, y 23,9±16,2, mientras que con Mojo AISA fue de 12,3±18,1 x 106/ml, 20,4±13,2, y 13,6±10,4, respectivamente. En las muestras en fresco, el resultado de correlación (r) fue excelente para concentración (0,9), y moderado para la motilidad total y progresiva (0,7). Por otro lado, en muestras vitrificadas, los resultados de correlación (r) fueron moderadas para concentración (0,6) y motilidad total (0,5), mientras que fueron altos para motilidad progresiva (0,7). Por lo tanto, Mojo AISA presenta resultados similares con el método de microscopía cuando se evalúa una muestra en fresco. Sin embargo, en muestras vitrificadas, la correlación es moderada comparada con la evaluación del andrólogo.

CONCLUSIONES

Mojo AISA es un complemento adicional para la carga de trabajo del andrólogo. En muestras en fresco, los resultados de Mojo se correlacionan con los de un andrólogo entrenado. Sin embargo, es necesario mejorar la adquisición de datos de muestras vitrificadas para un correcto y preciso análisis.

P-122

INFLUENCIA DEL MICROBIOMA EN LA CALIDAD SEMINAL DE DONANTES DE SEMEN

Elena Sellés Soriano, B Amorocho Llanos, E Martínez Díaz-Jiménez, A Gracia Maciá, P Hernández Vargas, I Pérez Cano, M Muñoz Cantero
IVIRMA Alicante
Alicante (Alicante)

INTRODUCCIÓN

El microbioma juega un papel importante en la salud y en algunas etiologías desconocidas. Algunos estudios previos han identificado bacterias en el semen como un factor potencial en la infertilidad masculina. Mientras que el microbioma del tracto reproductor femenino está siendo objeto de muchos estudios, el microbioma del tracto reproductor masculino sigue siendo mucho más desconocido. Gracias a las técnicas de secuenciación de nueva generación (NGS) es posible investigar la gran diversidad de microorganismos existentes en el fluido seminal, aunque se necesitan más estudios basados en algunos tipos de bacterias para descubrir asociaciones entre los microbiomas y la calidad del semen.

OBJETIVO

Comparar la composición del microbioma seminal en dos poblaciones distintas de donantes respecto a su calidad seminal según los criterios establecidos por la OMS, mediante utilización de técnicas NGS. Y estudiar la posibilidad de encontrar biomarcadores, que bien por su presencia o ausencia, identifiquen aquellas muestras que por su calidad seminal puedan ser susceptibles de tratamiento y poder contribuir a mejorar el diagnóstico de casos de infertilidad donde no hay otra causa aparente.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio de cohortes, prospectivo, transversal, abierto y unicéntrico donde se han analizado 40 muestras de semen de donantes entre 18 y 35 años que acuden al centro y que pretenden entrar a participar en el programa de donación para el banco de semen. Dependiendo de la calidad seminal evaluada se dividieron en 2 grupos según los valores de referencia de la última edición de la OMS obtenidas en 2 espermiogramas: Grupo A (N=20, con diagnóstico de normozoospermia) y grupo B (N=20 con diagnóstico de no normozoospermia). Se analizó el microbioma a las 40 muestras de semen mediante secuenciación masiva dirigida al gen rRNA 16S bacteriano: extracción del ADN, preparación de librerías, secuenciación y análisis bioinformático.

RESULTADOS

Se identificaron un total de 1.477 variantes únicas de secuencia de amplicón (ASV) que fueron clasificados en 4 filos: *Firmicutes, Actinobacteria, Bacteroidetes* y *Proteobacteria*, que son las bacterias más comunes encontradas en el microbioma seminal de hombres sanos.

En cuanto al nivel de género, la literatura destaca la presencia de *Gardnerella, Streptococcus, Finegoldia, Prevotella*,

Corynebacterium, Anaerococcus y *Peptoniphilus,* entre otros. Todos estos géneros estaban presentes con una alta abundancia relativa (*Streptococcus* 12,14 ± 19,18%, *Finegoldia* 8,81 ± 10,25%, *Peptoniphilus* 8,79 ± 8,81%, *Gardnerella* 8,44 ± 16,69%, *Prevotella* 8,40 ± 8,30%, *Corynebacterium* 7,51± 9,06% y *Anaerococcus* 6,06 ± 6,24%).

Para la diversidad alfa, los resultados de riqueza mostraron valores alrededor de 87 ASV en el grupo A y alrededor de 72 ASV del grupo B. El índice de Shannon fue de 3 en el grupo A y 2,6 en el grupo B. No hubo cambios significativos en esta diversidad entre los grupos (Figura 5). Sin embargo, los valores de p <0,1 mostraron una tendencia de una menor diversidad alfa en el grupo B en comparación con el grupo A según las métricas de Shannon y Simpson.

El análisis de diversidad beta medía las diferencias entre las comunidades microbianas. Se utilizó PERMANOVA de distancias Bray-Curtis para probar la diferencia composicional entre grupos de muestras de microbiomas (Tabla 6). Los resultados no mostraron una composición significativamente diferente por el grupo.

No se identificó ningún biomarcador a ningún nivel taxonómico en el grupo A *vs.* grupo B usando Limma-voom.

CONCLUSIONES

Los perfiles bacterianos taxonómicos del microbioma seminal concordaban con los de la literatura. El estudio de la diversidad alfa no mostró cambios significativos entre los grupos A y B, aunque según los índices de Simpson y Shannon, había una tendencia a una menor diversidad alfa en las muestras del grupo B. El análisis de la diversidad beta mostró que los grupos no tenían una composición significativamente diferente. El análisis de biomarcadores no mostró cambios significativos en la abundancia de taxones entre los grupos A y B en cualquier nivel taxonómico. Se necesitaría un mayor tamaño muestral para concluir resultados.

TABLAS Y FIGURA

Figura V. Diversidad alfa. Boxplots showing richness, Shannon, and Simpson metrics on each group. Wilcox test was applied between groups.

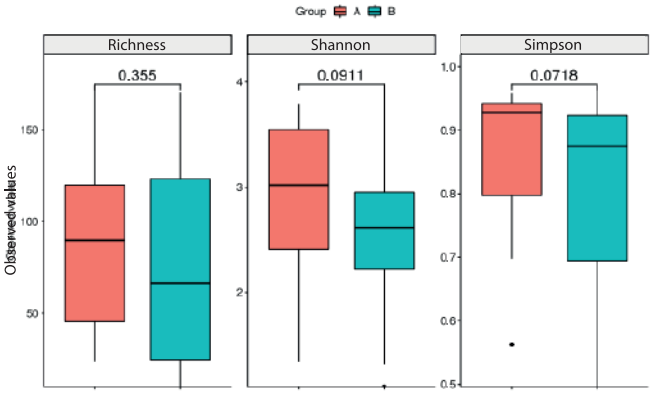


Tabla VI: Diversidad beta. PERMANOVA test results.

	DF	Sum of squeares	R2	F	P-value	Significance
Group	1	0.5337	0.0347	1.3665	0.1	-
Residual	38	14.8412	0.9653	NA	NA	
Total	39	15.3749	1	NA	NA	

P-123

RELACIÓN ENTRE LA EDAD MATERNA Y LA TASA DE EUPLOIDÍA EN BLASTOCISTOS TRAS PGT-NI

Rocío Quiroga Gil, B Valenzuela Díaz, F González Gómez, VE Rey Caballero
Clínica Victoria Rey
Sevilla (Sevilla)

INTRODUCCIÓN

Uno de los objetivos actuales en reproducción asistida es seleccionar de manera objetiva los embriones con mayores probabilidades de lograr un niño sano en casa. Recientemente se han desarrollado métodos no invasivos de detección de aneuploidías (PGT-ni) mediante el análisis del ADN libre embrionario (cfDNA) liberado por los blastocistos en día 6 de desarrollo al medio de cultivo. Varios estudios han demostrado altas tasas de concordancia del cfDNA con la biopsia de trofoectodermo (TE) y la masa celular interna (MCI) (Rubio *et al.*; 2020).

OBJETIVO

Analizar la relación entre edad materna, morfología y tasa de euploidía otorgada a blastocistos obtenidos en tratamientos de ICSI analizados mediante un método no invasivo de detección de aneuploidías (PGT-ni).

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio observacional en 19 pacientes procedentes de ciclos de ICSI en los que se analizaron un total de 63 blastocistos de enero-2022 a marzo-2023 mediante PGT-ni (Embrace®). Este método analiza el cfDNA liberado por el blastocisto al medio de cultivo y, según el diagnóstico obtenido, otorga una tasa de euploidía o probabilidad de ser euploide y, por tanto, un orden de prioridad para la transferencia a dicho embrión. La tasa de euploidía puede variar del 24% al 81% en base a los estudios de concordancia con TE e MCI mencionados anteriormente. Para el análisis estadístico se excluyeron medios cuyo resultado no fue informativo. Los embriones se distribuyeron según rangos de edad con similar número de pacientes en cada uno de ellos, y se analizó la tasa de euploidía media para cada rango. Además, en las 19 pacientes de estudio se comparó qué embrión fue considerado primer candidato para transferir mediante dos métodos: morfología y PGT-ni. Las variables categóricas se analizaron usando chi-cuadrado X2. Las variables numéricas se analizaron usando test de suma de rangos de Wilcoxon.

RESULTADOS

Se observó una disminución de la tasa de euploidía media con el aumento de la edad. Para pacientes con edad <38 años, el porcentaje de embriones con una tasa de euploidía del 81% (mayor probabilidad de ser cromosómicamente normales) fue del 42%, mientras que para pacientes ≥38 años ese porcentaje disminuyó por debajo del 30%. Cuando se comparó, en pacientes con más de un embrión analizado por cohorte, qué embrión había sido considerado primera opción a transferencia por criterios morfológicos y por PGT-ni, no coincidió en un 43,7%. De los embriones seleccionados como primera opción según morfología, sólo el 38% serían considerados cromosómicamente normales (tasa de euploidía = 81%) según PGT-ni. Sin embargo, de los embriones seleccionados como primera opción según PGT-ni, el 68% serían considerados cromosómicamente normales. Al dividir los resultados de ambos grupos según edad materna (<38 años *vs.* ≥38 años), nuevamente se observaron peores resultados en la priorización basada en morfología frente a la basada en PGT-ni. La tasa de euploidía media fue 57,15 para <38 años *vs.* 48,64 para ≥38 años según morfología y 78,0 para <38 años *vs.* 54,6 para ≥38 años según PGT-ni. El porcentaje de embriones considerados cromosómicamente normales fue 38% para <38 años *vs.* 38% para ≥38 años para morfología y 91% para <38 años *vs.* 50% para ≥38 años para PGT-ni, alcanzando significatividad estadística (p=0,03).

CONCLUSIONES

La selección de embriones basada en morfología no garantiza la transferencia de embriones cromosómicamente normales. Sin embargo, tanto en pacientes de buen pronóstico por edad (<38 años) como en edad avanzada (≥38 años), la técnica de PGT-ni es útil para seleccionar embriones con mayor tasa de euploidía, evitando la manipulación embrionaria propia de una biopsia de trofoectodermo si se compara con un ciclo de PGT-A y reduciendo la subjetividad del observador, si se compara con la evaluación morfológica. Otros estudios con mayor tamaño muestral son necesarios para confirmar estos resultados.

REFERENCIAS

1. Rubio, C; Navarro-Sánchez, L; García-Pascual, C.M.; Ocali, O; Cimadomo, D; Venier, W; Barroso, G; Kopcow, L; Bahçeci, M; Kulmann, M.I.R.; López, L; De la Fuente, E; Navarro, R; Valbuena, D; Sakkas, D; Rienzi, L; Simón, C. Multicenter prospective study of concordance between embryo cell-free DNA and trophectoderm biopsies from 1,301 human blastocysts. Am. J. Obstet. Gynecol. 2020; 223(5): 751.e1–751.e13

P-124

AUTOMATIZACIÓN DEL LABORATORIO DE FIV COMO ESTRATEGIA PARA MEJORAR LOS RESULTADOS CLÍNICOS Y DE CALIDAD ASISTENCIAL, EN UNA UNIDAD DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA DE UN HOSPITAL PÚBLICO

Inmaculada Torres González, D Pabón, B Lozano, C Pérez, M Pérez, I Navarro, MJ Bernad, S Cortés, J Gálvez, J Álvarez
Unidad de Reproducción Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca
Murcia (Murcia)

INTRODUCCIÓN

La automatización del laboratorio público de reproducción asistida ha implicado la implementación de tecnologías y sistemas robóticos que permiten una gestión más eficiente y precisa de las diversas etapas de los procedimientos. Estos avances tecnológicos ofrecen beneficios en términos de gestión de datos, seguridad, bioseguridad y trazabilidad, mejorando así la calidad de los servicios y la atención a los pacientes. El nuevo laboratorio de FIV ha sido diseñado con el objetivo de atender la creciente demanda asistencial en el estudio, diagnóstico y tratamiento de patologías relacionadas con la esterilidad. Esta unidad ha permitido llevar a cabo de manera integral todos los procesos dentro del centro hospitalario, garantizando un seguimiento continuo de los tratamientos, reduciendo los tiempos de espera y proporcionando una mejor calidad asistencial a los pacientes que acceden a la Seguridad Social regional.

OBJETIVO

El objetivo de este estudio es presentar la automatización del nuevo laboratorio de FIV del centro público de reproducción asistida, como estrategia para mejorar los resultados clínicos y la calidad asistencial en los procedimientos ofrecidos.

MATERIAL Y MÉTODO

Análisis retrospectivo de los primeros 312 ciclos de reproducción asistida, realizados desde mayo de 2022 hasta marzo de 2023 en el laboratorio de FIV, que ha sido diseñado siguiendo la norma UNE 171340 de validación y cualificación de salas hospitalarias, la norma UNE 179007 y las recomendaciones de ASEBIR. El laboratorio cuenta con un sistema de gestión de calidad propio que incluye entre los procesos de automatización: monitorización automatizada y continua de temperaturas y

gases, alarmas en remoto de todos los equipos críticos, cultivo y evaluación del desarrollo embrionario por *time-lapse*, sistema electrónico de identificación de pacientes y trazabilidad de células reproductivas que permite: identificar, rastrear y localizar de forma precisa y exclusiva tanto ovocitos/muestras-seminales y embriones que es un punto importante en la seguridad de los tratamientos ofrecidos, que aporta a los usuarios y trabajadores, un flujo óptimo de trabajo con garantías de seguridad, que repercuten a nivel de resultados, riesgos y calidad.

RESULTADOS

Desde la apertura del laboratorio de reproducción en el 2022 se han realizado hasta marzo de 2023, 312 ciclos de los cuales 6,75% son de preservación de la fertilidad (edad media de 30,7±6,7años), 25,6% ciclos de PGT (edad media de 34,8±4,1 años), y 62,2% de ciclos de FIV/ICSI (edad media de 35,1±3,6 años).

Apostando por transferencias en diferido, la tasa de transferencia en fresco post punción fue del 18,9% con una tasa de implantación de 48,7%, la tasa de gestación clínica por transferencia fue de 43,5% y la media de embriones transferidos fue de 1,1. El porcentaje de criotransferencias fue del 77,7%, con una tasa de implantación de 49,7%, la tasa de embarazo clínico por transferencia fue de 40,7% y la media de embriones transferidos fue de 1,05. La tasa de embarazo único en todos los ciclos, tanto de transferencias en fresco como en diferido, fue del 95% frente al 5% de embarazos gemelares.

CONCLUSIONES

Los resultados del primer año de funcionamiento del laboratorio de FIV han sido positivos con respecto a los estándares de calidad de la SEF. La iniciativa de automatización del laboratorio, ha sido una estrategia efectiva y valiosa para ofrecer mejoras significativas en la precisión, calidad, seguridad, trazabilidad y gestión de datos de los procedimientos ofrecidos. Estos beneficios contribuyen a optimizar los resultados clínicos de los tratamientos y brindar una mejor calidad asistencial.

P-125

CRITERIOS PARA LA EVALUACIÓN DE TECNOLOGÍAS DE INTELIGENCIA ARTIFICIAL EN EL LABORATORIO DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA

Enric Güell Penas
Centre Procrear
Reus (Tarragona)

INTRODUCCIÓN

Los algoritmos de inteligencia artificial (IA) se han vuelto omnipresentes en nuestras vidas, y el campo de la reproducción asistida no es una excepción. En los últimos años hemos visto un creciente número de publicaciones en revistas científicas y conferencias sobre diferentes aplicaciones basadas en IA. El desarrollo de los modelos predictivos de IA consta de dos fases: (i) Creación, entrenamiento, evaluación y ajuste del modelo; (ii) Implementación en un entorno de producción e integración para su uso en la práctica clínica. Esto es aplicable tanto para los algoritmos desarrollados *in-house* como para los ofrecidos por compañías comerciales. La evaluación y toma de decisiones sobre la implementación de sistemas de IA en el laboratorio de reproducción asistida (LRA) es una responsabilidad fundamental de los embriólogos, ya que su implementación podría tener un impacto directo en nuestro trabajo, y, por lo tanto, en los pacientes. Sin embargo, actualmente no existen unas pautas claras para realizar dicha evaluación.

OBJETIVO

El objetivo de este trabajo consistió en definir los criterios a tener en cuenta para implementar tecnologías de inteligencia artificial en el laboratorio de reproducción asistida.

MATERIAL Y MÉTODO

Se llevó a cabo una revisión bibliográfica sobre publicaciones acerca de inteligencia artificial y reproducción asistida. Se realizó una búsqueda exhaustiva en la base de datos de PubMed y en las aplicaciones de IA "Semantic Scholar" y "Perplexity AI" utilizando los términos de búsqueda "Artificial Intelligence", "AI in IVF clinic", "*Machine Learning* for predictive modeling" y "*Machine Learning* pitfalls". Se hallaron 360 artículos con información relevante sobre la cuestión planteada y 67 de ellos fueron utilizados para la confección del presente trabajo.

RESULTADOS

Tras la revisión de la literatura, se identificaron los principales conceptos con mayor consenso entre los investigadores. Cualquier nueva incorporación en el LRA debería ofrecer mejores resultados, o sin empeorarlos, ofrecer cualquier otra ventaja en otros aspectos, como automatización. Los factores para evaluar serían principalmente la interfaz de usuario, la escalabilidad, el soporte técnico, el plan de actualización, el coste y los aspectos éticos. Los sistemas de IA pueden ser comerciales o autodesarrollados. Los algoritmos comerciales constarían de mayor tamaño muestral debido a su naturaleza multicéntrica, pero podrían experimentar un menor rendimiento para aquellas situaciones donde hubiese interferencia de los resultados por los protocolos, condiciones específicas del centro o elevada variabilidad entre centros en la anotación de los datos. Los modelos autodesarrollados ofrecerían mayor personalización y libertad de ajuste, pero su *performance* dependería del volumen de datos que pueda recoger cada centro. El diseño experimental se consideraría fundamental para comprender el funcionamiento de un algoritmo: (i) El tamaño muestral sería una de las características más importantes para determinar el poder predictivo de un algoritmo, especialmente en modelos complejos con muchas variables y en modelos de reconocimiento de imágenes mediante *deep learning*. (ii) Los factores de inclusión y exclusión serían determinantes para valorar posibles sesgos y desbalanceos, que podrían condicionar la *performance*, la interpretación y la generalización del modelo predictivo. (iii) Las métricas de análisis de un algoritmo no deberían ser valoradas aisladamente sino en su conjunto y en función del tipo de variable respuesta, ya sea modelo binario (AUC, Sens, Spec, PPV, NPV, F1-Score…) o modelo de regresión (RMSE, R2, MAE, MSE…). Sería conveniente la realización de controles de calidad externo e interno para determinar la justificación de la aplicación del sistema IA y determinar la mejoría respecto a los procedimientos realizados exclusivamente por operadores humanos.

CONCLUSIONES

Se han podido describir unos criterios consensuados para valorar la implementación en el laboratorio de algoritmos basados en IA. Como embriólogos, es importante que seamos críticos y que tengamos claros los criterios para evaluar un nuevo sistema de IA.

P-126

ALGORITMO DE INTELIGENCIA ARTIFICIAL CAPAZ DE REDUCIR EL NÚMERO DE CICLOS NECESARIOS PARA LOGRAR UN RECIÉN NACIDO VIVO Y DE AUMENTAR LAS TASAS DE ÉXITO EN EL PRIMER CICLO DE TRATAMIENTO

Arántzazu Delgado Mendive, C Giménez Rodríguez, L Conversa Martínez, L Murria Aguilar, MA Valera Cerdá, L Bori Arnal, M Meseguer Escrivá
IVI Valencia
Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN

Las características morfológicas normalmente asociadas a la calidad embrionaria no siempre están vinculadas su viabilidad. El análisis de imágenes mediante inteligencia artificial (IA) se presenta como una herramienta útil para reconocer aquellos embriones con mayor tasa de éxito tras la transferencia.

OBJETIVO

Determinar si un algoritmo de IA no invasivo basado en *deep learning* mejora la selección de embriones que conducen a gestación y RNV.

MATERIAL Y MÉTODO

Este análisis retrospectivo incluyó 507 imágenes de embriones cultivados en sistema *time-lapse* de Embryoscope realizadas el día 5 tras su fecundación (≈120 horas de desarrollo). A continuación, se analizaron las imágenes de los embriones mediante un algoritmo de IA no invasivo (Life Whisperer Genetics) con puntuaciones que indicaban una menor o mayor probabilidad de que el embrión fuera viable (0-10). Se realizó un análisis de regresión logística multivariante para evaluar la predicción de gestación (presencia de saco gestacional) y RNV del algoritmo. A continuación, se evaluó la capacidad de selección de embriones viables, en comparación con la evaluación morfológica convencional según los criterios ASEBIR (A-D), mediante un método de clasificación de cohortes simuladas. Para ello, las imágenes de embriones de diferentes pacientes se asignaron aleatoriamente a miles de cohortes de embriones simuladas. Los embriones de cada cohorte se clasificaron en función de la probabilidad prevista de viabilidad embrionaria, y el rendimiento se comunicó como el número medio de ciclos necesarios para seleccionar un embrión que condujera gestación (tiempo hasta la gestación, TTP, por sus siglas en inglés) o a RNV (tiempo hasta RNV, TTLB, por sus siglas en inglés), y el porcentaje (%) de cohortes en las que se logró gestación o RNV en el primer ciclo.

RESULTADOS

La puntuación proporcionada por el algoritmo de IA mostró una asociación directa con los resultados de gestación, RNV y aborto espontáneo. Los embriones que lograron gestación clínico y RNV obtuvieron puntuaciones más altas que los que no lo consiguieron, y la mejora fue significativa en el caso del resultado de RNV*. Al mismo tiempo, los embriones que lograron gestación, pero acabaron en aborto espontáneo, tuvieron puntuaciones significativamente más bajas*. Las medias de las puntuaciones fueron 7,96 ±2,70 para los embriones que no dieron lugar a un RNV y 8,91 ±1,90 para los que sí lo hicieron, y 7,69 ± 2,83 para los embriones que condujeron a aborto y 8,92 ±1,90 para los que no lo hicieron. Los embriones con puntuaciones más altas tenían una probabilidad significativamente mayor de dar lugar a un RNV*. Las tasas de RNV fueron del 10,80% para las puntuaciones <2,5, del 11,00% para las puntuaciones 2,5-7,5, del 24,2% para las puntuaciones 7,5-9 y del 29,9% para las puntuaciones >9. La contribución de cada unidad incrementada de la puntuación del algoritmo a la tasa de euploidía (OR=1,21 [IC 95%: 1,09-1,35*) fue estadísticamente significativa. La puntuación del algoritmo predijo con éxito los RNV con un AUC de 0,63 [IC del 95%: 0,58-0,69]*. *P<0,001

Los análisis de cohortes simuladas mostraron que la puntuación del algoritmo redujo el número de ciclos necesarios para

lograr gestación y RNV y aumentó las tasas de éxito del primer ciclo. La puntuación mostró una reducción del 9% en el TTP, una reducción del 19% en el TTLB, una mejora relativa del 14% en la tasa de gestación en el primer ciclo y una mejora relativa del 37% en la tasa de RNV en el primer ciclo en comparación con los criterios de ASEBIR.

CONCLUSIONES

El análisis de imágenes de embriones por inteligencia artificial puede resultar una herramienta útil en la predicción de gestación y RNV, así como en la reducción de las tasas de abortos espontáneos.

P-127

NUEVAS HERRAMIENTAS DE INTELIGENCIA ARTIFICIAL: PREDICCIÓN DE LA FECUNDACIÓN, DESARROLLO A BLASTOCISTO Y RECIÉN NACIDO VIVO A PARTIR DE IMÁGENES DE OVOCITOS

Lucía Murria Aguilar[1], F Meseguer Estornell[2], L Conversa Martínez[1], C Giménez Rodríguez[1], M Meseguer Escrivá[3]
[1]IVI Foundation - Valencia (Valencia), [2]IVI Valencia - Valencia (Valencia), [3]IVIRMA Global Research Alliance, IVI Valencia - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN

Excepto para el ovocito, todos los elementos claves de los procedimientos que se llevan a cabo en los laboratorios de reproducción asistida tienen un procedimiento estándar de evaluación de su calidad que permite la optimización para una mejora de los resultados clínicos. En los últimos años, se han desarrollado e implementado diversas herramientas basadas en inteligencia artificial que permiten la automatización y estandarización de la evaluación de la calidad embrionaria. Sin embargo, todavía no se ha explorado ampliamente el desarrollo de estas herramientas para la evaluación ovocitaria, y podría ser una gran fuente de información sobre su potencial de desarrollo. En un estudio previo, Violet (una herramienta de análisis de imágenes de ovocitos basada en inteligencia artificial desarrollada por Future Fertility) superó a 17 embriólogos por una media de 21,2% al predecir el desarrollo a blastocisto, y a diferencia de los embriólogos, fue 100% reproducible.

OBJETIVO

Predecir el potencial de fecundación, desarrollo a blastocisto de los ovocitos, y la probabilidad de recién nacido vivo (RNV) de las cohortes de ovocitos, empleando una herramienta basada en inteligencia artificial (IA).

MATERIAL Y MÉTODO

En este estudio retrospectivo, se analizaron un total de 165 imágenes de ovocitos de 24 pacientes diferentes utilizando Violet. Violet es capaz de predecir la fecundación y el desarrollo a blastocisto con una precisión del 91,2% y el 63%, respectivamente, en un conjunto de datos no equilibrado. Todos los pacientes incluidos en el estudio se realizaron un tratamiento ICSI y se excluyeron aquellos casos con factor masculino grave. Las imágenes de ovocitos se obtuvieron justo después de la ICSI a partir de sistemas *time-lapse*. Las imágenes y la edad de los ovocitos se utilizaron como datos de entrada para el análisis ciego realizado por Violet. Finalmente, el sistema predijo la probabilidad de fecundación, llegada a blastocisto y RNV. A continuación, las predicciones se compararon con el resultado clínico real, y la precisión de las predicciones se cuantificó y evaluó mediante matrices de confusión (Verdadero Positivo-VP, Verdadero Negativo-VN, Falso Positivo-FP, Falso Negativo-FN; Valor Predictivo Positivo-VPP y Valor Predictivo Negativo-VPN).

RESULTADOS

Las imágenes de los ovocitos se analizaron con Violet para predecir su probabilidad de fecundación y desarrollo a blasto-

cisto, y se tuvo en cuenta la edad de los ovocitos para predecir los RNV por cohorte de ovocitos. La probabilidad de fecundación y de alcanzar el estadío de blastocisto se analizó para cada ovocito individualmente (n=165), y la probabilidad de desarrollo a blastocisto y de obtener un RNV se analizó para cada cohorte de ovocitos (n=24). La predicción de la fecundación fue correcta en 136 casos y la de la llegada a blastocisto en 103 casos, con una precisión del 82,4% y el 66,7%, respectivamente. Al comparar la predicción del número de llegada a blastocisto por cohorte de ovocitos con el real, la diferencia media entre el resultado predicho y el real fue de 1,13 ±1,71 blastocistos. Por último, se predijo la probabilidad de obtener al menos un RNV de cada cohorte de ovocitos. Violet tuvo éxito en 18/24 casos, con una exactitud de predicción del 75% y una sensibilidad del 93,33%. En un conjunto de datos clínicos independientes, se comprobó la exactitud de Violet en la predicción del desarrollo a blastocisto.

CONCLUSIONES

La herramienta de análisis de imágenes de IA presentada permite predecir la fecundación del ovocito, la llegada del blastocisto y RNV con una precisión del 82,4%, 62,4% y 75% respectivamente. Nuestros prometedores resultados demuestran que la morfología de los ovocitos puede ser una fuente potencial de información sobre el resultado clínico en las técnicas de reproducción asistida, que hasta ahora no se había estudiado en profundidad.

P-128

CINÉTICA DE LA BLASTULACIÓN COMO MÉTODO DE SELECCIÓN EMBRIONARIA

Álvaro Martínez Moro, C Blasco Pueyo, P González Dosal, J García Blanco, A Alarcón Escudero, C Aceituno Caballero, Y Cabello, E Padilla Ruiz
IVF Spain Madrid
Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

El principal fundamento del éxito en los laboratorios de reproducción asistida es la selección del embrión con mayor probabilidad de éxito. Las técnicas de selección embrionaria invasivas han demostrado ser eficaces, aunque suponen un riesgo para la supervivencia del embrión. Las técnicas de selección no invasivas requieren de optimización para disminuir la subjetividad como ocurre en la morfología embrionaria. Los sistemas *time-lapse* surgieron como herramienta complementaria a la morfología embrionaria para mejorar la selección de embriones, aportando mayor información sobre su desarrollo.

OBJETIVO

El objetivo de este estudio ha sido valorar el impacto de la cinética de la blastulación en los resultados de reproducción asistida.

MATERIAL Y MÉTODO

Se analizaron 203 embriones obtenidos entre 2017 y 2021 de tratamientos de ovodonación (18-46 años) o con ovocitos propios (18-40 años) transferidos en fresco de forma individual en estadio de blastocisto. Se excluyeron casos procedentes de ovocitos criopreservados, con transferencia en día +3, PGT, malformaciones uterinas, cirugías previas, o con espermatozoides procedentes de biopsias testiculares o criptozoospermia. Los parámetros cinéticos relacionados

con la blastulación se agruparon según el tiempo en el que se inició: Grupo 1 (<94 horas); Grupo 2 (94-99 horas) y Grupo 3 (>99 horas). Estos datos fueron analizados mediante el test Chi-cuadrado.

RESULTADOS

Los embriones que iniciaron la blastulación antes de las 99 horas tuvieron una tendencia superior a convertirse en blastocistos de mejor calidad morfológica en día +5, sin presentar diferencias significativas (p=0,172). En términos de test de embarazo positivo, se observaron diferencias significativas entre los grupos 1 y 3 (p=0,009).

CONCLUSIONES

Los embriones cuya blastulación se inicia antes de las 99 horas tienen mejor calidad morfológica en día+5 y una mejor probabilidad de implantación. La utilización de la cinética de blastulación puede servir para seleccionar el blastocisto con mayor capacidad de implantación en aquellos centros sin sistemas de inteligencia artificial.

P-129

EMBRIONES EN DÍA 5 *VS.* DÍA 6: ¿EXISTEN DIFERENCIAS EN LA TASA DE EUPLOIDES Y EN LA TASA DE IMPLANTACIÓN?

Ione Reis Tavares, S Xavier, B Vieira, A Martíns, R Leite, J Faria, A Neto, M Pinho, A Póvoa, L Calejo
Centro Hospitalar Univers
Porto (Porto, Portugal)

INTRODUCCIÓN

La biopsia de células embrionarias para el estudio genético preimplantacional de aneuploidías (PGT-A) se realiza cuando el embrión alcanza el estadio de blastocisto, en el 5.º o 6.º día de desarrollo embrionario. Por regla general, los centros de reproducción humana asistida utilizan blastocistos del día 5 y del día 6 de manera similar, lo que permite transferir o criopreservar embriones de ambos días. Sin embargo, una relación potencial entre un desarrollo embrionario más lento y la existencia de anomalías cromosómicas, plantea la posibilidad de que los embriones que solo alcanzan el estado de blastocisto en el día 6 tienen una mayor tasa de aneuploidía y, en consecuencia, menores tasas de implantación.

OBJETIVO

El objetivo de este estudio es evaluar si los blastocistos del día 5 tienen tasas de euploidía más altas que los blastocistos del día 6. Además, se investigaron posibles diferencias en la tasa de embarazo clínico, comparando el resultado de la transferencia de embriones euploides de 5.º día de desarrollo con los de 6.º día.

MATERIAL Y MÉTODO

Se evaluaron los blastocistos de día 5 (n = 228) y de día 6 (n = 55) para determinar la tasa de euploidía y la tasa de embarazo clínico.

RESULTADOS

Aunque existe una mayor tasa de euploidía en los embriones de día 5 (56,4% *vs.* 48,8% en el día 6), no se observaron diferencias estadísticamente significativas en la ploidía entre los embriones biopsiados de ambos días (p = 0,460). Del mismo modo, no hubo diferencias en la tasa de embarazo posterior a la transferencia de embriones euploides de día 5 o día 6 (p = 0,574).

CONCLUSIONES

Por lo tanto, estos resultados sugieren que, a pesar de tener un desarrollo más lento, los blastocistos del día 6 no tienen tasas significativamente más altas de aneuploidía en comparación con los blastocistos del día 5, y tienen tasas de embarazo similares a las de los embriones del día 5.

P-130

INTELIGENCIA ARTIFICIAL *VERSUS* EL EMBRIÓLOGO CLÍNICO EXPERTO: ¿CUÁL ES EL MEJOR EMBRIÓN PARA TRANSFERIR?

Jorge Martín Cuadros Fernández, L Andrés Criado, MA Manzanares Ruiz, E Ricciarelli
Clínica FIVMadrid
Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se han generado diversos algoritmos que han aprovechado las imágenes del *time-lapse* para predecir el potencial de implantación de los embriones producto de la fecundación *in vitro*. En general, la inteligencia artificial (IA) se ha basado en las imágenes capturadas y en la morfocinética de los embriones. Embryoly (ImVitro) es un algoritmo que además tiene en cuenta las características de la pareja (edad, IMC, parámetros seminales, consumo de tabaco del varón) y las características del ciclo (AMH, dosis de hormonas, número de cúmulos recuperados).

OBJETIVO

Analizar la coincidencia de los embriones priorizados por Embryoly para la transferencia de embrión único en fresco *versus* los embriones correspondientes seleccionados por el equipo de embriólogos clínicos.

MATERIAL Y MÉTODO

Los vídeos de *time-lapse* de los embriones de 18 pacientes que se transfirieron en fresco en día 5 y que tenían al menos tres embriones de categorías A o B (ASEBIR), fueron subidos a la plataforma de Imvitro para ser valorados mediante la puntuación "híbrida" de Embryoly, que tiene en cuenta tanto las imágenes del *time-lapse* como las características del ciclo. El equipo de embriólogos clínicos seleccionó el que consideró el embrión con mayor potencial de implantación utilizando las imágenes del *time-lapse* (Miri-TL) y los criterios ASEBIR, sin conocer el resultado de Embryoly. Finalmente, se analizó la coincidencia entre la IA y los embriólogos clínicos.

RESULTADOS

En los 18 casos analizados, la coincidencia en el mejor embrión a transferir ocurrió en 13 de ellos (72,2%). En los 5 casos restantes, los embriólogos seleccionamos y transferimos el embrión que el algoritmo consideró como segundo en su orden de prioridad, sin embargo, en 3 de estos 5 casos la puntuación híbrida fue idéntica entre los dos embriones mejor puntuados, lo que hace que la coincidencia sea en 16 de los 18 casos (88,9%). En los dos casos en los que los embriólogos decidimos transferir el segundo embrión en el orden de Embryoly, con una puntuación híbrida menor, uno de ellos es un embarazo clínico y el otro fue negativo. El porcentaje de embarazos clínicos en este grupo, en la transferencia en fresco, fue de 11 de 18 (61,1%). El porcentaje de embarazo clínico por paciente, acumulado con dos ciclos en los que ha habido descongelación, es de 13 de 18 casos (72,2%).

CONCLUSIONES

La alta coincidencia entre la IA y la selección de los embriólogos clínicos basada en los criterios ASEBIR permite afirmar que un algoritmo como Embryoly, que tiene en cuenta tanto las imágenes y la cinética de los embriones como las características del ciclo y de los pacientes, podría ser de utilidad para el embriólogo clínico como confirmación de su decisión, sobre todo en los casos en los que habría que elegir entre dos o más embriones de buena calidad (A o B según ASEBIR).

REFERENCIAS

1. Duval A, Nogueira D, Dissler N, Maskani Filali M, Delestro Matos F, Chansel-Debordeaux L, Ferrer-Buitrago M, Ferrer E, Antequera V, Ruiz-Jorro M, Papaxanthos A, Ouchchane H, Keppi B, Prima PY, Regnier-Vigouroux G, Trebesses L, Geoffroy-Siraudin C, Zaragoza S, Scalici E, Sanguinet P, Cassagnard N, Ozanon C, De La Fuente A, Gómez E, Gervoise Boyer M, Boyer P, Ricciarelli E, Pollet-Villard X, Boussommier-Calleja A. A hybrid artificial intelligence model leverages multi-centric clinical data to improve fetal heart rate pregnancy prediction across time-lapse systems. Hum Reprod. 2023 Apr 3;38(4):596-608. doi: 10.1093/humrep/dead023.

P-131

DOS ESTRATEGIAS DE ESTIMULACIÓN PARA AUMENTAR EL NUMERO DE OVULOS CRIOPRESERVADOS

Cristina Urda Muñoz, V Badajoz Liébana, J Gijón de la Santa, MC Cañadas Gálvez, M de la Casa Heras, L Martínez de la Cruz, JA Gragera Segura, T Sánchez Arenas, M Oter Renom, JM Llácer Aparicio
Ginefiv
Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

La criopreservación ovocitaria es una realidad y cada vez más pacientes acceden a los centros de reproducción para preservar su fertilidad. En el año 2019 en nuestro centro se realizaron 212 punciones de criopreservación ovocitaria, donde 6.38 Metafase II por paciente fueron vitrificados (datos publicados Congreso SEF 2022).

En la actualidad, en nuestro centro, se recomienda un segundo ciclo de vitrificación en pacientes con baja reserva o baja respuesta inesperada a la estimulación ovárica. Esta segunda estimulación ovárica puede realizarse en el mismo ciclo (DUOSTIM) o en ciclos sucesivos en función de la indicación médica, respuesta ovárica y deseo de la paciente.

OBJETIVO

Comparar la estrategia DUOSTIM con estimulaciones en ciclos diferentes en pacientes que acumulan ovocitos para preservación social de la fertilidad.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo de casos y controles incluyendo 79 pacientes que acumularon ovocitos de dos estimulaciones para preservación social de la fertilidad entre enero de 2022 y marzo de 2023. Se incluyeron 158 recogidas ovocitarias (100 en 50 pacientes con estrategia DUOSTIM y 58 en 29 pacientes con estimulaciones en ciclos diferentes). Para el análisis estadístico se utilizó SPSS v.16.

RESULTADOS

En la tabla adjunta se muestra los resultados clínicos más relevantes. No se encontraron diferencias significativas en ninguno de los datos analizados: edad de la paciente, hormona antimuleriana (AHM), n.º de Metafase II vitrificados y n.º total de ovocitos vitrificados acumulados.

CONCLUSIONES

DUOSTIM constituye una estrategia válida para acumular ovocitos en pacientes con hiporrespuesta que vitrifican ovocitos para preservar su fertilidad.

Toda paciente en programa de vitrificación debe ser informada sobre la posibilidad de realizar DUOSTIM si tiene una baja reserva ovárica o presenta una respuesta subóptima a la estimulación ovárica.

Planteamos futuros estudios para valorar los resultados post-desvitrificación comparando ambas estrategias de estimulación.

TABLAS

Tabla I.

	DUOSTIM	NO DUOSTIM	P-VALOR
CICLOS	50	29	
PUNCIONES	100	58	
EDAD	36.0	36.14	0.55
AHM	1.48	2.11	0.30
VITRIFICADOS/PUNCION	4.61	5.63	0.13
TOTAL VITRIFICADOS	10.28	12.1	0.31

P-132

LA ECLOSIÓN ASISTIDA DIRIGIDA (AHD) EN DÍA 4 REDUCE LA PROBABILIDAD DE HERNIACIÓN DE LA MASA CELULAR INTERNA Y SIMPLIFICA LA BIOPSIA DE TROFECTODERMO

Enric Mestres Gonzalvo, M Acacio Espinosa, G Calderón Oya, N Costa Borges
Embryotools, S. L.
Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

La biopsia de trofectodermo se realiza en blastocistos para obtener una muestra de células representativa del embrión sobre la que realizar pruebas genéticas preimplantatorias y así poder detectar mutaciones y/o aneuploidías en su material genético. Para simplificar la extracción de células del trofectodermo, se realiza habitualmente una eclosión asistida (*assisted hatching*, AH) en D3 en la etapa de clivaje/mórula, creando un agujero en la zona pelúcida (ZP) por el cual algunas células herniarán. Esta apertura se realiza tradicionalmente en un área aleatoria de la ZP y, por lo tanto, no es posible predecir si las células que eclosionarán primero pertenecerán al trofectodermo o a la masa celular interna (*inner cell mass*, ICM). En el segundo caso, el procedimiento de biopsia deberá posponerse hasta que las células del trofectodermo sean accesibles.

OBJETIVO

Determinar si realizar la eclosión asistida dirigida en D4 es capaz de disminuir la incidencia de herniación de células pertenecientes a la masa celular interna, para así mejorar la eficiencia y la seguridad de la biopsia de trofectodermo en blastocistos.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó AH regular en embriones de ratón en D3 creando una abertura de aproximadamente 10 µm en un área aleatoria de su ZP. Un segundo grupo de embriones fue cultivado hasta D4 y se realizó la abertura de la ZP de manera dirigida (AHD) cerca de donde se observó la primera cavitación de las células. Ambos grupos fueron comparados con un tercer grupo de control al cual no se le realizó ninguna abertura.

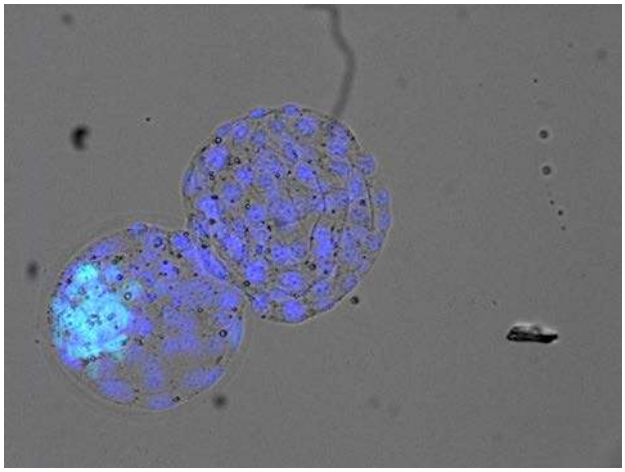
Cuarenta y cuatro embriones de ratón fueron asignados a cada grupo de prueba (n=132) y cultivados en un incubador de *time-lapse* (Embryoscope, Vitrolife) para identificar la zona de la primera cavitación celular. En los grupos AH/AHD, se realizó la eclosión asistida mediante láser en la misma placa Embryoslide en D3/D4, respectivamente. La formación, calidad y tasas de eclosión de blastocistos se compararon entre todos los grupos, y la pertenencia de las primeras células herniadas al trofectodermo/ICM fue anotada individualmente por D5/D6. Adicionalmente, la clasificación de las células herniadas se confirmó mediante epifluorescencia tras aplicar un protocolo de tinción diferencial que permite identificar las células de la ICM, que expresan el gen Oct4, del resto de células del blastocisto (Fig. 1). Los análisis estadísticos se realizaron mediante la prueba exacta de Fisher, y la significancia se estableció en 5% (α=0,05).

RESULTADOS

La formación y tasas de eclosión de blastocistos fueron cercanas al 100% en los tres grupos sin diferencias significativas entre ellos, lo que indica que ni la AH ni la AHD tuvieron un efecto perjudicial en el desarrollo embrionario entre D3-D6. En más de un tercio de los blastocistos del grupo de control no tratado, las primeras células que herniaron fuera de la ZP pertenecían a la ICM (38,5%), similar a lo observado en el grupo de AH aleatorio (43,2%). Al realizar AHD en D4, cerca del área de la primera cavitación, la incidencia de eclosión inicial de la ICM se redujo significativamente a sólo el 11,4% de los casos (p=0,0015). Curiosamente, la proporción de blastocistos que pudieron eclosionar completamente fuera de la ZP hasta D6 se redujo tanto en la AH como en la AHD (2,5% y 5,0%, respectivamente) en comparación con el grupo de control sin apertura en la ZP (39,5%, p≤0,0001).

CONCLUSIONES

La biopsia de trofectodermo depende del ritmo de desarrollo de cada blastocisto, lo que complica su integración en el flujo de trabajo del laboratorio. Los resultados de este estudio podrían mejorar la calidad y simplicidad de la técnica de biopsia, al dirigirse directamente al subgrupo apropiado de células y hacer que éstas sean más fáciles de escindir.



P-133

PRESENCIA ABUNDANTE DE LA ESPECIE *CANDIDA* EN EL ENDOMETRIO HUMANO: ¿SE VE AFECTADA LA RECEPTIVIDAD ENDOMETRIAL?

Marta Pérez Sánchez[1], A Martínez Lara[1], C Díaz López[1], D Cotán[1], R Gómez Morano[1], A Escrivá González[1], L Díez Tercero[2], D Campos Rodero[2], M Sandalinas Alabert[2], JA Horcajadas Almansa[3]

[1]Pronacera Therapeutics - Sevilla (Sevilla), [2]DiNA Science - Barcelona (Barcelona), [3]Sinae - Sevilla (Sevilla)

INTRODUCCIÓN

Anteriormente, la cavidad uterina humana se consideraba un nicho estéril. Sin embargo, en los últimos años varios estudios han refutado este dogma. Se ha detectado un microbioma uterino que parece tener un papel protector contra las infecciones, y un papel modulador de las células inmunes necesarias para la implantación embrionaria. Sin embargo, la presencia de microorganismos patógenos o potencialmente patógenos en el endometrio se ha relacionado con una deficiencia en la fertilidad. Hasta la fecha, en el campo de la reproducción asistida humana, la presencia de ciertas especies como *Candida* spp. se ha relacionado con condiciones patológicas endometriales como la endometriosis y las adhesiones intrauterinas, sin embargo, su influencia en la receptividad y funcionalidad endometrial no había sido evaluada hasta ahora.

OBJETIVO

Evaluar la influencia de la presencia abundante de especies del género *Candida* en endometrio sobre la expresión de genes relacionados con receptividad endometrial.

MATERIAL Y MÉTODO

En el estudio se incluyeron un total de 74 pacientes (edad media = 39,11±2,99 años). Las pacientes se sometieron a una extracción de una biopsia endometrial para el análisis del microbioma local. Se realizó una RT-qPCR para la detección de ciertos microorganismos y patógenos relacionados con salud reproductiva.

Las muestras se seleccionaron en base a la ausencia de otros patógenos y fueron clasificadas según la presencia o ausencia de especies de *Candida*: 13 muestras con la presencia abundante de, al menos, una especie de *Candida* (edad media = 40,46±2,78 años) y 61 muestras sin ninguna especie de *Candida* presente de forma abundante (edad media = 39,04±3,21 años).

Finalmente, se realizó un análisis de expresión génica de 48 genes relacionados con receptividad endometrial mediante RT-qPCR por microfluídica en las muestras endometriales.

Los datos se analizaron con el método Delta-Delta Ct y el valor de *fold change* se determinó con el test de Wilcoxon.

RESULTADOS

5 de 48 genes analizados (10,41%) muestran diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los grupos (presencia abundante de *Candida vs.* ausencia de abundancia de *Candida*). En particular, 2 de ellos (AREG y CXCL6) se sobreexpresan en muestras con presencia abundante de *Candida*, mientras que los 3 restantes (CAPN6, CTNNA2 y IL1R1) se sobreexpresan en muestras sin presencia abundante de *Candida*.

Además, se observa presencia de material genómico de especies de *Candida* en endometrio humano con una incidencia de un 1,77% de las muestras evaluadas.

CONCLUSIONES

Este estudio muestra que la presencia de especies de *Candida* en el endometrio humano modifica el perfil de expresión de genes relacionados con la receptividad endometrial.

Los genes sobreexpresados en muestras con presencia abundante de *Candida* están relacionados con mecanismos proinflamatorios y con la invasión del trofoblasto, mientras que las muestras sin presencia abundante de especies de *Candida* presentan una sobreexpresión de genes relacionados con la proliferación y la adhesión celular y con la comunicación materno-embrionaria.

Estos resultados sugieren que la presencia de *Candida* a nivel endometrial podría generar un posible efecto sobre mecanismos inmunológicos que conlleven la desregulación de la proliferación endometrial, la correcta invasión del embrión y la comunicación materno-embrionaria, procesos clave en la implantación. Sin embargo, se requerirán estudios adicionales para determinar la importancia clínica de la presencia de *Candida* en el éxito reproductivo, y para evaluar si la presencia de patógenos adicionales podría alterar estas observaciones.

Además, los test dirigidos únicamente a biomasa bacteriana podrían subestimar la presencia evidenciada de microorganismos no bacterianos, pudiendo generar una tasa de muestras sin identificar o con baja biomasa como es el caso de presencia abundante de microorganismos no bacterianos.

P-134

TASA DE NACIDO VIVO ACUMULADO TRAS 3 CRIOTRANSFERENCIAS DE PGT-A

Anna Rabanal Anglada, M Grossmann Camps, L Zamora Corzo, C Guix Galcerán, O Serra Ortiz, M Colodrón Bello, R Olivares Vela
Barcelona IVF
Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

El fallo de implantación es un parámetro de difícil evaluación en los centros de reproducción asistida humana.

OBJETIVO

Evaluar el fallo de implantación tras tres transferencias sucesivas de embriones euploides por PGT-A criopreservados. Nueva definición sobre fallo de implantación.

MATERIAL Y MÉTODO

Se incluyen ciclos de FIV+PGT-A en mujeres de 18 a 45 años y SET (*single embryo transfer*) en cada criotransferencia. IMC entre 18 y 40. Transferencia ecoguiada de embriones euploides. Se calcula la tasa de gestación acumulada tras tres criotransferencias. Se excluyen ciclos de PGT-M y PGT-SR. Estudio retrospectivo años 2020-2021-2022.

RESULTADOS

Se incluyen 129 ciclos de PGT-A con una media de edad de la paciente de 39,5 años.

La tasa de gestación acumulada es del 50% en la primera criotransferencia, del 78% en la segunda y del 91% a la tercera criotransferencia.

CONCLUSIONES

En mujeres sin otros factores asociados, el fallo de implantación tras *transfer* de 3 embriones euploides debería ser inferior al 10%. El fallo de implantación se debería definir teniendo en cuenta la probabilidad de ploidía de la paciente.

P-135

RENDIMIENTO DE LOS OVOCITOS MI MADURADOS *IN VITRO* A MII EN CICLOS DE OVODONACIÓN

Llanos Medrano López-Tello, A García Sifre, B Ramos Mas, L Van os Galdos, J Aizpurua Sáenz
IVF Life Alicante
Alicante (Alicante)

INTRODUCCIÓN

La estimulación ovárica controlada combinada con la fecundación *in vitro* convencional o la microinyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) se considera como la combinación más eficaz de tratamiento de reproducción humana asistida. Debido a este proceso de estimulación mediante gonadotropinas y a la medicación desencadenante, una gran parte de los ovocitos completan la meiosis en el ovario y son extraídos como metafase II (MII). Aquellos que no completan la maduración, serán obtenidos en estadio de vesículas germinal (VG) u ovocitos en metafase I (MI). Estos ovocitos en los ciclos de ovodonación son habitualmente descartados debido a que su calidad es subóptima.

OBJETIVO

Valorar el rendimiento de los ovocitos MI que maduran a MII entre la denudación y la ICSI en ciclos de ovodonación.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo en el que se han recogido datos entre enero de 2021 y febrero de 2023 para los resultados del laboratorio, y para los datos de embarazo se han recogido datos entre enero de 2021 y diciembre de 2021. Se recogieron los datos de 748 ciclos con ovocitos de donantes en fresco, donde se microinyectaron 5.944 ovocitos MII y 154 MI madurados (MIV). Los ovocitos se denudaron a las 2 horas post punción y se pincharon a las 2 horas post denudación. El factor masculino no se tuvo en cuenta. Se recogieron datos de la fecundación, la calidad del blastocisto obtenido agrupándolo en calidad buena (AA, AB, BA, BB) y calidad media (BC, CB, AC y CA). De los embriones transferidos en 2021(332 para MII y 5 para MIV), se recogieron datos de embarazo (EBQ), gestación clínica (EC) y nacimiento (E) sobre transferencia. Los datos se analizaron mediante chi-cuadrado (SPSS 26).

RESULTADOS

El análisis de los datos mostró que había diferencias significativas (p<0,001) en la tasa de fecundación entre el grupo MII (72,3%) y el MIV (45,1%). En cuanto a la tasa de llegada a blastocisto, también fue significativamente mayor en MII (53,6%) frente a MIV (18,85%) (p<0,001), aunque la distribución entre llegar a día 5 y día 6 no presentaba diferencias significativas en ambos grupos (p=0,676), ni tampoco había diferencias en la distribución de la calidad (0,063). En cuanto a las transferencias realizadas, la tasa EBQ fue similar en ambos grupos (63,6% MII y 60,0% MIV, p=0,870). Tampoco hubo diferencias significativas la tasa de EC (53,9% MII *vs.* 60,0% MIV; p=0,786) ni en la tasa de E (41,0%MII *vs.* 40,0%MIV, p=0,965.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos muestran que los ovocitos MIV entre la denudación y la ICSI presentan menor calidad que los MII ya que las tasas de fecundación y llegada a blastocisto son significativamente menores. Si bien es cierto que proporcionalmente las calidades eran similares en ambos grupos. El hecho de que tampoco presenten diferencias en las tasas de EBQ, EC y E indican que aquellos embriones procedentes de ovocitos MIV que llegan a día 5-6 tienen las mismas garantías que los embriones procedentes de MII. Aunque hay que tener en cuenta que el número de transferencias con embriones procedentes de ovocitos MIV es bajo y que habría que aumentar la *n* de este grupo; los resultados iniciales apoyan su uso.

P-136

EVALUACIÓN DE DIFERENTES SISTEMAS DE MEDICIÓN DE COMPUESTOS ORGÁNICOS VOLÁTILES EN UN LABORATORIO DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA

Empar Ferrer Robles[1], B Carbonell Rodríguez[2], V Antequera Durán[3], N Galiana Artés[3], M Ferrer Buitrago[3], P Muñoz Soriano[3], C Calatayud Lliso[3], M Ruiz Jorro[3]

[1]CREA - Valencia (Valencia), [2]Mónsolar Ingenieros - Valencia (Valencia), [3]CREA - Valencia (Valencia)

INTRODUCCIÓN

La calidad del aire debe considerarse como un factor de riesgo en los laboratorios de reproducción humana asistida (LRHA). Esta viene determinada por la calidad del aire exterior de donde se encuentre localizado el laboratorio. La mayor parte de los centros están ubicados en zonas urbanas, con fuentes contaminantes cercanas que emiten compuestos orgánicos volátiles (COVs) que podrían entrar en los laboratorios. Las diferentes publicaciones sobre COVs en LRHA han indicado que estos pueden ser perjudiciales para el desarrollo embrionario y que una reducción en sus niveles aporta una mejora en los indicadores clave (1,3,4,6,7,8,10). Por ello desde las sociedades científicas recomiendan que debe realizarse un control de los COVs (2), deben evitarse y reducirse (8). Pero no describen unas directrices o protocolos a seguir, en cuanto a metodología y frecuencia. Esto principalmente es debido a que no hay un método práctico que identifique y cuantifique los niveles de cada compuesto. Existen múltiples sistemas de detección, con diferente sensibilidad y selectividad, métodos cuantitativos y cualitativos. En los LRHA, como espacios de ambiente controlado, debería realizarse un control continuo utilizándose equipos que detecten niveles muy reducidos de COVs.

OBJETIVO

Evaluación de la funcionalidad de diferentes sistemas de medición de COVs en un LRHA.

MATERIAL Y MÉTODO

Se compararon los niveles de COVs durante un periodo de tiempo de 2 horas con tres sistemas de medida:

Dos de ellos cualitativos, que indican la presencia de COVs sin identificarlos. El primero de ellos, un detector PID por fotoionización (ppbRAE 3000), y el segundo, un medidor con sensor de óxido metálico, MOx (Nanoenvi IAQTm). El tercer método fue cuantitativo, mediante un *screening* selectivo por microextracción en fase sólida (SPME) y determinación por cromatografía de gases (CG).

El estudio se realizó en un laboratorio con condiciones ambientales controladas según la norma UNE 171340 (11) y con medidas implantadas de reducción de COVs: instalación de filtro de carbón activo con permanganato en la unidad de tratamiento del aire (UTA), recirculación del aire y torres de filtrado-purificación permanente, control periódico de COVs con un detector PID y registro histórico de valores habituales <100ppb.

RESULTADOS

Los valores obtenidos de COVs de forma continua con los medidores cualitativos se observan en los gráficos 1 y 2. Encontramos una gran diferencia entre las unidades de ppb detectadas por cada uno de estos equipos, pero se observa claramente la misma dinámica en ambos registros.

En la Tabla 1 se muestran los resultados cuantitativos determinados por CG junto con sus porcentajes en referencia al 1% de su valor de límite ambiental (VLA) (5).

CONCLUSIONES

Observamos que con los tres métodos de medida se obtienen resultados de COVs diferentes. Esto puede deberse a que cada uno ellos, por su metodología de detección, tenga una sensibilidad y selectividad diferente a los tipos de COVs y por

estas características ofrezcan utilidades diferentes en los laboratorios:

Los sensores PID son sensibles, pero no lo suficientemente selectivos. Permiten una determinación rápida y realizar un registro continuo, pero en un periodo de tiempo limitado. Son los más habituales en la bibliografía en LRHA.

La SPME con CG permite cuantificar niveles muy bajos, es tanto sensible como selectiva, pero no es una determinación rápida. Esta metodología debería realizarse ante un aumento prolongado de COVs. para identificar cuáles son y así encontrar la fuente de origen y eliminarlos.

Por último, la nueva tecnología de sensores MOx tienen menor sensibilidad y selectividad (9). Pueden no detectar niveles bajos de ppb, pero ofrecen un registro continuo que consta de un sistema de alarma que permite realizar un mayor control de la calidad del aire del laboratorio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Agarwal N, Chattopadhyay R, Ghosh S, Bhoumik A, Goswami SK, Chakravarty B. Volatile organic compounds and good laboratory practices in the in vitro fertilization laboratory: the important parameters for successful outcome in extended culture. J Assist Reprod Genet. 2017 Aug; 34(8):999-1006.

2. De los Santos MJ, Apter S, Coticchio G, Debrock S, Lundin K, Plancha CE, Prados F, Rienzi L, Verheyen G, Woodward B, Vermeulen N. Revised guidelines for good practice in IVF laboratories (2015). ESHRE Guideline Group on Good Practice in IVF Labs. Hum Reprod. 2016 Apr;31(4):685-6

3. Esteves SC, Bento FC. Air quality control in the ART laboratory is a major determinant of IVF success. Asian J Androl 2016;18(04): 596–599.

4. Hall J, Gilligan A, Schimmel T, Cecchi M, Cohen J. The origin, effects and control of air pollution in laboratories used for human embryo culture. Hum Reprod. 1998 Dec;13 Suppl 4:146-55.

5. Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo. Valores límites de exposición: Ministerio de Trabajo y Economía Social [Internet]. [Consultado 6 may 2023]. Disponible en: https://www.insst.es/valores-limites-de-exposicion

6. Khoudja RY,Xu Y, Li T, Zhou C. Better IVF outcomes following improvements in laboratory air quality. J Assist Reprod Genet. 2013 Jan; 30(1):69-76.

7. Morbeck DE. Air quality in the assisted reproduction laboratory: a mini-review. J Assist Reprod Genet (2015) 32 1019-1027.

8. Mortimer D, Cohen J, Mortimer ST, Fawzy M, McCulloh DH, Morbeck DE, Pollet-Villard X, Mansour RT, Brison DR, Doshi A, Harper JC, Swain JE, Gilligan AV. Cairo consensus on the IVF laboratory environment and air quality: report of an expert meeting. Reprod Biomed Online 2018 Jun;36(6):658-674.

9. Spinelle L, Gerboles M, Kok G, Persijn S, Sauerwald T. Review of Portable and Low-Cost Sensors for the Ambient Air Monitoring of Benzene and Other Volatile Organic Compounds. Sensors (Basel). 2017 Jun 28; 17(7):1520. doi: 10.3390/s17071520. PMID: 28657595; PMCID: PMC5539520.

10. Sciorio R, Rapalini E, Esteves SC. Air quality in the clinical embryology laboratory: a mini-review. Ther Adv Reprod Health. 2021 Feb 11;15:2633494121990684. doi: 10.1177/2633494121990684. PMID: 33629068; PMCID: PMC7882750.

11. UNE 171340:2012 Validación y cualificación de salas de ambiente controlado en hospitales.

TABLAS Y FIGURAS

Tabla I. Resultados COVs mediante *screening* selectivo por microextracción en fase sólida (SPME) y cromatografía de gases

COV	Valor de la medición ppb	VLA
Alcohol metílico	1,800	0,0010%
Xilenos, mezcla isómeros	0,313	0,0006%
Benceno	< LC	-
Tolueno	0,332	0,0007%
Etilbenceno	0,495	0,0005%
Estireno	0,136	0,0007%
Acetato de n-butilo	0,192	0,0004%
Acetato de etilo	0,183	0,0001%
Acetato de isobutilo	< LC	-
1,1,1-Tricloroetano	< LC	-
1,1,2-Tricloroetano	< LC	-
Tricloroetileno (2011)	< LC	-
1,1-Dicloroetano	< LC	-
1,2-Dicloroetano	< LC	-
1,2-Dicloroetileno (2013)	< LC	-
Naftaleno	0,130	0,0013%
N,N-Dimetilacetamida	0,132	0,0013%

<LC: límite de cuantificación. VLA: valor límite ambiental (1%)

Figura I. Resultados COVs con el detector PID por fotoionización (ppbRAE 3000).

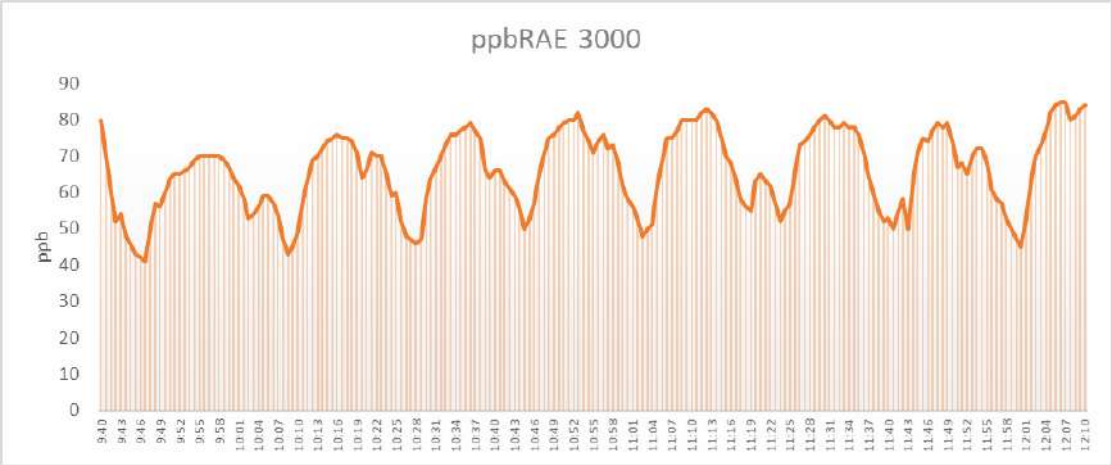
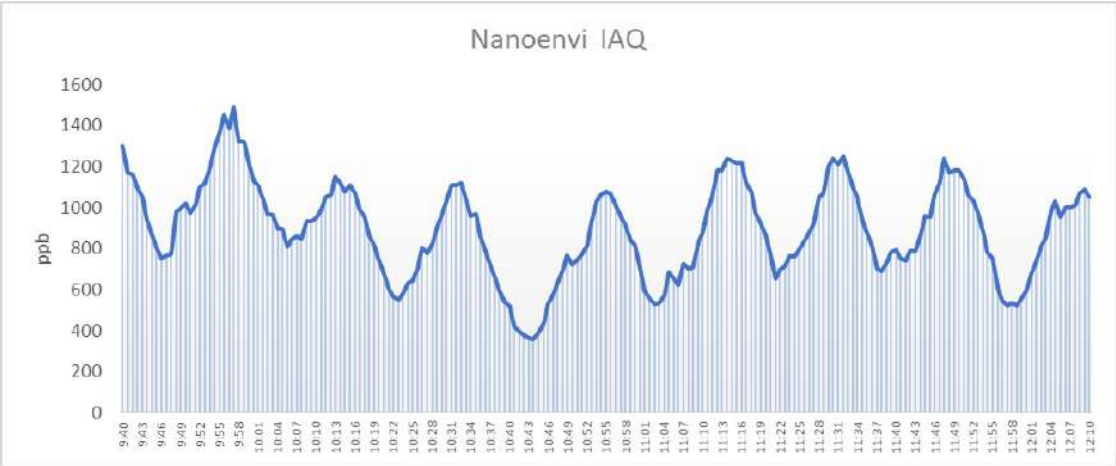


Figura II. Resultados COVs con un medidor con sensor MOx (Nanoenvi IAQTm).



P-137

UTILIZAR UN HAPLOTIPO C1C1 EN UN PROGRAMA DE OVODONACIÓN DISMINUYE EL PORCENTAJE MEDIO DE BLASTOCISTOS Y LA CALIDAD DE LOS MISMOS

Yosu Franco Iriarte, G Bescós Villa, A Villa Milla, I Orozco Gómez, F Sotos Borrás, E Carrillo de Albornoz Riaza, B Bueno Olalla, S Sánchez Ramón, M Gañán Parra, R Díaz Giráldez
Ruber Internacional
Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

Una adecuada comunicación entre las células asesinas naturales en la interfase materno-fetal con las moléculas de los antígenos de histocompatibilidad del trofoblasto embrionario es clave en el éxito de la reproducción. Se ha relacionado el tipo de molécula antígeno del leucocito humano C que expresa el embrión y el genotipo de receptores de tipo inmunoglobulina KIR en las células asesinas naturales de la madre, considerando el antígeno del leucocito humano C como un factor de riesgo para el desarrollo de abortos de repetición, fallos de implantación o preeclampsia. Determinadas combinaciones entre los KIR y el antígeno pueden impedir una adecuada invasión trofoblástica evidenciándose que las mujeres KIRAA tienen mayor riesgo de desarrollar pérdida gestacional o fallo de implantación si el embrión expresa el epítopo C2. Este hecho es importante en ovodonación sobre todo cuando la receptora posee el haplotipo KIRAA y la donante desde el punto de vista inmunológico debe ser C1C1. Seleccionar una donante C1C1 es complicado ya que este haplotipo lo posee el 30% de la población.

OBJETIVO

Determinar en casos de ovodonación si el efecto de seleccionar una donante haplotipo C1C1 influye en el número de blastos, calidad y euploidía de los mismos.

MATERIAL Y MÉTODO

Este estudio retrospectivo incluye el período 2020-2022 donde se han realizado 44 ovodonaciones de las cuales 29 receptoras poseían el haplotipo KIRAA a las cuales se les asignó donantes con haplotipo C1C1. A las 15 receptoras restantes se les asignó una donante C1-C2, o C2-C2. En todos los casos se realizó estudio genético a los embriones controlando en todos ellos el factor masculino y analizando posteriormente el número y la calidad de los blastocistos conseguidos, el estatus genético y la tasa de embarazo evolutivo a las 12 semanas.

RESULTADOS

Un total de 117 blastocistos se obtuvieron si la donante tenía el haplotipo C1C1 siendo aptos el 86% (101/117), de buena calidad incluyendo (AA;AB,BB) 44% (52/101) y embriones euploides un 61% (54/88). Si la donante fue C2-C2 o C1-C2 se obtuvo un 86% (67/78) de blastocistos con un 58% (45/67) de buena calidad y 62 % de euploidía. La tasa de embarazo en ambos grupos fue del 65% siendo 50% de embarazo evolutivo si las donantes tenían haplotipo C2 con respecto a un 48% si es C1. Si comparamos ambos grupos mediante cálculo de proporciones, observamos que existe un porcentaje mayor de un 14% de embriones de buena calidad con haplotipo C2 que no es estadísticamente significativa (p=0,17). No hubo diferencias en cuanto a la euploidía en ambos grupos, siendo 62% para las donantes C2 y 61% para las donantes C1. Quisimos comparar también a nivel de trofoectodermo la calidad del mismo. En las donantes C1-C1 38% de los blastocistos fueron de tipo C con respecto a C2-C2 de un 27%.

El número medio de blastocistos obtenidos según haplotipo varía ya que si la donante es C1C1 la media de blasto por paciente es de 3,48 y si es C2 4,46.

CONCLUSIONES

El estudio en profundidad de los haplotipos en las donantes nos muestra que a pesar de la interacción entre el antígeno

del leucocito humano C embrionario y KIR que se considera fundamental para la reproducción, el porcentaje de euplodía no cambia en este tipo de donantes. Sí que se observa un porcentaje mayor de blastocistos de mejor calidad así como un aumento de un blastocisto más si la donante es C2, siendo la prevalencia de trofoectodermo de tipo C un 11% más en las C1 La complejidad de encontrar donantes C1C1 y su utilización para receptoras KIR AA podría solucionarse con un tratamiento modulador desde el punto de vista inmunológico para las receptoras, ya que se beneficiarían de tener más cantidad de blastos de buena calidad con una donante C2, lo que aumentaría la tasa acumulada de embarazo.

P-138

EL *HATCHING* ASISTIDO REALIZADO EN UN CUARTO DE LA ZONA PELÚCIDA MEJORA LAS TASAS DE IMPLANTACIÓN EN CRIOTRANSFERENCIAS DE BLASTOCISTOS DE CALIDAD C

Berta Gunturiz Beltrán[1], C Cano Calvo[1], C Mariné Canals[1], M Aura Masip[1], J Llácer Aparicio[2], L Mifsud Elena[1]
[1]Ginefiv Barcelona - Barcelona (Barcelona), [2]Ginefiv Madrid - Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

El *hatching* asistido es una acción mecánica ejercida sobre la zona pelúcida de los embriones antes de la transferencia. La intención es favorecer la eclosión y ayudarles a alcanzar el útero con mayor facilidad y menor esfuerzo, en los casos en los que el embrión tenga dificultades para llevar a cabo esta acción de manera natural (blastocistos de calidad baja). Muchos han sido los estudios realizados para evaluar la eficacia de realizar eclosión asistida a los embriones previamente a su transferencia, aunque generalmente no se especifica qué forma se ha usado para realizar el proceso.

OBJETIVO

Analizar si la realización de *hatching* asistido en un cuarto del embrión, de forma lineal y consiguiendo un agujero completo en la zona pelúcida que permita al blastocisto salir en forma de ocho, mejora las tasas de implantación, gestación evolutiva y RNV en casa, en embriones criopreservados de calidad C según la clasificación ASEBIR.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realiza un estudio retrospectivo de todos los ciclos de criotransferencia realizados en nuestro centro entre los años 2021 y 2022, donde se compara la transferencia sin realizar *hatching* asistido *vs.* la realización de *hatching* asistido de forma lineal en un cuarto de la zona pelúcida, con el láser Octax (Vitrolife®), en blastocistos de calidad C, según la clasificación de ASEBIR. Se evalúa el efecto para las variables de implantación, gestación clínica y RNV en casa. El estudio incluye 67 casos de criotransferencias de blastocistos de calidad C: 14 en los que no se realizó *hatching* asistido antes de la transferencia, y 53 a los que sí. El estudio se realiza mediante el programa estadístico SPSS, con una prueba χ^2, considerando estadísticamente significativo un P valor ≤ 0,05.

Se excluyen del estudio los ciclos de PGT y criotransferencias de dos embriones en las que solo se haya observado un saco gestacional.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos para este estudio mostraron que cuando no se realiza *hatching* asistido en embriones desvitrificados de calidad C, el porcentaje de implantación es del 0%, y en consecuencia, no hay gestaciones ni partos; frente al 35,8% que sí lo consiguen cuando se realiza este *hatching* asistido, obteniéndose un p-valor = 0,008, considerado estadísticamente significativo (tabla 1). Y aunque no se obtuvieron valores estadísticamente significativos para la evolución

del embarazo (p-valor = 0,072) (tabla 2), ni para el RNV en casa (p-valor = 0,220) (tabla 3), es importante recalcar que sí se obtuvieron RNV en casa para el grupo en que se realiza *hatching*.

CONCLUSIONES

En blastocistos de baja calidad con dificultades para realizar la implantación por sí solos, el *hatching* asistido de forma lineal en un cuarto del embrión, le facilita el desprenderse de la zona pelúcida (ZP) y poder anidar en el útero con mayor facilidad. Esta forma de realizar el *hatching* asistido podría estar ayudando a los blastocistos de calidad C. Sería necesario aumentar la casuística para comprobar si la tendencia observada en la evolución de la gestación (p-valor 0,072), terminaría siendo también estadísticamente significativa. Y bajo esta premisa, podríamos concluir que, sobre todo en aquellas pacientes que solo disponen de blastocistos de calidad C para crioconservar, merece la pena intentarlo, realizando este tipo de *hatching* asistido antes de desestimarlos sin darle la oportunidad de conseguir una gestación y, en algunas ocasiones, un RNV en casa, que es lo que verdaderamente queremos en las clínicas de reproducción humana, especialmente en pacientes que, tal vez, no tengan más opciones.

TABLAS

Análisis de los datos en criotransferencias de embriones de calidad C:
Hatching vs. Implantación / *Hatching vs.* Gestación evolutiva / *Hatching vs.* Parto

Resumen de procesamiento de casos

	Casos					
	Válido		Perdido		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
HATCHING * IMPLANTACIÓN	67	100,0%	0	0,0%	67	100,0%
HATCHING * EVOLUCIÓN GESTACIÓN	67	100,0%	0	0,0%	67	100,0%
HATCHING * PARTO	67	100,0%	0	0,0%	67	100,0%

Tabla I. *Hatching* * Implantación

			IMPLANTACIÓN		
			No	Sí	Total
HATCHING	No hatching	Recuento	14	0	14
		% dentro de HATCHING	100,0%	0,0%	100,0%
	Hatching	Recuento	34	19	53
		% dentro de HATCHING	64,2%	35,8%	100,0%
Total		Recuento	48	19	67
		% dentro de HATCHING	71,6%	28,4%	100,0%

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)	Significación exacta (bilateral)	Significación exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	7,006	1	,008		

Tabla II. *Hatching* * Evolución gestación

Tabla cruzada

			EVOLUCIÓN GESTACIÓN				
			No	Beta	Saco	Latido	Total
HATCHING	No hatching	Recuento	14	0	0	0	14
		% dentro de HATCHING	100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	100,0%
	Hatching	Recuento	34	7	3	9	53
		% dentro de HATCHING	64,2%	13,2%	5,7%	17,0%	100,0%
Total		Recuento	48	7	3	9	67
		% dentro de HATCHING	71,6%	10,4%	4,5%	13,4%	100,0%

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	7,006	3	,072

Tabla III. *Hatching* * Evolución gestación

			PARTO						
			No	Bioquímico	Aborto / Ectópico	Término	Pte Parto*	Pte panel**	Total
HATCHING	No hatching	Recuento	14	0	0	0	0	0	14
		% dentro de HATCHING	100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	100,0%
	Hatching	Recuento	34	7	3	5	2	2	53
		% dentro de HATCHING	64,2%	13,2%	5,7%	9,4%	3,8%	3,8%	100,0%
Total		Recuento	48	7	3	5	2	2	67
		% dentro de HATCHING	71,6%	10,4%	4,5%	7,5%	3,0%	3,0%	100,0%

*Casos confirmados de gestación evolutiva hasta semana 30 pendientes del parto en el momento de entregar el abstract.
**Casos pendientes de confirmación de gestación tras confirmar latido en semana 4-5.

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	7,006	5	,220

P-139

CHARACTERIZATION OF THE HORMONAL PROFILES DURING MINIMAL STIMULATION PROTOCOLS IN NORMAL RESPONDER WOMEN AND THE ASSESSMENT OF THEIR PAIN LEVEL AFTER OOCYTE RETRIEVAL

Marta Julia Fernández González[1], M Marchante[1], S Piechota[2], A Giovannini[2], A Martín[3], P Belchín[3], E López[3], MJ Baranco[3], C Kramme[2], D Ordónez-Pérez[3]

[1]Gameto Inc - Madrid (Madrid, Spain), [2]Gameto Inc - New York (New York, USA), [3]Ruber Juan Bravo University Hospital, Eugin Group - Madrid (Madrid, Spain)

INTRODUCTION

Minimal stimulation protocols for *in vitro* maturation (IVM) are characterized by the low amount of hormones required. Therefore, using these protocols translated into a decreased risk of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS), a reduced number of painful and uncomfortable hormone injections, and fewer side effects compared to the standard stimulation protocols for *in vitro* fertilization (IVF).

OBJECTIVE

The study aimed to characterize the hormonal profiles during minimal stimulation protocol and the side effects of this procedure.

MATERIAL AND METHOD

Thirty-seven normal responder donors (28±3.9 years, BMI: 22±2.9, AMH: 4.0±2.4) underwent minimal stimulation protocol with injections during 3-4 days using 600 IU of rFSH with hCG trigger, measuring hormonal levels on the day 0 (estradiol and progesterone), the day of trigger (estradiol, progesterone, follicle-stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH), and the day of oocyte pick-up (OPU; estradiol, progesterone, FSH and LH).

After stimulation, a questionnaire on adverse effects was documented immediately after OPU and 8-10 h later, recording the pain level (scale from "0" (no pain) to "10" (the most pain), and if it was necessary to take any pain medication. In addition, these side effects were compared with donors who underwent standard stimulation for IVF (23 cycles).

During the stimulation until the OPU day, the mean levels of estradiol slightly increased from 40.54±38.33 to 398.14±280.61 pg/mL, and the mean levels of progesterone ranged from 1.57±3.41 to 0.31±0.13 µg/L. Between the day of trigger and OPU day, the levels of FSH decreased from 7.93±2.92 to 13.02±5.61 mUI/mL, and LH increased from 2.05±3.01 to 4.66±4.26 mIU/mL (Table I).

After oocyte pick-up, a higher percentage of donors reported no pain (level="0") with the minimal stimulation than with the standard protocol (27.0% minimal; 21.7% standard) and even more differently 8 hours later (37.8% minimal; 4.3% standard). Moderate levels of pain (from "0" to "4") were similar between the groups directly (40.5% minimal; 52.1% standard), as well as 8 hours after the OPU (40.54% minimal; 43.4% standard). However, lower levels of intensive pain (from "5" to "10") 8 hours after the OPU were reported in patients undergoing minimal (21.6%) than standard stimulation (52%).

Regarding taking pain medication, there was no difference between protocols immediately after oocyte pick-up (9.1% and 8.7% in the minimal and standard stimulation, respectively). However, 8 hours later, only 20.5% under minimal stimulation compared to the 56.5% of the donors under standard protocol required medication.

CONCLUSIONS

These results demonstrate that donors under minimal hormonal stimulation have stable hormone levels during and after stimulation, reducing the risk of hyperstimulation. Moreover, women have lower pain levels and require less supplemental medication compared to standard stimulation.

TABLAS

Tabla I.

	Day 0	Day of Trigger	Day of oocyte pick-up
Estradiol (pg/mL)	40.54±38.33	393.64±266.21	398.14±280.61
Progesterone (µg/L)	1.57±3.41	0.31±0.13	0.91±0.53
FSH (mUI/mL)	---------	13.19±6.01	7.67±3.05
LH (mIU/mL)	---------	2.21±3.27	5.25±4.43

P-140

COMPARING DIFFERENT MINI-STIMULATIONS AND RETRIEVAL EFFICIENCIES FOR OBTAINING IMMATURE OOCYTES FOR *IN VITRO* MATURATION

María Marchante Cuevas[1], MJ Fernández-González[1], S Piechota[2], A Giovannini[2], P Belchín[3], A Martín[3], MI Almagro[3], D Mcculloh[2], C Kramme[2], D Ordónez-Pérez[3]

[1]Gameto Inc. - Madrid (Madrid, Spain), [2]Gameto Inc. - New York (New York, USA), [3]Ruber Juan Bravo University Hospital, Eugin Group - Madrid (Madrid, Spain)

INTRODUCTION

In vitro maturation (IVM) of oocytes is an underutilized paradigm in assisted reproductive technologies that can yield mature, fertilizable oocytes that can result in live births. Among the reasons for its low utilization is the disappointing number of oocytes retrieved when intending to obtain only immature oocytes for young women. Further, this yield of oocytes seems relatively unchanged by using a small number of gonadotropin doses or triggering the injection of hCG.

OBJECTIVE

We aimed to evaluate if changes in the abbreviated ovarian hyperstimulation dosing could improve the efficiency with which immature oocytes are retrieved for IVM studies.

MATERIAL AND METHOD

Sixty-one women (28.24±3.50 years and 22.60±2.86 BMI) with AMH levels exceeding 1.0 ng/ml received injections of recombinant FSH for consecutive days. Three different protocols were tested: daily injections of the same dose of FSH (200-200-200 IU, group A, n=8) followed by no trigger or a trigger of 500 mcg of recombinant hCG (group B, n=42), and the administration of one higher dose of FSH followed by two lower doses (300-150-150 IU) and hCG (group C, n=11).

The outcome parameters examined were the number of oocytes retrieved, the retrieval efficiency (the number of oocytes retrieved per antral follicle viewed with ultrasound two days before the retrieval (O/UF) and per follicle aspirated at the oocyte pick-up (O/AF), the size of antral follicles after stimulation (<= 6 mm and >6 <12 mm), and physician efficiency for oocyte collection. A correlation analysis was done between RE and the size of the follicles.

RESULTED

With the 61 subjects tested, we obtained 7.2 ± 3.7 oocytes (mean + SD). The retrieval efficiency (RE) averaged 37.6 ± 17.6% oocytes per antral follicle (O/UF) and 47.4 ± 21.2% per

aspirated follicle (O/AF). Small variations in RE were not significantly different when comparing the stimulation protocols based on three daily same-dose FSH injections with or without hCG (Group A O/UF:30.01 ± 14.9%, O/AF:37.5 ± 18.8%; Group B O/UF: 37.7 ± 17.6%, O/AF:48.9 ± 21.3%) and the administration of a higher dose of FSH on the first day (Group C: O/UF:40.9 ±19.3, O/AF:49.0 ± 22.7%). The physician retrieved around 78% of AFC, comparing the punctured oocytes to antral follicles.

When we analyzed the size of antral follicles before retrieval, the percentage of >6mm follicles (mean of all donors = 69.7%) was positively associated with the RE O/AF ($R = 0.33$; $P < 0.001$) and RE O/UF ($R = 0.25$; $P < 0.001$). The percentage of >6mm follicles for individual groups (Group A:84.0%. Group B: 67.1%, and Group C:68.6%) were not significantly different.

CONCLUSIONS

Neither dosages of gonadotropin nor a recombinant hCG trigger resulted in changes to the number of retrieved immature oocytes and efficiencies, although these were influenced by the follicle size.

Retrieval efficiencies of 37.6 % of the antral follicles and 47.4 % of the aspirated follicles are good values for immature oocyte retrievals for IVM. However, it falls short of typical IVF retrievals, needing more studies to improve these rates considering the control of follicle size and using different aspiration pressures and filters for oocyte pick-up, among others.

P-141

IMPLEMENTACIÓN DE UN PROTOCOLO SENCILLO DE MADURACIÓN *IN VITRO* PARA EL RESCATE DE OVOCITOS INMADUROS

Víctor Montalvo Pallés, A Munuera Puigvert, B Marquès López-Teijón, M López-Teijón Pérez
Institut Marquès
Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

El rescate de ovocitos inmaduros mediante maduración *in vitro* (MIV) no es actualmente un procedimiento rutinario en la fecundación *in vitro* (FIV). Sin embargo, se ha reportado varias veces de la utilización con éxito de la MIV y se ha demostrado que es una forma de aumentar sustancialmente los embriones disponibles para pacientes con un bajo número de ovocitos maduros. Debido a que las expectativas para la MIV son limitadas y a la elevada complejidad de sus protocolos, la MIV no se utiliza ampliamente en la práctica clínica actual. Esto demuestra la necesidad de un protocolo simplificado de MIV para aumentar el número de ovocitos disponibles para ICSI en pacientes con baja respuesta.

OBJETIVO

Determinar la eficiencia de un protocolo simplificado de maduración *in vitro* de ovocitos para pacientes con baja respuesta.

MATERIAL Y MÉTODO

Se incluyeron en el estudio 92 pacientes entre junio de 2022 y marzo de 2023. Los criterios de inclusión fueron: tratamiento de FIV con ovocitos propios con 5 o menos ovocitos maduros tras la decumulación y con al menos un ovocito inmaduro.

La denudación se realizó 3 horas después de la recuperación de los ovocitos utilizando 20 UI/ml de hialuronidasa y mediante una cuidadosa denudación mecánica. Los ovocitos en estadio de vesícula germinal (VG) y metafase I (MI) se

clasificaron como inmaduros y se cultivaron en una incubadora *time-lapse* juntamente con los ovocitos maduros microinyectados. El estado de maduración de los ovocitos inmaduros se comprobó otra vez durante la ICSI, 24h y 48h después de la recogida de los ovocitos, momento en el que los ovocitos que habían extruido un corpúsculo polar fueron inseminados mediante ICSI.

Los ovocitos MIV se clasificaron según el día en que se microinyectaron creando 5 grupos: MII, MI D+0, MI D+1, MI D+2, y VG D+2. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba de Chi-cuadrado.

RESULTADOS

Los 92 pacientes seleccionados tenían una edad media de 38,4±3,8 años y recuperaron 457 ovocitos, de los cuales sólo el 60,67% fueron maduros tras la decumulación (3,01±1,48 MII por paciente). Se dejaron en cultivo 171 ovocitos inmaduros. En el 72,82% de los pacientes maduró por lo menos 1 ovocito, dando un total de 4,20±1,66 ovocitos microinyectados por paciente.

En la tabla I podemos ver los resultados por cada tipo de ovocito inmaduro apreciando una disminución en las tasas de fecundación y de blastocisto útil en los MIV respecto a los MII.

Como resultado de la implementación de este protocolo, 14 pacientes (15,21%) tienen un embrión proveniente de ovocitos MIV, siendo en 3 casos el único embrión utilizable. El número de blastocistos útiles por paciente pasa de 1,09 a 1,25 si añadimos los blastocistos derivados de ovocitos MIV. Hasta la fecha, se han transferido 4 blastocistos derivados de ovocitos MIV con una tasa de embarazo evolutivo del 50,00%.

CONCLUSIONES

Estos resultados evidencian que este protocolo de maduración *in vitro* ayuda a aumentar la cantidad de embriones de buena calidad disponibles para las pacientes bajo respondedoras. Pese a la menor eficacia de los ovocitos rescatados mediante MIV, queda patente la utilidad de este protocolo en un grupo de pacientes determinado.

TABLAS

Implementación de un protocolo sencillo de maduración *in vitro* para el rescate de ovocitos inmaduros

Tabla I. Resultados de los ovocitos según su grado de madurez. Diferentes superíndices indican diferencias estadísticamente significativas. Siendo blastocisto útil ≥3BB según Score de Gardner.

	N	Maduran in vitro	Fecundados	Blastocistos útiles
MII	277	-	186 (67,14%)[a]	101 (54,3%)[a]
MI total	87	71 (81,60%)	38 (53,52%)[b]	11 (28,94%)[b]
MI D+0	-	16 (18,39%)	9 (56,25%)[b]	3 (33,33%)[b]
MI D+1	-	54 (62,06%)	29 (53,70%)[b]	8 (27,58%)[b]
MI D+2	-	1 (1,14%)	0 (0,0%)	-
VG D+2	84	39 (46,4%)	17 (43,58%)[b]	3 (17,64%)[b]

P-142

LA DONACIÓN DE OVOCITOS NO MEJORA EL ÉXITO REPRODUCTIVO EN PACIENTES JÓVENES QUE SUFREN ABORTOS DE REPETICIÓN

Anna Blázquez Ventura[1], A Almansa-Ordóñez[2], J Santaló[3], R Vassena[2], G Tiscornia[2], M Popovic[2], I Miguel-Escalada[1], A Rodríguez[2]

[1]Eugin Barcelona - Barcelona (Barcelona), [2]Eugin Group - Barcelona (Barcelona), [3]Universitat Autònoma de Barcelona - Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

El aborto de repetición (RPL) se define como la pérdida consecutiva de dos o más embarazos antes de las 20-24 semanas de gestación. Afecta al 1-2% de las parejas que intentan concebir. Los factores de riesgo conocidos para RPL son la aneuploidía embrionaria, la edad materna avanzada (AMA), abortos previos, anomalías uterinas, anomalías cromosómicas parentales, síndrome antifosfolípido, factores endocrinos y la trombofilia. Sin embargo, el 50-70% de las abortadoras de repetición no presentan ningún factor de riesgo conocido, lo que dificulta especialmente el manejo clínico de estas pacientes.

OBJETIVO

El objetivo de este estudio es evaluar si la donación de óvulos mejora los resultados reproductivos en pacientes con abortos de repetición.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo de cohortes en 18,273 mujeres sometidas a tratamiento de FIV entre 2011 y 2020, en dos centros de reproducción asistida. Un total de 912 pacientes (5%) cumplían la definición de RPL y se clasificaron en grupos de estudio según su edad y origen de los óvulos: mujeres ≤35 años que recibían donación de óvulos (n = 39) o óvulos propios (n = 35), y mujeres AMA que usaban óvulos donados (n = 716) o propios (n = 122). Las variables demográficas analizadas incluyeron factores de riesgo asociados a RPL, número de embriones transferidos, día de transferencia embrionaria (3 *vs.* 5) y origen del semen (pareja/donante). Las diferencias en las tasas de embarazo bioquímico, clínico, en curso, aborto y nacido vivo se evaluaron mediante las pruebas exactas de Fisher o Chi cuadrado. Se consideraron significativos valores p< 0,05.

RESULTADOS

Las pacientes con RPL presentaron en promedio 2,77 ± 1,27 abortos (2,76 ± 1,37 en mujeres ≤35 y 2,77 ± 1,26 en pacientes >35) y la mayoría (91,9%) eran AMA. Excluyendo la edad materna, se identificaron otros factores de riesgo asociados a RPL, incluyendo las malformaciones uterinas, abortos previos, anomalías cromosómicas y trombofilias, en 207/912 pacientes (22,7%), siendo más prevalentes en pacientes <35 (37,8% *vs.* 21%, p = 0,001). Las mujeres jóvenes con RPL presentaron con más frecuencia anomalías cromosómicas que las pacientes mayores (17,6% *vs.* 3,8%, p <1x10-04), pero una incidencia similar de malformaciones uterinas (14,9% *vs.* 12,9%, p> 0,63) y trombofilias (4,1% *vs.* 4,7%, p> 0,81).

Las pacientes con RPL >35 utilizaron preferentemente óvulos donados (85,4% *vs.* 52,7%, p <1x10-04), lo cual llevó a obtener tasas significativamente más altas de embarazo bioquímico (52,5% *vs.* 17,1%, p <1x10-04), clínico (42,4% *vs.* 8,5%, p <1x10-04), en curso (37,9% *vs.* 5,1%, p <1x10-04), nacido vivo (32% *vs.* 4%, p <1x10-04) y tasas más bajas de aborto (10,5% *vs.* 40%, p = 0,0186) que en ciclos autólogos. Sin embargo, las pacientes con RPL <35 tuvieron resultados reproductivos similares independientemente del origen del óvulo (donado *vs.* propio): embarazo bioquímico (41% *vs.* 52,9%), clínico (28,2% *vs.* 37,1%), en curso (25,6% *vs.* 29,4%), nacido vivo (25,6% *vs.* 26,4%) y tasas de aborto (9% *vs.* 23%, p> 0,05 para todos los casos). Es importante destacar que esto también fue cierto para un pequeño subgrupo de pacientes jóvenes con RPL idiopático (n = 13).

CONCLUSIONES

La RPL puede resolverse en pacientes de edad materna avanzada mediante el uso de óvulos donados, lo que indica que tanto la calidad ovocitaria como la aneuploidía tienen un papel fundamental en la etiología de RPL. Sin embargo, en mujeres jóvenes con RPL, utilizar ovocitos donados no mejora las tasas reproductivas, lo que sugiere que en estas pacientes los abortos de repetición pueden tener un origen endometrial y/o sistémico y resalta la necesidad de investigar los mecanismos que subyacen a esta condición.

P-143

¿EMPEORA LA VITRIFICACIÓN DE OVOCITOS LOS RESULTADOS REPRODUCTIVOS EN PACIENTES DE EDAD MATERNA AVANZADA? ANÁLISIS DE 1.268 CICLOS

Marc Torra Massana, MJ Zamora Berlanga, A Rodríguez Aranda, I Miguel Escalada, M Popovic
Clínica Eugin
Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

La vitrificación de ovocitos es el método más eficiente para preservar la fertilidad en mujeres jóvenes. Sin embargo, distintas circunstancias sociales y económicas obligan a muchas mujeres a preservar la fertilidad cuando ya tienen edad materna avanzada (EMA, >35 años). Algunos estudios en ratón indican que la EMA aumenta la vulnerabilidad de los ovocitos al daño molecular y subcelular durante la vitrificación, afectando negativamente al desarrollo embrionario y la implantación. No obstante, en gran medida se desconoce el efecto que tiene la vitrificación ovocitaria sobre los resultados reproductivos en pacientes de EMA.

OBJETIVO

El objetivo de este estudio es determinar si la vitrificación de ovocitos tiene un efecto negativo sobre las tasas de embarazo y nacido vivo de pacientes que preservaron la fertilidad con más de 35 años (EMA), en comparación con pacientes de la misma edad que utilizan ovocitos frescos.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo de 1.268 pacientes que realizaron el primer ciclo de ICSI en un centro de fertilidad entre enero de 2019 y octubre de 2022. Todas utilizaron sus propios ovocitos: frescos (n=1,087) o previamente vitrificados con el protocolo Cryotop® de Kitazato para preservación de su fertilidad por motivos sociales (n=181). Se establecieron 4 grupos de estudio según la edad de la paciente en el momento de la punción folicular: grupo control (≤35 años) y grupos EMA (36-37, 38-39 y ≥40 años). Para cada grupo, se analizaron las tasas de fecundación, proporción de embriones evolutivos, embarazo clínico y nacido vivo tras la primera transferencia según el estatus de los ovocitos (frescos *vs.* vitrificados). Se utilizaron análisis univariados y multivariados (modelos de contrastes 2-a-2 y regresión logística), estos últimos ajustados por origen del semen (pareja o donante), día de la transferencia (3 o 5), número de embriones transferidos y edad endometrial. Se consideró significativo un p-valor <0,05.

RESULTADOS

El uso de semen de pareja o de donante estuvo distribuido equitativamente entre los grupos de pacientes que usaron ovocitos frescos o vitrificados (45% semen de pareja y 55%

semen de donante). En nuestra cohorte, las transferencias en estadio de blastocisto fueron más frecuentes en mujeres ≤35 años *vs.* en grupos de mayor edad (45,6% *vs.* 23,8% ≥40 años, p<0,0001). Nuestros resultados indican que el uso de ovocitos vitrificados reduce la tasa de fecundación en un 10% en todos los grupos de edad (p<0,05). El análisis multivariado confirmó el efecto negativo de la vitrificación sobre la tasa de fecundación tras ICSI. La vitrificación también afectó negativamente al desarrollo preimplantacional, ya que la proporción de embriones evolutivos fue significativamente menor en todos los grupos de edad (p<0,05 en todas las comparaciones). Sin embargo, este efecto negativo no se vio reflejado en las tasas de embarazo clínico, que fueron comparables en todos los grupos de edad e independientemente del estatus de los ovocitos (p=0,6594). Como es esperable, la tasa de nacido vivo en nuestra cohorte decrece a medida que aumenta la edad de la paciente (de 38,5% en mujeres ≤35 años hasta un 15,0% en ≥40 años). El modelo de regresión logística indicó que hay un efecto negativo de la vitrificación ovocitaria sobre la tasa de nacido vivo en pacientes con ≥40 años (OR: 0,60, 95% CI: 0,18-2,06, p<0,0001), pero no observamos ningún efecto significativo en pacientes de 39 años o menos.

CONCLUSIONES

Los resultados reproductivos utilizando ovocitos frescos o vitrificados fueron comparables en pacientes de hasta 39 años. A pesar de que vitrificar ovocitos antes de los 35 años sigue siendo el procedimiento más efectivo para preservar la fertilidad, nuestros resultados ofrecen un recurso para asesorar a aquellas pacientes que postponen esta decisión hasta cuando ya se consideran EMA.

P-144

ANÁLISIS DE SECUENCIACIÓN BASADOS EN EXOMA: EN *CARRIER SCREENING* ¿CUANTO MÁS, MEJOR?

Roser Moret Turné, M Palahi Bages, I Trujillo Puebla, A Feliu Cuberes, A Martín Insa, L Lasquibar Rodríguez, C Sedó Larmarca, R Palomares Enrique, D Cotan, M Sandalinas Alabert
FullGenomics
Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

Debido a los avances en la tecnología de secuenciación del ADN, las sociedades científicas han publicado recomendaciones para mejorar la selección de los genes que deben ser incluidos en los paneles de detección de portadores (CS). Las recomendaciones establecen que los criterios de inclusión de una enfermedad en un panel de portadores son: una elevada tasa de portadores, un fenotipo bien definido, que se hayan descrito previamente variantes patogénicas, que tenga un efecto negativo sobre la calidad de vida, un deterioro cognitivo o físico, la necesidad de intervenciones quirúrgicas y/o ser de aparición temprana. Las enfermedades de penetrancia incompleta o expresividad variable son opcionales para su inclusión.

OBJETIVO

El objetivo del estudio es determinar si los paneles de detección de portadores basados en el exoma (EBCS) deberían diseñarse para analizar las enfermedades más relevantes en lugar de analizar todas las posibles.

MATERIAL Y MÉTODO

Este estudio preliminar incluye 31 resultados de test EBCS que se incluyeron en 34 estudios de *matching*. Para este estudio se seleccionaron los genes que causaron incompatibilidad en el estudio de *matching*. Se detectaron un total de 32 genes para evaluar si cumplían los criterios de inclusión en un panel de CS.

La información sobre los genes y enfermedades causantes de incompatibilidad se evaluó mediante la búsqueda de información en catálogos de trastornos genéticos y clasificación de variantes (OMIM, Orphanet, GeneReviews y ClinVar).

RESULTADOS

De los 34 análisis de matching realizados, 18 fueron incompatibles, 17 de ellos por la presencia de variantes en genes que no se analizaron en la pareja reproductiva y 1 se determinó de elevado riesgo por compartir variantes en el mismo gen.

De los 32 genes que causaron las 17 incompatibilidades, en 14 (44%) se han encontrado diferentes razones por las cuales podrían no ser adecuados para estudios de CS según las características de las enfermedades:

4 genes tienen descritas muy pocas variantes patogénicas o probablemente patogénicas, o con un número muy reducido de pacientes identificados y, por tanto, la información disponible es insuficiente para extraer conclusiones sobre patogenicidad. Por ejemplo, OMIM afirma que GEMIN4 causa trastorno del neurodesarrollo, pero no hay ninguna variante patogénica descrita en ClinVar.

Otros 4 genes están asociados a enfermedades autosómicas dominantes (AD) y autosómicas recesivas (AR). Por ejemplo, el gen VWF, que causa la enfermedad de Von Willebrand. Aunque los casos AR son más graves, sólo representan el 10% del total -lo que añade dificultad al asesoramiento genético pre-test y post-test- .

Otros 6 genes son causantes de enfermedades que tienen una sintomatología muy leve que no repercute en la calidad de vida, o con la mayoría de pacientes asintomáticos. Por ejemplo, PADI3, responsable del síndrome del cabello impeinable, cuya manifestación clínica afecta a la estructura del cabello del cuero cabelludo haciéndolo muy difícil de peinar. Esta afección se resuelve durante la adolescencia.

Además, 30 de los 32 genes analizados (94%) tienen una frecuencia de portadores estimada inferior a 1/200.

En consecuencia, solamente dos de ellos (DNAH1 y PRKN) cumplen estrictamente todas las recomendaciones para ser incluidos en un panel de portadores.

CONCLUSIONES

No todos los genes relacionados con enfermedades AR son adecuados para su inclusión en un panel de CS. Los datos recogidos en este análisis preliminar ponen de manifiesto la importancia de revisar los genes analizados en los paneles EBCS. A pesar de las ventajas potenciales de un análisis basado en el exoma, es necesaria una evaluación previa de los genes secuenciados para limitar o restringir el análisis a los genes que cumplen los criterios de inclusión en test de CS publicados por las sociedades científicas.

P-145

Y SI NO TENEMOS *TIME-LAPSE*, ¿QUÉ USAMOS PARA SELECCIONAR EL BLASTOCISTO?

Ana García Sifre, Y Galiana Briones, L Marras Pérez, M Jiménez Gadea, LL Medrano López-Tello
IVF Life Alicante
Alicante (Alicante)

INTRODUCCIÓN

El análisis morfológico de los embriones es el método más extendido de clasificación embrionaria. Este método permite identificar aquellos embriones con mayor potencial de implantación y reducir así el número de transferencias sin comprometer las posibilidades de éxito. Además de la evaluación morfológica convencional existen diversos métodos de selección embrionaria invasivos o no invasivos que complementan este sistema de clasificación. Sin embargo, la clasificación morfológica es el método estándar, para profesionales y para pacientes.

OBJETIVO

Evaluar si la morfología, el grado de expansión o el día de congelación del blastocisto son factores predictivos de embarazo positivo, embarazo clínico y tasa de implantación.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo que incluye 820 criotransferencias de embriones únicos provenientes de programas de ovodonación que se han realizado en nuestra clínica entre 2021 y 2022. Estos embriones se han evaluado siguiendo los criterios morfológicos de la clasificación de Gardner.

Los blastocistos se agruparon teniendo en cuenta su morfología en 3 grupos: 1(A), 2(B), 3(C) dependiendo la calidad de su trofectodermo. Considerando el grado de expansión, se observaron 5 categorías (2-6). El dia de vitrificación se realizó en día 5 o día 6. Se registró el embarazo positivo (hCGPR), el embarazo clínico (CPR) y la tasa de implantación (IR).

Todos los embriones transferidos se generaron mediante ICSI. Los embriones se cultivaron en las mismas condiciones en incubadores *time-lapse* (Geri©). La vitrificación y la desvitrificación se realizaron siguiendo el método Kitazato o Irvine.

La transferencia tuvo lugar 2 horas tras la desvitrificación. El análisis estadístico se realizó mediante Chi-cuadrado (para HcGgPR, CPR e IR), y una regresión logística multivariante (con OR e intervalos de confianza ajustados) (para HcGgPR y CPR) con SPSS v.15.0.

RESULTADOS

El análisis de la morfología entre grupos (1,2,3) mostró un descenso significativo en hcGPR en 65,5% (167/255), 56,1% (270/481) y 33,3% (28/84), respectivamente (p<0,001). El descenso se vio también en CPR 51,4% (131/255), 40,1% (193/481), 20,2% (17/84). También IR 51,8% (132/255), 40,7% (196/481) y 20,2% (17/84) (p<0,001).

La comparación entre los días de criopreservación muestra un descenso significativo (p=0,001) en el porcentaje de hcGPR de 59,5% (403/677) en D5 a 43,4% (62/143) en D6. También visto en CPR, 44,8% (303/677) 26,6% (38/143), e IR 45,3% (307/677) frente a 26,6% (38/143) (p<0,001).

Para el grado de expansión, no se observan diferencias significativas en hCGPR 41,7% (5/12), 54,5% (48/88), 58% (107/305), 56,8% (233/410), 40% (2/5), respectivamente (p=0.724). Tampoco al analizar CPR 16,7% (2/12), 36,4% (32/88), 43,6% (133/305), 42,4% (174/410), 0% (0/5), (p=0,083). Ni IR 16,7% (2/12), 36,4% (32/88), 43,9% (134/305), 43,2% (177/410), 0% (0/5) (p=0,320).

Al analizar el OR, para hCGPR el mejor trofectodermo (A) muestra OR=3.272 (1,912-5,599) respecto a C. La vitrificación en día 5 presenta un OR=1,566 (1,071-2,291) con respecto a

día 6. Por último, vemos que para valores de CPR el grupo A, presenta un OR=3,448 (1,892-6,285) con respecto a C. Día 5 tiene un OR=1,833 (1,212-2,773) respecto a día 6. La expansión fue excluida en ambos análisis de regresión evidenciando que la calidad del trofectodermo y el día de transferencia tienen un verdadero impacto en los resultados obtenidos.

CONCLUSIONES

Este estudio se ha llevado a cabo en ovocitos de donante y embriones criopreservados. Para proveer resultados válidos en futuros tratamientos, el estudio debería replicarse en ovocitos autólogos y con transferencias en fresco.

Con este estudio podemos mejorar la selección embrionaria, sabiendo que los parámetros más importantes a tener en cuenta son la morfología del blastocisto, especialmente la calidad del trofectodermo, y el día de transferencia. Ambos parámetros combinados aumentan la posibilidad de implantación. El grado de expansión de los embriones, por el contrario, no es un parámetro relevante debido a su dinamismo.

P-146

EL MISTERIO DE LAS BURBUJAS DE AIRE EN LAS PLACAS DE CULTIVO EMBRIONARIO

Carolina Castelló Zupanc, M Acacio Espinosa, E Mestres Gonzalvo, Q Matia Algué, A Villamar Marín, A Casals Acien, A Martínez Casado, A Franco Roig, G Calderón de Oya, N Costa-Borges
Embryotools
Barcelona (Barcelona)

INTRODUCCIÓN

La correcta preparación de placas de cultivo es esencial para obtener un desarrollo embrionario óptimo. En algunos casos, la formación inexplicable de burbujas de aire en las gotas de medio de cultivo tras la incubación de las placas dificulta la manipulación y visualización de los embriones y de los ovocitos. Intentar eliminar las burbujas de aire conlleva una exposición prolongada de las placas de cultivo fuera del incubador que puede afectar a las condiciones de estabilidad de los medios de cultivo y del aceite y por tanto al desarrollo embrionario.

OBJETIVO

Determinar los factores que pueden causar la formación de burbujas de aire en las gotas de medio de cultivo de las placas comparando diferentes tipos de aceite, diferentes temperaturas de almacenamiento de los aceites y distintos tipos de incubadores (secos o húmedos).

MATERIAL Y MÉTODO

Para el análisis de la formación de burbujas de aire en las gotas de medio de cultivo en incubadores *standard* se utilizaron placas de cultivo embrionario de 60 mm y de 35 mm. Así mismo se prepararon Embryoslides para su observación en un incubador *time lapse*. Se comparó el número de burbujas de aire formadas en el medio de cultivo en función del tipo de aceite: denso y ligero; del tipo de almacenamiento de los aceites: a temperatura ambiente o bien en la nevera (4º-8º); y del tipo de incubador utilizado: seco o húmedo. La preparación de las gotas de medio de cultivo en las placas destinadas a los incubadores *standard* se realizó cubriendo primero las placas con aceite y dispensando 10 gotas de medio de cultivo en las placas de 60 mm y 6 gotas en las placas de 35 mm mediante una pipeta Pasteur de cristal. El volumen de las gotas fue de 25-30 microlitros aproximadamente. Las Embryoslides se prepararon siguiendo el protocolo recomendado por la casa comercial. La incubación de las placas

se efectuó tanto en incubadores secos como en incubadores húmedos de diferentes marcas, durante toda la noche y al día siguiente se procedió a la observación de las gotas de medio de cultivo bajo la lupa estereomicroscópica de la campana de flujo laminar. Se hizo un recuento del número de gotas por placa, o de pocillos en el caso de las Embryoslides, que contenían burbujas de aire. Se realizaron tres réplicas para cada una de las variables estudiadas.

RESULTADOS

La media de gotas con burbujas en placas preparadas con aceite ligero, almacenado en nevera, fue de 0,24 en incubador seco y 0 en incubador húmedo. Para el mismo tipo de aceite almacenado a temperatura ambiente, los resultados fueron de una media de 0,388 gotas con burbujas en incubador seco y 0,026 en incubador húmedo. Las gotas preparadas con aceite denso almacenado en nevera tuvieron una media de burbujas por número de gotas de 0,398 tras incubación en incubador seco y de 0,008 en incubador húmedo. Para el aceite denso almacenado a temperatura ambiente la media fue de 0,833 gotas con burbujas en incubador seco y 0,182 en incubador húmedo.

CONCLUSIONES

Estos resultados sugieren que el tipo de aceite y su método de almacenamiento, así como el ambiente de incubación, tienen un impacto significativo en la formación de burbujas en las gotas de medio de cultivo. En general, las gotas preparadas con aceite ligero y almacenadas en nevera y en incubador húmedo parecen conllevar a una menor formación de burbujas, mientras que las gotas preparadas con aceite denso y almacenadas a temperatura ambiente en incubador seco tienen la mayor cantidad de burbujas.

P-147

TRANSFERENCIA DIFERIDA O EN FRESCO EN ESET: RESULTADOS DE UN ENSAYO CLÍNICO ALEATORIZADO

Marina Marín Verdugo, A Clavero Gilabert, MC Gonzalvo López, M Molina Romero, N Morales Rincón, N Berrnat Pedro, C Martínez Salmerón, A Martín Jiménez, I Leonés Baños, JA Castilla Alcalá
HU Virgen de las Nieves
Granada (Granada)

INTRODUCCIÓN

La estrategia *freeze-all* consiste en la criopreservación de todos los embriones viables de un ciclo para transferirlos posteriormente en ciclos subsiguientes de criotransferencia, evitando así la transferencia en fresco. Las tasas de gestación son equiparables a las de la estrategia convencional según algunos estudios, sin embargo, no existen hasta la fecha ensayos clínicos aleatorizados que comparen ambas estrategias de transferencia en eSET y día 3.

OBJETIVO

Evaluar la eficacia de la transferencia diferida en un programa de eSET con transferencia en día 3, en términos de tasa de gestación y nacido vivo, así como analizar los resultados de laboratorio y perinatales.

MATERIAL Y MÉTODO

Ensayo clínico aleatorizado prospectivo a dos brazos en paralelo no ciego. Criterios de inclusión: parejas de buen pronóstico reproductivo candidatas a FIV/ICSI. Se han aleatorizado 144

parejas (excluyendo 25 por diversas causas) en:
- Grupo experimental: 61 parejas. No se realiza transferencia en fresco, el embrión de mejor calidad se criopreserva. Criotransferencia electiva posterior.
- Grupo control: 58 parejas. Transferencia en fresco del embrión de mejor calidad.

Se evaluaron variables clínicas, de laboratorio, tasas de gestación, aborto y nacido vivo. Para comparar las variables cuantitativas entre los grupos de estudio se utiliza el test paramétrico t-student y no paramétrico U Mann-Whitney, y el test de la Chi-cuadrado o el exacto de Fisher para las variables cualitativas.

RESULTADOS

Se observaron diferencias significativas en los niveles de estradiol, los niveles de AMH y el número de ovocitos recogidos por punción entre grupos. Para igualar estas diferencias, se realizó un subanálisis eliminando del grupo experimental aquellas pacientes (13) que tuvieron más de 19 ovocitos (número máximo de ovocitos obtenidos en el grupo control). Tras el subanálisis, no se observaron diferencias significativas en estas variables. Tampoco se observaron diferencias significativas en los embriones obtenidos por punción entre ambos grupos ni en la calidad embrionaria.

La tasa de gestación clínica en la primera transferencia embrionaria (TE) en el grupo experimental fue del 33,33% (16 gestaciones/48 TE) mientras que en el grupo control fue de 27,59% (16/58), siendo estas diferencias no estadísticamente significativas (pvalor=0,521). Asimismo, en la tasa de gestación acumulada tampoco se encontraron diferencias (33,33%; *vs.* 29,90%, pvalor=0,620). Con respecto a la tasa de aborto, tampoco se observaron diferencias significativas ni en la primera TE (12.50% *vs.* 0%; pvalor=0,484) ni en la tasa de aborto acumulada (7,14% *vs.* 10,34%; pvalor=1).

No encontramos diferencias en la tasa de nacido vivo en la primera TE (31,25% *vs.* 29,31%, pvalor=0,829) ni en la acumulada (34,52% *vs.* 29,90%, pvalor=0,506). En relación con el peso de los nacidos vivos, no se observaron diferencias significativas ni tras la primera TE (3116,33 ± 666,57 *vs.* 3034,70 ± 523,57; pvalor=0,3876) ni en la acumulada (3300(660) *vs.* 3110(620)). Tampoco se observaron diferencias en las complicaciones del recién nacido.

CONCLUSIONES

Nuestro ensayo clínico aleatorizado no encuentra beneficio en el uso de la estrategia de transferencia diferida en parejas de buen pronóstico. Sin embargo, sería necesario el análisis del subgrupo de pacientes con hiperrespuesta a la estimulación para evaluar la eficacia en este grupo concreto de pacientes, así como realizar subgrupos según variables que influyen en los resultados de la técnica. Para todo ello sería necesario un tamaño muestral mayor, que en nuestro centro no ha sido posible conseguir.

Respecto a las diferencias en resultados neonatales detectadas en otros estudios, nuestros datos no detectan diferencias en el peso del R.N.

P-148

EVALUACIÓN DE LA EFICACIA DE LOS MEDIOS DE CULTIVO GTL Y LG EN LAS TASAS REPRODUCTIVAS

Aida Pérez Gallastegui[1], J Valle Arteche[1], F Ayerdi Irizar[1], A Marín Rodríguez[2], N Bilbao Aldaiturriaga[3], L Fernández Lejarza[4], A Santa María Leal[5], I Davalillo Bilbao[1]

[1]Instituto Igin - Bilbao (Bizkaia), [2]Clínica Zuatzu - Donostia (Gipuzkoa), [3]Departamento de Bioquímica y Biología Molecular Upv/Ehu - Leioa (Bizkaia), [4]Estudio Médico Navarro - Pamplona (Navarra), (5) Departamento de Genética, Antropología Física y Fisiología Animal Upv/Ehu - Leioa (Bizkaia)

INTRODUCCIÓN

En la búsqueda de darle al embrión desarrollado *in vitro* el mejor ambiente de cultivo para su crecimiento, el efecto de los medios sobre el desarrollo embrionario continúa preocupando a los laboratorios de reproducción asistida. Se han producido grandes avances en las investigaciones en este campo, los cuales han llevado a contar con medios de cultivo muy similares al medio que encuentra el embrión en la trompa y útero. Sin embargo, las revisiones sistemáticas realizadas al respecto no han permitido concluir cuáles son los medios de cultivo más adecuados para la obtención de una mejor calidad embrionaria e implantación.

OBJETIVO

Por ello, nuestro objetivo principal fue comprobar la eficacia de dos medios de cultivo embrionario: GTL (Vitrolife, Gotenburgo, Suecia) y LG (Origio, Malov, Dinamarca) en las tasas de fecundación, obtención de blastocistos, implantación y aborto.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio prospectivo en ciclos de donación de ovocitos entre enero y junio del año 2021 donde participaron 74 pacientes con un total de 806 ovocitos divididos de manera equitativa para cada medio de cultivo que posteriormente fueron microinyectados mediante inyección intracitoplasmática (ICSI). Los datos clínicos de los pacientes (fecundación, evolución embrionaria, implantación y abortos) se recogieron y compararon en relación a los medios de cultivo GTL y LG. La comparación de las tasas se realizó mediante el test de Chi-cuadrado de Pearson (95% CI) para las tasas de fecundación, obtención de blastocistos e implantación. La estimación del efecto sobre la tasa de aborto se comparó utilizando el test exacto de Fisher. Además, se aplicó el modelo de regresión logística para todas las tasas.

RESULTADOS

El estudio no mostro diferencias estadísticamente significativas para la tasa de fecundación (p=0,185), la tasa de implantación (p=0,1249) y la tasa de aborto (p=0,1879). Sin embargo, la tasa de obtención de blastocistos fue menor en el medio de cultivo GTL (OR: 0,69, 95%CI: 0,501-0,970, p= 0,029). Cabe destacar que el medio LG presentó una tendencia positiva de resultados de implantación (49,23%) con respecto a GTL (34,04%) y a su vez, también mostró una mayor tendencia de incidencia de abortos (12,30%) con respecto a GTL (4,25%).

CONCLUSIONES

Nuestros resultados preliminares indicaron que los medios de cultivo GTL y LG son igualmente efectivos para las tasas de fecundación, implantación y aborto. Sin embargo, el medio de cultivo LG parece favorecer el número de blastocistos obtenidos e implantación de los mismos. Es posible pensar que esta mejor tasa de implantación puede conllevar a un mayor número de recién nacidos vivos (RNV) por parte de los embriones cultivados en LG, pero esto no es así ya que la tasa de aborto muestra un incremento con estos medios.

Por último, son necesarios más estudios en una cohorte mayor para confirmar las tendencias observadas en las tasas de implantación y de abortos.

Ninguno de los autores declaró presentar ningún conflicto de interés en la realización del estudio.

P-149

PUJAMOS POR LA PICSI

María Esther Cano Oliva, L Martínez Granados, ML Pérez Regalado, CJ Rodríguez Izquierdo, B López Lería, ML Baños Gavilán, C García Pinar
H. U. Príncipe de Asturias
Alcalá de Henares (Madrid)

INTRODUCCIÓN

La PICSI como variante de la ICSI permite seleccionar los espermatozoides según su capacidad para unirse a una molécula sintética con propiedades similares al ácido hialurónico (HA).

En la cabeza del espermatozoide maduro existe un receptor para el HA (componente importante del cúmulo del ovocito), solo aquellos espermatozoides que expresan este receptor tendrían capacidad de fecundar al ovulo de manera natural. Los espermatozoides que se adhieren al HA de una placa especialmente desarrollada para la realización de las PICSIS, se presuponen espermatozoides maduros con una baja fragmentación. La selección de estos espermatozoides para fecundar mejoraría los resultados frente a los seleccionados en ICSI sin evaluación de la expresión del receptor para el HA

OBJETIVO

Se pretende demostrar que la elección de esta técnica en pacientes cuyos ciclos previos de ICSI, en los que se obtuvieron bajo o nulo número de embriones evolutivos o con calidades subóptimas, supondría un beneficio y un aumento en la posibilidad de embarazo.

MATERIAL Y MÉTODO

Se analizan retrospectivamente los resultados de 694 ovocitos fecundados con 2PN/2CP en primeros ciclos de ICSI, con resultados subóptimos, frente a 557 ovocitos obtenidos en ciclos posteriores de estas mismas pacientes en los que se realizaron PICSI desde 2019 hasta la actualidad.

Se comparan número de sacos y abortos conocidos de las transferencias en fresco realizadas, además de las calidades de los embriones transferidos en dichas transferencias.

RESULTADOS

El número de blastos obtenidos en ICSI es de un 32,56% frente a un 45,96% en PICSI posteriores (p=0,001). El número de gestaciones por transferencia de ICSI frente PICSI es de un 11,26% frente a un 24,5%.En cuanto a las calidades de los embriones obtenidos transferidos los resultados son:
- ICSI: A 20,40% ; B 9,18% ; C 54,10% ; D 16,32%
- PCSI: A 23,10% ; B 21,97% C 43,95% ; D 10,98%.

La tasa de aborto por gestación es de un 62,5% en ICSI frente a un 40% con PICSI. Se observa una tendencia a mejores resultados en calidad embrionaria, tasa de gestación en primera transferencia en fresco o de aborto al realizar PICSI.

CONCLUSIONES

La PICSI puede ser una buena alternativa como técnica de fecundación en ciclos sucesivos, cuando en los ciclos anteriores se han obtenido resultados subóptimos de tasa de blastulación, calidad embrionaria, gestación en fresco o en ciclos con abortos previos.

P-150

¿PUEDE LA IA SER SU NUEVO ASISTENTE DE LABORATORIO? EVALUACIÓN DE UNA HERRAMIENTA DE IA EN LA CLASIFICACIÓN DE EMBRIONES

Inés Cerdeira Cortés[1], I Diogo Couceiro[1], J Machado Simões[1], B Barauna Silva[1], S Batalha Rodrigues[1], M Esteves Caride[1], B Coelho Martíns[1], D Gilboa[2], V Silva[1], I Torgal[1]
[1]Ferticentro - Coimbra (Portugal), [2]AIVF - Tel Aviv (Israel)

INTRODUCCIÓN

El uso de la tecnología video *time-lapse* en los modernos laboratorios de FIV ha aportado nuevos datos sobre el desarrollo embrionario que son complejos y difíciles de interpretar. Aún es un desafío seleccionar con precisión el embrión con el mejor potencial para lograr un nacimiento vivo.

Por lo tanto, dada la subjetividad del ojo humano y la necesidad continua de mejorar la eficiencia del trabajo de laboratorio y de los resultados reproductivos del tratamiento, se han aplicado sistemas basados en inteligencia artificial (IA) en la evaluación de embriones. Sin embargo, se necesita más investigación para validar sus beneficios en los resultados clínicos y, por lo tanto, ganar confianza como los sistemas de calificación tradicionales utilizados de forma rutinaria.

OBJETIVO

Este estudio compara tres herramientas diferentes de clasificación de embriones (inteligencia artificial, morfocinética y evaluación morfológica) y el éxito con el que pueden predecir el resultado reproductivo.

MATERIAL Y MÉTODO

Para este estudio fueron utilizados embriones creados en un único centro durante el año 2021 y transferidos durante los últimos 2 años. Incluye un total de 948 blastocistos, que fueron transferidos a 452 pacientes en 739 transferencias diferentes. Los blastocistos para transferencia se clasificaron inicialmente según su morfología, utilizando el método ASEBIR, y su morfocinética, gracias al KidScore D5. La puntuación EMA se atribuyó exclusivamente para el propósito del estudio.

La morfología embrionaria se evaluó manualmente según ASEBIR (2015) (A a D). La clasificación morfocinética se realizó mediante una herramienta semiautomática (KidScore D5 (Vitrolife)) que depende de parámetros anotados manualmente por el embriólogo (1 a 9,9).

El sistema de IA utilizado fue EMA (AiVF, Israel) que utiliza una red neuronal convolucional (CNN) con columna vertebral ResNet50 para calificar automáticamente los blastocistos (0 a 1).

Se realizó un análisis estadístico de los datos utilizando Graphpad Prism.

RESULTADOS

En nuestra clínica, la evaluación de los embriones se realiza mediante los criterios ASEBIR, que clasifica los embriones de la A a la D según sus características morfológicas y las posibilidades de un resultado reproductivo positivo. Nuestros resultados fueron estadísticamente significativos en todos los resultados reproductivos estudiados (beta positiva, embarazo clínico y nacido vivo) ($p<0,0001$), lo que valida el uso de este modelo de clasificación en nuestra práctica.

Además, la evaluación morfocinética (KIDScore) muestra que los embriones con puntuación más alta tienen mayores probabilidades de un resultado reproductivo positivo, incluidas la probabilidad de nacido vivo (media: 7,115 frente a 6,332, $p<0,0001$).

La herramienta de inteligencia artificial (EMA) también discrimina de manera efectiva los embriones de buena y mala calidad: los blastocistos que dieron como resultado un embarazo positivo y nacido vivo se calificaron con una puntuación más alta (media: 0,7721 frente a 0,6887, $p<0,0001$).

Por último, todos los modelos parecen estar basados en parámetros biológicos relevantes y similares, ya que coinciden en la clasificación de los blastocistos, con embriones de buena calidad con puntuaciones más altas en todos los sistemas, y embriones de peor calidad con puntuaciones más bajas.

CONCLUSIONES

Los tres sistemas clasifican los blastocistos de acuerdo con sus probabilidades de dar como resultado un nacido vivo. Además, todos los sistemas muestran altos niveles de concordancia.

Los resultados de este estudio validan el uso de EMA en la clasificación de blastocistos y el significado biológico de esta herramienta, aumentando la confianza en su aplicación clínica. Este sistema basado en IA tiene el potencial de ayudar en la toma de decisiones de embriólogos y médicos de una manera efectiva en el tiempo, dejando de lado la variabilidad y el sesgo interpersonal.

P-151

EFECTO DEL ALMACENAMIENTO CRIOGÉNICO PROLONGADO SOBRE LOS RESULTADOS DE LAS CRIOTRANSFERENCIAS

Mireia Poveda García[1], S Sánchez Macho[2], A Aragonés Esteve[1], R López Sánchez[1], E Moya Gutiérrez[1], JM Moreno García[1]
[1]UR Vistahermosa - Alicante (Alicante), [2]UR Montpellier - Zaragoza (Zaragoza)

INTRODUCCIÓN

La mejora en los medios y sistemas de cultivo embrionario hace que en la mayoría de los ciclos de fecundación *in vitro* se obtengan embriones sobrantes que se vitrifican y mantienen almacenados en nitrógeno líquido durante periodos relativamente largos de tiempo.

A pesar de los sistemas de control y alarmas y de tener todas las precauciones posibles para que durante el almacenamiento criogénico las condiciones permanezcan estables, las continuas entradas y salidas de pajuelas en los bancos podría afectar a su estabilidad. Por este motivo los embriones que permanecen más tiempo almacenados están sujetos a una mayor variabilidad en las condiciones de estabilidad criogénica.

OBJETIVO

En este estudio se pretende analizar si el almacenamiento criogénico prolongado después de la vitrificación puede afectar a la capacidad reproductiva de los blastocistos.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio retrospectivo de 380 criotranferencias de blastocistos realizadas en 2021; estos ciclos se dividieron en 4 grupos en función del tiempo que habían permanecido crioconservados: Grupo 1-control (0-6 meses), Grupo 2 (7-12 meses), Grupo 3 (de 13-24 meses) y Grupo 4 (más de 24 meses).

En todos ellos, los embriones fueron vitrificados utilizando los medios de vitrificación y desvitrificación de KITAZATO® y con soporte abierto de CRYOTOP®. La transferencia de los mismos se realizó cuando el endometrio de la paciente fue trilaminar y con un espesor mayor a 7 mm y se suplementó la fase lútea con progesterona vaginal.

Las variables analizadas fueron: edad de la paciente, media de número de embriones transferidos, tasa de embarazo clínico, tasa de aborto y tasa de implantación.

Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS y los datos se analizaron mediante tablas de contingencia y test Chi-cuadrado.

RESULTADOS

Tras el análisis de los datos, observamos que tanto la edad media de las pacientes como la media del número de embriones transferidos por ciclo fue similar en los 4 grupos (ver tabla I).

La tasa de embarazo clínico e implantación mostraron porcentajes similares y sin diferencias estadísticamente significativas cuando se compararon los ciclos procedentes de embriones almacenados durante periodos más prolongados de tiempo (grupo 2, 3 y 4) y aquellos en los que este tiempo fue igual o inferior a 6 meses.

A pesar de que observamos un incremento en la tasa de aborto en los grupos en los que los embriones permanecieron más tiempo criopreservados (grupo 3 y 4), esta diferencia no fue estadísticamente significativa.

CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio sugieren que la criopreservación prolongada de los embriones no se asocia a un empeoramiento de los resultados reproductivos de las criotransferencias y evidencia la seguridad del uso de embriones almacenados durante mucho tiempo después de la vitrificación.

A pesar de observar un incremento no significativo en la tasa de aborto en aquellos ciclos en los que los embriones permanecen almacenados más tiempo, esto es algo a tener en cuenta y nos lleva a extremar las precauciones durante la manipulación de las muestras almacenadas en los bancos.

TABLAS

Tabla I.

		Ciclos (N)	Edad	Media nº embriones tranferidos	Tasa de Embarazo	Sig.	Tasa de Aborto	Sig.	Tasa de implantación	Sig.
Meses de criopreservación	**De 0-6**	273	37,7	1,48	46%	-	11%	-	74%	-
	De 7-12	61	38,2	1,45	43%	**0,653**	8%	**0,597**	75%	**0,909**
	De 13-24	64	38,3	1,47	44%	**0,768**	21%	**0,147**	77%	**0,738**
	> 24	52	38,2	1,46	40%	**0,473**	24%	**0,112**	82%	**0,525**

*Las tasas de implantación, aborto y embarazo se han calculado a partir de tablas de contingencia y test Chi-cuadrado.

P-152

CONCORDANCIA INTEROBSERVADOR EN LA VALORACIÓN MORFOLÓGICA DE BLASTOCISTOS EN DÍA 5

Ana Cambra Conejero, M Ardoy Vilches, J Martín Coello, R Peña Cotarelo, B Gaspar Herrero
HGUGM
Madrid (Madrid)

INTRODUCCIÓN

La evaluación de la calidad embrionaria es clave en los laboratorios de embriología clínica. Desde la publicación de los primeros criterios de clasificación embrionaria por ASEBIR en 2008 y sus posteriores actualizaciones se ha avanzado mucho en su estandarización, sin embargo, sigue siendo un procedimiento sujeto a cierta subjetividad y que requiere una formación continuada de los embriólogos. Por otro lado, la tendencia actual de llevar los embriones a estadio de blastocisto y las nuevas tecnologías *time-lapse* han aumentado la cantidad de información disponible durante el desarrollo embrionario y, por tanto, ha aumentado también la dificultad en la aplicación de estos criterios de una manera homogénea. Por ello, conocer la variabilidad entre observadores de un mismo equipo es indispensable para detectar posibles inconsistencias y poder aplicar medidas correctivas para asegurar la calidad de un laboratorio.

OBJETIVO

Evaluar la concordancia interobservador entre los embriólogos de nuestro centro en la clasificación de blastocistos en día 5 aplicando los criterios ASEBIR de valoración morfológica.

MATERIAL Y MÉTODO

Se revisaron los ciclos FIV/ICSI realizados en nuestro centro en un periodo de 6 meses con imágenes en la base de datos EmbryoViewer (Vitrolife) y se seleccionaron un total de 300 blastocistos en día 5 (116 horas post fecundación). Se eliminaron aquellos blastocistos cuyas imágenes no permitían evaluar correctamente alguno de los parámetros. Finalmente se obtuvieron las imágenes de 287 blastocistos para ser valoradas por los 4 embriólogos de nuestro centro.

Cada embriólogo evaluó independientemente la calidad de la masa celular interna (MCI) y del trofoectodermo (TF) de los blastocistos siguiendo los últimos criterios ASEBIR de valoración morfológica de blastocistos.

Se compararon los resultados globales y entre observadores con el índice kappa de Fleiss y su IC al 95%. Los cálculos estadísticos fueron realizados con el software STATA (StataCorp., v.15).

RESULTADOS

El índice kappa para la calidad de la MCI reveló una concordancia baja con un valor de kappa global de 0,383 y con valores entre 0,219-0,490 entre observadores. La concordancia para la calidad del TF fue moderada, con un kappa global de 0,566 y valores entre 0,453-0,670 entre observadores. Se obtuvo una ligera mejoría en la concordancia de la MCI o el TF A o B al agruparlos en una única categoría frente a C o D. Así, se obtuvo un kappa para MCI de 0,465 global y 0,339-0,642 entre observadores y para el TF de 0,708 globalmente y 0,652-0,784 entre observadores (ver tabla).

CONCLUSIONES

En este estudio se obtuvo una concordancia baja-moderada entre diferentes embriólogos al valorar morfológicamente los blastocistos en día 5 pese a seguir criterios estandarizados, hallazgo que también ha sido publicado en otros grupos. Aunque el estudio presenta ciertas limitaciones en cuanto al número de blastocistos estudiados y el número reducido de participantes, los resultados ponen de manifiesto la necesidad de mejora en la aplicación de los criterios de clasificación actuales. En este aspecto, la participación en programas externos de calidad de evaluación morfológica embrionaria puede ser esencial para conocer la fiabilidad de un laboratorio

y aplicar medidas de mejora si fueran necesarias. Otro aspecto a valorar sería si los criterios utilizados para diferenciar una categoría frente a otra en la MCI o el TF son suficientemente objetivos y si su definición da lugar a la frecuente aparición de errores sistemáticos.

TABLAS

Tabla I.

	Kappa MCI (IC 95%)	*Kappa* MCI agrupado (IC 95%)	*Kappa* TF (IC 95%)	*Kappa* TF agrupado (IC 95%)
Observador 1 vs 2	0.219 (0.146-0.292)	0.339 (0.236-0.442)	0.546 (0.461-0.631)	0.714 (0.596-0.832)
Observador 1 vs 3	0.355 (0.278-0.432)	0.379 (0.279-0.479)	0.567 (0.483-0.651)	0.686 (0.568-0.804)
Observador 1 vs 4	0.454 (0.371-0.538)	0.429 (0.318-0.540)	0.670 (0.585-0.755)	0.784 (0.666-0902)
Observador 2 vs 3	0.379 (0.298-0.460)	0.453 (0.337-0.569)	0.453 (0.373-0.533)	0.652 (0.534-0.770)
Observador 2 vs 4	0.451 (0.371-0.531)	0.642 (0.526-0.758)	0.548 (0.465-0.631)	0.693 (0.575-0.757)
Observador 3 vs 4	0.490 (0.408-0.572)	0.555 (0.441-0.669)	0.627 (0.542-0.712)	0.721 (0.603-0.839)

ASEBIR

Asociación para el Estudio de la
Biología de la Reproducción

Secretaría ASEBIR C/ Cronos, n.º 20, bloque 4, 1 piso, n.º 6 - 28037 Madrid
Tel. +34 91 367 89 94 / www.asebir.com / asebir@asebir.com