

ASEBIR

Revista de Embriología Clínica
y Biología de la Reproducción

JUNIO
2026

VOL. 31 N.º 1



Nacho Landaburu repasa cómo ha sido construir una clínica de reproducción asistida en uno de los mercados más exigentes de Europa.

AULA JOVEN

- Perspectivas contemporáneas sobre mosaicos embrionarios: diagnóstico preciso, desenlaces perinatales y recomendaciones clínicas
- Aplicación de vesículas extracelulares en la mejora de los tratamientos de reproducción asistida: potencial, mecanismos y perspectivas clínicas
- Diagnóstico genético preimplantacional no invasivo: una revisión sistemática

SOCIOS EMPRENDEDORES

Cada: montando un laboratorio en Suiza

SOCIOS POR EL MUNDO

Laura Iraurgi Izurza: su experiencia entre Barbados y Suiza

FORMACIÓN CONTINUADA

- Fases de la investigación traslacional en reproducción humana asistida

NOTICIAS

- I Reunión GGII Asebir 2026
- 3.ª Edición Becas GENEa Biomedx - ASEBIR
- Estancias formativas ASEBIR
- Curso IA aplicada a la RA

PREMIO AL MEJOR PÓSTER ASEBIR 2025

- SOMETHING IN THE WAY SHE MOVES. La dinámica del citoplasma ovocitario como marcador predictivo no invasivo del resultado de fecundación tras ICSI

ASEBIR

Editores

EDITA

Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción

EDITORES Y DIRECTORES CIENTÍFICOS

Laura Mifsud i Elena. Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona
Lucía Fernández Lejarza. VIDA Pamplona, Pamplona

COMITÉ EDITORIAL

Presidente:

Nicolás Prados Dodd. VIDA Recoletas, Sevilla

Vicepresidente:

Belén Buch Tomé. Centro Gutenberg, Málaga

Secretaria:

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

Tesorero:

María Fernández Díaz. Clínica Ergo, Gijón

Grupos de Interés:

José Muñoz Ramírez, DINA Science, Madrid
Fernando Bronet Campos, IVI Madrid, Madrid

Docencia y formación:

Miquel Solé Inarejos. Institut Universitari Dexeus, Barcelona
Juan Manuel Moreno García, UR Clínica Vistahermosa, Alicante
José Muñoz Ramírez, DINA Science, Madrid
Miguel Gallardo Molina, GINEMED Lisboa, Portugal

Congresos:

Beatriz González López de Bustamante. Clínica Nida, Vigo, Pontevedra
María Fernández Díaz. Clínica Ergo, Gijón
Ramón José Suárez García, Hospital Universitario de Toledo, Toledo

Tecnología de la información y comunicación:

Lucía Fernández Lejarza. VIDA Pamplona, Pamplona
Ramón José Suárez García, Hospital Universitario de Toledo, Toledo
Laura Mifsud i Elena. Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona

Publicaciones:

Laura Mifsud i Elena. Hospital Clínic de Barcelona, Barcelona
Lucía Fernández Lejarza. VIDA Pamplona, Pamplona

Relaciones Institucionales y Colaboración Científica:

Miguel Gallardo Molina, GINEMED Lisboa, Portugal
Fernando Bronet Campos, IVI Madrid, Madrid

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

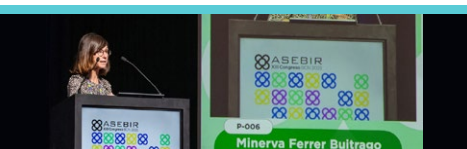
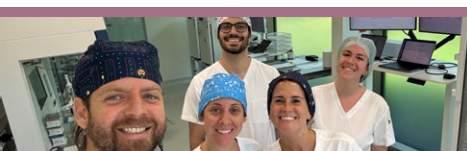
Take it Easy! Comunicación
Paseo Ruiseñores, 9, 50006 Zaragoza
tiecomunicacion.es · comunicacion@tiecomunicacion.es
Tfno.: 876 64 29 97

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

ASEBIR

Índice



05 **EDITORIAL**
Asamblea General 2026

06 **SOCIOS POR EL MUNDO**
Laura Iraurgi Izurza: su experiencia entre Barbados y Suiza

11 **SOCIOS EMPRENDEDORES**
Cada: montando un laboratorio en Suiza

15 **FORMACIÓN CONTINUADA**
Fases de la investigación traslacional en reproducción humana asistida

22 **PREMIO AL MEJOR PÓSTER ASEBIR 2025**
SOMETHING IN THE WAY SHE MOVES. La dinámica del citoplasma ovocitario como marcador predictivo no invasivo del resultado de fecundación tras ICSI

34 **AULA JOVEN**
Perspectivas contemporáneas sobre mosaicos embrionarios: diagnóstico preciso, desenlaces perinatales y recomendaciones clínicas

44 **Aplicación de vesículas extracelulares en la mejora de los tratamientos de reproducción asistida: potencial, mecanismos y perspectivas clínicas**

63 **Diagnóstico genético preimplantacional no invasivo: una revisión sistemática**

75 **NOTICIAS**

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



Tú eliges.



Tus seguros actuales

Pagas más 0€ extra



Tus seguros con Zurich

Pagas menos Hasta 80€ extra



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

Por ser de ASEBIR te mejoramos el precio de tus nuevos seguros y además te llevas hasta 80€ de bienvenida* al contratar.

Si quieres, puedes ahorrar en tus seguros. **Tú eliges.**

Infórmate



*La mejora de precio será de al menos un 5% respecto al precio de renovación presentado a Zurich. Adicionalmente la persona cliente recibirá un incentivo económico adicional de hasta 80 euros según el producto y modalidad contratada. El pago de esta promoción se realizará a través de una transferencia bancaria en un plazo máximo de 90 días desde la fecha de efecto de la nueva póliza contratada. Promoción válida para nuevas contrataciones realizadas entre el 1 de enero y el 31 de diciembre de 2026 para pólizas de: Auto, Moto y Hogar (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 colectivos.zurich.es/promocion3026. El ingreso del incentivo tiene la consideración de ganancia patrimonial en el IRPF y no está sujeta a retención. Estos productos pertenecen a Zurich Insurance Europe AG, Sucursal en España (NIF W0072130H y Clave E0189). Correduría de Seguros, Sociedad Unipersonal. Inscrita en el Registro Mercantil de Madrid, Hoja M-19857, Tomo 15321, Folio 133, N.I.F. 4.281.09247. 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.

EDITORIAL

► **Nicolás Prados**

Presidente de ASEBIR



ASAMBLEA GENERAL 2026

Estimados colegas y amigos,

El pasado 17 de junio, en Asamblea General Extraordinaria, los socios y socias de ASEBIR aprobaron la reforma de los Estatutos de la asociación. Los seis bloques sometidos a votación recibieron el respaldo necesario, y eso es una buena noticia: no solo por el contenido concreto de los cambios, sino por lo que representa el proceso en sí mismo.

Los estatutos no son un documento que se lee a menudo, pero son el esqueleto de lo que somos como asociación. Regularlos y actualizarlos cada cierto tiempo es un ejercicio de responsabilidad colectiva, y hacerlo a través de una votación estructurada en bloques (ni el todo o nada ni una interminable sucesión de puntos) ha permitido que los asociados se pronunciaran con criterio sobre cada ámbito. El resultado habla de una comunidad que lee, debate y decide. Eso nos parece muy valioso.

El impulso inicial vino del Grupo de Interés de Ética y Buenas Prácticas Clínicas, que identificó aspectos del texto que requerían puesta al día. Desde la Junta recogimos ese trabajo, lo completamos con otros cambios que considerábamos necesarios y lo pusimos en vuestras manos. Entre las incorporaciones que más nos satisfacen figuran dos nuevos artículos: uno sobre no discriminación e igualdad de trato, y otro sobre compromiso con el medio ambiente y la sostenibilidad.

No son adornos retóricos; son valores que ASEBIR ya practicaba y que ahora quedan reflejados donde deben estar.

Con los nuevos Estatutos aprobados, ASEBIR está mejor equipada para afrontar los retos que tiene por delante: la solicitud de la especialidad de Embriología Clínica, la reforma de la LOPS con el reconocimiento de la Biología y grados afines como profesiones sanitarias, y la creación en distintas comunidades autónomas de la categoría profesional de embriólogo clínico. Son procesos lentos y complejos, pero son avances reales, y una asociación con unas bases estatutarias sólidas y actualizadas está en mejores condiciones de acompañarlos y liderarlos.

Gracias a todos los que participasteis en la asamblea y a quienes dedicasteis tiempo a leer y reflexionar sobre los cambios propuestos. Este resultado es vuestro.

Un abrazo,

Nicolás Prados
Presidente de ASEBIR

SOCIOS POR EL MUNDO

Laura Iraurgi Izurza: su experiencia entre Barbados y Suiza



LAURA

IRAURGI IZURZA

Su experiencia entre Barbados y Suiza

Laura Iraurgi, socia ASEBIR 936, lleva más de una década dedicada al mundo de la reproducción asistida. Graduada en Biotecnología por la Universidad Autónoma de Barcelona, descubrió su vocación durante los últimos años de carrera, gracias a una optativa y a la profesora que la impartía, especializándose posteriormente en embriología y medicina reproductiva.

Su trayectoria profesional la ha llevado a trabajar en algunos de los entornos más distintos y enriquecedores de la reproducción asistida: desde grandes clínicas en España hasta laboratorios en el Caribe y, actualmente, en Suiza, donde participa en la creación y desarrollo de un proyecto pionero desde sus inicios.

► ENTREVISTA

ASEBIR: Laura, muchas gracias por estar aquí compartiendo tu experiencia. Por una optativa casi a final de carrera, podemos decir que estamos aquí hablando.

LAURA IRAURGI: Es un verdadero placer, la verdad. Muchas gracias a vosotros por la invitación. Y sí, así es, por una optativa, y su profesora, que tuvo mucho que ver.

ASEBIR: ¿Qué hiciste después de descubrir ese interés?

LAURA: Decidí especializarme y hacer el máster del IVI junto con la Universidad de Valencia. Realicé las prácticas del máster en IVI Bilbao y, en ese momento, tuve la suerte de que la clínica estaba creciendo.

ASEBIR: Muchas veces en una carrera profesional influyen tanto el esfuerzo como las oportunidades. ¿Fue también tu caso?

LAURA: Sí, totalmente. Supongo que, como en muchas cosas en la vida, aunque obviamente el esfuerzo siempre cuenta, el destino también depende un poco de la suerte y de estar en el lugar adecuado en el momento adecuado. En mi caso coincidió así y, después de las prácticas, pude quedarme y empezar a formarme como embrióloga.

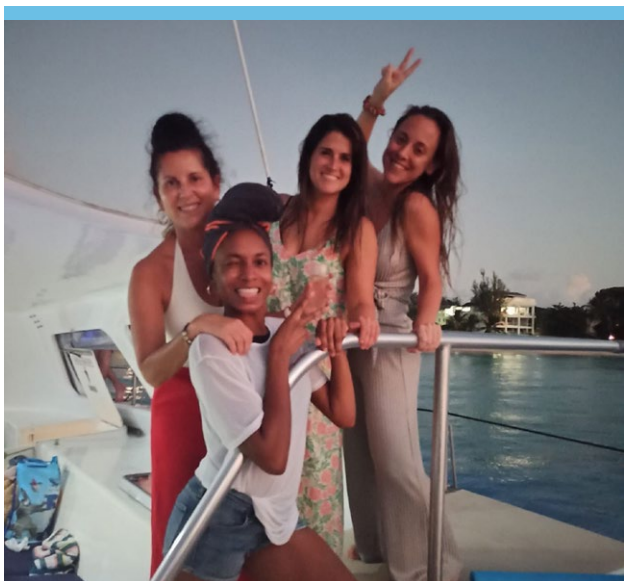
ASEBIR: Y cuéntanos, ¿cómo fueron esos primeros años?

LAURA: Estuve allí desde 2013 hasta 2018, adquiriendo experiencia en todas las técnicas del laboratorio. Con el tiempo sentí que necesitaba un cambio y explorar otros entornos profesionales, así que pasé a trabajar en clínicas más pequeñas en el País Vasco. Tuve la suerte de formar parte de los equipos de Clínica Zuatzu y Reproducción Bilbao, etapas que recuerdo con muchísimo cariño tanto a nivel personal como profesional.

ASEBIR: El trabajo en laboratorio suele ser muy intenso, tanto en las clínicas pequeñas como en las grandes. ¿Cómo describirías la experiencia?

SOCIOS POR EL MUNDO

Laura Iraurgi Izurza: su experiencia entre Barbados y Suiza



LAURA: Durante esos años, además del aprendizaje profesional, también me llevé algo que para mí ha sido igual de importante: compañeros que con el tiempo se han convertido en amigos muy cercanos, como familia.

El trabajo de embrióloga es bastante intenso y pasamos muchas horas juntos en el laboratorio, compartiendo momentos de estrés y responsabilidad. Supongo que eso hace que, o bien acabes llevándote muy bien... o todo lo contrario. En mi caso, por suerte, las adversidades del día a día hicieron que nos uniéramos mucho y formáramos equipos muy fuertes.

ASEBIR: Después de casi diez años trabajando en España, apareció una oportunidad muy distinta y seguro que para muchos muy atractiva: Barbados. ¿Cómo surgió?

LAURA: Surgió de forma bastante curiosa. Llegó a través de unas entrevistas que había hecho tiempo atrás y que en su momento no habían salido adelante, pero tiempo después volvieron a contactar conmigo. En ese momento de mi vida no tenía nada que me atara especialmente y no me lo pensé demasiado. Era la ocasión de vivir una experiencia profesional diferente y, por qué no decirlo, también de probar la experiencia de vivir y trabajar en el Caribe.

ASEBIR: Y, ¿qué te llamó la atención al llegar?

LAURA: Pues curiosamente, aunque la clínica tenía ya una trayectoria bastante larga y el crecimiento había sido considerable desde sus inicios, aún seguía manteniendo un ambiente bastante familiar. Llevaban más de veinte años trabajando y había sido fundada por una ginecóloga y una enfermera que poco a poco habían ido construyendo el proyecto.

ASEBIR: ¿Cómo estaba formado el equipo del laboratorio?

LAURA: No era un equipo muy grande. El laboratorio de Barbados Fertility Centre (BFC) contaba con la directora, mi compañera Natalia, que llevaba muchos años allí, otro embriólogo, una técnico de laboratorio y yo; 5 en total. Realizábamos alrededor de 600 ciclos al año. Además, con el tiempo terminó incorporándose una compañera y amiga, Valle, con la que yo había trabajado anteriormente en Donosti, lo que hizo la experiencia todavía más especial.

ASEBIR: Siempre es una alegría reencontrarse con buenos compañeros con los que hemos coincidido. Y, ¿qué aprendiste profesionalmente en Barbados?

LAURA: Aprendí muchísimo. Sobre todo, aprendí que no todo tiene que hacerse siempre de la misma manera. Ya había visto diferentes formas de trabajar a lo largo de mi carrera, pero en Barbados entendí aún más que incluso con menos recursos se pueden hacer las cosas muy bien y obtener buenos resultados. Al final, estábamos en una isla, con todas las limitaciones que eso supone a la hora de importar material o enviar muestras, así que había que planificarse muy bien y, a veces, tirar un poco de ingenio.



ASEBIR: Generalmente somos una profesión bastante ingeniosa. ¿A nivel técnico hacíais todas las técnicas habituales de reproducción asistida?

LAURA: Sí, prácticamente todas. Además, Barbados no tiene una legislación específica sobre reproducción asistida, así que las políticas de la clínica estaban bastante alineadas con la práctica de Estados Unidos, que es mucho más flexible que la legislación española.

ASEBIR: ¿Qué diferencias te llamaron más la atención respecto a España?

LAURA: Por ejemplo, la donación de gametos podía ser tanto anónima como de donante conocida. No era raro que las pacientes trajeran donantes muy específicas de bancos internacionales o incluso amigas o familiares que querían donarles los ovocitos.

SOCIOS POR EL MUNDO

Laura Iraurgi Izurza: su experiencia entre Barbados y Suiza



También ocurría algo parecido con los embriones donados. En Estados Unidos existen incluso foros donde pacientes que ya han completado su tratamiento ofrecen embriones criopreservados para que otras parejas puedan utilizarlos. Para alguien formado dentro del sistema español, donde la legislación está muy bien definida, encontrarse con estas situaciones resultaba bastante curioso al principio.

ASEBIR: Lo es, la verdad es que sí. Y, entrando en detalles, ¿qué hay respecto al test genético preimplantacional?

LAURA: También era diferente. En España estamos acostumbrados a recibir los informes genéticos sin información sobre el sexo del embrión para evitar que influya en la decisión de transferencia. En Barbados, aunque no hacíamos PGT con ese fin, muchas pacientes priorizaban unos u otros embriones en función del sexo.

Como embriólogos siempre recomendábamos transferir el embrión con mayores posibilidades de implantación y de mejor calidad, pero al no ser ilegal tampoco se les podía negar.

ASEBIR: Siguiendo con el PGT, ¿se realizaba el test genético preimplantacional no invasivo o el de enfermedades poligénicas?

LAURA: Aún no se realizaba el no invasivo y el PGT-P apenas empezaba a oírse allí, así que tampoco tuvimos casos.

ASEBIR: Y con la gestación subrogada, ¿estaba permitida?

LAURA: En Barbados, la gestación subrogada realmente no estaba regulada de forma clara. Nosotros como centro no la ofrecíamos directamente, pero sí que tuvimos algunos casos en los que ayudábamos a los pacientes a generar embriones, con ovodonación y PGT, y luego ellos trasladaban esos embriones a Estados Unidos para completar allí el proceso de subrogación.

ASEBIR: En cuanto a la procedencia de los pacientes, ¿había mucha demanda de fuera de la isla?

LAURA: Sí, especialmente estadounidenses. En Estados Unidos los tratamientos suelen ser muy caros, así que viajar a Barbados resultaba una alternativa más asequible. Muchos pacientes aprovechaban para combinar el tratamiento con unos días de descanso en la isla, lo que les ayudaba a vivir el proceso con menos estrés.

ASEBIR: Y la gestión de los casos procedentes del extranjero, ¿era complicada?

LAURA: Pues precisamente existía la figura de la "IVF Coordinator", que era fundamental. Enfermeras especializadas actuaban como punto de contacto principal con las pacientes. Después de la primera consulta médica, organizaban las estimulaciones, explicaban la medicación por videollamada, revisaban toda la documentación médica y coordinaban el viaje de las pacientes. Muchas empezaban la estimulación en su país y viajaban a Barbados hacia el día 8 del ciclo para continuar allí el tratamiento.

ASEBIR: Y más allá del trabajo, ¿cómo era vivir en Barbados?

LAURA: Era una experiencia muy especial: Vivir en el "paraíso". Barbados es una isla pequeña, de unos 250.000 habitantes y



SOCIOS POR EL MUNDO

Laura Iraurgi Izurza: su experiencia entre Barbados y Suiza

con un tamaño parecido al de Ibiza, así que todo se vive de una forma bastante cercana y tranquila. La clínica era una casa colonial a diez metros del mar. Salías del laboratorio, cruzabas un paso de cebra y ya tenías delante el Caribe con sus aguas cristalinas. Trabajábamos mucho, pero al mismo tiempo tenías una sensación constante de estar de vacaciones. Y, para qué engañarnos, terminar la jornada e irte a echar una siesta bajo una palmera no tiene precio.

ASEBIR: Suena muy apetitoso, aunque finalmente, decidiste marcharte antes de finalizar tu contrato.

LAURA: Sí. Mi contrato era inicialmente de tres años, pero con el tiempo me di cuenta de que no me veía instalándome allí a largo plazo y empecé a pensar en volver a acercarme a Europa.

ASEBIR: ¿Volver a España o seguir tu aventura en otro sitio?

LAURA: En ese momento no pensé directamente en España. Aunque es una de las mayores, y para mí, de las mejores, cunas de embriólogos del mundo, desgraciadamente la profesión no está bien regulada y los sueldos no son especialmente atractivos, así que es normal que muchos acabemos trabajando fuera.

ASEBIR: Estamos luchando por ese tema activamente, por nosotros y por nuestros pacientes, aunque el camino sea duro.

LAURA: Lo sé, cosa que se agradece mucho, la verdad.

ASEBIR: Y, ¿cómo llegó el siguiente destino?

LAURA: Buscando oportunidades encontré un proyecto que me llamó muchísimo la atención: Cada, una clínica en Zúrich que todavía no había empezado su actividad. Había sido fundada por varios inversores jóvenes y el laboratorio había sido diseñado desde cero por mi ahora compañero Nacho Landaburu, también español. La idea era crear un laboratorio moderno, con la mejor tecnología disponible y en una ubicación inmejorable.

ASEBIR: Tendremos a Nacho contando esa experiencia también en esta edición de la revista, explicándonos cómo es la hazaña de acondicionar un laboratorio para una apertura en el extranjero, pero de momento, sigue contándonos, ¿qué te atrajo de ese proyecto?

LAURA: Desde la primera entrevista tuvimos muy buena sintonía y no pude dejarlo pasar. No ocurre muchas veces en la carrera de un@ embriólog@ poder empezar un proyecto así desde el principio.

ASEBIR: El cambio debió de ser enorme: del Caribe a Suiza.



LAURA: Sí, muchísimo. Prácticamente, después de más de dos años en Barbados, enlacé una etapa con la otra, y pasé de las mañanas a 27 grados haciendo parte del camino a la clínica descalza, a las temperaturas bajo cero en Zúrich. Fue un cambio grande tanto personal como profesionalmente.

ASEBIR: De extremo a extremo. Y brevemente, ¿cómo ha evolucionado la clínica en Suiza?

LAURA: Muy rápido. Empezamos las primeras punciones en octubre de 2024 y en el primer año ya realizamos más de 300 ciclos. Profesionalmente está siendo muy enriquecedor porque hemos podido diseñar procedimientos y formas de trabajar desde cero, con total libertad y sin imposiciones.

ASEBIR: ¿También has vivido diferencias legislativas muy marcadas entre países?

LAURA: Sí, totalmente. Si en Barbados prácticamente no había regulación específica, en Suiza la ley es mucho más restrictiva que en España. Aquí la donación de óvulos no está permitida y la donación de semen solo está autorizada en parejas casadas, así que el perfil de pacientes es muy diferente.

ASEBIR: Después de trabajar en distintos países, ¿qué reflexión haces sobre la profesión?

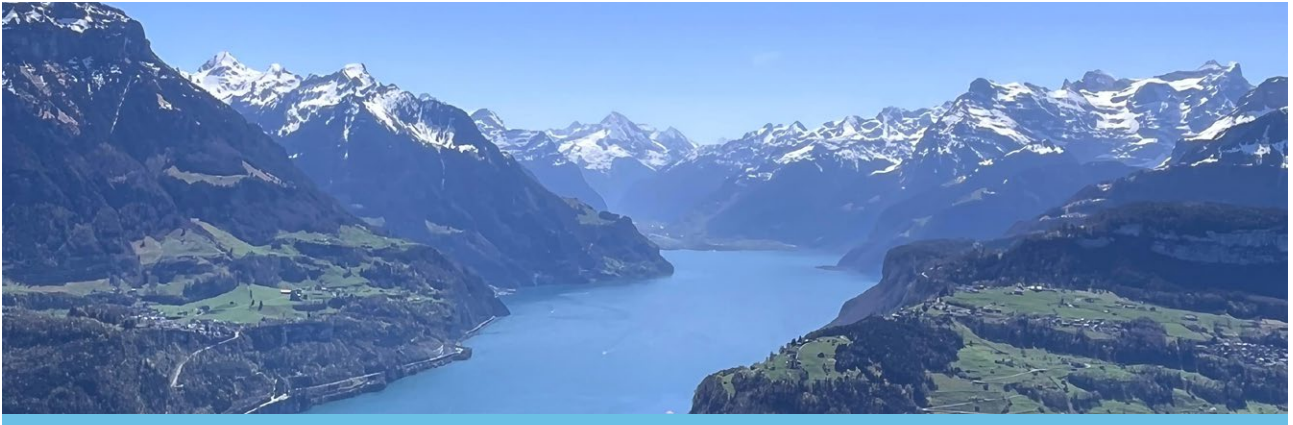
LAURA: Mirando atrás, veo que no existe una única forma correcta de trabajar en reproducción asistida. Cada laboratorio, cada equipo y cada contexto tienen sus propias dinámicas, y siempre se puede aprender algo de cada experiencia.

ASEBIR: ¿Qué balance haces de todo este recorrido internacional?

LAURA: Tanto Barbados como ahora Suiza han sido experiencias muy positivas, tanto profesional como personalmente. He aprendido idiomas, he trabajado con equipos muy diversos y he visto muchas maneras distintas de hacer las cosas. No sé si

SOCIOS POR EL MUNDO

Laura Iraurgi Izurza: su experiencia entre Barbados y Suiza



algún día volveré a España, pero si ocurre será con la sensación de haber vivido experiencias muy intensas y enriquecedoras fuera.

ASEBIR: ¿Y cómo es tu vida ahora en Zúrich?

LAURA: Estoy disfrutando mucho de esta etapa. Estoy más cerca de casa, puedo visitar a mi familia y a mis amigos con más facilidad y, al mismo tiempo, sigo viviendo una experiencia internacional que continúa enseñándome cosas cada día.

ASEBIR: Laura, de nuevo, muchas gracias por acercarnos un trocito del “paraíso” y por compartir tu amplia experiencia con nosotros. Ha sido una entrevista muy enriquecedora.

LAURA: Muchas gracias a ASEBIR por haberme dejado esta oportunidad y, sobre todo, compartirla con mi compañero en el mismo número. No os perdáis su entrevista.



Y si, como Laura, quieres contarnos tu experiencia más allá de nuestras fronteras, no dudes en contactarnos a través del correo asebir@asebir.com ¡Te esperamos!

Pioneros en la implantación del **medidor de PH** en los **laboratorios FIV**



SIEMENS Healthineers



“MÁS DE 30 AÑOS DEDICADOS AL CAMPO DE LA INFERTILIDAD”

1ª Empresa en introducir en España **El medio Único**



FertiPro



laboratoire HUCKERT'S INTERNATIONAL
SINCE 1957

QUERMED

quermed@quermed.com
+34 91 409 5085
www.quermed.com

NACHO LANDABURU

Cada: montando un laboratorio en Suiza



Tras conocer la trayectoria internacional de Laura y su llegada a Suiza para incorporarse al proyecto de Cada, hablamos también con uno de sus compañeros en Zúrich, Nacho Landaburu, embriólogo y responsable de liderar la creación y puesta en marcha del laboratorio desde cero. Desde el diseño técnico y estratégico del proyecto hasta la validación de procesos y la implantación de estándares de calidad bajo normativa suiza, Nacho repasa cómo ha sido construir una clínica de reproducción asistida en uno de los mercados más exigentes de Europa.

► ENTREVISTA

ASEBIR: Encantados de tenerte aquí contando tu experiencia montando un laboratorio en el extranjero, desde cero y en otro idioma. Nacho, bienvenido.

NACHO LANDABURU: Gracias a ASEBIR por interesarse por este proyecto y dar a conocer esta experiencia.

ASEBIR: Nacho, cuéntanos, ¿pudiste imaginar que te pedirían un proyecto así? ¿Qué sentiste cuando apareció la oportunidad de liderar este proyecto?

NACHO: La verdad es que no dudé demasiado. Si hace diez años me hubiesen pedido describir mi posición soñada, habría descrito con bastante precisión lo que estoy viviendo hoy.

Eso sí, suponía asumir un riesgo personal y profesional importante, porque dejaba la dirección de un laboratorio de FIV ya consolidado en Lucerna. Pero la posibilidad de embarcarme en el diseño e inicios de una clínica así bien valía el riesgo.

SOCIOS EMPRENDEDORES ASEBIR

Cada: montando un laboratorio en Suiza



ASEBIR: ¿Cuál era exactamente tu papel dentro de Cada?

NACHO: Mi responsabilidad ha sido liderar la puesta en marcha técnica y estratégica de los Laboratorios de Medicina Reproductiva, entendiendo el laboratorio como el núcleo del proyecto. Se trataba de traducir una visión empresarial en una estructura clínica real, operativa y completamente alineada con el exigente marco regulatorio suizo.

ASEBIR: El nombre de la clínica también tiene un significado muy concreto, ¿no?

NACHO: Sí. "Cada" nace del español, precisamente para recordarnos que nos debemos a cada paciente y a cada caso. Toda la estructura de la clínica está pensada alrededor de esa idea.

ASEBIR: ¿Cómo se traslada esa filosofía al funcionamiento diario?

NACHO: Todo se ha estructurado para que los procesos sean medibles y reproducibles. Utilizamos la tecnología para lo que creemos que realmente importa: mejorar el contacto con los pacientes y poder dedicarles el tiempo y la cercanía que necesitan.

ASEBIR: Abrir una clínica en una ciudad como Zúrich imagino que no es sencillo. ¿Cuál era el principal reto?

NACHO: Sabíamos que, para entrar en un mercado competitivo y bastante conservador como el de Zúrich, necesitábamos una estructura moderna y con estándares técnicos muy exigentes. No era solo una cuestión estética, aunque la clínica está frente al lago, en una ubicación espectacular, sino aplicar la evidencia científica actual y los últimos avances a cada proceso con un objetivo claro: liderar en resultados ofreciendo además un trato excepcional al paciente.

ASEBIR: ¿Cómo es el panorama de clínicas de reproducción asistida en Zúrich y la gestión de sus tratamientos?

NACHO: Con la nuestra, hay seis clínicas en Zúrich. Ninguna es especialmente grande; entre todas realizamos alrededor de 3.000 ciclos anuales. En Suiza toda la reproducción asistida funciona dentro del sistema privado, aunque existe una iniciativa legislativa para que los seguros obligatorios de salud empiecen a cubrir estos tratamientos. Lo más parecido a un sistema público serían los hospitales cantonales, aunque siguen sujetos igualmente al modelo privado.

ASEBIR: Y entrando en materia de gestión, ¿cuál crees que fue el mayor reto que se planteó? ¿Qué supuso eso?

NACHO: Montar el laboratorio vino de la mano de un gran reto de gestión de calidad: debíamos diseñar un sistema de gestión (basado en la ISO 15189 y en alemán) en paralelo a la conceptualización de la clínica.

Fue probablemente uno de los mayores retos. La ISO 15189 es un estándar internacional para laboratorios clínicos en general. Lo complicado es traducir lo que implica ese estándar a un laboratorio de FIV, que es muy diferente a uno de bioquímica clínica o genética molecular.

Suiza, igual que España, también tiene una acreditación específica para laboratorios de FIV, más fácil de interpretar porque está hecha *ad hoc*. Pero en el cantón de Zúrich, para abrir un nuevo laboratorio de FIV, las autoridades exigen trabajar bajo la ISO 15189.

ASEBIR: ¿Qué diferencias encontraste respecto a lo que se suele exigir en España?

NACHO: El enfoque tenía que ser completamente integral. Diseñamos los procesos no solo desde el laboratorio, sino desde toda la clínica, definiendo cuidadosamente el *patient journey* para garantizar una experiencia óptima para el paciente. Además, el gran hándicap era que teníamos que definir todos esos flujos sin tener todavía el laboratorio operativo. Era un requisito impuesto por las autoridades sanitarias del cantón para concedernos el permiso de apertura.

ASEBIR: ¿Las autoridades exigían otros requisitos específicos?

NACHO: Sí. Por ejemplo, nos exigían empezar con dos embriólogos y que el director fuese Senior Clinical Embryologist acreditado por ESHRE.

ASEBIR: ¿Cuánto tiempo llevó todo el proceso administrativo hasta obtener la autorización definitiva?

NACHO: Entre la entrega de la primera versión de la documentación y la obtención de los permisos definitivos pasaron

SOCIOS EMPRENDEDORES ASEBIR

Cada: montando un laboratorio en Suiza



catorce meses. Hubo hasta cuatro versiones diferentes de la documentación y, mientras tanto, evidentemente no podíamos iniciar actividad.

ASEBIR: Una vez obtenidos los permisos por parte de la administración, entra también Laura, de quien hablábamos antes.

NACHO: Exacto. En esa etapa se incorporó mi colega y amiga Laura Iraurgi y juntos terminamos de definir los protocolos y toda la puesta en marcha para los primeros ciclos. En octubre de 2024 realizamos las primeras punciones y, con ellas, llegaron las primeras fecundaciones, blastocistos y sacos gestacionales.

ASEBIR: ¿Cómo se vive un momento así cuando has construido el proyecto desde cero?

NACHO: Es difícil describirlo. Como equipo, la satisfacción y el orgullo que sientes al ver los primeros embarazos es enorme.

ASEBIR: ¿Cómo evolucionó la clínica durante el siguiente año? ¿Se cumplieron expectativas?

NACHO: Inicialmente pensábamos que sería un año de aterrizaje, pero la respuesta del mercado fue mucho más rápida de lo previsto. Cerramos el año con más de 350 punciones y eso nos permitió acelerar la implementación del programa de PGT, que supuso además un cambio importante en nuestra manera de trabajar.

En paralelo, también empezamos nuestra faceta investigadora mediante proyectos de colaboración con la Universidad de Lucerna.

ASEBIR: Y ahora mismo, dos años después, ¿en qué punto está el proyecto?

NACHO: Estamos en una fase de consolidación operativa y crecimiento sostenido. Actualmente contamos con un equipo multidisciplinar formado por cinco embriólogos, siete ginecólogos y especialistas en reproducción, además de ocho enfermeras.

Incorporar y formar toda esa estructura ha sido un gran reto, pero también la clave para sostener el crecimiento manteniendo los estándares de calidad.



SOCIOS EMPRENDEDORES ASEBIR

Cada: montando un laboratorio en Suiza

ASEBIR: Y actualmente, ¿cuál es el mayor reto que se acerca?

NACHO: Pues actualmente sería consolidar la ISO 15189. Aunque llevamos operando bajo esos estándares desde el principio, el proceso de acreditación oficial es largo. Para poder acceder a la auditoría principal, que tendremos en septiembre, necesitas haber trabajado al menos un año bajo esos estándares.

ASEBIR: También habéis crecido muchísimo en actividad.

NACHO: Sí. La previsión es cerrar 2026 con unas 750 punciones. Un volumen así solo es sostenible refinando continuamente los procesos internos, el *patient journey* e incorporando progresivamente nuevo equipamiento. Durante este tiempo hemos implementado muchas mejoras operativas que nos están permitiendo obtener resultados clínicos de los que estamos muy orgullosos.

ASEBIR: Liderar un proyecto así debe implicar mucha presión.

NACHO: Muchísima. Es un ejercicio de equilibrio constante. Tienes que compaginar el rigor que exige tu trabajo como embriólogo con la rapidez que buscan los inversores y un cre-

cimiento sostenible basado en buenos resultados. Es un entorno donde no hay margen para la improvisación. Además, todo esto ocurre en un país extranjero y trabajando completamente en alemán. Y a nivel personal, compaginándolo también con sacar adelante a dos bebés junto a mi pareja.

ASEBIR: Precisamente por todo eso, imagino que el resultado tiene todavía más valor.

NACHO: Totalmente. Ver que un proyecto que has visto nacer no solo funciona, sino que además obtiene excelentes resultados y sigue creciendo, es probablemente lo más satisfactorio que he vivido a nivel profesional.

Gracias, Nacho, por compartir tu experiencia

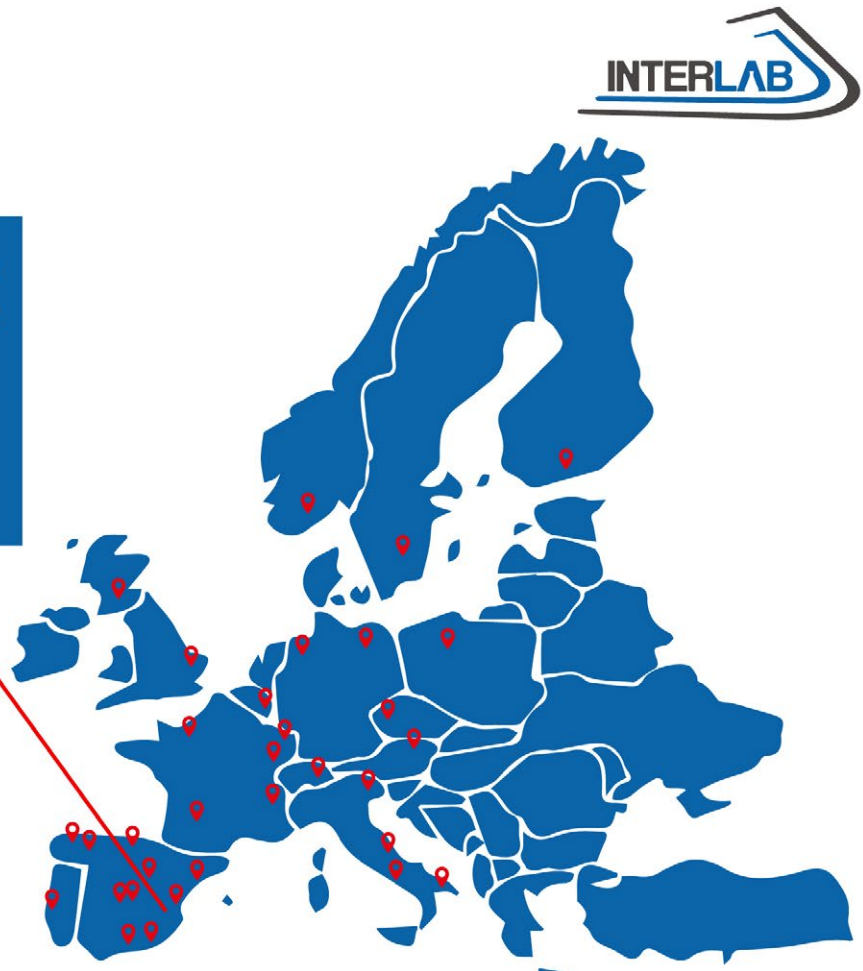
Y si, como Nacho, tienes un proyecto dentro o fuera de la reproducción asistida que pueda resultar interesante, no dudes en contactarnos a través del correo asebir@asebir.com

¡Nos encantará leer tus aventuras!



TRASLADAR SUS MUESTRAS CON INTERLAB, CON TOTAL GARANTÍA, EFICACIA Y SEGURIDAD A CUALQUIER DESTINO, EMPRESA AUTORIZADA.

Telf: 96 321 17 70
info@lab-courier.com



Valencia - Madrid - Bilbao - Sevilla - Málaga - Murcia

FORMACIÓN CONTINUADA

FASES DE LA INVESTIGACIÓN TRASLACIONAL EN REPRODUCCIÓN HUMANA ASISTIDA

TEXTO RESUMIDO DEL TEXTO ORIGINAL: "FASES DE LA INVESTIGACIÓN TRASLACIONAL EN REPRODUCCIÓN HUMANA ASISTIDA"

Ana Barbosa-Barreno^{1,2}

Xavier Vendrell^{1,3}

Nuno Costa-Borges^{1,4}

M.^a José Escribá^{1,5}

Marc Torra-Massana^{1,6}

M.^a José de los Santos^{1,5}

Belén Gómez-Giménez^{1,†}

Minerva Ferrer-Buitrago^{1,7}

¹GI Investigación Traslacional e Innovación en Reproducción Humana Asistida. ASEBIR

²Adora Fertility, Sídney (Australia)

³Unidad de Genética Reproductiva. Eurofins-Sistemas Genómicos, Paterna (Valencia).

⁴Embryotools (Barcelona)

⁵IVIRMA Global Research Alliance. IIS La Fe de Valencia. Fundación IVI. IVIRMA Valencia

⁶Eugin Group (Barcelona)

⁷CREA. Medicina de la Reproducción (Valencia)

[†]Investigadora independiente



► RESUMEN

Desde el nacimiento de Louise Brown en 1978, la biomedicina reproductiva ha experimentado un crecimiento exponencial; sin embargo, muchas de las técnicas que hoy se emplean de forma rutinaria se introdujeron sin evidencia suficiente sobre su seguridad y eficacia. Para subsanar esta carencia, hemos desarrollado un marco que ordena las etapas de la investigación traslacional en el ámbito específico de la reproducción humana asistida.

Integramos dos modelos complementarios: el modelo de descubrimiento de cuatro fases propuesto por Gannon, que abarca desde la investigación básica hasta la validación funcional, y el modelo de las «cuatro T» de Khoury *et al.*, que describe la progresión desde la primera aplicación en humanos hasta el impacto en la salud de la población. Ambos se alinean, además, con la clasificación de Provoost *et al.*, que distingue entre procedimientos experimentales, innovadores y consolidados.

Dentro de este marco se definen y contextualizan cuatro etapas clave de investigación: prueba de concepto (PoC), estudios preclínicos, estudios piloto y estudios clínicos. Cada etapa se asocia a requisitos metodológicos específicos e indicadores de calidad extraídos de los estándares del laboratorio de FIV. La evaluación del riesgo se incorpora mediante las directrices Euro-GTP II, que clasifican el riesgo del procedimiento en cuatro niveles y orientan el nivel de evidencia exigible antes de avanzar a las fases siguientes.

El marco propuesto subraya que una verdadera traslación clínica en reproducción asistida exige la transferencia embrionaria y el seguimiento de la implantación, los resultados gestacionales y perinatales, y la salud de la descendencia. Al ofrecer un modelo traslacional estructurado y adaptado al riesgo, este trabajo aspira a impulsar en la reproducción humana asistida una innovación más segura, transparente y basada en la evidencia.

FORMACIÓN CONTINUADA

Fases de la investigación traslacional en reproducción humana asistida

► ABSTRACT

Since the birth of Louise Brown in 1978, reproductive biomedicine has undergone exponential growth, yet many techniques currently in routine use were introduced without sufficient evidence of safety and efficacy. To address this gap, we have developed a framework that maps the stages of translational research specifically within the field of assisted human reproduction.

We integrate two complementary models: the four-phase discovery model proposed by Gannon, which spans from basic research to functional validation, and the "four T" model by Khoury *et al.*, which describes the continuum from first-in-human application to population health impact. These are further aligned with the classification by Provoost *et al.*, which distinguishes between experimental, innovative, and established procedures.

Within this framework, four key research stages are defined and contextualized: proof of concept (PoC), preclinical studies, pilot studies, and clinical studies. Each stage is associated with specific methodological requirements and quality indicators drawn from IVF laboratory standards. Risk assessment is incorporated using the Euro-GTP II guidelines, which classify procedural risk into four levels and inform decisions on the depth of evidence required before advancing to subsequent phases.

The proposed framework emphasizes that genuine clinical translation in assisted reproduction requires embryo transfer and follow-up of implantation, gestational outcomes, perinatal results, and offspring health. By providing a structured, risk-adapted translational model, this work aims to support safer, more transparent, and evidence-based innovation in assisted human reproduction.

INTRODUCCIÓN

Desde el nacimiento de Louise Brown en 1978 (Stephoe and Edwards, 1978), la biomedicina reproductiva ha experimentado un crecimiento exponencial que ha permitido consolidar la práctica clínica actual en los centros de reproducción asistida. Sin embargo, muchas de las técnicas que hoy se emplean de forma rutinaria, como por ejemplo la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI) (Palermo *et al.*, 1992), fueron introducidas sin disponer de evidencia suficiente sobre su seguridad y eficacia. En la actualidad, la incorporación acelerada de nuevas intervenciones sigue planteando importantes desafíos desde el punto de vista científico, ético y regulatorio (Harper *et al.*, 2012).

En este contexto, resulta esencial estructurar adecuadamente el proceso de generación de evidencia científica (ver figura). Gannon propone un modelo de cuatro fases de descubrimiento (D1–D4), que abarca desde la investigación básica (D1), pasando por la investigación orientada a la patología (D2) y la identificación de dianas terapéuticas (D3), hasta su validación funcional (D4) (Gannon, 2014). Este modelo proporciona un marco conceptual para entender la progresión del conocimiento científico, que se complementa con el modelo de las "cuatro T" (T1–T4) propuesto por Khoury *et al.* (2010), orientado a su traslación hacia la práctica clínica y la salud poblacional. En este sentido, el modelo de las 4T describe el *continuum* de la investigación traslacional desde la primera aplicación en humanos del nuevo tratamiento (T1), pasan-

do por la validación clínica donde la eficacia del tratamiento queda comprobada (T2) y su implementación en la práctica asistencial general (T3), hasta la evaluación de su impacto en salud poblacional (T4).

La clasificación propuesta por Provoost *et al.* (2014) aporta un marco complementario de gran utilidad en el ámbito de la reproducción asistida, al diferenciar entre procedimientos experimentales, innovadores y establecidos. Los procedimientos experimentales se caracterizan por una evidencia limitada y un uso principalmente en el ámbito de la investigación, los innovadores por su aplicación clínica con evidencia aún en desarrollo, y los establecidos por disponer de evidencia sólida de seguridad y eficacia que respalda su uso rutinario. Esta clasificación se alinea de forma conceptual con el modelo traslacional, de manera que los procedimientos experimentales se aproximan a las fases de descubrimiento (D–T1), los innovadores a las fases intermedias de traslación clínica (T1–T2) y los establecidos a la implementación en la práctica clínica (T2–T3). Su utilidad radica en facilitar la interpretación del grado de madurez de una intervención y orientar su integración en la práctica clínica (Provoost *et al.*, 2014).

En biomedicina reproductiva, no obstante, la aplicación práctica de estos marcos no siempre es lineal. La estrecha interacción entre investigación y práctica clínica, junto con las particularidades éticas y regulatorias asociadas al uso de gametos

FORMACIÓN CONTINUADA

Fases de la investigación traslacional en reproducción humana asistida

y embriones humanos, dificulta la delimitación estricta entre fases y la toma de decisiones sobre el avance de nuevas técnicas o procedimientos a lo largo del continuo traslacional (Fort *et al.*, 2017).

Ante esta problemática, el grupo de interés en investigación traslacional e innovación en reproducción humana de ASEBIR ha elaborado un documento (*pendiente de publicación*), cuyo objetivo es clarificar estas etapas, definiendo conceptos como prueba de concepto, estudio preclínico, estudio piloto y estudio clínico, en nuestro ámbito. De este modo, se pretende facilitar la ubicación de nuevas tecnologías y procedimientos dentro del continuo D-T, proporcionando una guía que permita identificar el estado de desarrollo de una eventual tecnología o práctica emergente. La figura muestra la integración de las distintas etapas de la investigación traslacional propuestas en este documento. Para dar a conocer el trabajo realizado por dicho grupo, se ha elaborado el siguiente resumen a partir del documento original. La versión completa del documento será publicada por ASEBIR y por una revista indexada próximamente.

FASES DE LA INVESTIGACIÓN TRASLACIONAL

El primer paso para enlazar la investigación básica con la investigación clínica es la realización de una prueba de concepto (PoC), que se sitúa en las fases avanzadas del descubrimiento (D3-D4). La PoC, realizada habitualmente en modelos animales o en material humano sin finalidad reproductiva (Provoost *et al.*, 2014), tiene como objetivo evaluar la viabilidad técnica y la plausibilidad biológica de una intervención, contrastando hipótesis generadas en fases previas (D1-D2) (Yuan *et al.*, 2024). De este modo, permite optimizar parámetros experimentales e identificar posibles limitaciones antes de avanzar hacia etapas posteriores.

A continuación, se desarrollan los estudios preclínicos, especialmente necesarios cuando la intervención presenta un grado de novedad que puede afectar a la calidad y/o seguridad del paciente o de su posible descendencia (por ejemplo, efectos sobre el desarrollo embrionario, el genoma o epigenoma del gameto o embrión, o el entorno uterino) (Trias *et al.*, 2020; EDQM, 2023). Estos estudios, realizados en modelos *in vitro*, *in vivo* o *in silico*, deben evaluar el impacto del procedimiento en gametos, embriones y/o tejido gonadal, incluyendo la morfología embrionaria hasta el estadio de blastocisto (Fosse *et al.*, 2023). En situaciones de riesgo elevado, se recomienda el uso de modelos animales (Trias *et al.*, 2020; EDQM, 2023). En términos conceptuales, se sitúan en la fase final del descubrimiento D4 propuesta por Gannon y constituyen la etapa previa a la transición hacia T1 en el modelo de las cuatro T de Khoury *et al.* (2010). Su finalidad es generar evidencia suficiente sobre la seguridad y eficacia del procedimiento que permita obtener un valor predictivo para ayudar a la decisión y autorización de un estudio clínico posterior (Huang *et al.*, 2020).

La transición hacia la investigación traslacional se produce con la entrada en la fase T1, que se corresponde con la realización de estudios piloto. En esta etapa, la intervención se evalúa por primera vez en humanos en un número reducido de pacientes, con el fin de determinar su viabilidad y aplicabilidad clínica (Resnick, 2015). Estos estudios deben aproximarse, en la medida de lo posible, al diseño del ensayo clínico posterior (Teresi *et al.*, 2022), incorporando parámetros propios de la reproducción asistida, como las tasas de fecundación y el desarrollo embrionario. Los resultados de los estudios pilotos deben cumplir los indicadores de calidad establecidos en los laboratorios de FIV (*ESHRE Special Interest Group of Embryology*, 2017). En situaciones de riesgo moderado o alto, según las guías Euro-GTP II (EDQM, 2023), resulta necesario incluir la transferencia embrionaria para evaluar de forma realista los efectos clínicos iniciales, como la implantación, así como el



FORMACIÓN CONTINUADA

Fases de la investigación traslacional en reproducción humana asistida

seguimiento de la evolución gestacional y los resultados perinatales. Una vez obtenidos resultados favorables en el estudio piloto, se procede al desarrollo de estudios clínicos. En el marco del modelo de las cuatro T, estos estudios se sitúan principalmente en la fase T2, cuyo objetivo es la consolidación de la evidencia sobre la seguridad y eficacia de la intervención.

En esta etapa se generan datos a partir de poblaciones más amplias, lo que permite evaluar la generalización de los resultados y su aplicabilidad en la práctica clínica (Umscheid *et al.*, 2011). Estos estudios deben diseñarse de forma prospectiva y, preferentemente, como ensayos controlados aleatorizados (*randomized controlled trials*, RCT) (Arce *et al.*, 2005).

Los resultados obtenidos deben cumplir con los indicadores de calidad de los laboratorios de FIV revisados de manera continua por consensos expertos (*ESHRE Special Interest Group of Embryology*, 2017). Asimismo, el seguimiento de los embarazos y de los resultados perinatales resulta esencial, independientemente del nivel de riesgo estimado (Zhang *et al.*, 2024).

La fase T3 se centra en la investigación de la implementación de la evidencia en la práctica clínica, analizando cómo integrar y optimizar el uso de nuevas intervenciones en condiciones asistenciales reales. En este nivel se evalúan aspectos como la adherencia a las guías clínicas, la variabilidad en la práctica, las barreras de implementación y la efectividad en situaciones reales. Posteriormente, la fase T4 aborda la evaluación del impacto poblacional de las intervenciones, considerando los resultados en salud a largo plazo, la seguridad en la descendencia, la equidad en el acceso y la relación coste-efectividad (Khoury *et al.*, 2010).

De este modo, los estudios clínicos no se limitan exclusivamente a la generación de evidencia de eficacia y seguridad (T2), sino que constituyen la base sobre la que se construyen progresivamente la implementación clínica (T3) y la evaluación del impacto en salud poblacional (T4).

La investigación traslacional debe integrarse con una adecuada valoración del riesgo. En este sentido, las guías Euro-GTP II proporcionan un marco útil para la clasificación del riesgo asociado a cada procedimiento, estableciendo cuatro niveles (insignificante, bajo, moderado y alto) (EDQM, 2023). Esta categorización permite orientar la toma de decisiones sobre las fases traslacionales necesarias y el grado de seguimiento clínico y posnatal requerido, según el nivel de riesgo identificado. Así, en situaciones de bajo riesgo, podría considerarse la transición directa a estudios clínicos, sin la realización de estudios pilotos, mientras que en escenarios de riesgo moderado o alto, resulta imprescindible reforzar la evidencia preclínica y clínica temprana, incluyendo la transferencia embrionaria y el seguimiento de resultados gestacionales en estudios piloto.

No obstante, nuestro grupo recomienda aplicar un criterio de precaución en intervenciones que afecten a la embriogénesis temprana o a la genética, aunque la evaluación del Euro GTP-II sugiera un riesgo bajo.

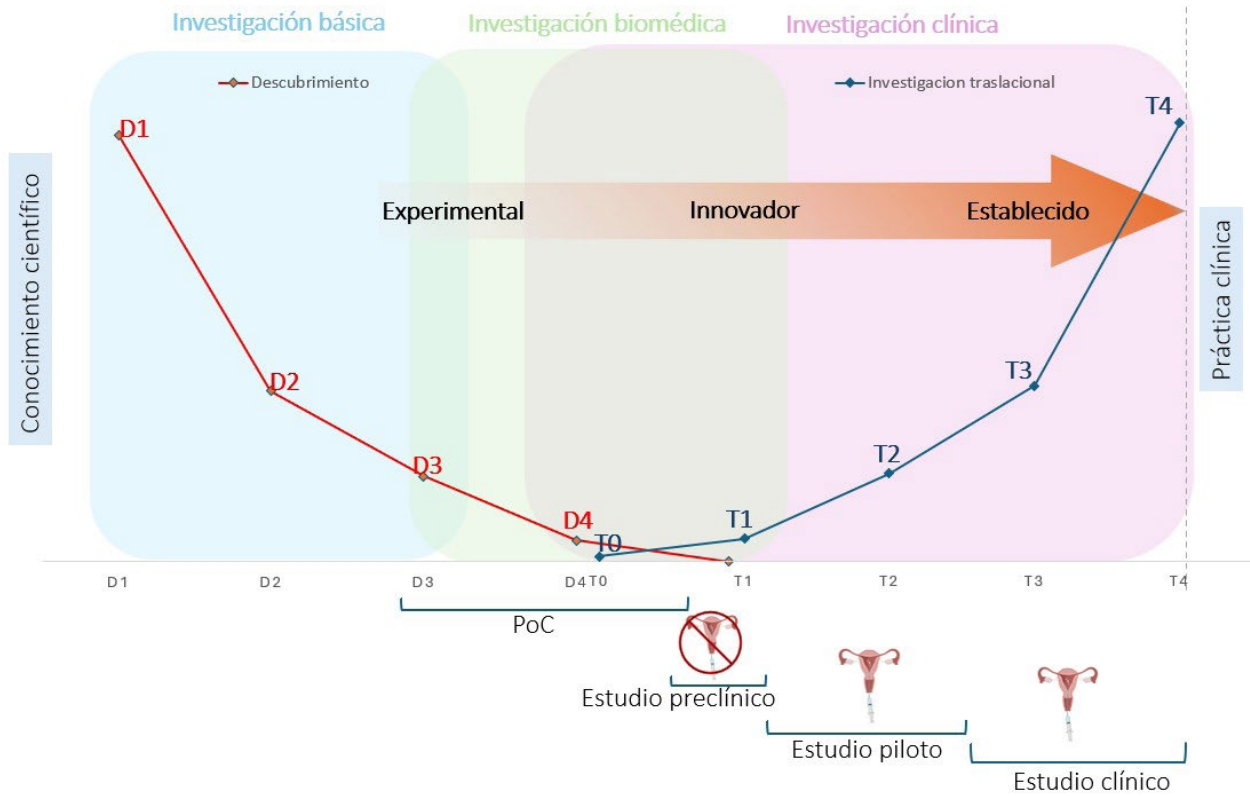
Asimismo, debe tenerse en cuenta que la verdadera traslación clínica en reproducción asistida se produce cuando, durante las fases piloto y clínica, se realiza transferencia embrionaria y se analizan parámetros como la implantación, la evolución gestacional, los resultados perinatales y la salud de la descendencia. De este modo, la evaluación de la seguridad y eficacia de la nueva intervención no se limita solo a parámetros de laboratorio.

En conjunto, la integración de las diferentes etapas de desarrollo (prueba de concepto, estudios preclínicos, piloto y clínicos) con una evaluación del riesgo basada en las guías Euro-GTP II proporciona un marco práctico para situar el grado de desarrollo de nuevas intervenciones en biomedicina reproductiva. Este enfoque facilita una comunicación más transparente entre investigadores, clínicos, pacientes y organismos reguladores, además de orientar la toma de decisiones sobre la evaluación, autorización e implementación de nuevas técnicas.

De este modo, la aplicación de un modelo traslacional estructurado y adaptado al riesgo puede contribuir a una innovación más segura, ordenada y basada en la evidencia en el ámbito de la reproducción humana asistida.

FORMACIÓN CONTINUADA

Fases de la investigación traslacional en reproducción humana asistida



Fases integradas de las diferentes etapas de la investigación traslacional. Las diferentes etapas de la investigación traslacional se pueden distribuir a lo largo de la línea de evolución en el contexto del modelo de las 4T (Khoury et al., 2010). La flecha indica la evolución desde la condición de experimental hasta el estado establecido de una determinada intervención (Provoost et al., 2014). PoC: prueba de concepto.



FORMACIÓN CONTINUADA

Fases de la investigación traslacional en reproducción humana asistida

BIBLIOGRAFÍA

Arce JC, Nyboe Andersen A, Collins J. Resolving methodological and clinical issues in the design of efficacy trials in assisted reproductive technologies: a mini-review. *Hum Reprod.* 2005;20(7):1757–1771.

ESHRE Special Interest Group of Embryology, Alpha Scientists in Reproductive Medicine. The Vienna consensus: report of an expert meeting on the development of ART laboratory performance indicators. *Hum Reprod Open.* 2017;2017(2):hox011.

European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare. EDQM. *EuroGTP II guide: Good practices for evaluating quality, safety and efficacy of novel SoHO preparations.* Strasbourg: Council of Europe; 2023.

Fort DG, Herr TM, Shaw PL, Gutzman KE, Starren JB. Mapping the evolving definitions of translational research. *J Clin Transl Sci.* 2017 Feb;1(1):60-66.

Fosse V, Oldoni E, Biatrix F, Budillon A, Daskalopoulos EP, Fratelli M, *et al.*; PERMIT group. Recommendations for robust and reproducible preclinical research in personalised medicine. *BMC Med.* 2023;21(1):14.

Gannon F. The steps from translatable to translational research. *EMBO Rep.* 2014 Nov;15(11):1107-8.

Harper J, Cristina Magli M, Lundin K, Barratt CLR, Brison D. When and how should new technology be introduced into the IVF laboratory? *Hum Reprod.* 2012;27(2):303-13.

Huang W, Percie du Sert N, Vollert J, Rice ASC. General Principles of Preclinical Study Design. *Handb Exp Pharmacol.* 2020;257:55-69.

Khoury MJ, Gwinn M, Ioannidis JP. The emergence of translational epidemiology: from scientific discovery to population health impact. *Am J Epidemiol.* 2010 Sep 1;172(5):517-24.

Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet [Internet]* 1992;340:17-18.

Provoost V, Tilleman K, D'Angelo A, De Sutter P, de Wert G, Nelen W, Pennings G, Shenfield F, Dondorp W. Beyond the dichotomy: a tool for distinguishing between experimental, innovative and established treatment. *Hum Reprod.* 2014 Mar;29(3):413-7.

Resnick B. The definition, purpose and value of pilot research. *Geriatr Nurs.* 2015;36(2 Suppl):S1-S2.

Stephens PC, Edwards RG. Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet [Internet]* 1978;2:366.

Teresi JA, Yu X, Stewart AL, Hays RD. Guidelines for Designing and Evaluating Feasibility Pilot Studies. *Med Care* 2022; 60(1):95-103.

Trias E, Nijs M, Rugescu IA, Lombardo F, Nikolov G, Provoost V, *et al.*; EuroGTP II Study Group. Evaluating risk, safety and efficacy of novel reproductive techniques and therapies through the EuroGTP II risk assessment tool. *Hum Reprod.* 2020;35(8):1821-1838.

Umscheid CA, Margolis DJ, Grossman CE. Key concepts of clinical trials: a narrative review. *Postgrad Med.* 2011 Sep;123(5):194-204.

Yuan L, Zhao P, Zhang J, Xu X, Jin M, Fang Z, Wang C, Li M. Enhancing translational medical research through proof-of-concept services: clinicians' perspectives. *Sci Rep.* 2024 Dec 28;14(1):31108.

Zhang S, Luo Q, Meng R, Yan J, Wu Y, Huang H. Long-term health risk of offspring born from assisted reproductive technologies. *J Assist Reprod Genet.* 2024;41(3):527-550.

UNA FAMILIA INNOVADORA DE TESTS GENÉTICOS

Embrión adecuado
Momento adecuado
Entorno adecuado



Test FAST-TRACK PGT-MSM

NUEVO test Fast-Track PGT-M

Proceso de análisis previo



4 semanas*



2-3 meses

Ventajas del test Fast-Track PGT-M

- ✓ Mejor experiencia para los pacientes
- ✓ Podría facilitar un ciclo de FIV más temprano (tras la revisión y aceptación del caso)
- ✓ Diseñado para agilizar el proceso de PGT-M para las clínicas y los pacientes



Test PGT-CompleteSM

Nuestro test genético **4 en 1**

- 1 PGT-A
- 2 Control de calidad parental**
- 3 Control genético de PN
- 4 Origen de la aneuploidía



Test ER-Complete[®]

Nuestro test endometrial **3 en 1**

- 1 Ventana de implantación (Test ERPeak[®])
- 2 Predominio de lactobacilos (Test ERBiome[®])
- 3 Presencia o ausencia de organismos patógenos conocidos (Test ERBiome[®])

Para obtener más información, visite nuestro sitio web o hable con su representante local de CooperSurgical



*Todos los casos de PGT-M remitidos que cumplan los requisitos estarán sujetos a un plazo de entrega de 4 semanas que se inicia una vez finalizada la aceptación del caso y la recepción de los materiales requeridos.
**El control de calidad parental no se informa en los países (p. ej., el Reino Unido) en los que no está permitido por los organismos reguladores.

PREMIO AL MEJOR PÓSTER ASEBIR 2025

SOMETHING IN THE WAY SHE MOVES. LA DINÁMICA DEL CITOPLASMA OVOCITARIO COMO MARCADOR PREDICTIVO NO INVASIVO DEL RESULTADO DE FECUNDACIÓN TRAS ICSI.

SOMETHING IN THE WAY SHE MOVES. OOPASM STREAMING VELOCITY ANTICIPATES FERTILIZATION OUTCOMES POST-ICSI AND PROVIDES INSIGHTS INTO THE UNDERLYING CAUSES OF FERTILIZATION FAILURE

Minerva Ferrer Buitrago, Empar Ferrer Robles, Patricia Muñoz Soriano, Victoria Antequera Durán, Carmen Calatayud Lliso, Miguel Ruiz Jorro.

CREA. Medicina de la Reproducción, S. L. – Valencia (España)

► ABSTRACT

The ooplasm is a highly dynamic and fluidic milieu, which enables an efficient redistribution of its components in preparation for fertilization and the subsequent ultrastructural reorganization. Particle Image Velocimetry (PIV) has been employed to study the OS behaviour during oocyte activation and changes in velocity and directionality have been associated with the calcium oscillations triggered by a fertilizing sperm. These observations suggest that the ooplasm undergoes meaningful dynamic shifts during the process of fertilization. The question remains how OS swings in the event of failed fertilization, and whether PIV analysis could anticipate this outcome and shed light on the interpretation. To the best of our knowledge, this is the first study to establish a correlation between failed-to-fertilize immunodetection data, time-lapse imaging, and PIV analysis. Our findings suggest that PIV analysis could serve as a non-invasive method to infer the underlying causes of fertilization failure after ICSI. This study is a cohort analysis based on a limited sample size; therefore, the results should be interpreted with caution.



INTRODUCCIÓN

El citoplasma ovocitario es un entorno dinámico y fluido (Goldstein & Van de Meent, 2015; Shamipour *et al.*, 2021), que muestra un comportamiento de flujos y corrientes denominado ciclosis, y que permite redistribuir los componentes intracitoplasmáticos para optimizar la competencia del ovocito y facilitar la reorganización de su ultraestructura tras la fecunda-

ción, siendo, por lo tanto, crucial en la activación y el posterior desarrollo embrionario temprano.

En particular, algunos autores han identificado alteraciones en los movimientos del citoplasma de ovocitos de ratón (Ajduk *et al.*, 2008, 2011a) y humanos (Swann *et al.*, 2012) tras la

PREMIO AL MEJOR PÓSTER ASEBIR 2025

SOMETHING IN THE WAY SHE MOVES. La dinámica del citoplasma ovocitario como marcador predictivo no invasivo del resultado de fecundación tras ICSI

entrada del espermatozoide y en respuesta a la activación ovocitaria. Esta reacción se asocia directamente al estímulo provocado por los factores espermáticos, y a la consiguiente respuesta de los factores ovocitarios durante el inicio de la activación ovocitaria y la reanudación de la meiosis (revisado por Ferrer-Buitrago *et al.*, 2018a). Del lado del espermatozoide, se ha descrito que la proteína fosfolipasa-C-zeta (PLC ζ) es el factor principal y responsable del inicio de las oscilaciones de calcio (Ca $^{2+}$) que dirigirán el proceso de activación del ovocito (Saunders *et al.*, 2002), y la salida del bloqueo meiótico ovocitario en metafase II hasta la formación de pronúcleos en ovocitos humanos (revisado por Cardona Barberán *et al.*, 2020). Por otro lado, podemos destacar la importancia de los reservorios de Ca $^{2+}$ ovocitarios intracelular, los receptores de Inositol-3-fosfato (IP3) y otras bombas de iones como la bomba de calcio de la membrana plasmática (PMCA).

En particular, la producción de IP3 estimula la coordinación de la maquinaria de liberación de Ca $^{2+}$ del ovocito intracitoplásmico (Lee *et al.*, 2006), lo que asegura el mantenimiento de oscilaciones de Ca $^{2+}$ hasta la formación de los pronúcleos. Los cambios ultraestructurales que experimenta el ovocito durante el proceso de activación aparecen en respuesta a esta, y otras cascadas de señalización.

El mayor cambio ultraestructural ocurre a nivel nuclear ya que ambos gametos experimentarán una remodelación de su cromatina. El núcleo espermático, que se encuentra en interfase, inicia una serie de transformaciones con la pérdida de su envoltura nuclear tras la reacción acrosómica, y la consiguiente exposición del ADN paterno al citoplasma ovocitario (Ajduk *et al.*, 2006). A continuación, el espermatozoide experimenta una remodelación de nucleoproteínas, intercambiando protaminas por histonas.

Así el núcleo espermático, que se caracteriza por su alto grado de compactación, se descondensa, aumenta de tamaño y se prepara para adquirir una nueva envoltura nuclear, formando el pronúcleo masculino y volviéndose competente a nivel transcriptómico. En coordinación con estos eventos, el núcleo materno, que se encuentra en metafase II, reanuda la meiosis, completando su maduración nuclear con la extrusión del segundo corpúsculo polar y prepara su cromatina (ya en interfase) para la formación del pronúcleo femenino, y las posteriores fases del desarrollo embrionario temprano tras la aposición y singamia de ambos pronúcleos: materno y paterno. Esta asincronía en el ciclo celular entre ovocito MII y espermatozoide es un punto sensible a errores que pueden derivar en fallos o bloqueos de la activación ovocitaria. Como resultado, en el laboratorio se observa la falta de formación de pronúcleos post-ICSI bajo el microscopio de luz transmitida. Cuando esta situación ocurre resultando en una tasa de fecundación por debajo del 30 %, se describe como un *fallo de fecundación tras ICSI*. El abordaje clínico de estos casos se basa en la valoración y eventual aplicación de activación ovocitaria asistida (AOA)

mediante ionóforos de calcio, con el objetivo de compensar un posible déficit en el aporte intracelular de calcio necesario para la inducción de la activación ovocitaria. La AOA ha sido considerada durante años como una técnica experimental; no obstante, recientemente ya consta como técnica recomendada por sociedades científicas como la European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) y la Human Fertilisation and Embryology Authority (HFEA) en casos seleccionados de fallo de fecundación (Bolton *et al.*, 2023; Lundin *et al.*, 2023). El éxito de la AOA está asociado directamente al origen de la causa de fallo de fecundación, siendo más efectiva en aquellos casos con causa espermática (Ferrer-Buitrago, Dhaenens, *et al.*, 2018; Ferrer-Buitrago *et al.*, 2019; Vanden Meerschaut *et al.*, 2014).

Pero el diagnóstico clínico y posterior tratamiento de estos casos continúa siendo un reto. En la literatura se describen distintos enfoques y esfuerzos orientados a definir metodologías diagnósticas capaces de determinar el origen de los fallos de fecundación. Entre los estudios publicados destacan los test funcionales espermáticos de activación y los análisis de la respuesta ovocitaria mediante un estudio de patrones de liberación de calcio intracelular en modelos interespecie: *ratón-humano* (Rybouchkin *et al.*, 1995; Vanden Meerschaut *et al.*, 2013) e *intraespecie: humano-humano* (Ferrer Buitrago *et al.*, 2018). Asimismo, se han desarrollado análisis de concentración y distribución de la proteína PLC ζ en espermatozoides (Kashir *et al.*, 2013), estudios de ultraestructura en ovocitos no fecundados (Rawe, Olmedo, *et al.*, 2000a) y, más recientemente, ha cobrado especial relevancia el análisis y la caracterización de variantes genéticas de origen materno y paterno asociados a distintas causas de infertilidad (Van der Kelen *et al.*, 2023; Veltman & Tüttelmann, 2024), incluyendo los fallos de fecundación tras ICSI.

En nuestro laboratorio llevamos años aplicando el análisis inmunocitoquímico al estudio de la ultraestructura y citoesqueleto de ovocitos no fecundados tras ICSI, con el objetivo de ofrecer un enfoque diagnóstico que permita acompañar al paciente en la comprensión de las posibles causas subyacentes del fallo de ICSI y en la definición de estrategias para abordar su caso.

Las técnicas de inmunocitoquímica han sido ampliamente utilizadas en el análisis de ovocitos no fecundados, y numerosos estudios han descrito diversas anomalías detectadas mediante el marcaje de componentes del citoesqueleto, como la tubulina, la actina y el propio ADN espermático y ovocitario (Combelles *et al.*, 2010; Heindryckx *et al.*, 2011; Rawe, Olmedo, *et al.*, 2000b).

Gracias a estos trabajos se han podido identificar distintas configuraciones de la ultraestructura ovocitaria y espermática, contribuyendo así a diferenciar entre un fallo de activación ovocitaria y un bloqueo o activación silenciada, situaciones



Figura 1. Configuraciones del núcleo paterno en ovocitos no fecundados tras ICSI. Marcaje por inmunofluorescencia del núcleo paterno (azul), la tubulina acetilada presente en el flagelo espermático (verde) y la tubulina (rojo/naranja), reclutada y polimerizada durante una condensación prematura de cromosomas. (Imágenes: CREA. Medicina de la Reproducción S. L.)

con implicaciones diagnósticas y clínicas diferenciadas (Rawe, Olmedo, *et al.*, 2000a). Los patrones identificados tras las técnicas inmunocitoquímicas corresponden generalmente a cuatro categorías, distribuidas según el estado que muestre el núcleo espermático (Figura 1).

- 1. Ausencia de penetración espermática:** Se distingue por la ausencia del flagelo y núcleo espermáticos en el citoplasma del ovocito microinyectado. Esta situación se da en los casos en los que hubo una expulsión del espermatozoide tras la microinyección, normalmente asociada a errores técnicos asociados al periodo de curva de aprendizaje en ICSI (referencia), o a de las propias membranas del ovocito, que muestran resistencia a su ruptura (Rawe, Brugo Olmedo, *et al.*, 2000).
- 1. Fallo de descondensación total del núcleo espermático.** Se observa el núcleo espermático en el interior del ooplasma en una conformación intacta, con su núcleo compacto, altamente condensando y unido, generalmente, al flagelo espermático (Montag *et al.*, 1992).
- 2. Fallo de descondensación parcial del núcleo espermático.** Se observa el núcleo espermático descondensado, de mayor tamaño, y asociado al flagelo espermático, generalmente (Rawe & Chemes, 2009).
- 3. Condensación prematura de cromosomas (PCC) de la cromatina espermática.** Se observa el núcleo espermático formando una estructura que recuerda a un huso meiótico, viéndose ADN en forma de cromosomas, unidos a una estructura de tubulina en *forma de barril*, característica del huso meiótico materno. En la mayoría de las muestras analizadas se observa el flagelo espermático unido y muchas veces, enrollado alrededor de esta estructura de tubulina y ADN (Racowsky *et al.*, 1997; Rosenbusch, 2000a).

Pese a su capacidad para definir el estado de las ultraestructuras en los ovocitos no fecundados, el estudio inmunocitoquímico tiene algunas limitaciones.

Primero, se requiere utilizar los propios ovocitos no fecundados, que además han quedado un tiempo prolongado en cultivo hasta la confirmación de la ausencia de pronúcleos, lo cual puede influir al estado del ovocito ya envejecido *in vitro*. Además, el número de ovocitos estudiados es limitado, lo cual dificulta en muchas ocasiones obtener un resultado homogéneo y representativo de la cohorte de ovocitos no fecundados. A ello se suma la necesidad de equipamiento especializado y personal con experiencia específica para la interpretación de estos casos. Por todo ello, resulta de gran interés el desarrollo de herramientas alternativas, idealmente menos invasivas, que permitan ampliar y generalizar el estudio de los fallos de fecundación en la práctica clínica.

La velocimetría de imágenes de partículas (PIV) es una técnica óptica avanzada utilizada para visualizar y medir la dinámica de flujos en diversas disciplinas, incluyendo la biología celular. En el contexto de la activación del ovocito, la técnica PIV se ha utilizado para estudiar el comportamiento del flujo citoplasmático durante este proceso, y ha permitido asociar los cambios en velocidad y direccionalidad del flujo del ooplasma con las oscilaciones de calcio intracitoplasmático, desencadenadas por el espermatozoide tras su entrada al propio ooplasma (Ajduk *et al.*, 2011b; Swann *et al.*, 2012; Milewski *et al.*, 2018).

Además, también se ha descrito una caída en la velocidad media de los movimientos del citoplasma en ovocitos humanos desde el momento de la microinyección hasta la primera división (Coticchio *et al.*, 2021). Esta variación, ocurre durante la remodelación de los núcleos paterno y materno, lo cual sugiere que podría existir una relación causa-efecto entre esta

PREMIO AL MEJOR PÓSTER ASEBIR 2025

SOMETHING IN THE WAY SHE MOVES. La dinámica del citoplasma ovocitario como marcador predictivo no invasivo del resultado de fecundación tras ICSI

transformación y el comportamiento de la corriente citoplasmática. De ser así, la dinámica de movimiento del citoplasma ovocitario desde el momento de la ICSI hasta el tiempo de formación de pronúcleos podría variar entre los ovocitos fecundados y los no fecundados, pudiéndose asociar, además, a los distintos patrones de fallo de fecundación descritos por los estudios inmunocitoquímicos. Partiendo de esta hipótesis, este proyecto se construye sobre una prueba de concepto basada en recopilación y análisis mediante PIV de imágenes *time-lapse* de ovocitos no fecundados que fueron estudiados mediante inmunocitoquímica, teniendo definidos los patrones de fallo de fecundación de cada uno.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño experimental

Estudio observacional, exploratorio y longitudinal de carácter retrospectivo para validación de una tecnología de análisis de imagen (PIV; velocimetría de imágenes de partículas) aplicada a la caracterización de los patrones de movimiento citoplasmático en ovocitos humanos durante las primeras horas del proceso de fecundación *in vitro* mediante ICSI.

Población de estudio

El presente análisis incluyó ovocitos humanos metafase II (MII) microinyectados mediante el procedimiento ICSI, e incubados en un sistema *time-lapse* (T-L; Geri Genea-Biomedx). El estudio incluyó un total de 115 ovocitos no fecundados, identificados por la ausencia de pronúcleos (OPN), que mostraron 1 o 2 corpúsculos polares (CP), de 25 pacientes con fallos de fecundación o fecundación baja tras ICSI (tasa de fecundación: $32,4 \pm 13,5$ %). Los ovocitos no fecundados se clasificaron según la configuración del núcleo espermático: Grupo 1: núcleo intacto, Grupo 2: núcleo descondensado y Grupo 3: condensación prematura de cromosomas (PCC) según (Rawe, Olmedo, *et al.*, 2000b). Se excluyeron del estudio aquellos ovocitos no fecundados que mostraban desplazamientos dentro del pocillo de incubación, y los ovocitos no fecundados sin diagnóstico tras estudio inmunocitoquímico. Para el análisis del grupo control, se incluyeron videos T-L de un total de 22 ovocitos correctamente fecundados (2PN, 2CP) que se cultivaron hasta alcanzar el estadio de blastocisto, y que confirmaron ser euploides tras un análisis genético preimplantación (PGT-A) con muestras de trofoectodermo.

Estudio inmunocitoquímico

Tras la eliminación parcial de la zona pelúcida mediante ácido Tyrode en gotas de 30 μ L, los ovocitos se lavaron en solución de bloqueo compuesta principalmente por PBS (tampón fosfato salino), albúmina (HSA) y gentamicina, y se incubaron entre 40–60 minutos a 37 °C en una solución con base de PBS con formaldehído al 37 %, Triton X-100 y taxol. Posteriormente,

los ovocitos se dejaron a 4 °C en solución de bloqueo. Para la inmunocitoquímica, los ovocitos se incubaron con anticuerpos primarios *sheepanti-tubulina* (1:200) y *mouseanti-tubulina* acetilada (1:100), durante toda la noche a 4 °C. Tras numerosos lavados, se incubaron con anticuerpos secundarios (0,5 μ L *anti-sheep* + 0,5 μ L *anti-mouse* en un volumen final de 100 μ L con solución de bloqueo) durante 1 hora a 37 °C en oscuridad. El ADN se marcó incubando con Hoechst (1:2000) durante 30 minutos. Finalmente, los ovocitos se montaron en portaobjetos con 5 μ L de medio Vectashield, y se sellaron y se analizaron mediante microscopía de fluorescencia o confocal para evaluar la organización del citoesqueleto, y el estado del ADN espermático y ovocitario.

Análisis de imagen de velocimetría de partículas

Se utilizó el software de análisis de imagen de velocimetría de partículas (PIVlab v3.08; MATLAB) para obtener datos brutos de la velocidad media (μ m/s) del citoplasma en un total de 485 imágenes de cada secuencia de *time-lapse*, correspondientes a intervalos de 5 minutos entre cada imagen.

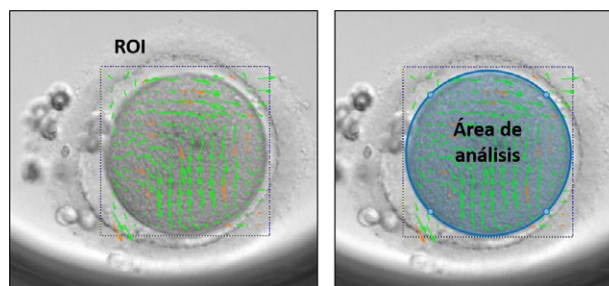


Figura 2. Ejemplo del uso del software PIVlab para la obtención de datos de velocidad media del citoplasma en ovocitos humanos. ROI (Región of interest): delimita la región de interés donde aplicar el análisis. Posteriormente, y tras la normalización de los datos, se extraen los resultados del área de análisis deseada, en este ejemplo el total de la superficie del ovocito. El análisis devuelve la velocidad media del citoplasma como la velocidad o magnitud promedio calculada en un campo vectorial por cada imagen de la secuencia analizada.

RESULTADOS

El análisis de inmunocitoquímica resultó informativo en el 81,7 % (94/115) de los ovocitos no fecundados estudiados. Los ovocitos estudiados se distribuyeron en subgrupos para un posterior análisis: 1) Núcleo intacto; n=9, 2) Núcleo descondensado (parcial o totalmente); n=13, PCC; n=60, 4) Otros patrones; n=12, incluyendo aquellos ovocitos con ausencia de espermatozoide en su citoplasma. En el grupo de ovocitos no fecundados, se anotó la presencia o ausencia del segundo corpúsculo polar y se calcularon las frecuencias de extrusión de segundo corpúsculo según el patrón de fallo de fecundación observado (Figura 3).

PREMIO AL MEJOR PÓSTER ASEBIR 2025

SOMETHING IN THE WAY SHE MOVES. La dinámica del citoplasma ovocitario como marcador predictivo no invasivo del resultado de fecundación tras ICSI

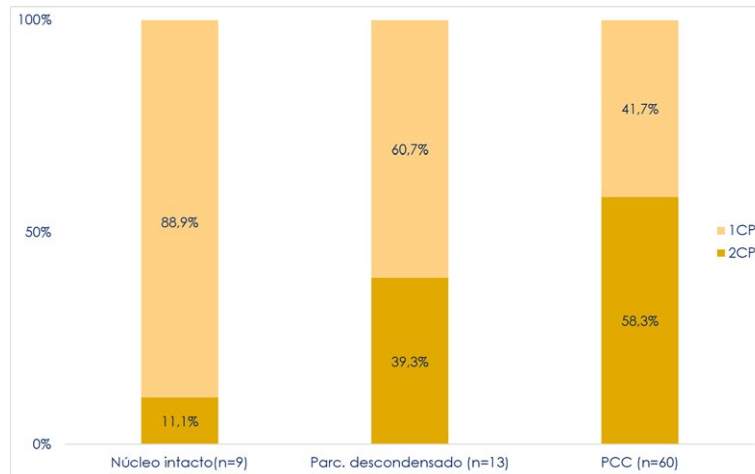


Figura 3. Presencia del segundo corpúsculo polar (%) según el patrón de fallo de fecundación en los grupos 1 (Núcleo intacto), 2 (Núcleo descendado) y 3 (PCC).

Análisis PIV

El análisis PIV se realizó en aquellos videos en los que el ovocito cultivado no mostraba ningún desplazamiento dentro del pocillo de incubación, quedando un total de 76 ovocitos analizados de un total de 94 con estudio informativo tras tinción inmunocitoquímica.

Finalmente, el grupo 4 fue excluido del análisis PIV por su heterogeneidad y tamaño limitado, quedando un total de 64 ovocitos no fecundados incluidos en el grupo de estudio. Como control, se incluyeron 22 ovocitos correctamente fecundados (2PN, 2CP), que habían dado lugar a blastocistos euploides.

En primer lugar, se establecieron los resultados en los ovocitos control (n=22) teniendo en cuenta como variable inicial la velocidad media citoplasmática, y su derivada: tasa de cambio de velocidad por hora ($(\text{velocidad media } 8\text{hpl} - \text{velocidad media } 1\text{hpl}) / \text{velocidad media } 1\text{hpl}$). En el grupo control se observó una velocidad media citoplasmática total de $7,81 \pm 1,72 \mu\text{m/s}$, siendo de $10,5 \pm 0,7 \mu\text{m/s}$ en la hora 1 post-ICSI (1 hpl) y de $5,46 \pm 0,39$ a la 8hpl, ajustándose fuertemente a un modelo de regresión lineal ($r^2 = 0,92$; Figura 4), y en consecuencia mostrando una relación entre el tiempo post-ICSI y una variación de velocidad del citoplasma.

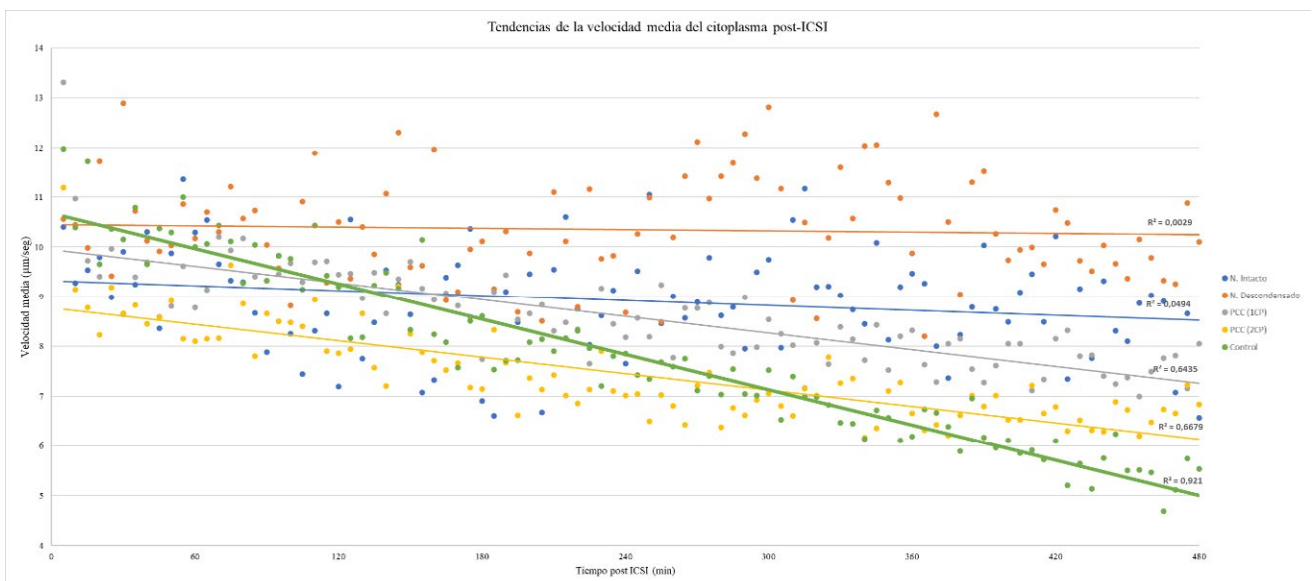


Figura 4. Velocidad media del citoplasma las primeras 8 horas post-ICSI. Control (verde), Grupo 1 (Núcleo intacto; naranja), Grupo 2 (Núcleo descendado; azul), Grupo 3 (Condensación prematura de cromosomas, PCC:1 corpúsculo polar (1CP; gris), 2 corpúsculos polares (2CP; amarillo). R^2 indica el coeficiente de correlación entre el tiempo post ICSI (minutos; eje x) y la velocidad media del citoplasma ($\mu\text{m/s}$; eje Y).

PREMIO AL MEJOR PÓSTER ASEBIR 2025

SOMETHING IN THE WAY SHE MOVES. La dinámica del citoplasma ovocitario como marcador predictivo no invasivo del resultado de fecundación tras ICSI

En concreto se observó una disminución de la velocidad, que representó un cambio de la velocidad media del 48 % entre la primera hora (1hpl) y la última hora (8hpl) incluida en el análisis.

En contraste, cuando analizamos los ovocitos no fecundados del grupo 1 (Núcleo intacto; n=7), la velocidad inicial (1hpl) fue $9,8 \pm 0,8 \mu\text{m/s}$ y la final (8 hpl) de $8,25 \pm 0,09 \mu\text{m/s}$, mostrando un índice bajo de correlación ($r^2 = 0,05$; Figura 4) y una reducción del 16 % de la tasa de cambio de velocidad.

En el grupo 2 (Núcleo descondensado; n=7), la velocidad inicial fue $10,6 \pm 0,9 \mu\text{m/s}$, con una caída a las 8hpl del 7 % ($9,86 \pm 0,49 \mu\text{m/s}$), y un índice de correlación de $r^2 = 0,03$. Para el grupo 3 (PCC; n=65) la velocidad inicial fue de $9,2 \pm 1,0 \mu\text{m/s}$, disminuyendo un 24 % a las 8hpl ($7,16 \pm 0,23 \mu\text{m/s}$). Este grupo se subdividió en dos, siendo analizados los ovocitos no fecundados con patrón PCC que mostraron solo el primer corpúsculo (1CP) y aquellos que mostraron el segundo corpúsculo polar (2CP).

En el primer subgrupo (PCC 1CP; n=29), se observó una tasa de cambio de velocidad del -16 %, con un coeficiente de correlación (r^2) de 0,64. El segundo subgrupo (PCC 2CP; n=22) mostró una tasa de cambio de velocidad del -25 %, con un coeficiente de correlación (r^2) de 0,68.

La tasa de cambio de velocidad por hora mostró diferencias significativas en todos los grupos frente al grupo control, viéndose esta diferencia desde las 5 y 4 hpl en los grupos 1 y 2, respectivamente ($p < 0,05$). En el caso del grupo 3 (PCC), estas diferencias significativas con el control se observaron desde las 6 hpl en ovocitos PCC con 1CP ($p < 0,05$), y desde las 7 hpl en ovocitos PCC con 2CP. El tamaño limitado de los otros grupos restringió subanálisis similares (Figura 5).

DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio mostraron que la dinámica citoplasmática post-ICSI difiere claramente entre los ovocitos correctamente fecundados y aquellos que presentan un fallo de fecundación, observándose, además, diferencias en las velocidades de movimiento de distintos patrones de fallo de fecundación (Figura 6). En concreto, los ovocitos del grupo control que dieron lugar a blastocistos euploides mostraron una disminución progresiva de la velocidad citoplasmática durante las primeras horas post-ICSI, con una alta correlación lineal con el tiempo post ICSI (Figura 4).

Por el contrario, los ovocitos no fecundados, especialmente en los grupos con núcleo intacto y núcleo descondensado, no mostraron esta relación temporal, viéndose que la velocidad

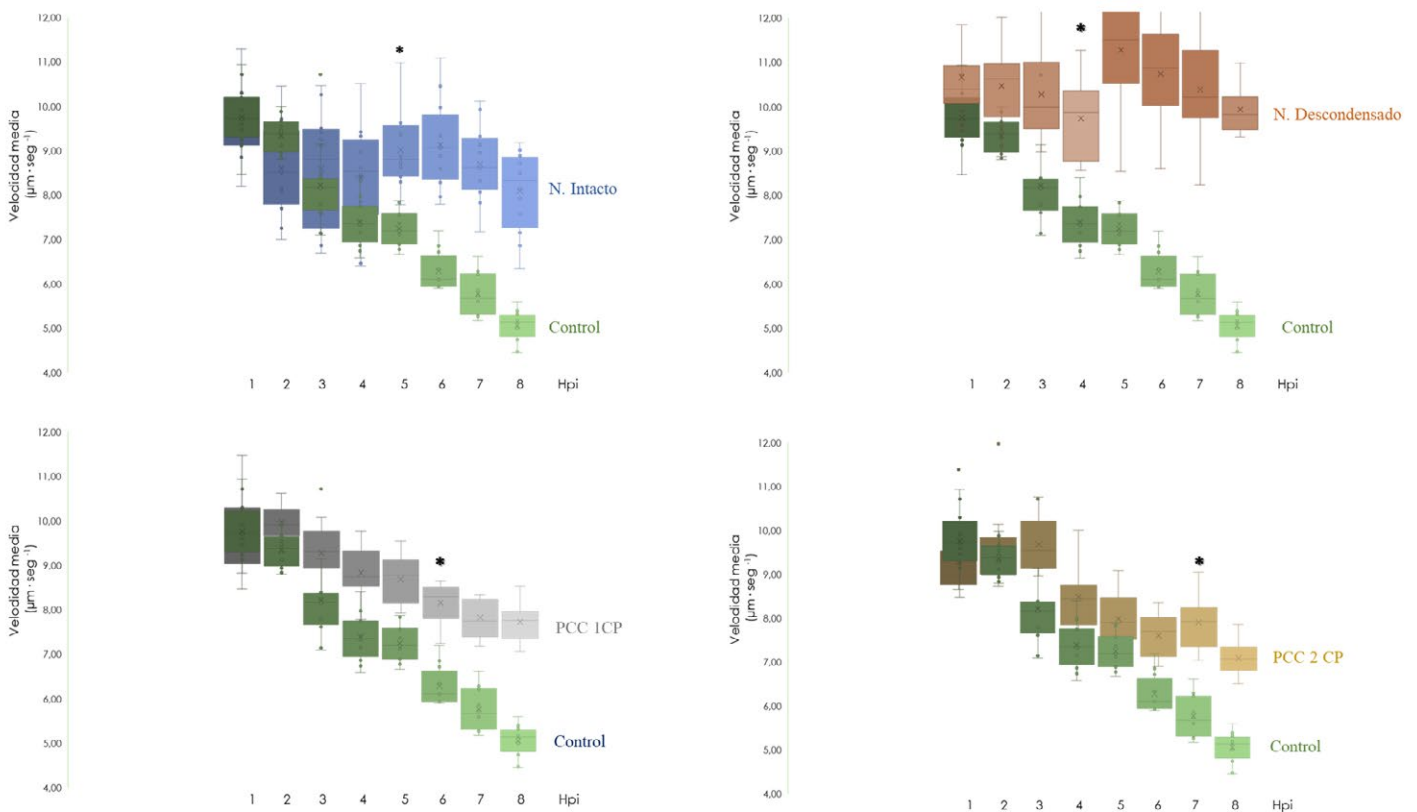


Figura 5. Variación de la velocidad media del citoplasma por hora desde la microinyección hasta la hora 8 post ICSI. (*) marca diferencias significativas entre el grupo control y el grupo de fallo de fecundación analizado ($p < 0,05$)

PREMIO AL MEJOR PÓSTER ASEBIR 2025

SOMETHING IN THE WAY SHE MOVES. La dinámica del citoplasma ovocitario como marcador predictivo no invasivo del resultado de fecundación tras ICSI

permaneció relativamente estable tras ICSI y los coeficientes de correlación fueron bajos. En particular, los ovocitos con núcleo descondensado mostraron una dinámica prácticamente constante, lo que podría indicar que, aunque se inició la remodelación del núcleo espermático, visible tras la inmunotinción por la descondensación (Figura 1), no llegó a iniciarse el proceso de activación ovocitaria. Los perfiles descritos en los grupos 1 y 2 se asocian a alteraciones de origen espermático y, según la literatura, estos son los casos que más se benefician de la aplicación de AOA (Bonte *et al.*, 2019; Ferrer Buitrago *et al.*, 2018; Vanden Meerschaut *et al.*, 2012b). Los resultados de la tasa de cambio de la velocidad muestran que estos ovocitos no fecundados ya presentan diferencias respecto al grupo control a las 4–5 horas post-ICSI.

Estas observaciones abren una posible línea de trabajo orientada al desarrollo de un protocolo de rescate precoz el mismo día de la ICSI. Aunque aún existen limitaciones logísticas importantes a este respecto, el potencial clínico de este protocolo de rescate de fallo de fecundación resulta prometedor. En la literatura encontramos un trabajo que se desarrolla siguiendo una hipótesis similar (Xue *et al.*, 2023). Los autores plantean el potencial rescate de ovocitos que no extruyeron el segundo corpúsculo polar tras 5 horas post ICSI, conociendo de antemano que solo un 4,45 % de ovocitos correctamente fecundados extruyen el segundo corpúsculo polar tras las 5 horas post ICSI, y considerando este grupo (sin 2CP a las 5 hpl) como ovocitos con fallo de fecundación. En el trabajo los autores aplicaron la AOA a las 5 horas post-ICSI en ovocitos sin 2CP, consiguiendo una tasa de fecundación en este grupo de un 71,74 %, y una tasa de blastocisto a día 6 de 48,28 %.

En el caso de los ovocitos con patrón de fallo de fecundación PCC, se observó una disminución parcial de la velocidad media del citoplasma y coeficientes de correlación moderados en ambos subgrupos de PCC con uno o dos corpúsculos polares. En este grupo de estudio, se observó que la frecuencia de extrusión del segundo corpúsculo polar es mayor que en los dos grupos anteriores (Figura 3). Estas observaciones sugieren una mayor frecuencia de reinicio de la meiosis a medida que progresa el estado de remodelación del núcleo espermático.

No obstante, la extrusión del segundo corpúsculo no siempre se correlaciona con el patrón de descondensación del núcleo espermático ni con la respuesta molecular desencadenada tras este proceso. Esto podría explicarse por la existencia de vías moleculares diferenciadas que regulan, por un lado, la extrusión del segundo corpúsculo polar y, por otro, la activación ovocitaria (revisado por Cardona Barberán *et al.*, 2020), mostrando la complejidad de este proceso.

Aunque habitualmente la situación PCC se entiende como una consecuencia de un estado de inmadurez citoplasmática ovocitaria (Rawe, Brugo Olmedo, *et al.*, 2000; Rosenbusch, 2000b), también se ha descrito esta situación como conse-

cuencia de defectos en la protonación del núcleo espermático (Ishchuk Mariia Alekseevna, 2026).

El efecto de la AOA en estos casos concretos aún no ha sido estudiado. Sin embargo, el bloqueo de la fecundación no parece deberse a una ausencia inicial de señalización por calcio, especialmente en los ovocitos que ya han extruido el segundo corpúsculo polar. Por ello, es probable que la AOA no sea suficiente para revertir las alteraciones responsables del fallo de activación en estos casos. Además, el análisis mediante PIV mostró diferencias en la tasa de cambio de la velocidad en momentos más tardíos que en los grupos anteriores, concretamente entre las 6 y 7 horas post-ICSI. Aun así, esta aproximación sigue representando una herramienta diagnóstica útil para la identificación de estos patrones de fallo de fecundación. En estos casos, las posibles estrategias terapéuticas deberían orientarse hacia la optimización de la maduración citoplasmática ovocitaria y la aplicación de métodos avanzados de selección espermática.

El presente estudio presenta limitaciones importantes, principalmente relacionadas con el tamaño muestral reducido de algunos grupos y la heterogeneidad observada en determinados patrones de fallo de fecundación. Estudios futuros con cohortes más amplias serán necesarios para confirmar estos hallazgos y determinar la relevancia biológica y clínica de las alteraciones observadas en la dinámica citoplasmática. Asimismo, es relevante enriquecer el análisis incorporando otras variables derivadas del análisis PIV, como la vorticidad o la direccionalidad de los movimientos citoplasmáticos.

No obstante, nuestro trabajo es una aportación novedosa al estudio y caracterización de los fallos de fecundación, ya que hasta donde nosotros conocemos, no se han publicado otros análisis descriptivos de la dinámica citoplasmática en ovocitos no fecundados tras ICSI. Por ello, nuestras observaciones son particularmente relevantes, puesto que los resultados de este estudio apoyan la hipótesis de que el análisis de dinámica citoplasmática mediante PIV podría constituir una herramienta complementaria para caracterizar los mecanismos implicados en el fallo de fecundación tras ICSI.

La identificación de patrones de movimientos citoplasmáticos específicos podría contribuir a una mejor comprensión de los procesos de fallo activación ovocitaria y, potencialmente, al desarrollo futuro de marcadores no invasivos con utilidad diagnóstica y clínica. Si se confirman nuestras observaciones, el análisis PIV de ovocitos no fecundados podría evitar, en muchos casos, el uso empírico de la AOA.

Además, ofrecería la posibilidad de anticipar fallos de fecundación totales o parciales el mismo día de la ICSI y aplicar la técnica de AOA como estrategia de rescate temprano en el mismo día de la microinyección.

PREMIO AL MEJOR PÓSTER ASEBIR 2025

SOMETHING IN THE WAY SHE MOVES. La dinámica del citoplasma ovocitario como marcador predictivo no invasivo del resultado de fecundación tras ICSI

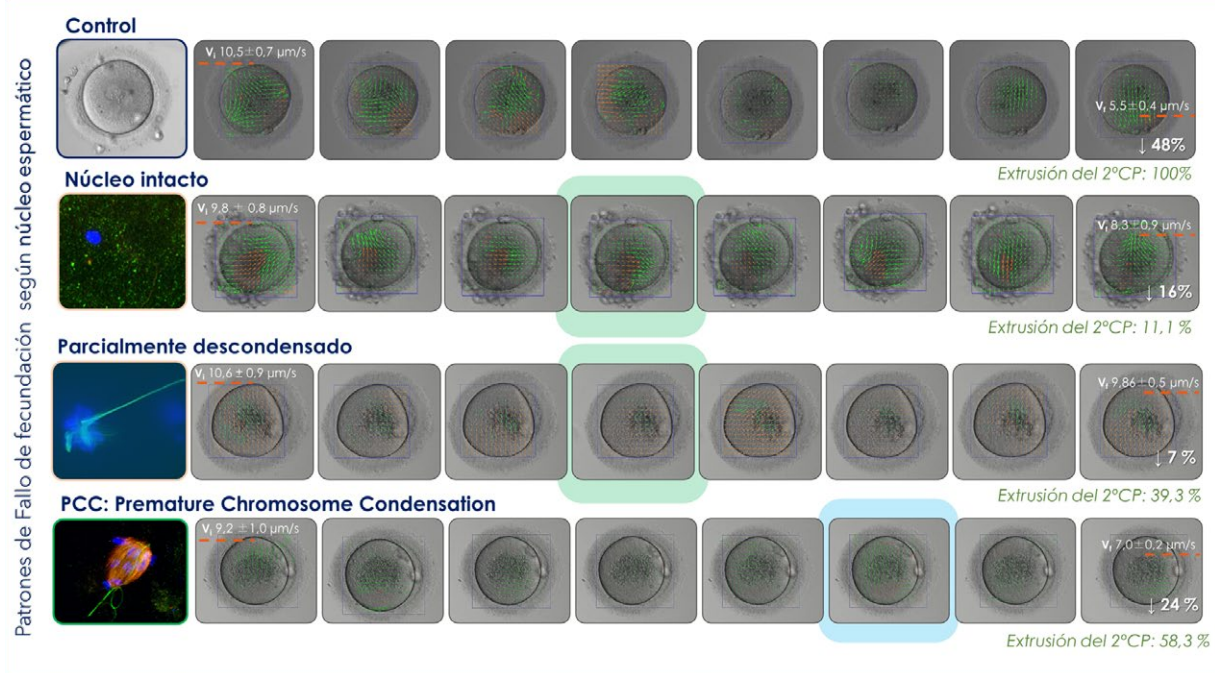


Figura 6. Análisis de la dinámica citoplasmática mediante PIV en ovocitos fecundados (control) y en diferentes patrones de fallo de fecundación tras ICSI. Se muestran imágenes representativas de los perfiles dinámicos obtenidos entre 1 y 8 horas post-ICSI (hpi) en ovocitos control, ovocitos con núcleo espermático intacto, parcialmente descondensado y con patrón PCC (Premature Chromosome Condensation). Los vectores representan el movimiento citoplasmático detectado mediante análisis PIV y los valores indican la velocidad media del flujo del citoplasma ($\mu\text{m/s}$). Los recuadros coloreados destacan los intervalos temporales en los que se observaron diferencias significativas en la tasa de cambio de velocidad respecto al grupo control: 4 hpi en ovocitos con núcleo intacto y parcialmente descondensado, y 6 hpi en ovocitos con patrón PCC. En la columna izquierda se muestran imágenes representativas de inmunotinción correspondiente a cada grupo.

BIBLIOGRAFÍA

- Ajduk, A., Ilozue, T., Windsor, S., Yu, Y., Seres, K. B., Bompfrey, R. J., Tom, B. D., Swann, K., Thomas, A., Graham, C., & Zernicka-Goetz, M. (2011a). Rhythmic actomyosin-driven contractions induced by sperm entry predict mammalian embryo viability. *Nature Communications*, 2(1). <https://doi.org/10.1038/ncomms1424>
- Ajduk, A., Ilozue, T., Windsor, S., Yu, Y., Seres, K. B., Bompfrey, R. J., Tom, B. D., Swann, K., Thomas, A., Graham, C., & Zernicka-Goetz, M. (2011b). Rhythmic actomyosin-driven contractions induced by sperm entry predict mammalian embryo viability. *Nature Communications*, 2(1), 410–417. <https://doi.org/10.1038/ncomms1424>
- Ajduk, A., Malagocki, A., & Maleszewski, M. (2008). Cytoplasmic maturation of mammalian oocytes: Development of a mechanism responsible for sperm-induced Ca^{2+} -oscillations. *Reproductive Biology*, 8(1), 3–22. [https://doi.org/10.1016/S1642-431X\(12\)60001-1](https://doi.org/10.1016/S1642-431X(12)60001-1)
- Ajduk, A., Yamauchi, Y., & Ward, M. A. (2006). Sperm chromatin remodeling after intracytoplasmic sperm injection differs from that of in vitro fertilization. *Biology of Reproduction*, 75(3), 442–451. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.106.053223>
- Bolton, V. N., Perez, M. J., Hughes, G., Moodley, T., Dean, M., Fernandez-Ponce, A., Southall-Brown, G., & Kasraie, J. (2023). The use of ICSI in ART: evidence for practice. *Human Fertility*, 26(3), 414–432. <https://doi.org/10.1080/14647273.2023.2243071>
- Bonte, D., Ferrer-Buitrago, M., Dhaenens, L., Popovic, M., Thys, V., De Croo, I., De Gheselle, S., Steyaert, N., Boel, A., Vanden Meerschaut, F., De Sutter, P., & Heindryckx, B. (2019). Assisted oocyte activation significantly increases fertilization and pregnancy outcome in patients with low and total failed fertilization after intracytoplasmic sperm injection: a 17-year retrospective study. *Fertility and Sterility*, 112(2), 266–274. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2019.04.006>
- Cardona Barberán, A., Boel, A., Vanden Meerschaut, F., Stoop, D., & Heindryckx, B. (2020). Diagnosis and Treatment of Male Infertility-Related Fertilization Failure. *Journal of Clinical Medicine*, 9(12), 3899. <https://doi.org/10.3390/jcm9123899>
- Combelles, C. M. H., Morozumi, K., Yanagimachi, R., Zhu, L., Fox, J. H., & Racowsky, C. (2010). Diagnosing cellular defects in an unexplained case of total fertilization failure. *Human Reproduction*, 25(7), 1666–1671. <https://doi.org/10.1093/humrep/deq064>

PREMIO AL MEJOR PÓSTER ASEBIR 2025

SOMETHING IN THE WAY SHE MOVES. La dinámica del citoplasma ovocitario como marcador predictivo no invasivo del resultado de fecundación tras ICSI

Coticchio, G., Fiorentino, G., Nicora, G., Sciajno, R., Cavalera, F., Bellazzi, R., Garagna, S., Borini, A., & Zuccotti, M. (2021). Cytoplasmic movements of the early human embryo: imaging and artificial intelligence to predict blastocyst development. *Reproductive BioMedicine Online*, 42(3), 521–528. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2020.12.008>

Ferrer Buitrago, M., Dhaenens, L., Lu, Y., Bonte, D., Vanden Meerschaut, F., De Sutter, P., Leybaert, L., Heindryckx, B., Ferrer-Buitrago, M., Dhaenens, L., Lu, Y., Bonte, D., Vanden Meerschaut, F., De Sutter, P., Leybaert, L., & Heindryckx, B. (2018). Human oocyte calcium analysis predicts the response to assisted oocyte activation in patients experiencing fertilization failure after ICSI. *HUMAN REPRODUCTION*, 33(3), 216–225. <https://doi.org/10.1093/humrep/dex376>

Ferrer-Buitrago, M., Bonte, D., De Sutter, P., Leybaert, L., & Heindryckx, B. (2018). Single Ca²⁺ transients vs oscillatory Ca²⁺ signaling for assisted oocyte activation: limitations and benefits. *Reproduction (Cambridge, England)*, 155(2), R105–R119. <https://doi.org/10.1530/REP-17-0098>

Ferrer-Buitrago, M., Bonte, D., Dhaenens, L., Vermorgen, S., Lu, Y., De Sutter, P., & Heindryckx, B. (2019). Assessment of the calcium releasing machinery in oocytes that failed to fertilize after conventional ICSI and assisted oocyte activation. *Reproductive BioMedicine Online*, 38(4), 497–507. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2018.12.035>

Ferrer-Buitrago, M., Dhaenens, L., Lu, Y., Bonte, D., Vanden Meerschaut, F., De Sutter, P., Leybaert, L., & Heindryckx, B. (2018). Human oocyte calcium analysis predicts the response to assisted oocyte activation in patients experiencing fertilization failure after ICSI. *Human Reproduction*. <https://doi.org/10.1093/humrep/dex376>

Goldstein, R. E., & van de Meent, J. W. (2015). A physical perspective on cytoplasmic streaming. *Interface Focus*, 5(4). <https://doi.org/10.1098/rsfs.2015.0030>

Heindryckx, B., Lierman, S., Combelles, C. M., Cuvelier, C. A., Gerris, J., & De Sutter, P. (2011). Aberrant spindle structures responsible for recurrent human metaphase I oocyte arrest with attempts to induce meiosis artificially. *Human Reproduction*, 26(4), 791–800. <https://doi.org/10.1093/humrep/deq400>

Ishchuk Mariia Alekseevna. (2026). *The influence of molecular genetic features of spermatozoa on their morphokinetic characteristics, fertilization ability and early development of human embryos*. RESEARCH INSTITUTE OF OBSTETRICS, GYNECOLOGY AND REPRODUCTOLOGY.

Kashir, J., Jones, C., Mounce, G., Ramadan, W. M., Lemmon, B., Heindryckx, B., De Sutter, P., Parrington, J., Turner, K., Child, T., McVeigh, E., & Coward, K. (2013). Variance in total levels of phospholipase C zeta (PLC- ζ) in human sperm may limit the applicability of quantitative immunofluorescent analysis as a diagnostic indicator of oocyte activation capability. *Fertility and Sterility*, 99(1). <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.09.001>

Lee, B., Vermassen, E., Yoon, S. Y., Vanderheyden, V., Ito, J., Alfandari, D., De Smedt, H., Parys, J. B., & Fissore, R. A. (2006). Phosphorylation of IP3R1 and the regulation of [Ca²⁺]_i responses at fertilization: a role for the MAP kinase pathway. *Development*, 133(21), 4355–4365. <https://doi.org/10.1242/dev.02624>

Lundin, K., Bentzen, J. G., Bozdog, G., Ebner, T., Harper, J., Le Clef, N., Moffett, A., Norcross, S., Polyzos, N. P., Rautakallio-Hokkanen, S., Sfontouris, I., Sermon, K., Vermeulen, N., & Pinborg, A. (2023). Good practice recommendations on add-ons in reproductive medicine. *Human Reproduction*, 38(11), 2062–2104. <https://doi.org/10.1093/humrep/dead184>

Milewski, R., Szpila, M., & Ajduk, A. (2018). Dynamics of cytoplasm and cleavage divisions correlates with preimplantation embryo development. *Reproduction*, 155(1), 1–14. <https://doi.org/10.1530/REP-17-0230>

Montag, M., Tok, V., Liow, S.-L., Bongso, A., & Ng, S.-C. (1992). In Vitro Decondensation of Mammalian Sperm and Subsequent Formation of Pronuclei-Like Structures for Micromanipulation. In *Molecular Reproduction and Development* (Vol. 33).

Racowsky, C., Olvera, S. P., Prather, A. L., Gelety, T. J., & Johnson, M. K. (1997). Prematurely condensed chromosomes and meiotic abnormalities in unfertilized human oocytes after ovarian stimulation with and without gonadotropin-releasing hormone agonist. *Fertility and Sterility*, 67(5), 932–938. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(97\)81410-0](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(97)81410-0)

Rawe, V. Y., Brugo Olmedo, S., Nodar, F. N., Doncel, G. D., Acosta, A. A., & Vitullo, A. D. (2000). Cytoskeletal organization defects and abortive activation in human oocytes after IVF and ICSI failure. In *Molecular Human Reproduction* (Vol. 6, Number 6).

Rawe, V. Y., & Chemes, H. (2009). Exploring the cytoskeleton during intracytoplasmic sperm injection in humans. *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.), 518, 189–206. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-202-1_14

Rawe, V. Y., Olmedo, S. B., Nodar, F. N., Doncel, G. D., Acosta, A. A., & Vitullo, A. D. (2000a). Cytoskeletal organization defects and abortive activation in human oocytes after IVF and ICSI failure. *Molecular Human Reproduction*, 6(6), 510–516. <https://doi.org/10.1093/molehr/6.6.510>

PREMIO AL MEJOR PÓSTER ASEBIR 2025

SOMETHING IN THE WAY SHE MOVES. La dinámica del citoplasma ovocitario como marcador predictivo no invasivo del resultado de fecundación tras ICSI

Rawe, V. Y., Olmedo, S. B., Nodar, F. N., Doncel, G. D., Acosta, A. A., & Vitullo, A. D. (2000b). Cytoskeletal organization defects and abortive activation in human oocytes after IVF and ICSI failure. *Molecular Human Reproduction*, 6(6), 510–516.

Rosenbusch, B. E. (2000a). Frequency and patterns of premature sperm chromosome condensation in oocytes failing to fertilize after intracytoplasmic sperm injection. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 17(5), 253–259. <https://doi.org/10.1023/A:1009454231659>

Rosenbusch, B. E. (2000b). Frequency and Patterns of Premature Sperm Chromosome Condensation in Oocytes Failing to Fertilize After Intracytoplasmic Sperm Injection 1. In *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* (Vol. 17, Number 5).

Rybouchkin, A., Dozortsev, D., De Sutter, P., Qian, C., & Dhont, M. (1995). Andrology: Intracytoplasmic injection of human spermatozoa into mouse oocytes: A useful model to investigate the oocyte-activating capacity and the karyotype of human spermatozoa. *Human Reproduction*, 10(5), 1130–1135. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a136105>

Saunders, C. M., Larman, M. G., Parrington, J., Cox, L. J., Royse, J., Blayney, L. M., Swann, K., & Lai, F. A. (2002). PLC zeta: a sperm-specific trigger of Ca(2+) oscillations in eggs and embryo development. *Development*, 129(15), 3533–3544. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Retrieve&dopt=AbstractPlus&list_uids=12117804

Shamipour, S., Caballero-Mancebo, S., & Heisenberg, C. P. (2021). Cytoplasm's Got Moves. In *Developmental Cell* (Vol. 56, Number 2, pp. 213–226). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2020.12.002>

Swann, K., Windsor, S., Campbell, K., Elgmati, K., Nomikos, M., Zernicka-Goetz, M., Amso, N., Lai, F. A., Thomas, A., & Graham, C. (2012). Phospholipase C- ζ -induced Ca²⁺ oscillations cause coincident cytoplasmic movements in human oocytes that failed to fertilize after intracytoplasmic sperm injection. *Fertility and Sterility*, 97(3), 742–747. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.12.013>

Van Der Kelen, A., Okutman, Ö., Javey, E., Serdarogullari, M., Janssens, C., Ghosh, M. S., Dequeker, B. J. H., Perold, F., Kastner, C., Kieffer, E., Segers, I., Gheldof, A., Hes, F. J., Sermon, K., Verpoest, W., & Viville, S. (2023). A systematic review and evidence assessment of monogenic gene-disease relationships in human female infertility and differences in sex development. In *Human Reproduction Update* (Vol. 29, Number 2, pp. 218–232). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmac044>

Vanden Meerschaut, F., Leybaert, L., Nikiforaki, D., Qian, C., Heindryckx, B., & De Sutter, P. (2013). Diagnostic and prognostic value of calcium oscillatory pattern analysis for patients with ICSI fertilization failure. *Human Reproduction*, 28(1), 87–98. <https://doi.org/10.1093/humrep/des368>

Vanden Meerschaut, F., Nikiforaki, D., De Gheselle, S., Dullaerts, V., Van Den Abbeel, E., Gerris, J., Heindryckx, B., & De Sutter, P. (2012a). Assisted oocyte activation is not beneficial for all patients with a suspected oocyte-related activation deficiency. *Human Reproduction*, 27(7), 1977–1984. <https://doi.org/10.1093/humrep/des097>

Vanden Meerschaut, F., Nikiforaki, D., De Gheselle, S., Dullaerts, V., Van Den Abbeel, E., Gerris, J., Heindryckx, B., & De Sutter, P. (2012b). Assisted oocyte activation is not beneficial for all patients with a suspected oocyte-related activation deficiency. *Human Reproduction*, 27(7), 1977–1984. <https://doi.org/10.1093/humrep/des097>

Vanden Meerschaut, F., Nikiforaki, D., Heindryckx, B., & De Sutter, P. (2014). Assisted oocyte activation following ICSI fertilization failure. *Reproductive BioMedicine Online*, 28(5), 560–571. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2014.01.008>

Xue, L., Wang, S., Wei, P., Liu, H., Mao, X., Qin, J., Li, Y., Zhang, X., Li, Z., Huang, Y., Chen, L., Shi, W., & Liu, L. (2023). Early rescue oocyte activation at 5 h post-ICSI is a useful strategy for avoiding unexpected fertilization failure and low fertilization in ICSI cycles. *Frontiers in Endocrinology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1301505>

CABINAS LABOX



Amplia gama de cabinas de flujo laminar ISO 5, según EU ISO 14644, Clase A, según EU GMP y Seguridad Biológica Clase II, Tipo 2A, Grado A, según cGMP y Clase 5, según ISO EN 12469, incluyendo certificados de fabricación.

Nueva función LabGlass Smart Temp profile, que permite preconfigurar hasta 5 temperaturas en superficie, dependiendo de la placa utilizada.

LABOX

DEFEND NV 400



La evolución en bioseguridad medioambiental:

El nuevo equipo Novaerus combina la potente tecnología **NanoStrike™** con el filtrado premium de triple etapa de Camfil® para proporcionar aire interior limpio y seguro, libre de patógenos y compuestos orgánicos volátiles (COVs).

La solución definitiva para respirar tranquilidad y garantizar un aire protegido en quirófanos, laboratorios, clínicas y espacios comunes.

 **NOVAERUS**



MICROSCOPIO Ti2-U MDR



Microscopio invertido de investigación, con máximo rendimiento óptico y precisión superior para procedimientos ICSI.

Sistema de iluminación LED.

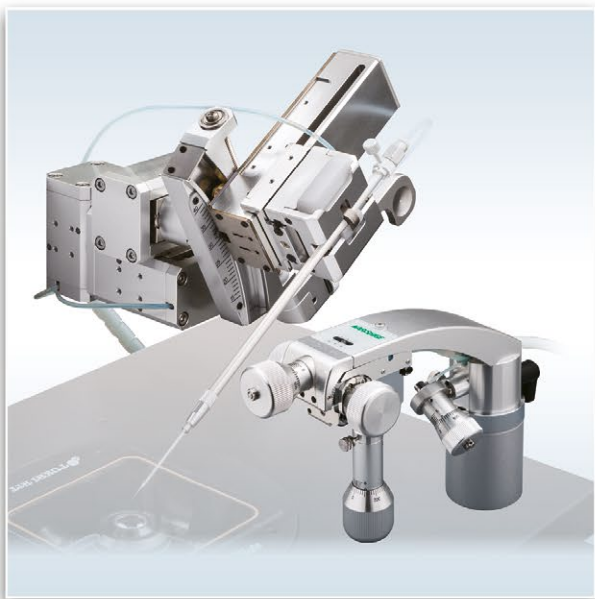
Técnica de luz polarizada Nikon Advanced Modulation Contrast **(NAMC)**.

Plataforma modular del sistema de observación y captura digital de imagen.

Equipamiento bajo Reglamento Europeo de Productos Sanitarios (MDR).



TAKANOME MTK-1MD



Equipo diseñado específicamente para la manipulación de células en suspensión.

Integra sistema de fijación de alta precisión, que permite trabajar con libertad sobre sus cuatro ejes con suaves y precisos movimientos, facilitando el correcto posicionamiento y la angulación deseada de la micropipeta en el eje óptico del microscopio.

NARISHIGE



PERSPECTIVAS CONTEMPORÁNEAS SOBRE MOSAICOS EMBRIONARIOS: DIAGNÓSTICO PRECISO, DESENLACES PERINATALES Y RECOMENDACIONES CLÍNICAS

CONTEMPORARY PERSPECTIVES ON EMBRYONIC MOSAICISM: ACCURATE DIAGNOSIS, PERINATAL OUTCOMES, AND CLINICAL RECOMMENDATIONS

Gabriela García, Regina Ruiz, Ariane Weisser, Ricardo Frade
Clínica Nascere

Autora de correspondencia:
Gabriela García dra.garciac@outlook.com

► RESUMEN

Introducción. El mosaicismo embrionario fue descrito por primera vez en la década de los 90 en otras líneas celulares y representa la presentación de más de una población celular con cariotipos distintos. Su origen mitótico responde a mecanismos como el retraso en la anafase y en los blastocistos se puede identificar por técnicas como el FISH, aCGH y NGS.

Objetivo. Revisar los conceptos actuales de mosaicismo embrionario, su clasificación, métodos diagnósticos disponibles y resultados perinatales.

Material y métodos. Se realizó una búsqueda en dos bases de datos PubMed y Embase obteniendo 72 publicaciones, de las cuales tras aplicar los criterios de exclusión se incluyeron 16 artículos.

Resultados. Las publicaciones incluidas en la revisión arrojaron distintos porcentajes de mosaicismo encontrado que van desde el 8 % en el caso del SNP array hasta el 60 % por el FISH. Una publicación de 2017 describió un modelo matemático predictivo en el que requerían al menos 27 células para obtener un diagnóstico mínimamente predictivo. Además, se describió en otro artículo el mayor riesgo de presentar mosaicismo de acuerdo con el día de la biopsia. Se describieron series de casos con resultados perinatales favorables. Las guías actuales recomiendan establecer pautas de manejo de esta clase de embriones en cada centro.

Conclusión. Las técnicas diagnósticas actuales son variadas y brindan un porcentaje de mosaicismo diferente de acuerdo a cada una de ellas. Es importante identificar la técnica que se utilizará y definir el punto de corte para considerar al embrión como mosaico de bajo o alto grado. A la hora de transferir vale la pena seguir las recomendaciones de las guías y establecer conductas a seguir en el centro.

Palabras clave: mosaicismo, diagnóstico genético preimplantacional, blastocisto, secuenciación de nucleótidos de alto rendimiento, transferencia embrionaria, modelos predictivos, resultados perinatales.

► ABSTRACT

Introduction. Embryonic mosaicism was first described in the 1990s in other cell lines and represents the presence of more than one cell population with distinct karyotypes. Its mitotic origin is due to mechanisms such as anaphase lag, and in blastocysts, it can be identified using techniques such as FISH, aCGH, and NGS.

Objective. To review current concepts of embryonic mosaicism, its classification, available diagnostic methods, and perinatal outcomes.

Materials and Methods. A search was conducted in two databases, PubMed and Embase, yielding 72 publications. After applying the exclusion criteria, 16 articles were included.

Results. The publications included in the review reported different percentages of mosaicism, ranging from 8 % in the case of SNP array up to 60 % via FISH. A 2017 publication described a predictive mathematical model requiring at least 27 cells to obtain a minimally predictive diagnosis. Furthermore, another article described an increased risk of mosaicism according to the day of the biopsy. Case series with favorable perinatal outcomes were described. Current guidelines recommend establishing management protocols for these types of embryos at each center.

Conclusion. Current diagnostic techniques vary and provide a different percentage of mosaicism according to each method. It is important to identify the technique to be used and define the cutoff point to classify the embryo as low-grade or high-grade mosaic. When considering transfer, it is valuable to follow guideline recommendations and establish protocols for embryo management within the center.

Key words: mosaicism, preimplantation diagnosis, blastocyst, high Throughput nucleotide sequencing, embryo transfer, predictive models, pregnancy outcomes.

INTRODUCCIÓN

El mosaicismo embrionario fue descrito por primera vez por Delhanty y colaboradores en 1993 utilizando la técnica de hibridación *in situ* fluorescente (FISH) en estadios tempranos. Posteriormente, Evsikov y Verlinsky también describieron este fenómeno en estadios de blastocisto utilizando la misma técnica (Delhanty *et al.*, 1993; Evsikov and Verlinsky, 1998).

Se denomina mosaicismo embrionario a la presentación de más de una población celular con cariotipos distintos (Zegers-Hochschild *et al.*, 2017). Esta condición se origina debido a fallos en la segregación durante la mitosis, lo cual provoca la ganancia o pérdida de un cromosoma entero o de un segmento del mismo. Además, el mosaicismo cromosómico ha sido vinculado con enfermedades genéticas, fallos en la implantación y abortos (Hassold and Hunt, 2001).

Los errores en la mitosis que originan el mosaicismo pueden ocurrir por diferentes mecanismos. Uno de ellos es el retraso de la anafase, lo cual genera una célula normal y otra monosómica. El otro mecanismo es la no disyunción, que produce una célula monosómica y otra con trisomía (Greco *et al.*, 2015).

Por otro lado, la endoreduplicación, que resulta de una excesiva replicación cromosómica en una célula diploide, puede generar trisomía.

Además, la formación de micronúcleos debido a errores en la formación de material cromosómico independiente encapsulado en una membrana nuclear también puede contribuir a la aparición de mosaicismo cromosómico (Taylor *et al.*, 2014).

Sin embargo, es importante destacar que, dado que las monosomías son más frecuentes que las trisomías recíprocas en embriones mosaicos, el retraso en la anafase se considera el error mitótico más común que da lugar al mosaicismo embrionario (Vazquez-Diez and FitzHarris, 2018; Connen *et al.*, 2004).

Actualmente, se estima que el mosaicismo embrionario se presenta entre el 4 % y el 22 % de los embriones estudiados mediante diagnóstico genético preimplantatorio. Esta variación en el porcentaje se debe a las diferencias en las condiciones de laboratorio, estándares de calidad, el procesamiento del estudio y los resultados reportados (Victor *et al.*, 2019; Munné and Wells, 2017). Se ha observado que la incidencia de mosaicismo disminuye a medida que el embrión alcanza el estadio de blastocisto. En 2019 Popovic y colaboradores realizaron un estudio para investigar la progresión de embriones euploides, aneuploides o mosaicos utilizando un modelo de cultivo extendido encontrando una gran proporción de embriones euploides tras 12 días de desarrollo, demostrando así

la plasticidad celular y la capacidad de depleción de las células anormales en estadios postimplantatorios (Popovic *et al.*, 2019); el mecanismo por el que esto sucede aún se encuentra en discusión, sin embargo, es coherente con los mecanismos de corrección que operan durante el desarrollo embrionario, reduciendo significativamente el riesgo de aneuploidía mediante la selección en contra de las células que portan anomalías cromosómicas (McCoy *et al.*, 2015).

En cuanto a la clasificación del mosaicismo embrionario, se destaca el mosaico general, que es definido como la presencia de dos o más poblaciones celulares con cariotipos distintos en todo el organismo. Este fenómeno se origina debido a errores mitóticos durante los primeros días del desarrollo embrionario, antes de la diferenciación celular. Se ha informado que la incidencia de este tipo de mosaicismo se encuentra en un rango del 65 % al 70 % siendo el tipo de mosaicismo más frecuente (Mertzanidou, 2013).

Por otro lado, el mosaicismo confinado ocurre cuando las anomalías cromosómicas se limitan a un área específica del organismo. Un ejemplo de esto es el mosaicismo cerebral, el cual fue reportado por Yurov y colaboradores en 2007 (Yurov *et al.*, 2007). En el ámbito de la reproducción, el tipo de mosaicismo más estudiado es el confinado a la placenta (MCP).

El MCP se define como la presencia de anomalías restringidas a la placenta, mientras que los cromosomas del feto son euploides (Eggenhuizen *et al.*, 2021). Este tipo de mosaicismo resulta de un error postcigótico de no disyunción, aunque también puede ser causado por un retraso en la anafase (Kalousek, 2000). El MCP se asocia con complicaciones del embarazo, como la restricción del crecimiento intrauterino, el parto prematuro, el bajo peso al nacer y anomalías estructurales, entre otras.

El mosaicismo embrionario es un tema relevante en el contexto de la reproducción asistida, que se ha asociado con complicaciones significativas en el desenlace perinatal; siguiendo esta línea, los tres tipos de mosaico con mayor riesgo de complicaciones son los siguientes: el mosaico confinado a placenta, previamente descrito, el mosaico fetal verdadero y la disomía uniparental (DUP) (Practice, 2020), la cual ocurre cuando, en una trisomía meiótica, se pierde una copia del cromosoma duplicado durante la mitosis, lo que resulta en una célula con dos componentes cromosómicos del mismo progenitor. La DUP puede causar enfermedades si el cromosoma contiene un gen impreso mutado o si se detecta un alelo recesivo de la enfermedad (Engel, 2006).

DIAGNÓSTICO

El estudio preimplantacional de aneuploidías (PGT-a) utiliza la amplificación de la información del DNA para determinar la presencia de anomalías en el HLA de los embriones en estadio

de segmentación y de blastocisto (Munné *et al.*, 2019). Inicialmente, se empleó la técnica de hibridación *in situ* fluorescente (FISH). Sin embargo, las nuevas generaciones de métodos diagnósticos moleculares nos han permitido una visualización con mayor y mejor resolución del estado de euploidía de una célula.

En respuesta a la necesidad de avanzar en la investigación de nuevas técnicas para el diagnóstico cromosómico embrionario, en los últimos años se han utilizado los métodos moleculares como la Array Comparative Genomic Hybridization (aCGH) y la Real Time Quantitative Polymerase Chain Reaction (rtq-PCR), los cuales analizan las biopsias que pueden obtenerse directamente del ovocito, del primer o segundo cuerpo polar, del embrión en estado de segmentación y/o del trofoectodermo (Goodrich *et al.*, 2016).

Actualmente, la tecnología más utilizada es el Next Generation Sequencing (NGS). NGS nos permite la predicción del mosaicismo utilizando umbrales arbitrarios de número de copias de cromosomas aleatorios que van desde el 20 al 80 %; dando lugar a la clasificación del mosaicismo embrionario según el porcentaje de aneuploidías. Esto nos permite catalogar a los embriones con mosaicismo de acuerdo al porcentaje de aneuploidía con puntos de corte que van del 30 al 50 % para bajo grado y más del 50 % para alto grado (Marín *et al.*, 2021).

En 2015 se reportó el primer caso de transferencia de embriones con mosaico cromosómico en PGT-A que resultó en un recién nacido vivo sano (Greco *et al.*, 2015), dando como resultado un creciente interés de la comunidad científica en la investigación de este rubro.

Debido al incremento en el número de casos reportados de recién nacidos vivos sanos procedentes de ciclos de fertilización *in vitro* (FIV) con diagnóstico de mosaicismo de bajo grado, se han publicado recomendaciones para su manejo, entre las que se encuentran las guías de la Sociedad Americana de Reproducción Asistida (ASRM por sus siglas en inglés) (Practice Committee and GCPG of ASRM, 2020), la sociedad internacional de PGD (PGDIS) y las Controversias en Preconcepción, Preimplantación y Diagnóstico Genético Prenatal (CoGEN) (CoGEN, 2016); así como las guías de la Sociedad Europea de Reproducción Asistida Humana y Embriología (ESHRE) (De Rycke *et al.*, 2022).

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó una revisión sistemática en las bases de datos PubMed y Embase obteniendo 72 publicaciones, se excluyeron aquellas publicaciones que incluían el mosaico confinado a placenta, disomía uniparental, enfermedades puntuales, test prenatal y enfermedades mitocondriales, así como aquellos artículos que incluyen el PGT-A no invasivo como técnica diagnóstica.

Al finalizar se incluyeron 16 artículos como se detalla en la figura 1. Se incluyeron artículos desde 2011 debido a la antigüedad de las técnicas diagnósticas, hasta el 2023. Además se incluyeron las guías publicadas para la evaluación de las recomendaciones actuales: Guía de la Sociedad Europea de Reproducción Asistida Humana y Embriología (ESHRE), la Sociedad Americana de Medicina Reproductiva (ASRM) y el estatuto sobre la posición de la transferencia de embriones mosaicos de 2021.

OBJETIVO

El objetivo de este trabajo es revisar los conceptos actuales de mosaicismo embrionario, su clasificación, métodos diagnósticos disponibles y resultados perinatales. A través de esta revisión, evaluaremos si es apropiado hacer recomendaciones clínicas para la transferencia de embriones mosaicos de bajo grado en el contexto de la reproducción asistida.

RESULTADOS

El mosaicismo embrionario, su origen, diagnóstico, clasificación y manejo clínico, representan uno de los mayores desafíos en el campo de la reproducción asistida en la actualidad. Las decisiones adecuadas sobre este tipo de embriones y sus posibles repercusiones no solo afectan la tasa de éxito de los tratamientos de reproducción asistida, sino también el resultado perinatal de la transferencia de embriones, lo que ha suscitado un creciente interés en su estudio en los últimos años.

Los métodos diagnósticos más comúnmente empleados incluyen la técnica de FISH, qPCR, SNP array y NGS. Es esencial evaluar cuidadosamente cada uno de ellos, teniendo en cuenta la sensibilidad de la técnica y los resultados reportados en la práctica clínica.

De los artículos incluidos sobre técnicas diagnósticas, el de mayor antigüedad es del año 2011, en el que Van Echten-Arends y colaboradores realizaron una revisión de 36 estudios en los que reportaron resultados de 815 embriones en los que cerca del 90 % de los embriones fueron analizados por la técnica de FISH y el porcentaje restante por CGH, encontraron que el 60 % de los embriones resultaron con mosaicismo por la técnica de FISH y el 50 % por la técnica de CGH. Los autores concluyeron que hubo una variación debido a la variabilidad de la técnica y el número de células estudiadas por cada técnica (Van Echten-Arends *et al.*, 2011).

Utilizando la misma plataforma diagnóstica, Capalbo y colaboradores reevaluaron 70 blastocistos que habían sido clasificados como anormales mediante la técnica de aCGH, evaluaron los resultados y concordancia entre la masa celular interna y el trofoectodermo. Catalogaron a los embriones como mosaicos cuando contenían al menos 10 % de células aneuploides, y reportaron arriba del 20 % de muestras dentro

de esta categoría. Encontraron una distribución equitativa de las células anormales en ambas partes del embrión con un resultado estadísticamente significativo. Además de encontrar un resultado concordante al reportado por la técnica inicial de aCGH por el que habían sido estudiados originalmente (Capalbo *et al.*, 2013). Una limitación de este estudio mencionada por los autores fue el número restringido de cromosomas que fueron reevaluados y que pudieran no ser representativos del componente cromosómico real del embrión.

Otra publicación revisada fue la de Fragouli y colaboradores; ellos evaluaron alrededor de 50 blastocistos no estudiados previamente, utilizando combinaciones de técnicas de diagnóstico como CGH, aCGH y FISH. En este estudio, se informó una prevalencia de más del 30 % de embriones mosaicos encontrando que más de la mitad de estos embriones presentaban un componente aneuploide/euploide. Encontraron una concordancia entre la técnica de FISH/CGH y aCGH/FISH de más del 90 % en ambos grupos. En este estudio describieron alrededor de una tercera parte de la muestra, sin embargo, los autores finalizan recalando que de estos embriones mosaicos un gran porcentaje tenían un componente mayormente aneuploide, por lo que el riesgo de descartar embriones con potencial de ser transferidos es sumamente bajo. (Fragouli *et al.*, 2011)

Con una técnica más nueva, en 2016, Goodrich y colaboradores utilizaron dos plataformas para el cribado cromosómico completo (CCS, por sus siglas en inglés) para evaluar el porcentaje de aneuploidía en mezclas de líneas celulares. Las plataformas utilizadas fueron la qPCR y la secuenciación de nueva generación VeriSeq (NGS). No encontraron diferencias significativas en la sensibilidad cuando se utilizó un sistema automatizado, demostrando su capacidad para predecir anomalías en las muestras que contenían al menos un 17 % de aneuploidía.

Sin embargo, cuando se utilizó un análisis personalizado, si bien mejoró significativamente la sensibilidad en la detección de aneuploidías del 17 al 66 % ($p < 0,05$), también aumentó el riesgo de falsos positivos hasta el 33 % ($p < 0,001$). (Goodrich *et al.*, 2016)

Por otro lado, Min Xiao y colaboradores llevaron a cabo un estudio retrospectivo en el que compararon la tasa de mosaicismo cromosómico detectado por NGS *versus* SNP array en más de 6.000 blastocistos biopsiados de enero de 2017 a febrero de 2019. Ellos catalogaron a los embriones mosaicos con potencial de ser transferidos si tenían entre un 20-50 % de células aneuploides, sin embargo, cabe mencionar que si bien estos embriones no fueron transferidos, pudieron demostrar que aquellos estudiados por la técnica de NGS presentaron una incidencia de mosaicos significativamente mayor en el grupo del NGS triplicándolo en número (Xiao *et al.*, 2021).

Varios estudios han utilizado la plataforma NGS para evaluar la composición cromosómica de embriones mosaicos que habían sido previamente estudiados por otras plataformas.

En 2017, Huang *et al.*, demostraron un porcentaje de concordancia de más del 90 % entre la MCI y el TE en 51 blastocistos que habían sido diagnosticados previamente como aneuploides mediante la plataforma aCGH. Ellos concluyeron que la biopsia de TE analizada por la técnica de NGS era muy representativa del componente cromosómico de la MCI y que las células con componente que puede ser catalogado como mosaico, tienen una mayor predilección a estar localizadas en esta región del blastocisto. Un dato importante es que en el 84 % de los embriones observaron mosaicismo al utilizar la técnica de múltiples ciclos de amplificación basados en recocido y bucle (MALBAC) para la WGA, una técnica validada pero poco utilizada (Huang *et al.*, 2017); como se describe en la tabla I.

Una de las revisiones sistemáticas incluidas es la de 37 estudios, que reveló una concordancia de alrededor del 40 % entre el resultado original de mosaicismo y el resultado del reanálisis. De este estudio es importante mencionar que el porcentaje de concordancia disminuyó en aquellos estudios que no incluyeron la predicción de mosaicismo en su análisis hasta en el 10 %; además que tras realizar el reanálisis de múltiples biopsias, encontraron que cerca del 30 % de los embriones mosaicos se encontraron como euploides.

Los autores recalcaron al finalizar el estudio que los criterios utilizados por cada estudio para estimar el estado de mosaicismo del embrión genera variabilidad en el resultado del estado de euploidía del mismo (Marín *et al.*, 2021).

Respecto a la diferencia entre los resultados del estudio de la MCI y trofoectodermo, en 2016 Gleicher y colaboradores publicaron en un estudio descriptivo, resultados del reprocesamiento del PGT-A en laboratorios distintos de 11 blastos previamente descritos como aneuploides, en los que encontraron cerca del 50 % de embriones euploides y mosaicos con potencial de ser transferidos; estos blastos fueron transferidos y resultaron en 5 embarazos con bebés cromosómicamente normales confirmados por estudios posteriores. Tras concluir el estudio se señala la necesidad de tomar precauciones al tener los resultados de los estudio de aneuploidias ya que se podrían estar descartando embriones sanos (Gleicher *et al.*, 2016).

Un artículo sobre la sensibilidad de las técnicas diagnósticas evaluadas por modelos matemáticos, trató de establecer en 2017 un modelo capaz de calcular la probabilidad de detectar resultados falsos positivos y negativos en la biopsia convencional de TE de 6 células. Después de revisar más de 300 células y evaluar dos modelos diferentes, se llegó a la conclusión de que se necesitarían al menos 27 células para obtener un diagnóstico mínimamente predictivo, por lo que las biopsias

actuales no pueden tomarse como base para poder elegir el embrión a ser transferido.

Esta necesidad se debe a que el mosaicismo suele ser clonal (Gleicher *et al.*, 2017).

Por otro lado, se incluyó en esta revisión la publicación de Cascales y colaboradores de 2023, en la que realizaron un metaanálisis de siete artículos sobre el mosaicismo embrionario y los factores asociados con el resultado. Encontraron una asociación positiva entre el resultado de mosaico y el día en el que se realizaba la biopsia de TE; describieron un mayor riesgo si se realizaba en día 6 o 7 vs. en día 5 (OR: 1,06; CI 95 %). Además describieron una razón de riesgo positiva (OR: 1,04; CI 95 %) con la edad paterna y materna (Cascales *et al.*, 2023).

La incorporación de embriones mosaicos en la práctica clínica ha planteado la cuestión fundamental de establecer los porcentajes de mosaicismo para clasificar a los embriones como de alto o bajo grado. El artículo revisado publicado en 2022 por Armstrong y colaboradores, describe un estudio en biopsias de trofoectodermo utilizando la plataforma NGS, utilizando el 40 % de mosaicismo como punto de corte. Encontraron que el 15 % del total de las biopsias eran mosaicos. Identificaron una diferencia estadísticamente significativa en el número de embriones euploides cuando los centros decidían enmascarar a los embriones mosaicos. Concluyeron que el informe y la transferencia de estos embriones deben ser personalizados, especialmente en pacientes con un número limitado de blastocistos (Armstrong *et al.*, 2022).

Respecto a los puntos de corte se incluyó en la revisión la publicación del 2023 de Girardi y colaboradores, en el que realizaron un estudio de cohorte para evaluar la precisión de diferentes puntos de corte para clasificar los blastocistos como mosaicos o aneuploides en biopsias de trofoectodermo. Observaron que cuando los criterios de mosaicismo se ampliaban entre 20-80 % el porcentaje de mosaicismo se duplica. Pero también concluyeron que el ser más estrictos con el punto de corte, aumentaba el riesgo de falsos positivos. Concluyeron que, para mejorar la sensibilidad del PGT-A mediante esta técnica, se requiere un punto de corte diagnóstico más estricto (30-70 %) para mejorar el valor predictivo de la prueba. También informaron resultados negativos cuando se transfieren embriones con mosaicos de alto grado (Girardi *et al.*, 2023).

En cuanto a los resultados perinatales de la transferencia de blastocistos catalogados como mosaicos, se revisaron cinco publicaciones.

La primera de ellas, de 2021, en la que Capalbo y colaboradores realizaron un estudio que analizó la transferencia de embriones con mosaicismo de bajo y moderado grado.

Clasificaron como "bajo grado" aquellos que tenían entre el 20 % y el 30 % de células aneuploides, y como "moderado" a los que presentaban entre el 30 % y el 50 % de células aneuploides. Es importante mencionar que utilizaron el 50 % como punto de corte para la definición de mosaicismo, un umbral ampliamente aceptado incluso en técnicas de diagnóstico genético preimplantacional (PGT-A) distintas al NGS. En este estudio, antes de la transferencia, ocultaron el resultado del PGT-A y encontraron que no había diferencias significativas en la tasa de recién nacidos vivos entre los blastocistos de bajo grado y grado moderado. Tampoco hallaron diferencias significativas entre los blastocistos euploides y los mosaicos (Capalbo *et al.*, 2021). Estos resultados destacan la importancia de no descartar los embriones con mosaicismo al considerar la transferencia.

En lo que respecta a la selección de blastocistos con mosaicismo, se incluyó un metaanálisis basado en 1.106 ciclos de transferencia de embriones únicos. Este metaanálisis comparó la tasa de implantación, la tasa de aborto y la tasa de embarazo y recién nacido vivo, utilizando el umbral del 50 % de mosaicismo como punto de corte. Los resultados revelaron una diferencia favorable en los resultados de embarazo y la tasa de recién nacido vivo en los blastocistos con solo un cromosoma involucrado en comparación con aquellos con tres o más cromosomas afectados, con un odds ratio (OR) de 1,76 (IC 95 %). Además, se observaron mejores resultados en los mosaicos de bajo grado, con una tasa de recién nacido vivo y un OR de 1,74 (IC 95 %) (Ma *et al.*, 2022).

Los resultados aún se encuentran limitados, sin embargo, los datos recopilados de la transferencias de 2.500 casos de embriones mosaicos que no tuvieron impacto en los resultados de la tasa de recién nacido vivo reportadas, son base para continuar con investigaciones (Treff and Marín, 2021).

En la misma línea de investigación, Viotti y colaboradores llevaron a cabo un estudio en 1.000 embriones mosaicos utilizando un rango del 20 al 80 %. Observaron mejores resultados en embriones catalogados como de bajo grado al tomar el 50 % de aneuploidía como punto de corte. Es relevante mencionar que también integraron criterios morfológicos para evaluar los resultados, lo que creó una herramienta de referencia para decidir si se debía o no realizar la transferencia del embrión mosaico, y esta información está disponible para la comunidad científica (Viotti *et al.*, 2021).

Recientemente, Abhari y Kawwass publicaron un informe sobre la transferencia de embriones mosaicos en el que describieron el nacimiento de 100 bebés sin anomalías fenotípicas, provenientes de embriones catalogados inicialmente como mosaicos (Abhari *et al.*, 2021).

En cuanto a las nuevas tecnologías, se incluyó el artículo de Chávez y colaboradores en el que evaluaron el uso de la tec-

nología de *time-lapse* en la práctica de la fertilización *in vitro* combinándola con los resultados del PGT-A para el análisis morfofocinético y la toma de decisiones, así como la creación de algoritmos predictivos de ploidía (Chávez *et al.*, 2012). Por otro lado, la publicación de 2019 de Lee *et al.*, describieron retrasos morfofocinéticos en embriones reportados como mosaicos de alto grado por NGS ($p=0,034$) después del ICSI, tanto en el período de tiempo necesario para alcanzar el estadio de día tres como en el de blastocisto (Lee *et al.*, 2019).

El otro artículo incluido fue el de 2021 de Martín y colaboradores, en el que realizaron un estudio comparativo de los cromosomas, morfología y características morfofocinéticas de blastocistos clasificados como euploides, aneuploides y mosaicos (bajo grado 30-50 %, alto grado 50-70 %). Concluyeron que los embriones mosaicos no encajan en las categorías morfofocinéticas de los embriones euploides o aneuploides, lo que podría generar diagnósticos falsos positivos (Martín *et al.*, 2021).

En 2022, Ortiz y colaboradores publicaron un estudio observacional retrospectivo en el American Journal of Obstetrics and Gynecology sobre 6.989 embriones con PGT-A. Catalogaron a los embriones como mosaicos cuando el porcentaje de líneas celulares con aneuploidia estaba entre el 25 % y el 50 %. Utilizaron dos modelos de *machine learning*: uno para predecir aneuploidías y otro para predecir mosaicos. Demostraron la importancia de establecer un protocolo que maximice la probabilidad de obtener un embrión euploide (Ortiz *et al.*, 2022). Con el propósito de orientar la toma de decisiones, las guías de práctica clínica de diversas sociedades han publicado sus directrices, se revisaron tanto la de la Sociedad Americana de Medicina Reproductiva (ASRM) como la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (ESHRE), y el estatuto de la Sociedad Internacional de Diagnóstico Genético Preimplantacional (PGDIS, por sus siglas en inglés).

Las primeras dos guías antes mencionadas recomiendan que los centros dispongan de un documento específico que guíe las acciones a seguir en casos de parejas con embriones de tipo mosaico. Ambas sociedades también sugieren priorizar la transferencia de blastocistos euploides sobre los mosaicos, a menos que no haya otra opción para transferirlos (Practice Committee and GCPG of ASRM, 2020; De Ryckey *et al.*, 2022).

La guía de la Sociedad Internacional de Diagnóstico Genético Preimplantacional (PGDIS, por sus siglas en inglés) en su estatuto se basó en la evidencia actual de los resultados perinatales informados por varios grupos (algunos mencionados previamente en esta revisión), la decisión debe ser individualizada, reconociendo que algunos embriones considerados euploides podrían resultar mosaicos en una segunda biopsia (Leigh *et al.*, 2022). En cuanto al umbral recomendado para clasificar a los embriones como mosaicos, la ESHRE recomienda el 50 % como parámetro (De Ryckey *et al.*, 2022).

Las tres sociedades enfatizan la necesidad de explicar a los pacientes de manera sencilla e ilustrativa la definición de embrión mosaico, además de informar acerca del alcance de las pruebas realizadas, las cuales se basan en un número limitado de células del trofoblasto embrionario que de ninguna manera representan la totalidad del blastocisto (Practice Committee and GCPG of ASRM, 2020; De Ryckey *et al.*, 2022, American College of Obstetricians and Gynecologists, 2020).

El Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos (ACOG, 2020) recomienda considerar la realización de un test prenatal no invasivo (Non-invasive prenatal testing, NIPT) en las primeras etapas del embarazo, aunque se debe tener en cuenta que solo puede evaluar un número determinado de cromosomas, lo que significa que hay segmentos que el PGT-A puede evaluar, pero que no son examinados por este tipo de test (American College of Obstetricians and Gynecologists, 2020).

Por este motivo, la PGDIS resalta la amniocentesis como una prueba con mayor sensibilidad, ya que evalúa una muestra más representativa del complemento cromosómico del feto (Leigh *et al.*, 2022).

En relación al manejo postnatal, la ASRM recomienda la evaluación del cariotipo en sangre periférica o microarreglos, especialmente en pacientes que optaron por no realizar el cribado prenatal. En caso de confirmarse alguna anomalía o presentarse un fenotipo específico, se debe derivar a los pacientes a un especialista (Practice Committee and GCPG of ASRM, 2020).

DISCUSIÓN

A pesar de que muchas técnicas diagnósticas han sido descritas con diversos porcentajes de sensibilidad para diferenciar entre los estados de euploidía y aneuploidía evidenciados por los altos porcentajes de embriones mosaicos al reanalizar blastocistos que ya habían sido catalogados como anormales por técnicas tan antiguas como el FISH, la plataforma NGS ha demostrado tener la mayor sensibilidad debido a su capacidad para detectar la mezcla de líneas celulares en un número menor de células.

Al abordar el diagnóstico de este tipo de embriones, es esencial tener en cuenta el riesgo de falsos positivos y negativos; así como tomar en cuenta la variabilidad de la técnica y la sensibilidad para detectar a los embriones mosaicos de bajo grado, ya que esto nos puede hacer caer en resultados falsos positivos y en descartar embriones con probabilidad de ser transferidos, sobre todo en pacientes que no cuentan con un gran número de opciones para su transferencia.

Dada la importancia de los puntos mencionados anteriormente, se hace evidente la necesidad de refinar las técnicas diagnósticas, incluyendo la determinación de la aneuploidía,

teniendo en cuenta el origen de la división celular. A pesar de que la plataforma NGS proporciona un análisis más completo de las anomalías cromosómicas, no es capaz de distinguir si el origen de dichas anomalías es meiótico o mitótico, lo que puede tener diferentes implicaciones clínicas.

Los hallazgos reportados por las series de casos actuales subrayan la posibilidad de que los embriones catalogados como mosaicos, especialmente aquellos con un grado de mosaicismo más bajo y menos cromosomas afectados, tengan la capacidad de resultar en un embarazo y en el nacimiento de un recién nacido. Sin embargo, es fundamental recordar que la decisión de transferir embriones mosaicos debe ser individualizada y discutida con el equipo médico del centro, ya que varios factores pueden influir en el éxito de la transferencia.

Tras revisar la evidencia, podemos concluir que un punto de corte de menos del 50 % de células aneuploides para mosaicos de bajo grado acorde con la directriz de la ESHRE es un criterio viable para establecer la posibilidad de transferir un blastocisto mosaico, aunque es importante destacar que puntos de corte más estrictos podrían ser establecidos en futuras investigaciones.

Tanto las guías americanas como europeas convergen en la recomendación de considerar la transferencia de este tipo de embriones como una opción para pacientes que no cuentan con blastocistos euploides como primera elección. En conclusión, los avances en las técnicas de diagnóstico actuales para el Diagnóstico Genético Preimplantacional (PGT-A) han ampliado el espectro de embriones transferibles más allá de los exclusivamente euploides, considerando ahora también los mosaicos de bajo grado. Al recomendar la transferencia de estos embriones, es crucial tener en cuenta las limitaciones de estas técnicas para poder informar adecuadamente a los pacientes sobre las posibles complicaciones que podrían surgir a raíz de la decisión tomada. Además, se debe establecer la técnica diagnóstica que se utilizará en cada centro basada en la evidencia de la sensibilidad de cada una de ellas. Queda pendiente realizar futuras investigaciones para establecer algoritmos matemáticos predictivos de los estados de euploidía de los embriones mucho más precisos.

En el contexto mexicano, es relevante destacar que no existen guías o estatutos publicados que orienten la práctica diaria en técnicas de reproducción asistida. Por lo tanto, sería valioso que los centros que realizan PGT-A y consideran la transferencia de embriones mosaicos, mantengan un registro de los resultados de las transferencias, tasas de aborto y tasas de embarazo/recién nacido vivo, con el objetivo de contribuir a la recopilación de datos a nivel nacional que enriquecerán la estadística mundial y proporcionarán una base sólida para futuras investigaciones y la toma de decisiones clínicas informadas.

TABLAS Y GRÁFICAS

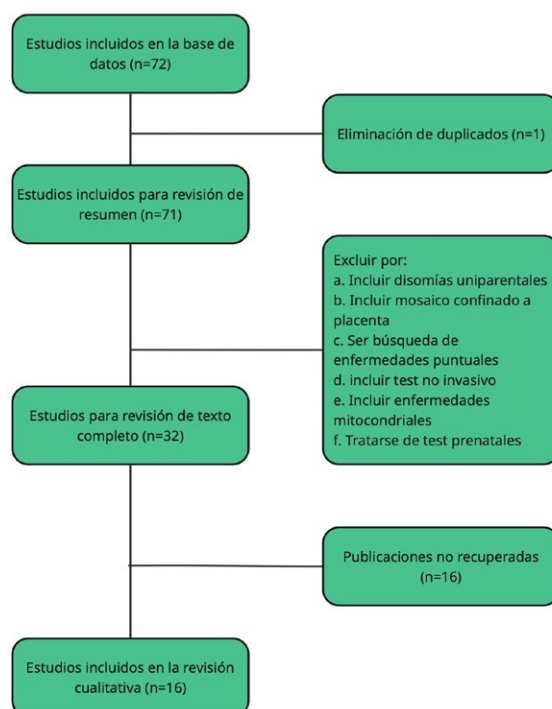


FIGURA 1. Algoritmo de selección de artículos incluidos en revisión bibliográfica. Diagrama que describe el algoritmo utilizado para la búsqueda y selección de los artículos que se incluyeron en la revisión bibliográfica. Describe el número total de artículos encontrados en la primera búsqueda, y aquellos incluidos tras la aplicación de los criterios de exclusión.

Publicación	No. de blastos	Técnica diagnóstica	% de embriones mosaicos
van Echten-Arends et al. 2011	n=815 (n=730, n=85)	FISH, CGH	60%, 50%
Capalbo et al. 2013	n=70	FISH	20%
Fragouli et al. 2011	n=50	FISH/CGH y aCGH/FISH	30%
Min Xiao et al. 2021	n=6000 (n=769, n=744)	NGS, SNP array	23.3%, 7.7%
Huang et al. 2017	n=51	NGS	18.62%

Tabla I. Comparativo de técnicas diagnósticas y porcentaje de embriones mosaicos reportados. Porcentaje de embriones mosaicos reportado en distintos estudios en función de la técnica de diagnóstico genético preimplantacional empleada. Las diferencias observadas entre plataformas (FISH, CGH, aCGH, NGS, SNP array) reflejan la variabilidad en la capacidad de detección del mosaicismo embrionario según la resolución y precisión de cada metodología.

BIBLIOGRAFÍA

- Abhari S, Kawwass JF. Pregnancy and neonatal outcomes after transfer of mosaic embryos: a review. *J Clin Med*. 2021;10(7):1369.
- American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG practice bulletin No. 226. Screening for fetal chromosomal abnormalities. *Obstet Gynecol*. 2020;136(4):e48-69.
- Armstrong A, Miller J, Quinn M, Nguyen AV, Kwan L, Kroener L. To mask or not to mask mosaicism? The impact of reporting embryo mosaicism on reproductive potential. *J Assist Reprod Genet*. 2022;39(9):2035-42.
- Capalbo A, Poli M, Rienzi L, Girardi L, Patassini C, Fabiani M, *et al*. Mosaic human preimplantation embryos and their developmental potential in a prospective, non-selection clinical trial. *Am J Hum Genet*. 2021;108(12):2238-47.
- Capalbo A, Wright G, Elliott T, Ubaldi FM, Rienzi L, Nagy ZP. FISH reanalysis of inner cell mass and trophectoderm samples of previously array-CGH screened blastocysts shows high accuracy of diagnosis and no major diagnostic impact of mosaicism at the blastocyst stage. *Hum Reprod*. 2013;28(8):2298-307.
- Cascales A, Morales R, Castro A, Ortiz JA, Lledó B, Ten J, *et al*. Factors associated with embryo mosaicism: a systematic review and meta-analysis. *J Assist Reprod Genet*. 2023;40(10):2317-24.
- Chavez SL, Loewke KE, Han J, Moussavi F, Colls P, Munné S, *et al*. Dynamic blastomere behaviour reflects human embryo ploidy by the four-cell stage. *Nat Commun*. 2012;3:1251.
- Controversies in Preconception, Preimplantation and Prenatal Genetic Diagnosis (CoGEN). Position statement on chromosomal mosaicism detected in preimplantation blastocyst biopsies. IVF Worldwide Virtual Academy of Genetics. 2016.
- Coonen E, Derhaag JG, Dumoulin JC, Van Wissen LC, Bras M, Janssen M, *et al*. Anaphase lagging mainly explains chromosomal mosaicism in human preimplantation embryos. *Hum Reprod*. 2004;19(2):316-24.
- Delhanty JD, Griffin DK, Handyside AH, Harper J, Atkinson GH, Pieters MH, *et al*. Detection of aneuploidy and chromosomal mosaicism in human embryos during preimplantation sex determination by fluorescent *in situ* hybridisation (FISH). *Hum Mol Genet*. 1993;2(8):1183-5.
- Eggenhuizen GM, Go A, Koster MPH, Baart EB, Galjaard RJ. Confined placental mosaicism and the association with pregnancy outcome and fetal growth: a review of the literature. *Hum Reprod Update*. 2021;27(5):885-903.
- Engel E. A fascination with chromosome rescue in uniparental disomy: Mendelian recessive outlaws and imprinting copyrights infringements. *Eur J Hum Genet*. 2006;14(10):1158-69.
- ESHRE Working Group on Chromosomal Mosaicism, De Rycke M, Capalbo A, Coonen E, Cotichio G, Fiorentino F, *et al*. ESHRE survey results and good practice recommendations on managing chromosomal mosaicism. *Hum Reprod Open*. 2022;2022(4):hoac044.
- Evsikov S, Verlinsky Y. Mosaicism in the inner cell mass of human blastocysts. *Hum Reprod*. 1998;13(11):3151-5.
- Fragouli E, Alfarawati S, Daphnis DD, Goodall NN, Mania A, Griffiths T, *et al*. Cytogenetic analysis of human blastocysts with the use of FISH, CGH and aCGH: scientific data and technical evaluation. *Hum Reprod*. 2011;26(2):480-90.
- Girardi L, Figliuzzi M, Poli M, Serdarogullari M, Patassini C, Caroselli S, *et al*. The use of copy number loads to designate mosaicism in blastocyst stage PGT-A cycles: fewer is better. *Hum Reprod*. 2023;38(5):982-91.
- Gleicher N, Metzger J, Croft G, Kushnir VA, Albertini DF, Barad DH. A single trophectoderm biopsy at blastocyst stage is mathematically unable to determine embryo ploidy accurately enough for clinical use. *Reprod Biol Endocrinol*. 2017;15(1):33.
- Gleicher N, Vidali A, Braverman J, Kushnir VA, Barad DH, Hudson C, *et al*. Accuracy of preimplantation genetic screening (PGS) is compromised by degree of mosaicism of human embryos. *Reprod Biol Endocrinol*. 2016;14(1):54.
- Goodrich D, Tao X, Bohrer C, Lonczak A, Xing T, Zimmerman R, *et al*. A randomized and blinded comparison of qPCR and NGS-based detection of aneuploidy in a cell line mixture model of blastocyst biopsy mosaicism. *J Assist Reprod Genet*. 2016;33(11):1473-80.
- Greco E, Minasi MG, Fiorentino F. Healthy babies after intrauterine transfer of mosaic aneuploid blastocysts. *N Engl J Med*. 2015;373(21):2089-90.
- Hassold T, Hunt P. To err (meiotically) is human: the genesis of human aneuploidy. *Nat Rev Genet*. 2001;2(4):280-91.
- Huang J, Yan L, Lu S, Zhao N, Qiao J. Re-analysis of aneuploidy blastocysts with an inner cell mass and different regional trophectoderm cells. *J Assist Reprod Genet*. 2017;34(4):487-93.
- Kalousek DK. Pathogenesis of chromosomal mosaicism and its effect on early human development. *Am J Med Genet*. 2000;91(1):39-45.
- Lee CI, Chen CH, Huang CC, Cheng EH, Chen HH, Ho ST, *et al*. Embryo morphokinetics is potentially associated with clinical outcomes of single-embryo transfers in preimplantation genetic testing for aneuploidy cycles. *Reprod Biomed Online*. 2019;39(4):569-79.

AULA JOVEN

Perspectivas contemporáneas sobre mosaicos embrionarios: diagnóstico preciso, desenlaces perinatales y recomendaciones clínicas

- Leigh D, Cram DS, Rechitsky S, Handyside A, Wells D, Munné S, *et al*. PGDIS position statement on the transfer of mosaic embryos 2021. *Reprod Biomed Online*. 2022;45(1):19-25.
- Ma Y, Liu LW, Liu Y, Shi G, Ai X, Hou W, *et al*. Which type of chromosomal mosaicism is compatible for embryo transfer: a systematical review and meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet*. 2022;306(6):1901-11.
- Marin D, Xu J, Treff NR. Preimplantation genetic testing for aneuploidy: a review of published blastocyst reanalysis concordance data. *Prenat Diagn*. 2021;41(5):545-53.
- Martín Á, Rodrigo L, Beltrán D, Meseguer M, Rubio C, Mercader A, *et al*. The morphokinetic signature of mosaic embryos: evidence in support of their own genetic identity. *Fertil Steril*. 2021;116(1):165-73.
- McCoy RC, Demko ZP, Ryan A, Banjevic M, Hill M, Sigurjonsson S, *et al*. Evidence of selection against complex mitotic-origin aneuploidy during preimplantation development. *PLoS Genet*. 2015;11(6):e1005601.
- Mertzaniou A, Wilton L, Cheng J, Spits C, Vanneste E, Moreau Y, *et al*. Microarray analysis reveals abnormal chromosomal complements in over 70% of 14 normally developing human embryos. *Hum Reprod*. 2013;28(1):256-64.
- Munné S, Kaplan B, Frattarelli JL, Child T, Nakhuda G, Shamma FN, *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(6):1071-9.e7.
- Munné S, Wells D. Detection of mosaicism at blastocyst stage with the use of high-resolution next-generation sequencing. *Fertil Steril*. 2017;107(5):1085-91.
- Ortiz JA, Morales R, Lledó B, Vicente JA, González J, García-Hernández EM, *et al*. Application of machine learning to predict aneuploidy and mosaicism in embryos from in vitro fertilization cycles. *AJOG Glob Rep*. 2022;2(4):100103.
- Popovic M, Dhaenens L, Taelman J, Dheedene A, Bialecka M, De Sutter P, *et al*. 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):758-69.
- Practice Committee and Genetic Counseling Professional Group of the American Society for Reproductive Medicine. Clinical management of mosaic results from preimplantation genetic testing for aneuploidy (PGT-A) of blastocysts: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2020;114(2):246-54.
- Taylor TH, Gitlin SA, Patrick JL, Crain JL, Wilson JM, Griffin DK. The origin, mechanisms, incidence and clinical consequences of chromosomal mosaicism in humans. *Hum Reprod Update*. 2014;20(4):571-81.
- Treff NR, Marin D. The "mosaic" embryo: misconceptions and misinterpretations in preimplantation genetic testing for aneuploidy. *Fertil Steril*. 2021;116(5):1205-11.
- Van Echten-Arends J, Mastenbroek S, Sikkema-Raddatz B, Korevaar JC, Heineman MJ, Van der Veen F, *et al*. Chromosomal mosaicism in human preimplantation embryos: a systematic review. *Hum Reprod Update*. 2011;17(5):620-7.
- Vazquez-Diez C, FitzHarris G. Causes and consequences of chromosome segregation error in preimplantation embryos. *Reproduction*. 2018;155(1):R63-76.
- Victor AR, Tyndall JC, Brake AJ, Lepkowsky LT, Murphy AE, Griffin DK, *et al*. One hundred mosaic embryos transferred prospectively in a single clinic: exploring when and why they result in healthy pregnancies. *Fertil Steril*. 2019;111(2):280-93.
- Viotti M, McCoy RC, Griffin DK, Spinella F, Greco E, Madjunkov M, *et al*. Let the data do the talking: the need to consider mosaicism during embryo selection. *Fertil Steril*. 2021;116(5):1212-9.
- Xiao M, Lei CX, Xi YP, Lu YL, Wu JP, Li XY, *et al*. Next-generation sequencing is more efficient at detecting mosaic embryos and improving pregnancy outcomes than single-nucleotide polymorphism array analysis. *J Mol Diagn*. 2021;23(6):710-8.
- Yurov TB, Iourov IU, Vorsanova SG, Liehr T, Kolotii AD, Kutsev SI, *et al*. Aneuploidy and confined chromosomal mosaicism in the developing human brain. *PLoS One*. 2007;6(2):e126.
- Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Dyer S, Racowsky C, de Mouzon J, Sokol R, *et al*. The international glossary on infertility and fertility care, 2017. *Hum Reprod*. 2017;32(9):1786-801.

APLICACIÓN DE VESÍCULAS EXTRACELULARES EN LA MEJORA DE LOS TRATAMIENTOS DE REPRODUCCIÓN ASISTIDA: POTENCIAL, MECANISMOS Y PERSPECTIVAS CLÍNICAS

THE USE OF EXTRACELLULAR VESICLES TO ENHANCE ASSISTED REPRODUCTION TREATMENTS: POTENTIAL, MECHANISMS, AND CLINICAL PERSPECTIVES

Autora: *Nerea Ventosa Coba*, nereaven8@gmail.com

Tutor: *David Agudo Garcillán*

Co-tutora: *Paloma Carmen Santos Moriano*

Universidad Europea de Madrid

► RESUMEN

La reproducción humana depende de una comunicación celular precisa que regula procesos como la gametogénesis, la fecundación, la implantación y el desarrollo embrionario. Sin embargo, las limitaciones de las técnicas de reproducción asistida, unidas a la elevada prevalencia de infertilidad, impulsan la búsqueda de nuevas estrategias que optimicen los resultados clínicos. En este marco, las EV se perfilan como elementos decisivos, dada su capacidad para mediar en la señalización intercelular y modular el microambiente reproductivo. Este trabajo revisa críticamente la literatura científica sobre la biología, los mecanismos de acción y las aplicaciones de las EV en reproducción.

Se abordan sus características generales, su contenido molecular y los procesos de captación por células diana, así como su implicación en funciones fisiológicas y patológicas. En el ámbito reproductivo, las EV procedentes del embrión, el oviducto, el endometrio, el ambiente folicular y la placenta han mostrado roles esenciales en la maduración ovocitaria, la interacción embrión-endometrio, la implantación y el mantenimiento de la gestación. Asimismo, se analiza su potencial como biomarcadores no invasivos de fertilidad, calidad ovocitaria, embrionaria y placentaria, así como en la detección de patologías reproductivas y complicaciones gestacionales. En paralelo, se discuten las aplicaciones terapéuticas emergentes, entre ellas la reparación endometrial, el rejuvenecimiento ovárico, el tratamiento de la insuficiencia ovárica prematura y la suplementación de cultivos embrionarios. Pese a sus prometedoras aplicaciones, persisten limitaciones relacionadas con la heterogeneidad metodológica, la falta de estandarización en el aislamiento y caracterización de EV y la necesidad de validar hallazgos en modelos humanos. Superar estos retos permitirá consolidar su uso clínico a través de herramientas diagnósticas y terapéuticas innovadoras, con capacidad para mejorar la eficiencia y seguridad de los tratamientos de reproducción asistida.

Palabras clave: vesículas extracelulares, exosomas, biomarcadores, reproducción, fecundación, implantación del embrión, desarrollo embrionario, endometrio, placenta, fertilidad.

► ABSTRACT

Human reproduction relies on precise cellular communication that regulates processes such as gametogenesis, fertilization, implantation, and embryonic development. However, the limitations of assisted reproductive technologies, combined with the high prevalence of infertility, drive the search for novel strategies to optimize clinical outcomes. In this context, EV have emerged as key mediators due to their ability to facilitate intercellular signaling and modulate the reproductive microenvironment. This work provides a critical review of the scientific literature on biology, mechanisms of action, and applications of EV in reproduction. Their general characteristics, molecular cargo, and uptake by target cells are discussed, alongside their roles in both physiological and pathological processes. In the reproductive setting, EV derived from the embryo, oviduct, endometrium, follicular environment, and placenta have demonstrated essential functions in oocyte maturation, embryo-endometrium interaction, implantation, and the maintenance of pregnancy.

Moreover, their potential as non-invasive biomarkers of fertility, oocyte, embryo, and placental quality, as well as their use in detecting reproductive disorders and gestational complications, is examined. Concurrently, emerging therapeutic applications, including endometrial repair, ovarian rejuvenation, treatment of premature ovarian insufficiency, and supplementation of embryonic culture media are discussed. Despite their promising potential, challenges remain related to methodological heterogeneity, lack of standardized EV isolation and characterization protocols, and the need for validation in human models. Addressing these limitations will be crucial to establishing EV as innovative diagnostic and therapeutic tools capable of improving the efficacy and safety of assisted reproductive treatments.

Keywords: extracellular vesicles, exosomes, biomarkers, reproduction, fertilization, embryo implantation, embryonic development, endometrium, placenta, fertility.

1. INTRODUCCIÓN

La reproducción humana constituye un proceso altamente regulado que depende de una comunicación celular precisa y eficiente para garantizar su éxito. La comunicación intercelular es un proceso esencial en la fisiología reproductiva. Las células que conforman los tejidos y estructuras del sistema reproductor interactúan constantemente entre sí, mediante mecanismos de señalización endocrina, paracrina y autocrina (Ávila *et al.*, 2019). Esta interacción coordinada es clave para el desarrollo de los gametos, la fecundación, la implantación y la consolidación del embarazo (Machtinger *et al.*, 2016).

Sin embargo, diversos factores pueden alterar estos mecanismos de comunicación, afectando directamente la fertilidad. Tanto es así que, según estimaciones combinadas de los últimos 25 años, la prevalencia de infertilidad durante la vida y en un período de 12 meses es del 17,5 % y 12,6 %, respectivamente (Cox *et al.*, 2022). Esta considerable proporción de personas que enfrentan infertilidad a nivel mundial se suma a las limitaciones de los tratamientos de reproducción asistida (ART), los cuales aún presentan bajas tasas de éxito por ciclo y riesgos asociados para la salud del embrión y del recién nacido vivo (LNB). Se ha observado que el entorno *in vitro* puede afectar negativamente a la calidad de los gametos y embriones, modificando su expresión génica y su estructura celular (Ávila *et al.*, 2019).

Por ello, resulta fundamental comprender en profundidad los mecanismos celulares y moleculares que regulan la reproducción, especialmente aquellos relacionados con la comunicación intercelular, para optimizar las condiciones de cultivo y mejorar los resultados clínicos. En este contexto, las vesículas extracelulares (EV) han emergido como herramientas prometedoras, tanto por su papel en la fisiología reproductiva como por su potencial como biomarcadores y agentes terapéuticos (Capra and Lange-Consiglio, 2020).

Estas vesículas son estructuras membranosas liberadas por células de distintos orígenes, capaces de transportar y transferir moléculas biológicamente activas como proteínas, lípidos y ácidos nucleicos a células diana. Existen diferentes tipos de EV, según su tamaño, contenido y mecanismo de biogénesis (El Andaloussi *et al.*, 2013).

Los **exosomas** se generan dentro de la red endosomal, formándose como vesículas intraluminales (ILV) en los cuerpos multivesiculares (MVB), que se fusionan con lisosomas para degradar su contenido o con la membrana plasmática para liberarlo al espacio extracelular (Akers *et al.*, 2013; Yu *et al.*, 2024). Este proceso permite que ciertos lípidos y proteínas sean degradados, mientras que otros son reciclados o secretados al exterior celular mediante exocitosis (Akers *et al.*, 2013).

AULA JOVEN

Aplicación de vesículas extracelulares en la mejora de los tratamientos de reproducción asistida: potencial, mecanismos y perspectivas clínicas

La biogénesis depende de la coordinación de múltiples rutas y puede seguir una vía dependiente del complejo ESCRT (Endosomal Sorting Complex Required for Transport) o una vía independiente mediada por tetraspaninas como CD9, CD63 y CD81 que regulan la selección y el empaquetamiento de su contenido. Además, proteínas como Alix, TSG101, RAB27 y componentes SNARE regulan su secreción (Yu *et al.*, 2024).

Por el contrario, las **microvesículas** (MV) se forman por gemación y desprendimiento desde la membrana plasmática. La formación de las MV implica la reorganización del citoesqueleto de actina-miosina, la redistribución de fosfolípidos como la fosfatidilserina hacia la cara externa de la membrana, y la acción de proteínas como ARF6 y complejos ESCRT-III, que facilitan su escisión final. Estas vesículas también incorporan selectivamente proteínas transmembrana, RNA y otras moléculas funcionales. Durante la nucleación, las proteínas con modificaciones de anclaje lipídico se acumulan en el lumen para iniciar la formación de la curvatura de la membrana destinada a la gemación (Akers *et al.*, 2013; Yu *et al.*, 2024).

Por su parte, los **cuerpos apoptóticos** se liberan durante la apoptosis en forma de vesículas celulares (Yu *et al.*, 2024). Contienen fragmentos de DNA, histonas, orgánulos y restos celulares encapsulados, y aunque se consideraron durante mucho tiempo como residuos inertes, actualmente se reconoce su participación en la modulación inmune y la comunicación intercelular (Akers *et al.*, 2013; Yu *et al.*, 2024).

El interés por estas vesículas ha aumentado exponencialmente en biomedicina, y especialmente en el ámbito de la reproducción, donde han sido identificadas en múltiples fluidos clave: el líquido folicular, el fluido oviductal, el endometrio, la placenta, el medio de cultivo embrionario y el líquido amniótico (Yáñez-Mó *et al.*, 2015). Su implicación en la maduración ovocitaria, la interacción embrión-endometrio, la implantación y la remodelación del ambiente uterino las convierte en candidatas ideales para optimizar las ART (Ávila *et al.*, 2019).

A pesar del creciente interés por las EV en el ámbito de la medicina reproductiva, la mayoría de los estudios disponibles se centran en aspectos específicos, sin ofrecer una visión global de su potencial clínico. En este contexto, resulta necesario revisar de forma crítica la literatura científica para integrar los hallazgos recientes, identificar sus aplicaciones más prometedoras y delimitar las principales limitaciones que aún impiden su implementación clínica.

Con este fin, el presente trabajo tiene como objetivo explorar el potencial de las EV en el campo de la reproducción asistida, abordando su biología, mecanismos de acción y aplicaciones emergentes, con especial énfasis en su papel como moduladoras del microambiente reproductivo y como posibles biomarcadores pronósticos de éxito reproductivo.

2. OBJETIVOS

- Objetivo general
 - Analizar el potencial de las vesículas extracelulares en la mejora de los tratamientos de reproducción asistida.
- Objetivos específicos:
 - Describir el papel de las EV en el microambiente reproductivo materno natural.
 - Evaluar la evidencia experimental sobre su uso en cultivos ovocitarios y embrionarios.
 - Identificar los retos actuales en su aplicación clínica.
 - Proponer futuras líneas de investigación.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se desarrolló como una revisión bibliográfica narrativa centrada en el papel de las EV en los procesos reproductivos y en su relevancia durante la comunicación embrión-endometrio y la implantación. La búsqueda bibliográfica se llevó a cabo entre abril y julio de 2025 en bases de datos de referencia como PubMed, ScienceDirect, SpringerLink y Wiley Online Library, aunque la mayor parte de los artículos seleccionados procedieron de PubMed y ScienceDirect.

Para la estrategia de búsqueda se emplearon combinaciones de términos en inglés utilizando conectores booleanos. Los descriptores principales fueron *extracellular vesicles*, *exosomes* y *microvesicles*, que se combinaron con conceptos relacionados con la reproducción mediante la expresión AND, generando ecuaciones como *extracellular vesicles AND embryo*, *extracellular vesicles AND implantation*, *extracellular vesicles AND gamete* o *extracellular vesicles AND reproduction*.

Asimismo, se añadieron términos como *role*, *function*, *biogenesis* o *mechanisms* para ampliar la búsqueda, y se empleó el conector OR para englobar sinónimos o términos equivalentes, como en (*extracellular vesicles OR exosomes OR microvesicles*) AND *reproduction*.

Tras la aplicación de criterios de inclusión y exclusión, priorizando artículos originales, revisiones narrativas y sistemáticas, así como guías internacionales como las MISEV (2014, 2018, 2023), se recuperó un conjunto de alrededor de 50 trabajos, de los cuales se seleccionaron 25, en consonancia con la normativa del programa de máster que establece un límite máximo de referencias.

La gestión y organización de las referencias se realizó mediante el programa Zotero, lo que permitió clasificar la bibliografía por temáticas y aplicar de manera uniforme el estilo de citación requerido.

Posteriormente, se efectuó una lectura crítica y se sintetizó la información en función de los objetivos del trabajo, organizando el análisis en torno a los aspectos fundamentales de las

AULA JOVEN

Aplicación de vesículas extracelulares en la mejora de los tratamientos de reproducción asistida: potencial, mecanismos y perspectivas clínicas

EV: su definición y características, contenido molecular, mecanismos de acción, papel en el microambiente reproductivo, potencial como biomarcadores y posibles aplicaciones terapéuticas.

4. RESULTADOS

4.1. DEFINICIÓN Y CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS EV

Las EV se definen como partículas nanométricas liberadas por las células, delimitadas por una bicapa lipídica, que carecen de un núcleo funcional y, por tanto, no pueden replicarse por sí mismas (Welsh *et al.*, 2024). Actúan como vehículos de transporte intercelular de material genético, lípidos y proteínas, y participan en numerosos procesos fisiológicos. Además de su función en la comunicación celular, las EV presentan una gran heterogeneidad en cuanto a su origen, tamaño, composición y mecanismos de secreción (Kurian and Modi, 2019; Van Niel *et al.*, 2018).

Según las directrices establecidas por la International Society for Extracellular Vesicles (ISEV), se recomienda utilizar el término genérico "EV" para referirse a estas vesículas, ya que resulta difícil atribuir con certeza una vía de biogénesis concreta a cada subtipo. No obstante, se fomenta el uso de términos operativos complementarios que describen características físicas (como el tamaño o la densidad), bioquímicas (como la presencia de proteínas específicas) o funcionales (Zhang *et al.*, 2024).

Esta clasificación, sin embargo, presenta limitaciones. A lo largo de las últimas décadas se han propuesto múltiples subtipos de EV en función de su origen celular o de funciones específicas, como prostasomas (vesículas derivadas de células prostáticas), sinaptosomas (procedentes de neuronas), oncosomas (liberadas por células tumorales) o cardiosomas (de cardiomiocitos); aunque su utilidad suele estar restringida a contextos muy específicos. En cambio, los términos más ampliamente aceptados en la literatura científica son exosomas, microvesículas y cuerpos apoptóticos, que se diferencian principalmente por su vía de biogénesis (figura 1).

Sin embargo, el solapamiento en el tamaño (exosomas: 40–120 nm; microvesículas: 50–1000 nm; cuerpos apoptóticos: 500–2000 nm), junto con la ausencia de marcadores moleculares exclusivos, dificulta su distinción inequívoca (Chen and Yang, 2024). Esta falta de criterios universales complica la estandarización y continúa siendo motivo de debate dentro de la comunidad científica.

A pesar de ello, y con fines prácticos, la mayoría de los estudios clasifican actualmente a las EV en tres categorías principales, basadas en su mecanismo de biogénesis: exosomas, microvesículas y cuerpos apoptóticos.

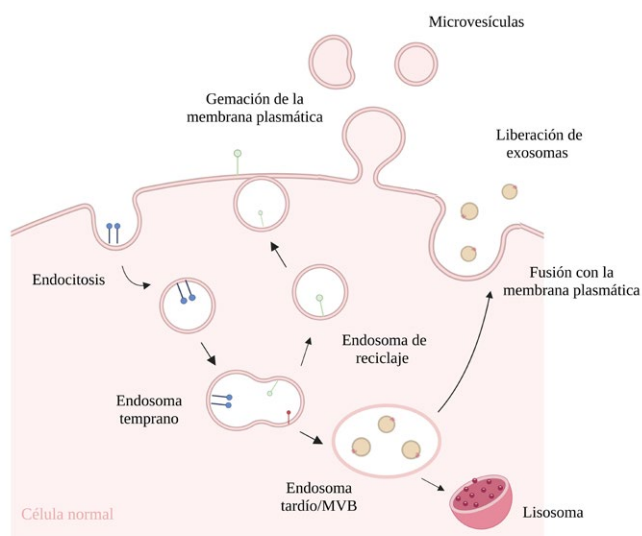


Figura 1. Vía de biogénesis de exosomas y microvesículas. Los exosomas se forman mediante la red endosomal, mientras que las microvesículas geman de la membrana plasmática. Modificada de (Akers *et al.*, 2013).

4.2. CONTENIDO MOLECULAR

El contenido de las vesículas extracelulares incluye lípidos, ácidos nucleicos y proteínas que provienen de las células donantes, es decir, las células que las generan y liberan. Este material molecular transportado refleja el estado y las características funcionales de la célula origen, lo que confiere a las vesículas un papel importante en la comunicación intercelular y en la transferencia de información biológica (figura 2) (Zaborowski *et al.*, 2015).

En cuanto a los **lípidos**, las EV presentan una bicapa lipídica similar a la membrana plasmática celular, aunque con ciertas particularidades que reflejan su biogénesis y contribuyen a su estabilidad estructural. Por ejemplo, los exosomas suelen estar enriquecidos en esfingomielina, colesterol, gangliósidos y fosfatidilserina en la cara externa de la membrana, lo que puede facilitar su reconocimiento e internalización por las células receptoras (Zaborowski *et al.*, 2015).

Los **ácidos nucleicos** presentes en las EV incluyen principalmente distintos tipos de RNA y DNA. En cuanto al RNA, es predominantemente de tamaño corto (menos de 200 nucleótidos) como miRNA, y se encuentran otros como tRNA, lncRNA y mRNA.

La composición y cantidad de RNA varía según la célula de origen, y en algunos casos, el perfil transcriptómico de las EV es distinto al de la célula que las produce, lo que sugiere mecanismos selectivos para el empaquetamiento de ciertos RNA, regulados por motivos de secuencia y modificaciones postranscripcionales.

AULA JOVEN

Aplicación de vesículas extracelulares en la mejora de los tratamientos de reproducción asistida: potencial, mecanismos y perspectivas clínicas

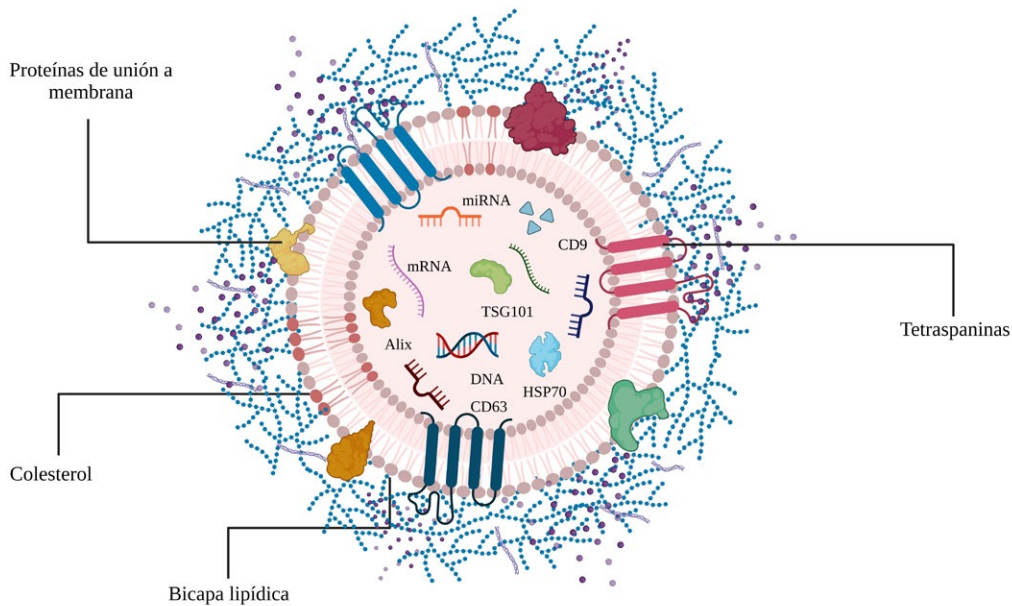


Figura 2. Morfología típica de una EV. Las EV son partículas nanométricas rodeadas por una membrana. Estas EV contienen diversas biomoléculas en su interior, otras unidas a su membrana y algunas asociadas de manera laxa en forma de corona. Modificada de (Fazeli and Godakumara, 2024).

Además, se ha demostrado que este RNA puede ser funcional en las células receptoras, ya que los mRNA poliadenilados pueden ser traducidos y los miRNA pueden regular la expresión génica, evidenciando un papel activo de las EV en la comunicación intercelular tanto a nivel local como sistémico (Zaborowski *et al.*, 2015).

El **DNA** transportado por las EV varía en tamaño desde 100 pb hasta 2,5 kb. Este DNA refleja secuencias genómicas completas y puede contener mutaciones propias de la célula origen, incluyendo aquellas relacionadas con procesos patológicos como el cáncer (por ejemplo, en genes como BRAF, EGFR, KRAS o p53). A pesar de que la presencia de DNA en las EV está bien establecida, su función biológica aún no está completamente clara (Zaborowski *et al.*, 2015).

La **composición proteica** de las EV en algunos casos está relacionada con el tipo celular y el modo de biogénesis. Los exosomas están enriquecidos en moléculas como el complejo mayor de histocompatibilidad de clase II (MHC II) y diversas tetraspaninas (CD37, CD53, CD63, CD81, CD82, CD9).

También contienen proteínas del complejo ESCRT, junto con proteínas accesorias como Alix y TSG101, así como chaperonas (Hsc70, Hsp90), presentes independientemente del tipo celular. En general, los exosomas muestran un mayor contenido en glicoproteínas y proteínas transmembrana (Zaborowski *et al.*, 2015).

Debido a su origen en la membrana plasmática, las MV presentan proteínas como integrinas, GPIb y P-selectina, además de modificaciones postraduccionales (glicoproteínas y fosfoproteínas). También pueden incorporar la GTPasa ARF6, implicada en la liberación de oncosomas. Por su parte, los cuerpos apoptóticos contienen histonas y una menor proporción de glicoproteínas (Zaborowski *et al.*, 2015).

Muchas de las proteínas mencionadas, especialmente MHC II, tetraspaninas, proteínas ESCRT, Alix, TSG101 y chaperonas, se encuentran comúnmente en EV, independientemente del tipo celular, por lo que se consideran marcadores generales de EV. La composición proteica de los diferentes subtipos de EV muestra un solapamiento considerable, aunque algunas proteínas están más enriquecidas en ciertos subtipos. No está claro si este solapamiento se debe en parte a las técnicas de aislamiento, que actualmente no permiten una separación completa entre subtipos de EV y agregados proteicos (Zaborowski *et al.*, 2015).

4.3. CAPTACIÓN E INTERNALIZACIÓN DE LAS EV

Las EV desempeñan un papel fundamental en la comunicación intercelular, facilitando el intercambio de información entre células. Una vez internalizadas por las células receptoras a través de distintos mecanismos, las EV pueden inducir alteraciones en sus características biológicas y funcionales.

Esta internalización puede activar rutas de señalización intracelular mediante interacciones específicas entre ligandos presentes en la superficie de las EV y receptores celulares, lo que permite la transferencia de su contenido molecular. Como consecuencia, se pueden producir cambios en la expresión génica y en la actividad de señalización, que a su vez pueden desencadenar modificaciones fenotípicas asociadas con el inicio y la progresión de diversas patologías (Yu *et al.*, 2024).

Los mecanismos de captación de EV por las células receptoras varían en función del tipo de vesícula y del contexto celular. En términos generales, se han descrito tres vías principales: la fusión directa con la membrana plasmática, la endocitosis dependiente de clatrina y la endocitosis independiente de clatrina, que abarca procesos como la pinocitosis y la fagocitosis. Además, factores como las balsas lipídicas y determinadas interacciones proteína-proteína también han demostrado influir en la eficiencia y especificidad de este proceso (Yu *et al.*, 2024).

4.4. FUNCIONES Y RELEVANCIA BIOMÉDICA

Una de las principales formas de comunicación intercelular en los distintos tejidos del organismo humano es la secreción de EV hacia los fluidos corporales circundantes. Estas vesículas han sido identificadas y aisladas en una amplia variedad de medios, como el líquido cefalorraquídeo, la saliva, el líquido broncoalveolar, el fluido sinovial, la bilis, la sangre, la orina y las heces. En el contexto reproductivo, las EV también se han encontrado en el plasma seminal en hombres, así como en la leche materna, el líquido amniótico y el fluido uterino en mujeres (Yáñez-Mó *et al.*, 2015).

Actúan mediante la activación de receptores de membrana, fusión con células diana y liberación de su contenido intracelular, que puede incluir mRNA, miRNA, ncRNA y factores de transcripción (El Andaloussi *et al.*, 2013). Participan en procesos como mantenimiento de células madre, reparación tisular, coagulación y regulación inmunitaria. Dependiendo del contexto celular, pueden promover la activación de células B, células NK, monocitos o células madre hematopoyéticas, o bien favorecer mecanismos de tolerancia inmunológica mediante la potenciación de células T reguladoras o la inhibición de la maduración de células dendríticas (El Andaloussi *et al.*, 2013).

En el sistema nervioso, las EV pueden contribuir a la plasticidad sináptica y la comunicación neuronal (El Andaloussi *et al.*, 2013). Además, pueden inducir cambios en el fenotipo celular y favorecer la regeneración tisular tras daño subrayando su papel en el mantenimiento de la plasticidad celular (El Andaloussi *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2022).

En reproducción, las EV se encuentran en procesos fundamentales como la gametogénesis, fecundación, implantación

y desarrollo embrionario temprano, influyendo en la maduración ovocitaria, el reconocimiento embrionario y el mantenimiento del embarazo y el parto (Machtinger *et al.*, 2016). Recientemente, también se han asociado a patologías como la pérdida precoz del embarazo, el síndrome de ovario poliquístico, la endometriosis, la diabetes gestacional, la hipertensión y la preeclampsia (Fazeli and Godakumara, 2024).

Aunque gran parte del estudio de las EV reproductivas se ha centrado en el entorno uterino y embrionario, también se ha evidenciado su papel en el componente masculino de la fertilidad. En bovinos, los epididimosomas del fluido epididimal contienen proteínas asociadas a la maduración espermática, mientras que en humanos los prostasomas del fluido seminal reducen la fluidez de la membrana espermática, protegiendo frente a capacitación y reacción acrosómica prematura. En modelos murinos y porcinos, las EV transfieren proteínas esenciales para la fusión gamética y, además, en murinos se ha descrito su función en la prevención de la polispermia, ya que tras la fecundación la proteína Juno se libera en EV que neutralizan espermatozoides con reacción acrosómica (Machtinger *et al.*, 2016).

Las EV del fluido uterino y oviductal (uterosomas y oviductosomas) transportan proteínas y moléculas bioactivas implicadas en la capacitación y fecundación espermática. En modelos murinos se ha visto que transfieren proteínas clave como PMCA4 y SPAM1, necesarias para la homeostasis del calcio, la viabilidad y la capacitación espermática. Asimismo, algunas EV uterinas contienen miRNA, proteínas y factores inmunomoduladores como LIF, con un posible papel en la comunicación embrión-endometrio durante la implantación (Yáñez-Mó *et al.*, 2015).

También se han identificado EV en el líquido amniótico de murinos y mujeres sometidas a amniocentesis, con origen tanto fetal como materno. El riñón fetal libera EV con marcadores como AQP2, CD24 y anexina-I, mientras que otra fracción, con anexina-I y HSP70 pero sin CD24, podría proceder de la madre. Estas EV regulan la respuesta inmunitaria para favorecer la supervivencia fetal, destacando el papel de HSP72 en la producción de citocinas. Además, se ha demostrado que pueden ser captadas por células THP-1, estimulando la liberación de citocinas y la activación de NFκB/STAT3 mediante receptores TLR (Yáñez-Mó *et al.*, 2015).

La leche materna, fluido complejo y rico en componentes inmunológicos, contiene EV de origen incierto, posiblemente derivadas de células presentes en la propia leche, del epitelio mamario o de otros compartimentos corporales a través de la circulación. Estas EV presentan altos niveles de miRNA relacionados con la inmunidad, como miR-181a y miR-17, especialmente durante los primeros 6 meses de lactancia.

Estudios de secuenciación han confirmado la abundancia de miRNA inmunológicos en estas vesículas, lo que sugiere su transferencia al lactante y su implicación en el desarrollo de su sistema inmunitario. A nivel funcional, se ha demostrado que estas EV inhiben la producción de citoquinas en células T activadas (anti-CD3 y anti-PHA) y aumentan el número de células T reguladoras (Yáñez-Mó *et al.*, 2015).

4.5. EV EN EL CONTEXTO REPRODUCTIVO

Durante la reproducción, las EV facilitan el intercambio de señales biológicas entre distintos tipos celulares. En este trabajo se aborda la comunicación intercelular mediada por EV que tiene lugar entre el embrión fecundado y los tejidos maternos.

4.5.1. EV EMBRIONARIAS

Diversos estudios han identificado EV en medios condicionados de cultivo embrionario, tanto en humanos como en modelos bovinos y porcinos. En estadios como el día 3 (D3) y día 5 (D5) del desarrollo embrionario, aislaron EV con un tamaño promedio de 100 nm, que mostraron inmunoreactividad frente a marcadores exosómicos como CD9, CD63 y Alix. En el caso de embriones humanos, estas EV expresaron HLA-G y mRNA de genes relacionados con la pluripotencia, como OCT4, SOX2, KLF4, C-MYC y NANOG. Asimismo, se vio que eran capaces de transportar diferentes especies de miRNA con potencial para actuar sobre células epiteliales y estromales. Se ha propuesto que los genes diana de estos miRNA regulan funciones como la adhesión y la migración celular, lo que sugiere que el embrión podría influir activamente sobre el transcritoma endometrial (Ávila *et al.*, 2019; Kurian and Modi, 2019).

Aunque es controvertido, algunos estudios sugirieron un mayor éxito en el cultivo de embriones *in vitro* cuando se realiza en grupos, ya que pueden generar un microambiente rico en factores de crecimiento, constituyendo un "secretoma" con efectos autocrinos y paracrinos. En embriones clonados, el cocultivo con embriones partenogenéticos porcinos mejoró su competencia de desarrollo, aumentando el número de blastómeros y la formación de blastocistos. Se ha demostrado que estas EV pueden atravesar la zona pelúcida y ser internalizadas por blastómeros, lo que respalda su potencial papel funcional en la comunicación celular temprana (Machtinger *et al.*, 2016).

En el modelo porcino, la suplementación del medio con EV embrionarias aumentó las tasas de formación y calidad de blastocistos, mejoró la proporción entre masa celular interna (ICM) y trofoectodermo (TE), y elevó las tasas de implantación y LNB, lo que indica un efecto autocrino/paracrino positivo sobre el desarrollo embrionario (Kurian and Modi, 2019). Los estudios en el modelo murino evidenciaron la influencia de las EV de la ICM en el TE: las células madre embrionarias (ES) secretan MV con proteínas como laminina y fibronectina, que

interactúan con integrinas de la superficie del trofoblasto y activan vías de señalización que potencian la invasividad del TE. La microinyección de estas MV en blastocistos incrementó las tasas de implantación *in vivo* (Kurian and Modi, 2019).

Además de las EV, se han identificado miRNA embrionarios en medios de cultivo de blastocistos y en células del TE biopsiadas; y aunque no se ha demostrado que estas moléculas sean transportadas a través de EV, se postula esta vía dada la abundancia de miRNA en exosomas (Kurian and Modi, 2019).

4.5.2. EV DEL OVIDUCTO

El oviducto constituye el sitio principal para la fecundación y el inicio del desarrollo embrionario temprano. Las secreciones oviductales influyen en procesos clave como la motilidad espermática y la reacción acrosómica. En este contexto, se han aislado exosomas y MV tanto del fluido oviductal de murinos y bovinos como de cultivos *in vitro* de células epiteliales oviductales bovinas que además de marcadores típicos presentan proteínas específicas del entorno oviductal, como la OVGP1 (Kurian and Modi, 2019). Estudios proteómicos identificaron 315 proteínas distintas en EV oviductales: 97 exclusivas de las EV *in vivo*, 47 propias de las EV *in vitro* y 175 compartidas por ambos tipos. El origen de las proteínas únicas presentes en las EV derivadas *in vitro* no está completamente claro; se ha sugerido que podrían proceder del medio de cultivo, del suero añadido o reflejar adaptaciones celulares a las condiciones artificiales del cultivo (Almiñana *et al.*, 2017; Kurian and Modi, 2019).

Además de las diferencias cualitativas, se han descrito diferencias en la expresión proteica entre las EV oviductales obtenidas *in vivo* e *in vitro*, lo que subraya la influencia del entorno de cultivo en su composición molecular (Almiñana *et al.*, 2017). En este sentido, los modelos *in vitro* bovinos han demostrado que la suplementación del medio con EV oviductales mejora la calidad embrionaria, incrementando la formación de blastocistos, el número de células del TE y la supervivencia tras vitrificación (Fazeli and Godakumara, 2024). Estos efectos dependen del origen regional: las EV del istmo favorecen la viabilidad embrionaria, posiblemente mediante la regulación positiva de AQP3, mientras que las de la ampolla tubárica no mostraron efectos significativos (Fazeli and Godakumara, 2024).

En modelos murinos, la adición de EV oviductales al medio de transferencia incrementó las tasas de LNB, confirmando su potencial en reproducción asistida. Además, pueden inducir cambios en la expresión génica embrionaria, afectando rutas relacionadas con la biosíntesis proteica, unión a nucleótidos u organización del citoesqueleto de actina (Almiñana *et al.*, 2017; Fazeli and Godakumara, 2024).

AULA JOVEN

Aplicación de vesículas extracelulares en la mejora de los tratamientos de reproducción asistida: potencial, mecanismos y perspectivas clínicas

Si bien se ha estudiado ampliamente cómo el oviducto influye sobre el embrión, se ha prestado menor atención al efecto inverso: cómo las EV embrionarias pueden afectar al oviducto. En bovinos, el cocultivo con células epiteliales redujo la expresión de genes de la vía BMP, mientras que EV derivadas de embriones de alta calidad en D5 modificaron la expresión de 25 genes en células oviductales, incluyendo ISG-15, MX1, OAS1Y y LOC100139670, activados por IFN- τ , factor clave en el reconocimiento materno de la gestación en rumiantes. Estos hallazgos sugieren que el embrión podría usar EV como medio para comunicar su presencia y calidad a la madre (Fazeli and Godakumara, 2024).

4.5.3. EV ENDOMETRIALES

La comunicación entre embrión y endometrio es un proceso bidireccional fundamental para la implantación. No solo el embrión envía señales, sino que el endometrio también modula activamente su capacidad de implantación y desarrollo temprano. Aunque tradicionalmente se atribuyó este diálogo a moléculas solubles, evidencias recientes destacan el papel de las EV derivadas del endometrio como mediadores clave (Greening *et al.*, 2016; Ng *et al.*, 2013).

Estas vesículas, con tamaños compatibles con exosomas y MV, se han identificado en fluido uterino y moco de mujeres fértiles durante la fase secretora del ciclo menstrual. Mediante inmunomarcaje de tetraspaninas como CD9 y CD63 se ha observado la presencia de EV en la superficie apical del epitelio endometrial con una expresión variable que sugiere una regulación cíclica. También se han aislado EV de aspirados uterinos, moco cervical y cultivos celulares, con tamaños entre 50 y 150 nm (Kurian and Modi, 2019; Ng *et al.*, 2013).

En modelos bovinos, se ha evidenciado la liberación de EV endometriales durante la etapa peri-implantacional, con un incremento tras la implantación, lo que sugiere una participación activa del endometrio en la regulación embrionaria mediante señales empaquetadas en EV (Kurian and Modi, 2019; Kusama *et al.*, 2018). Estudios en la línea celular epitelial endometrial (EEC1) revelaron que estas células y sus EV comparten la mayoría de sus miRNA, excepto algunos miRNA exclusivos de las vesículas que sugieren mecanismos específicos de selección y carga (Ng *et al.*, 2013). Entre sus posibles funciones, estos miRNA podrían regular genes de adhesión celular (cadherinas e integrinas) y rutas de señalización celular críticas para la implantación, como VEGF, Jak-STAT y TLR [19]. Además, se detectaron otros ncRNA (U6, RNU44, RNU48) vinculados al procesamiento y modificación de RNA, aunque su papel en este contexto aún no está claro (Kurian and Modi, 2019).

El análisis proteómico de EV derivadas de EEC1 identificó 1.043 proteínas, de las cuales la mayoría se encontraron asociadas a biogénesis de exosomas (ESCRT, tetraspaninas) y otras exclusivas del epitelio endometrial, incluyendo enzimas como qui-

nasas, fosfatasa, transferasas o metaloproteinasas (Greening *et al.*, 2016; Kurian and Modi, 2019). Se ha comprobado que su secreción, al igual que en el entorno *in vivo*, está modulada por hormonas esteroideas, con variaciones dependientes de tratamientos con estrógenos o estrógenos-progesterona, lo que concuerda con la influencia hormonal en el reciclaje endosomal y su relación con la fertilidad (Greening *et al.*, 2016; Kurian and Modi, 2019). Funcionalmente, estas EV favorecen la adhesión de células trofoblásticas HTR8, aumentando la activación de FAK, su fosforilación y la expresión de fibronectina, lo que sugiere su papel en la modulación de la fisiología del trofoblasto para favorecer la implantación (Greening *et al.*, 2016).

Más allá del epitelio, también se han identificado EV estromales, potencialmente implicadas en la deciduización, proceso esencial en la regulación de la invasión trofoblástica y la placentación. Aunque no se ha demostrado la producción directa de MV por la decidua, sí se han aislado en los sobrenadantes de cultivos de células estromales endometriales bovinas y humanas, tanto de mujeres con y sin endometriosis, lo que refuerza el papel de las EV en la implantación (Kurian and Modi, 2019).

4.5.4. EV DEL AMBIENTE FOLICULAR OVÁRICO

El folículo ovárico constituye un microambiente altamente especializado en el que las células de la teca, granulosa, cúmulo y el ovocito interactúan de forma dinámica para regular la foliologénesis. Durante este proceso, las células foliculares liberan EV al líquido folicular que transportan mRNA, proteínas y miRNA, actuando como mediadores de la comunicación intercelular (Ávila *et al.*, 2019). Diversos estudios han demostrado que las EV, especialmente las exosómicas, son internalizadas por células de la granulosa, modulando rutas clave como la señalización del TGF- β a través de la regulación de genes como ACVR1 e ID2. Además, las EV derivadas de folículos pequeños favorecen la expansión del cúmulo, la proliferación celular y el desarrollo embrionario *in vitro*, mostrando un efecto superior al de las procedentes de folículos mayores. Estas diferencias sugieren una regulación dependiente del estado folicular sobre la biogénesis y el contenido molecular de las EV (Ávila *et al.*, 2019).

4.5.5. EV PLACENTARIAS

La placenta, en particular los sincitiotrofoblastos, constituye una fuente principal de EV durante la gestación, actuando en la comunicación materno-fetal (Kurian and Modi, 2019). Estas vesículas se han aislado de líneas celulares, cultivos placentarios y sangre materna, observándose un incremento progresivo de su concentración en plasma a lo largo del embarazo, especialmente bajo condiciones de hipoxia o hipoglucemia (Kurian and Modi, 2019). Su contenido incluye proteínas de membrana específicas (ligandos NKGD2, FasL, TRAIL y sincitina), que contribuyen a la tolerancia inmunológica entre madre y feto; factores solubles (TGF- β y fosfatasa alcalina placentaria); y mRNA

y miRNA, que cumplen funciones biológicas diversas (Kurian and Modi, 2019). Alteraciones en sus niveles y composición se han asociado con complicaciones como la preeclampsia, donde las EV presentan propiedades proinflamatorias, antiangiogénicas y procoagulantes, promoviendo inflamación sistémica, disfunción endotelial y activación de la coagulación. Por ello, se investigan como potenciales biomarcadores en esta y otras patologías del embarazo, como la diabetes mellitus (Kurian and Modi, 2019).

4.5.6. OTRAS FUENTES DE EV EN EL EMBARAZO

Además de las EV de origen placentario, otras células maternas y microbianas liberan EV que pueden influir en la gestación. Las células endoteliales modifican el contenido de sus exosomas en situaciones de hiperglucemia y estrés oxidativo, alterando la función del endotelio fetoplacentario y asociándose con hipertensión, edema, trombosis e infartos placentarios. De manera similar, el tejido adiposo materno, especialmente en contextos de obesidad o diabetes gestacional, produce EV con perfiles alterados de miRNA. En modelos murinos, exosomas derivados de macrófagos de tejido adiposo obeso indujeron resistencia a la insulina y tolerancia alterada a la glucosa en ratones sanos, lo que sugiere un papel en la inflamación sistémica y en la fisiopatología placentaria vinculada a trastornos metabólicos (Kurian and Modi, 2019).

Por último, se investiga la contribución de las EV microbianas en el embarazo. El microbioma reproductivo femenino puede liberar vesículas bacterianas con componentes biológicamente activos que modulan la respuesta inmunitaria materna. Destaca el caso del *Streptococcus* del grupo B (GBS), cuya colonización vaginal se asocia con parto pretérmino y rotura prematura de membranas. En modelos experimentales, sus vesículas cargadas con proteasas y toxinas han mostrado capacidad para degradar membranas, inducir muerte fetal y desencadenar parto prematuro (Kurian and Modi, 2019).

4.7. INTERACCIÓN Y MODELOS DE ESTUDIO

La comunicación celular es fundamental para diversos procesos moleculares que permiten a las poblaciones celulares intercambiar información entre sí, favoreciendo la especialización tisular o la coordinación de interacciones entre distintos órganos. Las EV han sido identificadas como elementos clave en la regulación de las secuencias temporales e interacciones espaciales, así como en la señalización célula a célula durante todos los eventos de la reproducción sexual, tales como la gametogénesis, la fecundación y la embriogénesis, y en el diálogo embrión-materno (Capra and Lange-Consiglio, 2020). Los estudios en modelos embrionarios animales han mostrado que el perfil de secreción de EV se relaciona con la calidad embrionaria: los embriones con menor potencial de desarro-

llo liberan más EV, probablemente como respuesta al estrés, mientras que perfiles más homogéneos y estables se asocian a mayor viabilidad, especialmente en bovinos (Ovčar and Kovačič, 2025). También se han descrito variaciones en el tamaño de las EV, aunque su valor como biomarcador no es del todo consistente, pues algunos estudios asocian un mayor tamaño a embriones viables y otros a no viables. En general, la producción de EV aumenta en fases avanzadas como la blastulación, reflejando una mayor actividad celular (Ovčar and Kovačič, 2025).

El análisis del contenido molecular de estas vesículas ha identificado miRNA con potencial como biomarcadores de calidad no invasivos. Por ejemplo, en embriones con desarrollo detenido se observa la sobreexpresión de miR-103, miR-100, miR-502a y miR-1, en contraste con la disminución de miR-92a, miR-140, miR-2285av y miR-222 (Ovčar and Kovačič, 2025). Además, la dinámica de los miRNA varía según la fase de desarrollo: durante la compactación destacaron aquellos implicados en señalización de hormonas como oxitocina y estrógeno, mientras que en blastulación emergieron perfiles vinculados a la señalización de la prolactina.

Otros miRNA, como miR-21 y miR-130, parecen intervenir en la activación del genoma embrionario, mientras que miR-30c se asoció a apoptosis y menor calidad embrionaria (Ovčar and Kovačič, 2025). Aunque estos hallazgos destacan el potencial biomarcador distintivo de miRNA de las EV, las incoherencias en los métodos de aislamiento y secuenciación de miRNA subrayan la necesidad crítica de protocolos estandarizados que permitan la validación entre estudio.

Más allá de los miRNA, se ha observado DNA en EV tanto de embriones viables como no viables, así como proteínas inmunorreguladoras como HLA-G, que podrían favorecer un ambiente receptivo. Se ha demostrado que exosomas positivos para CD9 y CD63, de menos de 100 nm, son liberados continuamente desde el cigoto hasta el blastocisto, atravesando la zona pelúcida e interactuando con células endometriales maternas (Ovčar and Kovačič, 2025). Estas vesículas contienen también transcritos asociados a pluripotencia y parecen participar en la modulación inmune materna (Ovčar and Kovačič, 2025).

Las condiciones de cultivo, en particular la tensión de oxígeno alterada y la renovación del medio, afectan significativamente la composición y función de las EV. Variaciones en el oxígeno alteran la cantidad, el tipo y el perfil de miRNA contenidos en estas vesículas. Por ejemplo, se ha descrito una mayor expresión de miR-210 bajo condiciones de hipoxia, posicionándolo como un posible biomarcador no invasivo del estado del cultivo.

Además, los embriones generados *in vitro* secretan EV con un perfil molecular distinto al de los embriones desarrollados in

AULA JOVEN

Aplicación de vesículas extracelulares en la mejora de los tratamientos de reproducción asistida: potencial, mecanismos y perspectivas clínicas

vivo, incluyendo rutas asociadas a procesos de estrés celular (Ovčar and Kovačič, 2025).

En este contexto, numerosos estudios recientes han profundizado en la caracterización de las EV secretadas por embriones animales al medio de cultivo, especialmente en modelos bovinos, aunque también se han utilizado modelos ovinos, porcinos y murinos. Para su aislamiento, se han empleado principalmente métodos como la centrifugación diferencial, la ultrafiltración, la cromatografía de exclusión por tamaño y la precipitación polimérica. La caracterización de las EV ha recurrido a técnicas como el análisis de seguimiento de nanopartículas (NTA), microscopía electrónica de transmisión y barrido (TEM y SEM), citometría de flujo con marcadores específicos, inmunotinción, y estudios del contenido molecular de las vesículas (RNA, DNA y proteínas).

Esta diversidad metodológica ha permitido obtener una visión más detallada del papel que desempeñan las EV en la comunicación celular durante el desarrollo embrionario temprano (Ovčar and Kovačič, 2025).

Recientes investigaciones han identificado perfiles específicos de RNA en EV procedentes de embriones aneuploides, que podrían servir como indicadores no invasivos de aneuploidía. Estos EV parecen modificar la expresión génica en las células estromales endometriales, aumentando barreras a la implantación y alterando vías celulares relacionadas con la comunicación y la apoptosis (Ovčar and Kovačič, 2025).

4.8. COMUNICACIÓN EMBRIÓN-ENDOMETRIAL

La implantación embrionaria constituye un proceso altamente regulado, que depende de una interacción bidireccional entre un embrión competente y un endometrio receptivo. En este contexto, las EV han emergido como mediadoras clave en esta comunicación, actuando como portadoras de

señales moleculares que coordinan el diálogo materno-embrionario (figura 3).

Diversos estudios han demostrado que tanto el embrión como el endometrio liberan EV capaces de modificar el comportamiento celular del otro (Kurian and Modi, 2019). Las EV embrionarias pueden influir en la receptividad endometrial mediante la transferencia de miRNA, proteínas de pluripotencia o factores inmunomoduladores, como se ha evidenciado en estudios que identifican en estas vesículas la presencia de moléculas como POU5F1, NANOG y HLA-G, implicadas en la promoción de un entorno uterino receptivo (Fazeli and Godakumara, 2024; Kurian and Modi, 2019; Machtinger *et al.*, 2016). Por su parte, las EV de origen endometrial pueden preparar el entorno uterino para facilitar la implantación, ya que modulan la expresión génica relacionada con adhesión celular, angiogénesis y remodelación tisular, como se ha demostrado en modelos tanto *in vitro* como en fluidos uterinos humanos y animales (Capra and Lange-Consiglio, 2020; Greening *et al.*, 2016; Ng *et al.*, 2013).

4.9. EV COMO BIOMARCADORES EN MEDICINA REPRODUCTIVA

Las EV se han consolidado como mediadores clave en la comunicación intercelular, tanto en condiciones fisiológicas como patológicas. En contextos de enfermedad, las alteraciones metabólicas y celulares modifican su composición y liberación, lo que las posiciona como posibles biomarcadores diagnósticos y herramientas terapéuticas (Capra and Lange-Consiglio, 2020). En el tracto reproductivo, la interacción celular mediada por EV, incluida la diafonía embrión-madre, es esencial, y sus cambios en estados patológicos pueden favorecer la aparición y progresión de distintas patologías reproductivas y obstétricas (Tabla I) (Capra and Lange-Consiglio, 2020).

Se ha observado que los niveles fisiológicos de EV presentes en tejidos, suero u otros fluidos biológicos pueden variar

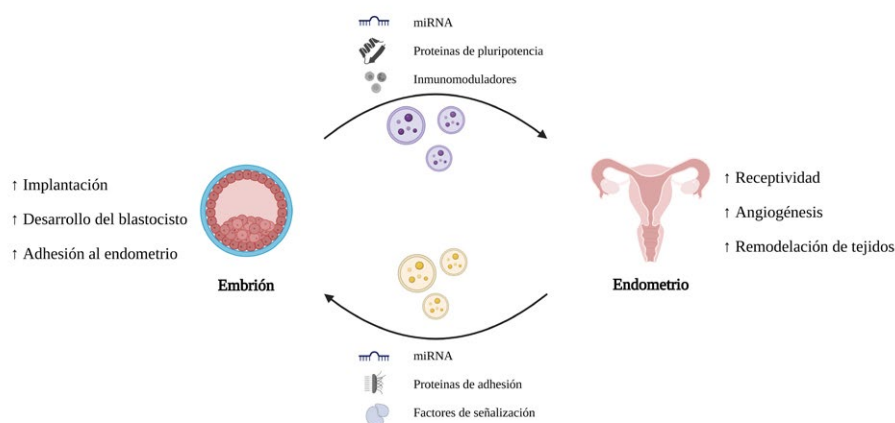


Figura 3. Esquema de la comunicación bidireccional mediada por EV entre embrión y endometrio durante la implantación.

AULA JOVEN

Aplicación de vesículas extracelulares en la mejora de los tratamientos de reproducción asistida: potencial, mecanismos y perspectivas clínicas

Biomarcadores para:	EVs aisladas de	Especie	Método de aislamiento	Resultados principales
Cáncer reproductivo femenino	serum	<i>Homo sapiens</i>	Precipitación de polímeros	Se observa un incremento de miRNAs de EVs en el serum de pacientes con cáncer epitelial de ovario
Fertilidad femenina	Fluido folicular	<i>Homo sapiens</i>	Ultracentrifugación	miRNAs de EVs en el fluido folicular están asociadas a concentraciones urinarias de fenoles y metabolitos de ftalatos
Fertilidad femenina	Medio de blastocistos y cocultivo de células endometriales	<i>Homo sapiens</i>	Precipitación de polímeros	Los miRNAs secretados unidos a EVs se encuentran alterados en experimentos de cocultivo con blastocistos y células endometriales aisladas de pacientes diagnosticadas de AMA o endometriosis.
Calidad embrionaria	Medio de cultivo embrionario	<i>Homo sapiens</i>	No aislamiento	El contenido de DNA en EVs aisladas de cultivos embrionarios está relacionado con implantación exitosa
Calidad placentaria	Citotrofoblastos primarios y serum	<i>Homo sapiens</i>	Precipitación de polímeros y ultracentrifugación	Las EVs en serum de pacientes con preeclampsia muestran alteración en el contenido de sincitina
Calidad placentaria	Plasma	<i>Homo sapiens</i>	Ultracentrifugación	Los miRNAs de EVs en plasma están alterados en preeclampsia
Calidad placentaria	Plasma	<i>Homo sapiens</i>	Precipitación de polímeros y ultracentrifugación	EVs de pacientes con preeclampsia liberan factores antiangiogénicos a células endoteliales
Calidad placentaria	Plasma	<i>Homo sapiens</i>	Ultracentrifugación y cromatografía de exclusión por tamaño	El análisis proteómico de las EVs en plasma revela alteraciones proteicas relacionadas con la diabetes mellitus gestacional
Calidad placentaria	Medio condicionado de vellosidades coriónicas	<i>Homo sapiens</i>	Ultracentrifugación	La diabetes mellitus gestacional altera el perfil de miRNA de Evs aisladas de cultivos de explantes de vellosidades coriónicas
Aborto temprano	Serum	<i>Bos taurus</i>	Ultracentrifugación	Las EVs en serum contienen miRNAs relacionadas con la mortalidad embrionaria bovina

Tabla 1. Resumen de estudios que reportan el uso de la carga molecular de EV como biomarcadores en medicina reproductiva. Los estudios se clasificaron por diferentes condiciones patológicas describiendo la fuente y el método de aislamiento de EV y los resultados principales obtenidos. Modificada de (Capra and Lange-Consiglio, 2020).

considerablemente en función del modelo experimental, del tiempo tras la enfermedad (horas o días), del tipo de patología y del método empleado para su cuantificación. A pesar de esta variabilidad, la caracterización precisa de estos perfiles podría contribuir a establecer dosis terapéuticas adecuadas y a optimizar futuras intervenciones clínicas (Capra and Lange-Consiglio, 2020).

4.9.1. BIOMARCADORES PARA EL CÁNCER REPRODUCTIVO FEMENINO

Las EV reflejan el estado fisiológico o patológico de la célula de origen, lo que ha despertado interés en su aplicación como biomarcadores en oncología. A diferencia de las biopsias tisulares, que son invasivas y limitadas para monitorizar la progresión tumoral, las EV pueden obtenerse de fluidos biológicos de forma no invasiva y protegen frente a la degradación a moléculas de interés como miRNA, proteínas o mRNA (Capra and Lange-Consiglio, 2020).

En relación con el cáncer, se ha observado que determinados miRNA derivados de EV están asociados a distintos tipos tumorales, incluidos los de pulmón, mama y ovario. En particular, la expresión de miembros de la familia miR-200 (miR-200a, miR-200b y miR-200c) ha demostrado utilidad para discrimi-

nar entre tumores ováricos benignos y malignos, alcanzando sensibilidades del 88 % y especificidades del 90 % en algunos estudios. Estos miRNA también se correlacionan con los niveles séricos de CA125, un marcador clínico ampliamente utilizado para el diagnóstico, seguimiento y pronóstico del cáncer de ovario (Capra and Lange-Consiglio, 2020).

4.9.2. BIOMARCADORES PARA LA FERTILIDAD FEMENINA

La disminución de la fertilidad femenina se ha asociado a la exposición a disruptores endocrinos como ftalatos y fenoles, que alteran el perfil de miRNA en EV del líquido folicular, interfiriendo en la función ovárica y la maduración ovocitaria [4]. Se ha observado que concentraciones elevadas de estos compuestos se relacionan con cambios en miR-125b, miR-24 y miR-375, implicados en el desarrollo embrionario temprano, la diferenciación embrionaria y la regulación de la apoptosis en células del cúmulo. Estas alteraciones pueden comprometer la producción de estradiol y el desarrollo folicular, tanto en humanos como en modelos animales, con potenciales consecuencias sobre la fertilidad femenina (Capra and Lange-Consiglio, 2020). En el ámbito veterinario, micotoxinas como las producidas por *Fusarium* también se han vinculado con modificaciones en miRNA de EV foliculares y con un impacto

AULA JOVEN

Aplicación de vesículas extracelulares en la mejora de los tratamientos de reproducción asistida: potencial, mecanismos y perspectivas clínicas

negativo en la fertilidad animal (Capra and Lange-Consiglio, 2020). Asimismo, factores intrínsecos como la edad materna avanzada (AMA) o la endometriosis alteran la comunicación embrión-endometrio.

En estos contextos se han descrito cambios en los miRNA contenidos en EV endometriales, capaces de regular centenares de genes esenciales para la adhesión celular, el desarrollo embrionario y la implantación (Capra and Lange-Consiglio, 2020).

4.9.3. BIOMARCADORES PARA LA CALIDAD EMBRIONARIA

En la actualidad, la selección embrionaria se basa principalmente en criterios morfológicos y, en algunos casos, en biopsias del TE, aunque estas últimas son invasivas y conllevan riesgos. En este contexto, la identificación de biomarcadores no invasivos, como los derivados de EV, representa una alternativa prometedora (Capra and Lange-Consiglio, 2020).

En 2013 se detectó DNA genómico en el líquido blastocélico y en el medio de cultivo embrionario, lo que abrió la puerta a nuevas estrategias diagnósticas (Capra and Lange-Consiglio, 2020). Posteriormente, en 2017, estudios confirmaron la presencia de EV en medios de cultivo embrionario mediante TEM y citometría de flujo. Los resultados mostraron que un menor número de EV positivas al yoduro de propidio (PI+), indicador de daño celular, se correlacionaba con un mayor potencial de implantación, lo que resalta la utilidad de las EV como marcadores no invasivos de viabilidad embrionaria (Ovčar and Kovačič, 2025).

Asimismo, los miRNA liberados al medio de cultivo por los embriones han mostrado un papel clave en la comunicación embrión-materno y en la predicción de la implantación (Capra and Lange-Consiglio, 2020). Perfiles específicos de miRNA en EV de bovinos, se han relacionado con aneuploidías y con la calidad embrionaria, reflejando tanto el estado fisiológico del embrión como las condiciones de cultivo (Capra and Lange-Consiglio, 2020). En este sentido, se ha propuesto miR-210 como marcador de normoxia durante el cultivo *in vitro*, al estar vinculado con estados hipóxicos (Capra and Lange-Consiglio, 2020). En modelos animales, como en bovinos, los blastocistos implantados y no implantados presentan perfiles diferenciados de miRNA en los medios de cultivo, siendo más abundantes en embriones de baja calidad. Este fenómeno podría deberse, en parte, a un aumento pasivo por recambio celular más que a una secreción activa mediada por EV (Capra and Lange-Consiglio, 2020).

4.9.4. BIOMARCADORES PARA LA CALIDAD PLACENTARIA

El embarazo ofrece un modelo idóneo para el estudio de EV, ya que sus etapas son predecibles y la placenta constituye

una fuente accesible de vesículas con marcadores moleculares específicos (Capra and Lange-Consiglio, 2020). Las EV placentarias, identificables en sangre materna mediante proteínas exclusivas como la fosfatasa alcalina placentaria (PLAP) o miRNAs del clúster C19MC, reflejan procesos esenciales de comunicación feto-materna y pueden aislarse selectivamente mediante procedimientos cromatográficos/inmunosorbentes (Capra and Lange-Consiglio, 2020).

Durante la gestación, estas EV participan en la inmunomodulación, favoreciendo la tolerancia materna al feto. Su concentración plasmática aumenta de forma progresiva, llegando a ser hasta 20 veces superior en mujeres embarazadas respecto a no gestantes (Capra and Lange-Consiglio, 2020). Alteraciones en su perfil se han relacionado con patologías gestacionales: en preeclampsia, por ejemplo, las EV muestran menor expresión de sincitina-2 y un incremento de factores antiangiogénicos como sFlt-1 y sEng, lo que contribuye a la disfunción endotelial característica de esta enfermedad (Capra and Lange-Consiglio, 2020).

El microambiente placentario también influye en la secreción de EV. Factores como la tensión de oxígeno y las concentraciones de glucosa pueden modular tanto la liberación como la bioactividad de las vesículas trofoblásticas. En este contexto, las EV placentarias aisladas de mujeres con diabetes mellitus gestacional presentan alteraciones en su contenido proteico, especialmente en rutas relacionadas con el metabolismo energético, la inflamación y la sensibilidad a la insulina en el músculo esquelético.

En algunos casos, los efectos de la hiperglucemia se ven potenciados por condiciones de hipoxia placentaria, como ocurre en mujeres con resistencia a la insulina asociada a diabetes gestacional y preeclampsia (Capra and Lange-Consiglio, 2020).

4.9.5. BIOMARCADORES PARA EL ABORTO TEMPRANO

Durante la gestación se ha observado un aumento progresivo en la concentración plasmática de EV y en el número de miRNA circulantes asociadas a ellas, identificándose 194 y 211 miRNA en bovinos a los días 17 y 24 de gestación, respectivamente (Capra and Lange-Consiglio, 2020). Sin embargo, algunos miRNA como miR-25, miR-16a/b y miR-3596 mostraron mayor abundancia tanto en controles como en animales con mortalidad embrionaria, en comparación con hembras gestantes en día 17. El incremento de miR-25 en bovinos con pérdida embrionaria temprana podría reflejar la muerte embrionaria o una respuesta sistémica a la misma (Capra and Lange-Consiglio, 2020).

El análisis funcional reveló que estos cambios podrían activar rutas relacionadas con la producción de prostaglandinas, moléculas que inducen la regresión del cuerpo lúteo y, por tanto,

AULA JOVEN

Aplicación de vesículas extracelulares en la mejora de los tratamientos de reproducción asistida: potencial, mecanismos y perspectivas clínicas

una caída en los niveles de progesterona, esenciales para el mantenimiento de la gestación (Capra and Lange-Consiglio, 2020). Estos hallazgos sugieren que los perfiles de miRNA exosomales circulantes podrían emplearse como biomarcadores tanto para el diagnóstico precoz de gestación como para la detección de mortalidad embrionaria temprana (Capra and Lange-Consiglio, 2020).

4.10. POTENCIAL TERAPÉUTICO DE LAS EV

Las EV han demostrado un gran potencial terapéutico. Diversos estudios experimentales sugieren que EV derivadas de células madre pluripotentes o mesenquimales podrían emplearse como agentes terapéuticos en el tratamiento de condiciones asociadas a infertilidad, como la insuficiencia ovárica primaria o las adherencias intrauterinas. Actualmente, ya se están llevando a cabo ensayos clínicos dirigidos a evaluar su eficacia y seguridad en humanos, con el enfoque en su futura aplicación en la práctica clínica (El Andaloussi *et al.*, 2013; Fazeli and Godakumara, 2024). Con la evidencia clínica adecuada y un marco regulatorio apropiado, estas terapias basadas en EV podrían beneficiar en el futuro a pacientes con problemas de fertilidad (Fazeli and Godakumara, 2024).

Estudios recientes han demostrado que los exosomas endometriales pueden estar implicados en el fallo de implantación (Gurung *et al.*, 2020), lo que ha impulsado el desarrollo de nuevas estrategias clínicas basadas en EV. Gracias a su estructura de membrana biológica, son vehículos ideales para transportar moléculas como RNA, proteínas, factores de crecimiento o compuestos antiinflamatorios. Un caso destacado fue el uso experimental de MV derivadas del líquido amniótico para tratar una endometritis crónica en una yegua con infertilidad persistente. La administración intrauterina de estas EV mejoró el estado del endometrio y permitió una gestación exitosa, sugiriendo un posible efecto regenerativo y antiinflamatorio que favorece la implantación embrionaria. Aunque este es, hasta la fecha, el único estudio publicado con EV en enfermedades reproductivas, abre la puerta a futuras aplicaciones clínicas en el tratamiento de trastornos de fertilidad humanos (Lange-Consiglio *et al.*, 2020).

4.11. OTRAS APLICACIONES CONCRETAS DE LAS EV EN MEDICINA REPRODUCTIVA

4.11.1. REPARACIÓN DEL ENDOMETRIO Y MEJORA DE LA RECEPTIVIDAD

Las EV derivadas de células madre mesenquimales de médula ósea (BMSC-EV) han demostrado capacidad para reparar tejido endometrial dañado, promoviendo la proliferación, inhi-

biendo la apoptosis y facilitando la angiogénesis en modelos murinos (figura 4). Se indujo un modelo de lesión endometrial *in vivo* utilizando etanol al 95 %, y se aplicaron EEC tratadas con mifepristona como modelo de lesión endometrial *in vitro*.

Tras su aislamiento e identificación, las BMSC-EV fueron eficaces en la reparación de lesiones endometriales *in vivo* y facilitaron la proliferación de EEC y reprimieron la apoptosis celular *in vitro*; los sobrenadantes de EEC aceleraron la proliferación, migración e invasión de células endoteliales de vena umbilical humana y facilitaron la angiogénesis tras lesiones endometriales *in vitro* (Wang *et al.*, 2022).

4.11.2. TRATAMIENTO DE LA INSUFICIENCIA OVÁRICA PREMATURA (IOP)

Las EV de células madre mesenquimales (MSC) derivadas del cordón umbilical han restaurado la función ovárica en modelos de IOP inducida químicamente en ratones (figura 4). Tras inyección intravenosa, estas vesículas promovieron la angiogénesis en el ovario, redujeron la apoptosis de células granulosa y normalizaron el ciclo estral, sin efectos adversos en la descendencia. Se ha identificado que el miRNA-126-3p y otros miRNA como miR-29a, transportados en EV, activan las vías PI3K/AKT y Wnt/ β -catenina, mejorando la proliferación celular y reduciendo el daño folicular (He *et al.*, 2024; Martirosyan *et al.*, 2023).

4.11.3. REJUVENECIMIENTO OVÁRICO Y MEJORA EN LA FERTILIDAD NATURAL Y ASISTIDA

Las EV obtenidas de células MSC del cordón umbilical han mostrado efectos regenerativos en ovarios envejecidos naturalmente, restaurando parcialmente la función ovárica mediante la inhibición de la apoptosis a través del miR-21-5p que modula PTEN. Asimismo, se exploran aplicaciones en la preservación de la reserva ovárica antes de tratamientos gonadotóxicos (figura 4) (Martirosyan *et al.*, 2023).

4.11.4. SOPORTE EN CULTIVO EMBRIONARIO *IN VITRO*

Aunque no hay ensayos directos, se propone suplementar medios de cultivo embrionario con EV fisiológicas (de fluido folicular u oviductal) o con secretomas de cocultivo embrionario para recrear condiciones más favorables (figura 4). En modelos porcinos, se observó que el cocultivo con embriones partenogénéticos mejora el desarrollo de embriones clonados, evidenciando el potencial del secretoma, que incluye EV, en la mejora de la calidad embrionaria (Machtinger *et al.*, 2016).

AULA JOVEN

Aplicación de vesículas extracelulares en la mejora de los tratamientos de reproducción asistida: potencial, mecanismos y perspectivas clínicas

9. DISCUSIÓN Y FUTURAS PERSPECTIVAS CLÍNICAS

Las EV son elementos clave en la fisiología reproductiva, participando desde la maduración ovocitaria hasta la implantación y el diálogo materno-embionario, así como en la fecundación, desarrollo embrionario y parto (El Andaloussi *et al.*, 2013; Fazeli and Godakumara, 2024; Machtinger *et al.*, 2016, p. 16; Wang *et al.*, 2022).

Su implicación también se extiende a trastornos reproductivos y gestacionales, como disfunciones ovulatorias, endometriosis y complicaciones hipertensivas (Fazeli and Godakumara, 2024; Machtinger *et al.*, 2016). Si bien esta revisión y gran parte de los estudios se centran en el entorno uterino y embrionario, cabe destacar la importancia de su implicación en el factor masculino, como la capacitación espermática, la reacción acrosómica o la polispermia (Machtinger *et al.*, 2016).

A pesar de su ubicuidad en el organismo, muchos mecanismos de acción de las EV permanecen poco comprendidos y algunos resultados son contradictorios, probablemente debi-

do a variaciones en cultivos celulares, protocolos de purificación o falta de caracterización (El Andaloussi *et al.*, 2013).

Entre los principales retos metodológicos destaca la ausencia de criterios estandarizados para su aislamiento y clasificación, el solapamiento de tamaños entre exosomas, MV y cuerpos apoptóticos, y la influencia de las condiciones de cultivo sobre su contenido y secreción (Chen and Yang, 2024; El Andaloussi *et al.*, 2013).

Por tanto, la estandarización de protocolos es fundamental para avanzar en la comprensión de sus funciones, su aplicación terapéutica y su fiabilidad como herramienta diagnóstica en reproducción asistida.

Las EV embrionarias podrían desempeñar un papel activo en la comunicación con el entorno materno, modulando procesos como la implantación, el desarrollo del blastocisto y la proliferación endometrial. En humanos se han identificado miRNA en medios de cultivo de blastocistos y en células del TE, observándose niveles más altos en los que implantaron, lo que apoya su implicación positiva en la implantación (Kurian

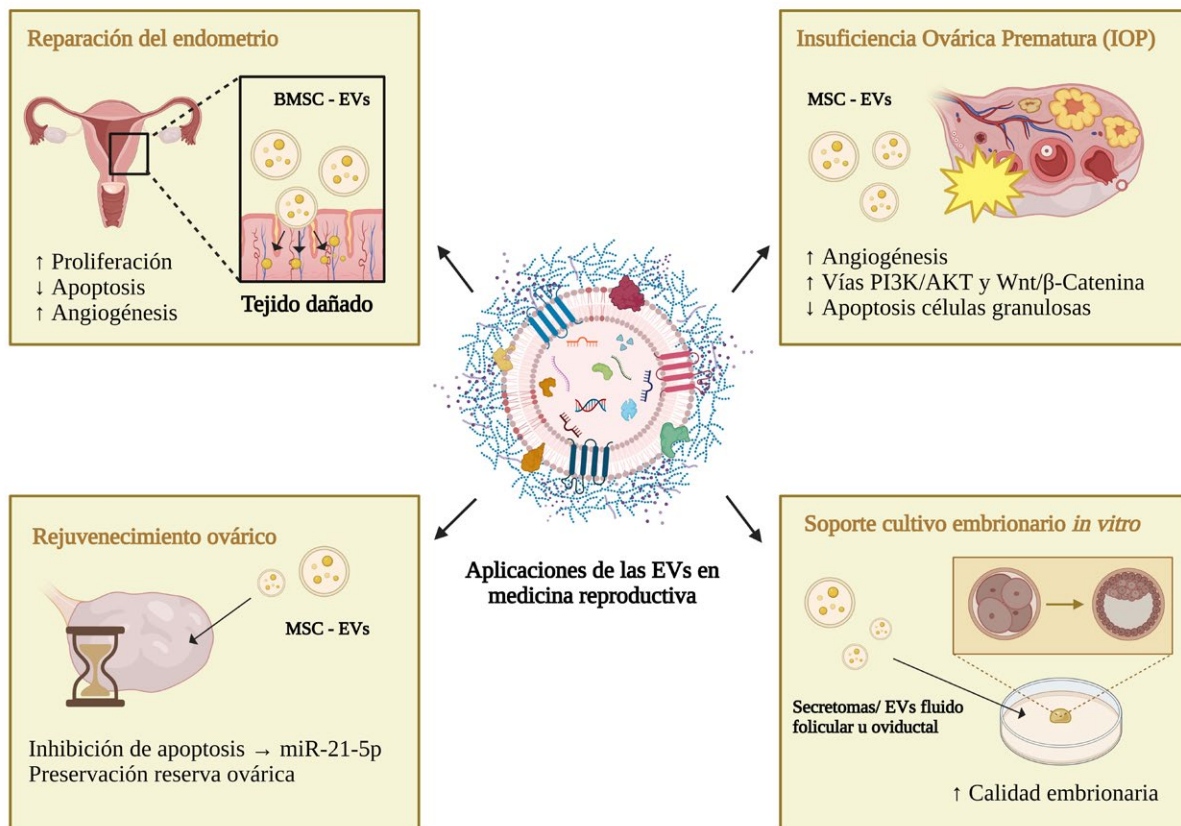


Figura 4. Aplicaciones emergentes de las EV en medicina reproductiva. Diversos estudios preclínicos muestran su potencial en la reparación endometrial, restauración y rejuvenecimiento ovárico, así como en el soporte de cultivos embrionarios *in vitro*, lo que las posiciona como una herramienta prometedora en la mejora de la fertilidad natural y asistida.

and Modi, 2019). Sin embargo, todavía no se ha demostrado un mecanismo causal directo, por lo que son necesarios más estudios.

Los modelos animales han aportado información relevante: en porcinos, las EV embrionarias mejoran la proporción ICM/TE y aumentan la implantación y la tasa de nacidos vivos, mientras que en murinos se ha visto que las células madre embrionarias secretan MV captadas por el TE que promueven su migración, aunque no se ha confirmado que estas sean producidas *in vivo* por la ICM del blastocisto, ya que se obtuvieron de líneas cultivadas (Kurian and Modi, 2019).

En humanos, la validación de estos hallazgos presenta una dificultad añadida, dado que los medios de cultivo incorporan suplementos séricos que aportan EV exógenas, complicando la identificación de las producidas específicamente por el embrión (Machtinger *et al.*, 2016). Además, los embriones generados *in vitro* se desarrollan en condiciones muy diferentes a las del oviducto y útero, lo que provoca alteraciones morfológicas, metabólicas y moleculares.

Estudios proteómicos han mostrado diferencias claras entre EV derivadas del ambiente *in vivo* e *in vitro*, lo que indica que las obtenidas en cultivo pueden proceder del propio medio, del suero añadido o de adaptaciones celulares (Almiñana *et al.*, 2017; Ávila *et al.*, 2019; Kurian and Modi, 2019). Por ello, aunque las EV embrionarias son prometedoras, es necesario interpretar con cautela los resultados obtenidos exclusivamente en sistemas *in vitro*, ya que podrían no reflejar las condiciones fisiológicas reales.

Aunque gran parte de la caracterización de las EV del tracto reproductivo femenino se ha realizado en modelos animales, también se han aislado en humanos a partir de aspirados uterinos, moco cervical y cultivos celulares, con un tamaño atribuible a exosomas (Kurian and Modi, 2019; Ng *et al.*, 2013).

Su concentración y contenido proteico varían durante la implantación y etapas posteriores: las EV preimplantacionales inducen la activación de genes apoptóticos en células epiteliales, mientras que las postimplantacionales activan genes relacionados con la adhesión, lo que sugiere un efecto paracrino en la regulación de la receptividad endometrial (Kurian and Modi, 2019; Kusama *et al.*, 2018). Además, en EEC1 se han identificado miRNA específicos contenidos en EV, lo que apunta a una compleja red de regulación post-transcripcional esencial para la pluripotencia, la regeneración cíclica del endometrio y la diferenciación celular. Esta riqueza en miRNA podría estar implicada en patologías como endometriosis o cáncer endometrial, con un potencial valor diagnóstico y terapéutico (Kurian and Modi, 2019; Ng *et al.*, 2013).

Las EV derivadas de células estromales endometriales también se relacionan con la implantación. Aunque la producción

directa de MV por la decidua no ha sido confirmada, su detección en cultivos bovinos y humanos respalda una comunicación intercelular activa mediada por EV. Bajo condiciones patológicas como la endometriosis, la liberación y el contenido de estas vesículas se alteran, lo que sugiere un papel en la desregulación de la receptividad uterina (Greening *et al.*, 2016; Kurian and Modi, 2019). Futuras investigaciones deberían caracterizar en mayor detalle sus perfiles moleculares y su efecto fisiológico sobre células trofoblásticas e inmunes.

Por otra parte, EV derivadas de fluidos foliculares, placenta y otras fuentes maternas o microbianas desempeñan funciones adicionales. Las EV foliculares podrían mejorar la maduración ovocitaria *in vitro*, aunque deben considerarse los cambios fisiológicos del folículo (Ávila *et al.*, 2019). Las EV placentarias son claves en la comunicación materno-fetal y su alteración se asocia a complicaciones como la preeclampsia (Kurian and Modi, 2019).

Asimismo, EV derivadas de endotelio, tejido adiposo o microbiota configuran una red compleja de señales extracelulares influida por el estado metabólico o infeccioso materno, que puede afectar el desarrollo gestacional. En este sentido, las EV bacterianas han mostrado un papel en la disfunción feto-placentaria, aunque aún no se conoce si la microbiota genera EV con función en la implantación o el mantenimiento del embarazo (Kurian and Modi, 2019). Estos hallazgos subrayan el valor emergente de las EV como potenciales biomarcadores y herramientas terapéuticas en medicina reproductiva.

En conjunto, la evidencia indica que las EV embrionarias y maternas participan activamente en la regulación del desarrollo temprano y la comunicación embrión-materno. La mayor liberación de EV por embriones con baja viabilidad podría reflejar un mecanismo de respuesta al estrés celular, lo que refuerza su potencial como biomarcadores no invasivos de calidad embrionaria (Capra and Lange-Consiglio, 2020; Ovčar and Kovačič, 2025). Sin embargo, las discrepancias entre estudios en cuanto a concentración y tamaño obligan a interpretar estos parámetros con cautela, integrándolos siempre con otros marcadores moleculares (Ovčar and Kovačič, 2025).

La variabilidad en los perfiles de miRNA a lo largo del desarrollo embrionario refleja la complejidad de su papel en la señalización y el metabolismo, destacando su implicación en procesos clave como la activación del genoma embrionario o la transición materno-embriónica, lo que refuerza el potencial diagnóstico de las EV en reproducción asistida (Ovčar and Kovačič, 2025). La presencia de miRNA, DNA y transcriptos de pluripotencia en estas vesículas abre la posibilidad de utilizarlas como herramientas no invasivas, incluso para evaluar la ploidía sin necesidad de biopsia embrionaria. Su capacidad de atravesar la zona pelúcida e interactuar con células endometriales sugiere un papel en el diálogo molecular temprano que condiciona la implantación (Ovčar and Kovačič, 2025).

No obstante, la heterogeneidad metodológica en el aislamiento y análisis de EV limita su aplicación clínica, lo que subraya la necesidad de protocolos estandarizados y de optimizar los sistemas de cultivo *in vitro* para reproducir de manera más fiel el entorno fisiológico, mejorando así tanto la calidad embrionaria como la fiabilidad de las EV como biomarcadores (Ovčar and Kovačič, 2025). En este contexto, los perfiles alterados de EV en embriones aneuploides y sus efectos negativos sobre células estromales maternas evidencian que estas vesículas tienen funciones que trascienden al propio embrión, consolidando su relevancia en la selección embrionaria (Ovčar and Kovačič, 2025).

Diversos hallazgos apoyan su papel activo en la comunicación embrio-materna: la presencia predominante de exosomas en blastocistos de D5, identificados con CD9 y CD63 e internalizados por células endometriales, los miRNA vinculados con señalización de IL-6 y proliferación epitelial, así como proteínas inmunorreguladoras como HLA-G y factores de pluripotencia como POU5F1 y NANOG (Fazeli and Godakumara, 2024; Kurian and Modi, 2019; Machtinger *et al.*, 2016; Ovčar and Kovačič, 2025). Estas características refuerzan el valor de las EV como marcadores no invasivos de viabilidad y receptividad endometrial.

Por otro lado, las EV derivadas del endometrio también modulan la expresión génica en el embrión y el entorno uterino, influyendo en adhesión celular y remodelación tisular. Esta comunicación bidireccional evidencia que las EV no solo reflejan el estado de las células emisoras, sino que actúan como agentes reguladores con un prometedor potencial diagnóstico y terapéutico en medicina reproductiva (Capra and Lange-Consiglio, 2020; Greening *et al.*, 2016; Ng *et al.*, 2013).

En el contexto oncológico, se han identificado contenidos moleculares derivados de EV asociados a tumores ováricos, tanto benignos como malignos. Entre ellos destacan los miRNA, cuya expresión diferencial podría servir no solo para la detección temprana de neoplasias, sino también para distinguir entre el tipo tumoral, con importantes implicaciones diagnósticas y terapéuticas (Capra and Lange-Consiglio, 2020).

En medicina reproductiva, los miRNA presentes en EV del líquido folicular representan una vía prometedora como biomarcadores de fertilidad femenina. Factores como la AMA, la endometriosis o la exposición a disruptores endocrinos pueden modular su contenido y alterar procesos críticos como la implantación. Aunque los resultados *in vitro* refuerzan su papel activo en la comunicación embrio-materna, su validación *in vivo* en humanos y la estandarización metodológica siguen siendo necesarias (Capra and Lange-Consiglio, 2020). En conjunto, aunque todavía en fases iniciales, estos hallazgos abren la puerta a nuevas herramientas diagnósticas no invasivas tanto en medicina reproductiva humana como veterinaria, con potencial para anticipar y manejar problemas de fertilidad con

mayor precisión. También se ha explorado el uso del mitDNA como marcador de calidad embrionaria con el objetivo de sustituir las biopsias invasivas. Sin embargo, el uso de mitDNA como marcador de calidad embrionaria presenta limitaciones, debido a la posible contaminación del medio con DNA de células maternas, como las células del cúmulo. Para reducir este riesgo, se podrían aplicar protocolos de lavado más estrictos tras la retirada del cúmulo, asegurando una limpieza cuidadosa de los ovocitos antes de la fecundación (Capra and Lange-Consiglio, 2020).

Además, sería útil incorporar marcadores específicos que permitan distinguir el DNA embrionario del materno, así como emplear técnicas más precisas de cuantificación, como la PCR digital (dPCR), que aporta mayor sensibilidad y especificidad. Como estrategia complementaria, también se podría correlacionar la concentración de mitDNA con otros indicadores de calidad embrionaria, como los parámetros morfocinéticos obtenidos por sistemas de *time-lapse*, para validar si la señal mitocondrial refleja realmente el estado del embrión.

El embarazo ofrece un modelo excepcional para estudiar las EV, ya que la placenta libera vesículas con marcadores específicos (PLAP, miRNA del clúster C19MC) cuyo aumento progresivo en la circulación materna refleja su papel fisiológico. Alteraciones en este patrón se han vinculado a complicaciones como preeclampsia o diabetes gestacional, donde cambios en proteínas como sincitina-2, sFlt-1 o sEng evidencian la influencia de la hipoxia y la hiperglucemia sobre la función placentaria (Capra and Lange-Consiglio, 2020).

Así, el estudio de las EV placentarias no solo aporta información sobre la biología del embarazo sano, sino que también ofrece nuevas vías para la detección temprana y el entendimiento de complicaciones gestacionales, facilitando así intervenciones clínicas más eficaces (Capra and Lange-Consiglio, 2020).

Finalmente, estudios en bovinos han mostrado que ciertos miRNA, como miR-25, aparecen en mayor abundancia en animales con mortalidad embrionaria temprana. Estos cambios podrían estar relacionados con la pérdida gestacional al afectar la síntesis de prostaglandinas y la producción de progesterona, fundamentales para preservar el embarazo. Aunque prometedores, estos hallazgos requieren validación en humanos para su futura aplicación clínica (Capra and Lange-Consiglio, 2020).

En el ámbito de la reproducción asistida, las EV han demostrado un notable potencial terapéutico. Estudios experimentales indican que las derivadas de células madre pluripotentes o mesenquimales podrían emplearse para tratar patologías como la insuficiencia ovárica primaria o las adherencias intrauterinas, y ya existen ensayos clínicos orientados a evaluar su seguridad y eficacia (Gurung *et al.*, 2020).

Además, las EV constituyen una plataforma innovadora para el transporte de RNA, proteínas y factores de crecimiento, lo que las convierte en vehículos idóneos para terapias dirigidas a mejorar la función reproductiva. Un ejemplo relevante es el uso de MV del líquido amniótico en una yegua con infertilidad persistente, donde la administración intrauterina revirtió la endometritis crónica y permitió una gestación exitosa (Lange-Consiglio *et al.*, 2020).

Este hallazgo respalda el efecto regenerativo y antiinflamatorio de las EV, con posibles aplicaciones clínicas en humanos. También los exosomas endometriales se han vinculado al fallo de implantación, impulsando el interés de explorar nuevas estrategias basadas en EV para mejorar las tasas de embarazo, aunque aún se requieren investigaciones más amplias para su validación y aplicación segura en humanos (Lange-Consiglio *et al.*, 2020).

Los resultados en modelos animales y celulares muestran que las EV pueden modular proliferación, apoptosis y angiogénesis, lo que abre vías terapéuticas no invasivas y con menor riesgo que las intervenciones convencionales. No obstante, la heterogeneidad en su producción, aislamiento y caracterización limita la reproducibilidad, y persisten dudas sobre su biodistribución y posible inmunogenicidad (Wang *et al.*, 2022). En insuficiencia ovárica, el papel de miRNA reguladores de PI3K/AKT y Wnt/ β -catenina ofrece una base molecular prometedora, aunque aún es necesario definir la regulación temporal y dosis-efecto de estos mediadores.

El potencial rejuvenecedor sobre ovarios envejecidos resulta especialmente atractivo ante la creciente demanda de terapias frente a la infertilidad relacionada con la edad, aunque aún debe evaluarse la durabilidad y seguridad a largo plazo (He *et al.*, 2024; Martirosyan *et al.*, 2023).

En paralelo, se investiga el uso de EV para optimizar medios de cultivo embrionario y mejorar la calidad embrionaria, si bien todavía no existen ensayos clínicos que lo respalden y la complejidad del microambiente *in vitro* plantea retos importantes para su implementación práctica (Machtinger *et al.*, 2016).

Asimismo, se han descrito biomoléculas específicas en EV espermáticas y ovocitarias asociadas a motilidad, integridad del DNA, maduración y potencial de fecundación, lo que podría dar lugar a pruebas diagnósticas no invasivas para la evaluación gamética (Fazeli and Godakumara, 2024).

También las EV embrionarias se perfilan como marcadores de viabilidad, útiles para seleccionar los embriones con mayor potencial de implantación (Fazeli and Godakumara, 2024). La validación en humanos, el desarrollo de estándares regulatorios y la comprensión profunda de su mecanismo de acción serán esenciales para que estas terapias se integren efectivamente en la práctica clínica, ofreciendo nuevas esperanzas

para pacientes con infertilidad difícil de tratar. Desde el descubrimiento de sus funciones biológicas, múltiples investigaciones han profundizado en aspectos clave de las EV, como su biogénesis, composición, interacción con células diana, así como los métodos para su aislamiento y caracterización (Welsh *et al.*, 2024).

Aunque los desafíos técnicos persisten, incluyendo los tiempos de procesamiento, el limitado volumen de muestras y el conocimiento aún incompleto de su tráfico y función en entornos *in vivo*, se están desarrollando vesículas sintéticas y semisintéticas con el objetivo de optimizar su uso en aplicaciones clínicas y reproductivas (Ávila *et al.*, 2019).

Por tanto, es fundamental seguir ampliando el conocimiento sobre la biología de las EV en tejidos reproductivos. Esto permitirá avanzar hacia nuevas estrategias diagnósticas y terapéuticas que mejoren las condiciones de cultivo embrionario, la calidad de los gametos y, en última instancia, el éxito reproductivo en humanos y animales.

10. CONCLUSIONES

Las EVs juegan un papel fundamental en la regulación del microambiente reproductivo, mediando la comunicación embrión-materna y modulando procesos críticos como implantación, proliferación y diferenciación celular. Su contenido molecular (miRNA, DNA y proteínas) influye en la receptividad endometrial, la calidad ovocitaria y el desarrollo embrionario, lo que las posiciona como herramientas prometedoras tanto diagnósticas como terapéuticas en reproducción asistida.

La evidencia experimental indica que la incorporación de EV en cultivos ovocitarios y embrionarios mejora la maduración, viabilidad e implantación, y que sus perfiles moleculares pueden servir como biomarcadores no invasivos de calidad gamética y embrionaria.

Sin embargo, la heterogeneidad en los métodos de aislamiento y caracterización limita actualmente su aplicación clínica, subrayando la necesidad de estandarización y de una comprensión más profunda de su biodistribución y mecanismos de acción.

Además de su relevancia en el factor femenino, las EV derivadas de espermatozoides y plasma seminal emergen como una línea de investigación clave, capaces de influir en la capacitación espermática, la reacción acrosómica y la integridad del DNA, sugiriendo que su modulación podría complementar los tratamientos de reproducción asistida desde la perspectiva masculina.

AULA JOVEN

Aplicación de vesículas extracelulares en la mejora de los tratamientos de reproducción asistida: potencial, mecanismos y perspectivas clínicas

En conjunto, las EV representan un recurso innovador con potencial para optimizar el diagnóstico, la selección embrionaria y la terapia reproductiva.

La investigación futura debe centrarse en la estandarización de protocolos, la validación clínica, la integración del factor

masculino y femenino y la optimización de estrategias terapéuticas, con el objetivo de mejorar el éxito reproductivo y la seguridad de los pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

Akers JC, Gonda D, Kim R, Carter BS, Chen CC. Biogenesis of extracellular vesicles (EV): exosomes, microvesicles, retrovirus-like vesicles, and apoptotic bodies. *J Neurooncol* 2013;113:1–11.

Almiñana C, Corbin E, Tsikis G, Alcántara-Neto AS, Labas V, Reynaud K, et al. Oviduct extracellular vesicles protein content and their role during oviduct–embryo cross-talk. *Reproduction* 2017;154(3):253–268.

Ávila ACFCMD, Andrade GM, Bridi A, Gimenes LU, Meirelles FV, Perecin F, et al. Extracellular vesicles and its advances in female reproduction. *Animal Reproduction* 2019;16:31–38.

Capra E, Lange-Consiglio A. The Biological Function of Extracellular Vesicles during Fertilization, Early Embryo—Maternal Crosstalk and Their Involvement in Reproduction: Review and Overview. *Biomolecules* 2020;10(11):1510.

Chen X, Yang F. Classification and Nomenclature of Extracellular Vesicles. In: Wang Q, Zheng L, editors. *Extracellular Vesicles*. Singapore: Springer Nature Singapore; 2024. p. 3–7.

Cox CM, Thoma ME, Tchangelova N, Mburu G, Bornstein MJ, Johnson, CL, et al. Infertility prevalence and the methods of estimation from 1990 to 2021: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Open* 2022;2022(4):hoac051.

El Andaloussi S, Mäger I, Breakefield XO, Wood MJA. Extracellular vesicles: biology and emerging therapeutic opportunities. *Nat Rev Drug Discov* 2013;12:347–357.

Fazeli A, Godakumara K. The evolving roles of extracellular vesicles in embryo–maternal communication. *Commun Biol* 2024;7:754.

Greening DW, Nguyen HPT, Elgass K, Simpson RJ, Salamonsen LA. Human Endometrial Exosomes Contain Hormone-Specific Cargo Modulating Trophoblast Adhesive Capacity: Insights into Endometrial–Embryo Interactions. *Biol Reprod* 2016;94(2):38.

Gurung S, Greening DW, Catt S, Salamonsen L, Evans J. Exosomes and soluble secretome from hormone-treated endometrial epithelial cells direct embryo implantation. *Mol Hum Reprod* 2020;26:510–520.

He J, Ao C, Li M, Deng T, Zheng S, Zhang K, et al. Clusterin-carrying extracellular vesicles derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells restore the ovarian function of premature ovarian failure mice through activating the PI3K/AKT pathway. *Stem Cell Res Ther* 2024;15:300.

Kurian NK, Modi D. Extracellular vesicle mediated embryo–endometrial cross talk during implantation and in pregnancy. *J Assist Reprod Genet* 2019;36:189–198.

Kusama K, Nakamura K, Bai R, Nagaoka K, Sakurai T, Imakawa K. Intrauterine exosomes are required for bovine conceptus implantation. *Biochem Biophys Res Commun* 2018;495:1370–1375.

Lange-Consiglio A, Funghi F, Cantile C, Idda A, Cremonesi F, Riccaboni P. Case Report: Use of Amniotic Microvesicles for Regenerative Medicine Treatment of a Mare With Chronic Endometritis. *Frontiers in Veterinary Science* 2020;7:347.

Machtinger R, Laurent LC, Baccarelli AA. Extracellular vesicles: roles in gamete maturation, fertilization and embryo implantation. *Hum Reprod Update* 2016;22:182–193.

Martirosyan YO, Silachev DN, Nazarenko TA, Birukova AM, Vishnyakova PA, Sukhikh GT. Stem-Cell-Derived Extracellular Vesicles: Unlocking New Possibilities for Treating Diminished Ovarian Reserve and Premature Ovarian Insufficiency. *Life* 2023;13:2247.

Ng YH, Rome S, Jalabert A, Forterre A, Singh H, Hincks CL, et al. Endometrial Exosomes/Microvesicles in the Uterine Microenvironment: A New Paradigm for Embryo–Endometrial Cross Talk at Implantation. *PLoS One* 2013;8:e58502.

Ovčar A, Kovačič B. Biogenesis of Extracellular Vesicles (EVs) and the Potential Use of Embryo-Derived EVs in Medically Assisted Reproduction. *Int J Mol Sci* 2025;26:42.

Van Niel G, D'Angelo G, Raposo G. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2018;19:213–228.

AULA JOVEN

Aplicación de vesículas extracelulares en la mejora de los tratamientos de reproducción asistida: potencial, mecanismos y perspectivas clínicas

Wang X, Wu J, Xie Y, Liu Y, Feng W, Zhang L, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles facilitate endometrial injury repair by carrying the E3 ubiquitin ligase WWP1. *Biochemistry Cell Biology* 2022;100:357–369.

Welsh JA, Goberdhan DCI, O'Driscoll L, Buzas EI, Blenkiron C, Busso-lati B, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles (MISEV2023): From basic to advanced approaches. *J Extracell Vesicles* 2024;13:e12404.

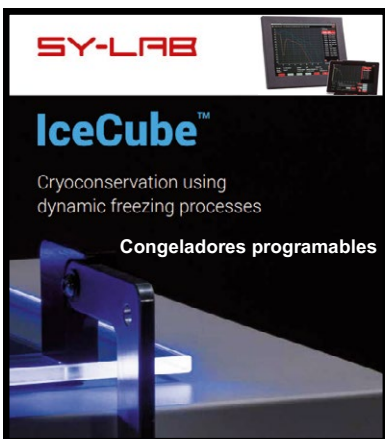
Yáñez-Mó M, Siljander PR-M, Andreu Z, Zavec AB, Borràs FE, Buzas EI, et al. Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions. *J Extracell Vesicles* 2015;4:27066.

Yu J, Sane S, Kim J-E, Yun S, Kim H-J, Jo KB, et al. Biogenesis and delivery of extracellular vesicles: harnessing the power of EVs for diagnostics and therapeutics. *Frontiers in Molecular Biosciences* 2024;10:1330400.

Zaborowski MP, Balaj L, Breakefield XO, Lai CP. Extracellular Vesicles: Composition, Biological Relevance, and Methods of Study. *Bioscience* 2015;65:783–797.

Zhang Y, Lan M, Chen Y. Minimal Information for Studies of Extracellular Vesicles (MISEV): Ten-Year Evolution (2014–2023). *Pharmaceutics* 2024;16:1394.

CRIOPRESERVACIÓN



27 años prestando servicios de máxima calidad

www.cryogas.es

933 847 116

cryo@cryogas.es



DIAGNÓSTICO GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL NO INVASIVO: UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA

NON INVASIVE DIAGNOSTIC PREIMPLANTATION TESTING: A SYSTEMATIC REVIEW

Regina Ruiz, Ricardo Frade, Ariane Weiser, Gabriela García, Milady Isabel Banegas
Clinica Nascere

Autora de correspondencia:
Regina Ruiz regina.rulo@hotmail.com

► RESUMEN

Antecedentes: Los avances en la metodología de las técnicas de reproducción asistida han permitido mejorar la tasa de recién nacidos vivos, esto se debe principalmente a la implementación de herramientas que nos permiten analizar el estatus genético del embrión a través del diagnóstico genético preimplantacional. El diagnóstico genético preimplantacional no invasivo es un método en desarrollo que muestra promesa para convertirse en el *gold standard* en un futuro. Diversos estudios han mostrado concordancia similar en los resultados obtenidos por este método a los obtenidos por biopsia de trofoectodermo. Los esfuerzos se han enfocado en estudiar esta metodología ya que representa la oportunidad de conocer el contenido genético del embrión a un menor costo debido a que no requiere de instrumentos ni capacitación especializada, haciéndolo más accesible y disminuyendo los riesgos que representen la toma de biopsia embrionaria.

Objetivo: Realizar una evaluación de la literatura para analizar las bases del diagnóstico genético preimplantacional, los tipos de diagnóstico genético preimplantacional, las bases del diagnóstico genético preimplantacional no invasivo, ventajas y desventajas del diagnóstico genético preimplantacional no invasivo.

Metodología: Se realizó una búsqueda sistemática en las bases de datos: PubMed, Science Direct, Elsevier y BMC. Se utilizaron las siguientes palabras clave: cfDNA, medio de cultivo, miRNA, PGT, PGT-A, biopsia de trofoectodermo, biopsia, blastocentesis, blastocele, líquido de blastocele, aCGH, NSG, aneuploidía, FISH, spent blastocist media.

Conclusión: El diagnóstico genético preimplantacional no invasivo parece tener un alto potencial para su aplicación clínica, sin embargo, se requiere continuar estudiando para lograr estandarizar la metodología y permitir la aplicación generalizada de esta nueva técnica.

Palabras clave: cfDNA, medio de cultivo, miRNA, PGT, PGT-A, biopsia de trofoectodermo, biopsia, blastocentesis, blastocele, líquido de blastocele, aCGH, NSG, aneuploidía, FISH, medio de cultivo de embriones gastados.

Key words: cfDNA, culture medium, miRNA, PGT, PGT-A, trophoctoderm biopsy, biopsy, blastocentesis, blastocoel, aCGH, NSG, aneuploidy, FISH, spent blastocist médium.

► ABSTRACT

Background: Advances in assisted reproductive technology (ART) methodologies have led to improved live birth rates, largely due to the implementation of tools that enable assessment of the embryo's genetic status through preimplantation genetic testing (PGT). Non-invasive preimplantation genetic testing (niPGT) is an emerging approach that shows promise as a future gold standard. Several studies have reported levels of concordance comparable to those obtained through trophoctoderm biopsy. Research efforts have focused on this methodology because it offers the opportunity to evaluate embryonic genetic content at a lower cost, as it does not require specialized equipment or training. Consequently, niPGT may increase accessibility while reducing the risks associated with embryonic biopsy procedures.

Objective: To review the literature and analyze the principles of preimplantation genetic testing, the different types of PGT, the foundations of non-invasive preimplantation genetic testing, and the advantages and limitations of this emerging approach.

Methods: A systematic literature search was conducted using the PubMed, ScienceDirect, Elsevier, and BMC databases. The following keywords were used: cfDNA, culture medium, miRNA, PGT, PGT-A, trophoctoderm biopsy, biopsy, blastocentesis, blastocoel, blastocoelic fluid, aCGH, NGS, aneuploidy, FISH, and spent blastocyst culture medium.

Conclusion: Non-invasive preimplantation genetic testing appears to have significant potential for clinical application. However, further research is required to standardize the methodology and facilitate the widespread implementation of this novel technique.

Keywords: cfDNA, culture medium, miRNA, PGT, PGT-A, trophoctoderm biopsy, biopsy, blastocentesis, blastocoel, blastocoelic fluid, aCGH, NGS, aneuploidy, FISH, spent blastocyst culture medium.

INTRODUCCIÓN

Los avances en la metodología de las técnicas de reproducción asistida han permitido mejorar la tasa de recién nacidos vivos, esto se debe principalmente a la implementación de herramientas que nos permiten analizar el estatus genético del embrión a través del diagnóstico genético preimplantacional (PGT).

El objetivo del diagnóstico genético preimplantacional es disminuir la posibilidad de tener un embarazo alterado y de incrementar el éxito de las técnicas de reproducción asistida. El PGT por biopsia de trofoectodermo es el *gold standard* en la actualidad, sin embargo, al ser una técnica invasiva, requiere de tecnología y personal capacitado, convirtiéndolo en una técnica costosa y que conlleva riesgos debido a la manipulación del embrión.

Recientemente los esfuerzos han sido enfocados en el estudio del DNA libre circulante (cfDNA) liberado por el blastocisto en el medio de cultivo donde es desarrollado, con el objetivo de encontrar un método confiable, efectivo y menos costoso, que consiga darnos la misma información que el PGT sin la necesidad de realizar una biopsia de trofoectodermo. Esta técnica es conocida como diagnóstico genético preimplantacional no invasivo (niPGT).

Existen países como son Suiza, Alemania e Italia, en los que el PGT por biopsia no es permitido, por lo que encontrar una técnica que permita el análisis genético preimplantacional de los embriones es muy importante (Dawson *et al.*, 2006)

En 2019, Zhang *et al.*, realizaron un estudio en el cual reportaron una relación entre la toma de biopsia de trofoectodermo y el desarrollo de preeclampsia en el embarazo, encontrando que este riesgo es tres veces mayor en los casos en los que se realizó PGT-A invasivo. El conocimiento de estos riesgos ha impulsado aún más el desarrollo de una técnica no invasiva. (Zhang *et al.*, 2019)

La implementación del niPGT en la práctica clínica es debatida, existen diversas lagunas de conocimiento, dentro de las principales se encuentran: origen del cfDNA, metodología y reproducibilidad de la técnica, tiempo de exposición del embrión al medio, concordancia de los resultados al compararlos con los obtenidos por biopsia (Del Collado *et al.*, 2023).

TIPOS DE DIAGNÓSTICO GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL

PGT-A: TEST GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL PARA ANEUPLOIDÍAS

Se utiliza para detectar los embriones que tienen el número correcto de cromosomas, euploidía, dándoles un mayor potencial para generar un embarazo. Se define como aneuploidía cuando se encuentra una alteración cromosómica, ya sea una monosomía o una trisomía. Se define como mosaico cuando dos o más líneas celulares con diferente contenido cromosómico están presentes simultáneamente (Viotti *et al.*, 2021).

PGT-M: TEST GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL PARA DESÓRDENES MONOGÉNICOS

Se utiliza para valorar al embrión para un desorden causado por un único gen, del cual se conoce la localización exacta (De Rycke *et al.*, 2020).

PGT-SR: TEST GENÉTICO PREIMPLANTACIONAL PARA REARREGLOS ESTRUCTURALES

Los rearreglos cromosómicos, también conocidos como translocaciones balanceadas, generan gametos con cromosomas desbalanceados que resultan en cigotos alterados. Las parejas portadoras de translocaciones balanceadas tienen riesgo de generar un embrión con la cantidad incorrecta de material genético, lo que comúnmente resulta en aborto (Priya *et al.*, 2018).

ANTECEDENTES DEL PGT- A

Del 20 % al 80 % de los embriones presentan algún tipo de aneuploidía, siendo el factor más importante la edad materna. Estas aneuploidías dan como consecuencia falla en la implantación o abortos espontáneos (Capalbo *et al.*, 2016). Inicialmente se dependía de una valoración morfológica del embrión, decidiendo transferir el embrión con mejor calificación. Posteriormente se utilizó la valoración morfocinética del embrión. Diversos estudios reportan que no existe una correlación entre la morfocinética y la presencia de aneuploidías. (Navarro-Sánchez *et al.*, 2022).

Melzer *et al.*, realizaron un estudio para analizar si el uso de *time lapse*, que permite valorar la morfología del embrión en diferentes momentos o continuamente, permite predecir la euploidía. Se observaron 10 embriones con dos pronúcleos hasta el día 5 de desarrollo, 9 embriones se desarrollaron hasta etapa de blastocisto. Se realizó biopsia de trofoectodermo en día 5 y posterior análisis utilizando hibridación genómica comparativa por arrays (aCGH). Los resultados del PGT-A

mostraron euploidía en 5 de los 9 embriones. Durante este tiempo se registró la morfología y los puntos morfocinéticos claves, esto fue valorado por 7 embriólogos, concluyendo en diferentes opiniones. La conclusión fue que la morfología no es predictiva de euploidía, los eventos morfocinéticos, a excepción de la compactación temprana, no son sugestivos de aneuploidía (Melzer *et al.*, 2012).

El diagnóstico genético preimplantacional permite valorar aneuploidías cromosómicas, que son un factor importante que contribuyen en la falla de implantación y pérdida gestacional. La combinación de valoración morfológica + PGT-A permite determinar cuál es el blasto con mayor posibilidad de implantación, incrementa la tasa de embarazo, reduce el tiempo para lograr un embarazo, disminuye el número de transferencias necesarias, la tasa de aborto y los costos involucrados en los tratamientos de fertilización *in vitro* (Fiorentino *et al.*, 2014).

El PGT-A puede realizarse en diferentes etapas del desarrollo embrionario, incluyendo el primer y segundo cuerpo polar, blastómeras provenientes del embrión en etapa de clivaje de día 3 y trofoectodermo, sin embargo, todas estas requieren de una toma de biopsia. El PGT-A más comúnmente se obtiene de una biopsia del trofoectodermo del blastocisto que permite el análisis por secuenciación de nueva generación (NGS) y supone el menor daño al embrión, no obstante, se han descrito eventos adversos como (Kakourou *et al.*, 2022):

- Un efecto negativo en la implantación asociado al número de células biopsiadas.
- Incapacidad de probar ploidía de todo el embrión por el número de células tomadas en embriones mosaico.
- Mayor incidencia de enfermedad hipertensiva en el embarazo.

Más recientemente se ha sugerido la blastocentesis como una técnica menos invasiva para la selección embrionaria. Este proceso requiere aspirar el fluido del blastocelo cuando el blasto se encuentra expandido, sin tomar células embrionarias. Las desventajas que presenta esta técnica son (Navarro-Sánchez *et al.*, 2022):

- El DNA que se encuentra en el fluido proviene de células necróticas o apoptóticas que comprometen la integridad y calidad del DNA.
- Existe una variación significativa en las tasas de amplificación y concordancia al comparar los resultados con los obtenidos por biopsia de trofoectodermo.

Zhang *et al.* realizaron un estudio para explorar un nuevo sistema de clasificación embrionaria basado en la combinación de la copia de copias de cromosomas y las copias mitocondriales obtenidas del análisis de DNA extraído de cultivo embrionario combinado con fluido de blastocoel,

comparándolo con el estudio del embrión completo. Esto con base en estudios que han reportado que los embriones pueden secretar niveles de DNA genómico y altos niveles de DNA mitocondrial (Hammond *et al.*, 2017). Se cultivaron 83 embriones a día 5/6, obteniendo 32 blastocistos. Se recolectó medio de cultivo y líquido de blastocele 24 horas antes de la formación del blastocisto, realizando una perforación de la zona pelúcida con láser para la liberación del líquido del blastocele en el medio de cultivo. El medio de cultivo fue cambiado cada 24 horas. Se realizó amplificación del DNA genómico y DNA mitocondrial, se analizó utilizando secuenciación de nueva generación. En cuanto a morfología, los embriones fueron clasificados utilizando las recomendaciones de Gardner y Schoolcraft, únicamente los embriones clasificados como 3BB o más alto fueron considerados con alta calidad. Se logró la amplificación y secuenciación de 31 blastocistos.

Al comparar los números en las copias de cromosomas, 18/27 blastocistos (66,7 %) mostraron resultados concordantes al comparar con la técnica menos invasiva con los resultados del embrión completo. Se detectó DNA mitocondrial en 26 de las muestras extraídas del embrión completo y del medio de cultivo. A través de una regresión lineal encontraron que el número de copias de DNA mitocondrial encontradas en el medio de cultivo tienen una relación directa con el número de copias de DNA mitocondrial del blastocisto completo ($p = 0,001$), edad materna ($p = 0,012$) y clasificación embrionaria ($p = 0,014$), sin embargo, no se encontró una correlación con el contenido cromosómico del blastocisto ($p = 0,138$). Zhang *et al.*, encontraron que el DNA del medio de cultivo fue concordante con el estudio de 18 embriones completos, mientras que 9 no lo fueron. El mejor día para recolectar el DNA circulante es en día 6 con un porcentaje de 88,5 %. Identificaron como el principal problema el que diferentes autores tienen diferentes definiciones en cuanto a concordancia entre las muestras. También identificaron como desventaja, la falta de homogeneidad entre los embriones utilizados en los estudios ya que entre menor calidad, mayor secreción de DNA al medio de cultivo por apoptosis. (Zhang *et al.*, 2019).

Todas las técnicas mencionadas previamente requieren de la manipulación del embrión y de la perforación de la zona pelúcida. Esto requiere de un mayor costo, debido a la tecnología necesaria y al mayor nivel de entrenamiento (Navarro-Sánchez *et al.*, 2022).

Actualmente el PGT-A obtenido por biopsia de trofoectodermo seguido de un análisis de secuenciación de nueva generación se mantiene como el *gold standard* (Hawke *et al.*, 2021).

BASES DEL NIPGT-A

Desde el 2011, el tamizaje prenatal no invasivo ha revolucionado la forma en que el obstetra valora y maneja a la paciente embarazada a través del estudio de DNA fetal en sangre

materna. Este método ha demostrado que tiene una alta sensibilidad, especificidad y valor predictivo negativo para la detección de aneuploidías. El DNA fetal entra a la circulación materna por la regeneración celular durante el desarrollo fetal y placentario (Bianchi *et al.*, 2014).

El descubrimiento de DNA libre circulante en el medio de cultivo abrió la puerta a la posible determinación de ploidía embrionaria con un método no invasivo (Handayani *et al.*, 2023).

El DNA libre circulante es una fracción de material genético presente en el medio de cultivo donde se desarrollan los embriones que se puede aislar y secuenciar, esto ha dado resultados que han demostrado alta concordancia con los obtenidos por PGT-A invasivo en varios estudios (Rubio *et al.*, 2020).

Vera-Rodríguez *et al.*, realizaron un estudio en el cual llevaron a cabo un análisis cromosómico del DNA libre circulante en el medio de cultivo, secuenciación de polimorfismos de una sola base (SNP) para identificar contaminación materna y análisis del blastocisto completo para el estudio de mosaicos, esto permitió tener un mejor entendimiento del origen del DNA libre circulante (Vera-Rodríguez *et al.*, 2018). Hammond *et al.*, establecieron la hipótesis que las moléculas de DNA son secretadas al medio del cultivo por el embrión y sugirió que este DNA se origina de células que son depuradas como un mecanismo de corrección en caso de aneuploidía (Hammond *et al.*, 2017).

Sin embargo, en este estudio encontraron que el porcentaje de DNA libre circulante no es mayor en el medio de cultivo correspondiente a embriones aneuploides. Al comparar el contenido cromosómico del medio de cultivo con el del trofoectodermo del mismo embrión, encontraron que el 61% de las muestras presentó contaminación materna. También encontraron que los resultados que mostraron aneuploidía, existe una diferencia en el cromosoma alterado, según el origen de la muestra (medio de cultivo vs. trofoectodermo). Al realizar el análisis de SNP encontraron que el porcentaje de DNA en el medio de cultivo variaba entre 0 % y 100 %, lo que sugiere que el genoma embrionario no está representado uniformemente en el medio de cultivo de cada uno de los embriones (Vera-Rodríguez *et al.*, 2018).

No se sabe con exactitud de dónde proviene el DNA libre circulante que se encuentra en el medio de cultivo. Se cree que la apoptosis durante el periodo de implantación, especialmente en la implantación tardía, juega un rol ya que durante la rápida transformación del embrión, existe ganancia y pérdida celular, pudiendo provenir tanto del trofoectodermo como de la masa celular interna (Navarro-Sánchez *et al.*, 2022).

En el niPGT, el cfDNA se recolecta del medio de cultivo, se amplifica y se realiza secuenciación de nueva generación o se analiza utilizando hibridación genómica comparativa por arrays (aCGH) (Del Collado *et al.*, 2023).

VENTAJAS Y DEVENTAJAS DEL NIPGT-A

Antes de realizar una revisión de los estudios que han analizado la posible efectividad del diagnóstico genético preimplantacional no invasivo, es necesario realizar una revisión de conceptos importantes utilizados para realizar el comparativo de esta técnica con los controles con los que fueron comparados, al cual se le hace referencia de concordancia (Kuznyetsov *et al.*, 2020).

- Concordancia total: cuando el estatus de los cromosomas en ambas muestras es igual.
- Concordancia parcial: cuando el estatus de los cromosomas difiere entre las muestras, pero es aneuploide en ambas.
- Tasa de falso positivo: DNA libre circulante del medio de cultivo es aneuploide y la muestra de referencia es euploide.
- Tasa de falso negativo: DNA libre circulante del medio de cultivo es euploide y la muestra de referencia en aneuploide.

Con base en la hipótesis que hay DNA libre circulante desde el inicio del desarrollo embrionario, Shamonki *et al.*, 2016, decidieron demostrar que se puede encontrar este DNA en el medio de cultivo donde se ha desarrollado el embrión. Fue un estudio realizado en la Universidad de California, los participantes fueron notificados de que se realizarían dos exámenes a los embriones, la biopsia de trofoectodermo y el análisis del DNA libre circulante en el medio de cultivo con el propósito de comparar los resultados. Se incluyeron 7 pacientes con edades entre 25 y 42 años, la edad de la pareja variaba entre 31 y 54 años; esto resultó en el estudio de 57 embriones. Se realizó eclosión asistida de los embriones en el día 3, en día 5 de desarrollo se amplificó el DNA libre circulante del medio de cultivo por dos horas, encontrando que 55/57 muestras tenían DNA detectable, solo 6/55 mostraron niveles de DNA superiores.

Las 6 muestras con niveles superiores de DNA se sometieron a aCGH, solo 1/6 mostró resultados idénticos a la biopsia de trofoectodermo. Las 5 muestras restantes se amplificaron por una hora extra, solo 1/5 mostró el mismo resultado que la biopsia de trofoectodermo. Shamonki *et al.*, lograron demostrar que existe DNA libre circulante en el medio de cultivo tan temprano como el día 3 de desarrollo, sin embargo, la cantidad de DNA detectado fue insuficiente en 53/55 de los casos, concluyendo que se requiere mejorar la técnica de recolección, amplificación y análisis para lograr un método de tamizaje efectivo con resultados equivalentes a la biopsia de trofoectodermo (Shamonki *et al.*, 2016).

Xu *et al.*, realizaron un estudio que incluyó 42 embriones con el objetivo de realizar un tamizaje cromosómico no invasivo

obtenido de DNA libre circulante del cultivo embrionario y compararlo con embriones completos de día 5. El DNA libre circulante se obtuvo en el día 5, posteriormente fue amplificado y analizado con secuenciación de nueva generación. Simultáneamente se realizó el mismo análisis de los embriones completos. Al analizar el embrión completo, 25/42 mostraron euploidía, 21/25 mostraron concordancia con el resultado obtenido por el tamizaje no invasivo. Los 4 restantes mostraron un falso positivo.

Del análisis del embrión completo, 17/42 resultaron en aneuploidía, 15/17 mostraron concordancia con el tamizaje no invasivo. Los dos restantes presentaron un falso negativo. 4/42 mostraron resultados compatibles con mosaicos en ambos estudios. Al realizar la comparación entre las dos metodologías, encontraron que el tamizaje no invasivo presenta un valor predictivo positivo de 78,9 % y un valor predictivo negativo de 91,3 %. Se reportó como posible explicación para los falsos negativos contaminación materna por presencia de células de cumulus. Los falsos positivos fueron explicados por la presencia de posible mosaicismo. El alto valor predictivo negativo del tamizaje no invasivo indica que es una metodología efectiva para la selección de embriones sanos, transferibles. En caso de encontrar resultados anormales, proponen confirmar el resultado por biopsia de trofoectodermo (Xu *et al.*, 2016).

Rubio *et al.*, realizaron un estudio multicéntrico en el cual se estudiaron 1.301 embriones con el objetivo de valorar la concordancia entre biopsias de trofoectodermo y DNA libre circulante. El estudio se llevó a cabo en 8 centros de fertilización en 4 continentes. Los embriones fueron estudiados en día 6/7, estos se obtuvieron de 406 ciclos de *in vitro*, de un total de 371 pacientes con edad entre 20 y 44 años. Se realizó ICSI o fertilización *in vitro* convencional, no se permitió la eclosión asistida ni la vitrificación previa a la toma de muestra de DNA en el medio de cultivo. Los embriones permanecieron en el mismo medio hasta el día 4, y fueron cambiados a un nuevo medio del día 4 al 6/7.

Posterior a la toma de muestra del medio de cultivo se realizó la toma de biopsia de trofoectodermo y posterior vitrificación del blastocisto. La indicación del PGT-A en 66,2 % de los casos fue edad materna avanzada. 91,2 % de las muestras de DNA libre circulante en el medio de cultivo fueron obtenidas en el día 6 de desarrollo. 34/1301 (2,6 %) muestras de DNA libre circulante presentaron falla en la amplificación, 14/1.301 (1,1 %) de las biopsias de trofoectodermo presentaron falla en la amplificación.

Se obtuvo un resultado no informativo en 70/1301 (5,4 %) utilizando DNA libre circulante, 26/1301 (2,0 %) utilizando biopsia de trofoectodermo. Se encontró una tasa de concordancia en la ploidía entre ambos grupos del 78,2 % (866/1.108), 1,1 % (13/1.108) de las muestras mostraron concordancia en euploidía, pero discordancia en los cromosomas sexuales.

AULA JOVEN

Diagnóstico genético preimplantacional no invasivo: una revisión sistemática

Se encontró concordancia total en 67,7 % de las muestras, concordancia parcial en 10,5 % de las muestras. La concordancia general para trisomías fue del 77,3 % y para monosomías del 70,1 %. Realizaron un análisis para valorar el efecto de la edad materna sobre la tasa de concordancia, notando que esta incrementa conforme la edad materna aumenta, siendo de 75,3 % en el grupo de menores de 30 años, 76,6 % en el grupo de 31-35 años, 77,6 % en el grupo de 36-38 años, 79,9 % en el grupo de 39-40 años y 84,7 % en el grupo de 41-44 años ($p = 0,02$). No se encontró una diferencia significativa al analizar el efecto del medio de cultivo y marca de incubadora sobre la tasa de concordancia. Se realizó un análisis multivariado para estudiar el efecto del protocolo de estimulación, condiciones culturales y calidad embrionaria sobre la tasa de concordancia sin encontrar diferencias significativas (Rubio *et al.*, 2020).

Los 8 centros de fertilidad que participaron en este estudio demostraron que el diagnóstico genético preimplantacional es reproducible a pesar de que las condiciones varían en los laboratorios ya que no se encontraron diferencias significativas en los resultados (Tabla I).

Con el objetivo de estudiar el origen del DNA libre circulante, se estudiaron 81 embriones determinados como aneuploides por biopsia de trofoectodermo que fueron donados para estudio. Se realizaron estudios de concordancia con DNA libre circulante obtenido del medio de cultivo y por biopsia de la masa celular interna.

Se encontró concordancia entre el DNA libre circulante y las biopsias de trofoectodermo en 87,7 % de los casos y con la biopsia de masa celular interna en el 84,4 % de los casos. Los resultados que mostraron discordancia resultaron en mosaicismo o contaminación materna.

La concordancia del DNA libre circulante con ambas biopsias sugiere que el DNA libre circulante puede provenir tanto del

trofoectodermo como de la masa celular interna (Tabla II). Cinnioglu *et al.*, realizaron una revisión sistemática, en la cual analizaron la concordancia entre los resultados obtenidos por niPGT-A y PGT-A, utilizando dos conceptos:

- Concordancia general: ambas muestras fueron euploides o aneuploides.
- Concordancia total: la aneuploidía de ambas muestras coincide exactamente en el mismo cromosoma.

Dentro de su revisión incluyeron 20 estudios (Tabla III), los cuales fueron subclasificados según si existió algún tipo de manipulación de los embriones para favorecer la liberación del cfDNA al medio de cultivo en: ninguna manipulación, eclosión asistida, eclosión asistida + vitrificación, vitrificación y colapso del blastocelo. De los 5 estudios en los cuales no existió ningún tipo de manipulación, existió un promedio de concordancia general del 75,37 %. 9 estudios utilizaron eclosión asistida, presentando un promedio de concordancia general del 70,88 %. Únicamente un estudio describió haber utilizado eclosión asistida + vitrificación, con un promedio de concordancia general de 89,1 %.

Un estudio utilizó vitrificación con un promedio de concordancia general del 85,7 %. El único estudio que fue incluido que utilizó colapso del blastocelo mostró un promedio de concordancia general del 96,4 % (Cinnioglu *et al.*, 2023).

BIOMARCADORES EMERGENTES

Junto con el estudio de DNA libre circulante, también se han encontrado otros biomarcadores que en un futuro podrían ayudar a predecir la calidad y el potencial implantatorio, estos son (Tomic *et al.*, 2022): El primero de estos, son las vesículas extracelulares. Estas son nanopartículas biológicas formadas por una bicapa de lípidos que les permite cruzar la membrana celular. Las vesículas extracelulares son liberadas en todas las etapas del desarrollo preimplantacional y son capaces de cruzar la zona pelúcida.

TABLE 2

Percentages of concordance between TE biopsies and embryonic cfDNA, sensitivity, specificity, PPV, and NPV per center

Statistical measures	Center 1	Center 2	Center 3	Center 4	Center 5	Center 6	Center 7	Center 8	Total
Concordance	75.6	77.1	81.8	86.3	84.2	85.0	72.5	77.0	78.2
Sensitivity	80.5	84.8	88.2	86.7	91.3	76.7	76.5	78.9	81.7
Specificity	69.9	72.7	85.2	87.5	80.0	93.3	64.7	78.1	77.4
PPV	83.7	66.9	79.0	74.3	87.5	92.0	81.3	65.1	75.0
NPV	65.2	88.0	92.0	94.0	85.7	80.0	57.9	87.7	83.6

cfDNA, cell-free DNA; NPV, negative predictive value; PPV, positive predictive value; TE, trophoctoderm.
Rubio. Embryonic cell-free DNA released to the spent blastocyst media. *Am J Obstet Gynecol* 2020.

Tabla I (Rubio *et al.*, 2020). Esta tabla muestra los porcentajes de concordancia entre las biopsias de trofoectodermo y el ADN embrionario obtenido del medio de cultivo.

AULA JOVEN

Diagnóstico genético preimplantacional no invasivo: una revisión sistemática

Los exomas, que son un tipo de vesícula extracelular, actúan como un factor paracrino que les permite modular el desarrollo embrionario según el medio de cultivo.

El segundo, son microRNA, moléculas de RNA no codificadas de hasta 22 nucleótidos, estos son estables y de un reconocimiento fácil. Existen aproximadamente 135 moléculas diferentes de microRNA presentes en el medio de cultivo que tienen un rol importante en el desarrollo embrionario.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se llevó a cabo una **revisión sistemática** siguiendo las directrices establecidas en el protocolo **PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses)**. Se realizó una búsqueda exhaustiva de la literatura en las siguientes bases de datos y metabuscadores: **PubMed, ScienceDirect, Elsevier y BMC**.




La búsqueda incluyó artículos publicados hasta la fecha de corte, sin restricción de idioma.

La estrategia de búsqueda se diseñó mediante la combinación de las siguientes **palabras clave** y sus sinónimos, utilizando operadores booleanos (**AND y OR**) para maximizar la sensibilidad de la búsqueda:

- **Grupo 1 (Diagnóstico Genético):** PGT, PGT-A, aCGH, NGS, FISH, aneuploidy.
- **Grupo 2 (Muestras Biológicas):** cfDNA, blastocyst media, blastocentesis, blastocele, blastocyst fluid, trophoctoderm biopsy, biopsy.
- **Grupo 3 (Contexto de Cultivo y Microambiente):** culture media, blastocyst media.

Las combinaciones de búsqueda se construyeron de la siguiente manera: (**Grupo 1**) **AND** (**Grupo 2**). Los resultados obtenidos fueron gestionados en un software de gestión de referencias para eliminar duplicados y facilitar el proceso de cribado (Gráfica 1).

TABLE 3
Concordance rates between embryonic cfDNA from SBM, ICM, and TE biopsies

		SBM vs TE	SBM vs ICM	TE vs ICM
Results				
	ICM biopsies, N	81	81	81
Informativity	Informative ICM	—	73/81 (90.1)	73/81 (90.1)
	Informative TE	79/81 (97.5)	—	79/81 (97.5)
	Informative SBM	73/81 (90.1)	73/81 (90.1)	—
	Informative all	64/81 (79.0)	64/81 (79.0)	64/81 (79.0)
Embryo concordances	Global concordance	56/64 (87.5)	54/64 (84.4)	56/64 (87.5)
	Concordance for all chromosomes	44/64 (68.8)	44/64 (68.8)	48/64 (75.0)
	Concordance for some chromosomes	12/64 (18.7)	10/64 (15.6)	8/64 (12.5)
Embryo discordances	False-positive rate	0	4/64 (6.2)	7/64 (10.9)
	False-negative rate	8/64 (12.5)	6/64 (9.4)	1/64 (1.6)
	Only sex discordance euploid	0	0	0
Contamination	Maternal contamination	8/64 (12.5)	8/64 (12.5)	0
	Male contamination	0	0	0
	Polar body contamination	0	0	0

Values are provided as n/N (%) unless indicated otherwise.

No significant differences in concordance rates among groups. Maternal and male contamination identified when discordant sex was observed in SBM compared with TE and ICM.

cfDNA, cell-free DNA; ICM, inner cell mass; SBM, spent blastocyst medium; TE, trophoctoderm.

Rubio et al. Embryonic cell-free DNA released to the spent blastocyst media. Am J Obstet Gynecol 2020.

Tabla II (Rubio et al., 2017). Esta tabla muestra la concordancia entre el ADN embrionario obtenido de muestras de trofoectodermo, medio de cultivo y masa celular interna.

AULA JOVEN

Diagnóstico genético preimplantacional no invasivo: una revisión sistemática

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Los artículos se seleccionaron en dos fases. En la primera fase, se realizó una revisión de títulos y resúmenes para identificar estudios potencialmente relevantes. En la segunda fase, se evaluó el texto completo de los artículos seleccionados para determinar su elegibilidad.

Los criterios de inclusión y exclusión fueron establecidos previamente.

- **Criterios de Inclusión:** estudios que incluyeran las palabras clave, estudios que compararan diagnóstico preimplantacional con técnicas invasivas con no invasivas.
- **Criterios de Exclusión:** todos los estudios que no incluyeran las palabras clave establecidas, estudios duplicados.

DISCUSIÓN

Los estudios reportados sobre el diagnóstico genético preimplantacional no invasivo muestran resultados prometedores,

no obstante, estos estudios muestran falta de homogeneidad que debe de ser considerada para generalizar su aplicación clínica.

La metodología utilizada en cada uno muestra variaciones, como fueron recambio del medio de cultivo diariamente *versus* cambio del medio únicamente en el día 4 y posteriormente mantenerlo hasta la recolección como una técnica para disminuir la contaminación responsable de los falsos negativos.

Otras variaciones fueron si existió manipulación o no del embrión como eclosión asistida y el día en el que las muestras fueron recolectadas, la mayoría de los autores reportan la recolección en el día 5/6, mientras Rubio *et al.*, así como Zhang *et al.*, determinaron que la recolección del DNA libre circulante es más efectiva cuando se efectúa en el día 6.

Lo que lleva al siguiente punto, mientras esta técnica no muestre niveles de concordancia estadísticamente significativos y los resultados tengan que ser confirmados por biopsia de trofoectodermo como fue sugerido por Xu *et al.*, esto

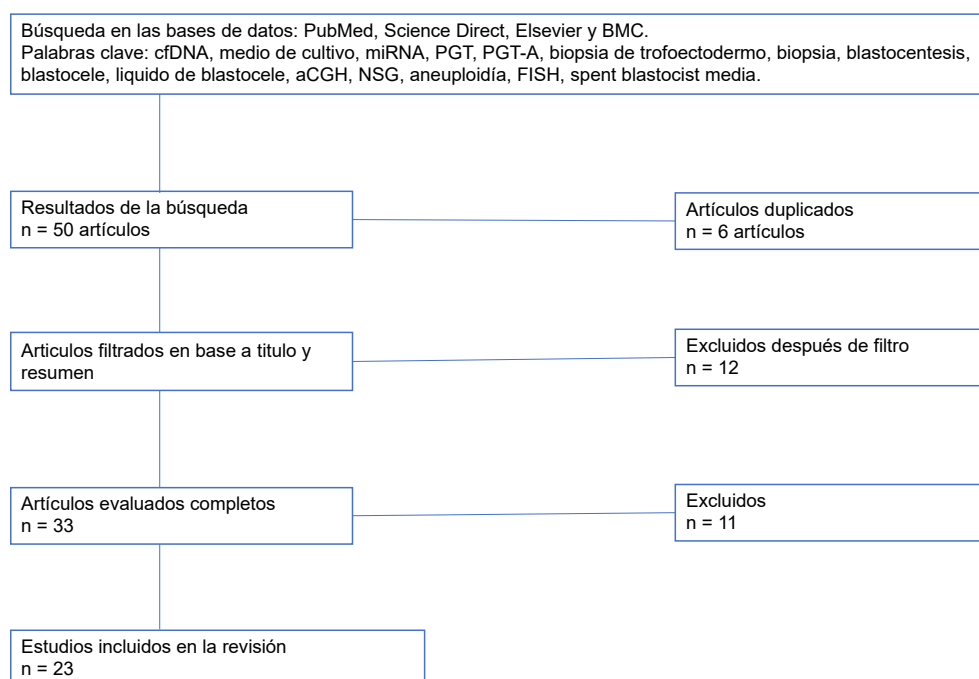
Studies providing result concordance rates between trophectoderm biopsy and noninvasive sampling.				
Manipulation before collection	Study	Culture time	Manipulation details	General concordance (%)
None	Galluzzi et al. ¹⁵ (2015)	D0-D3 (3 d)	-	1/2 (50)
		D3-D5/6 (2-3 d)	-	2/2 (100)
		D3-D5/6 (2-3 d)	-	5/5 (100)
	Liu et al. ¹⁶ 2017	D0-D5 (5 d)	-	26/31 (83.9)
		Capalbo et al. ¹⁷ (2018)	D1-D5 or D3-D5 (2-4 d)	-
	Rubio et al. ⁶ (2019)	D4-D5 (1 day)	-	17/27 (63)
		D4-D6/7 (2-3 d)	-	68/81 (84)
	Rubio et al. ⁵ (2019)	D4-D6/7 (2-3 d)	-	866/1108 (78.2)
	Chen et al. ¹⁸ (2021)	D3-5/6 (2-3 d)	-	190/256 (74.2)
	Xie et al. ¹⁹ (2022)	D4-D5/6	-	111/147 (75)
Ho et al. ²⁰ (2018)	D1-D5 (4 d)	-	10/12 (83.3)	
Assisted hatching	Shamonki et al. ²¹ (2016)	D3-D5/6 (2-3 d)	Assisted Hatching	2/2 (100)
		Feichtinger et al. ²² (2017)	D0-D5 (5 d)	Assisted Hatching
	Vera-Rodriguez et al. ²³ (2018)	D3-D5 (2 d)	Assisted Hatching	17/56 (30.4)
		Yeung et al. ²⁴ (2019)	D3-D5 (2 d)	Assisted Hatching on day 3
	Lledo et al. ²⁵ (2020)	D3-D6 (3 d)	Assisted Hatching on day 3	47/66 (71.2)
		D3-D5/6 (2-3 d)	Assisted Hatching on day 3	62/83 (74.6)
	Hanson et al. ¹¹ (2021)	D5/6/7 (1-2 d)	Assisted Hatching on day 3	60/83 (72.3)
	Lei et al. ²⁶ (2022)	D3-D5/6 (2-3 d)	Assisted Hatching on day 3	62/104 (59.6)
	Ho et al. ²⁰ (2018)	D1-D5 (4 d)	Assisted Hatching on day 3	76/111 (68.5)
	Kuznyetsov et al. ⁴ (2020)	D4-D5/6 (1-2 d)	Assisted Hatching on day 4	16/28 (57.1)
Assisted hatching plus vitrification	Huang et al. ² (2019)	D5-D6 (1 day)	Assisted Hatching on day 3	41/46 (89.1)
		D6-D7 (1 day)	plus day 5/6 Vitrification	
Vitrification	Xu et al. ²⁷ (2016)	D3-D5 (2 d)	Vitrification	36/42 (85.7)
		Blastocoeel collapse		
	Kuznyetsov et al. ²⁸ (2018)	D5-D6 (1 day)	Double Blastocoeel Collapse	27/28 (96.4)

Abbreviation: D = day.
Cinnioglu. A systematic review of noninvasive PGT-A. Fertil Steril 2023.

Tabla III (Cinnioglu et al., 2023). Esta tabla muestra la concordancia entre biopsias de trofoectodermo y metodologías no invasivas.

AULA JOVEN

Diagnóstico genético preimplantacional no invasivo: una revisión sistemática



Gráfica 1. En esta gráfica se muestra la metodología y método utilizada para esta revisión sistemática.

puede verse afectado por el retraso que conlleva la toma del ni PGT-A en el día 6 (Zhang *et al.*, 2019; Rubio *et al.*, 2020; Cinioglu *et al.*, 2023).

En cuanto a costos y practicidad que se lograría con el niPGT-A, varios autores han presentado la consideración que el análisis por medio de cultivo requeriría que los embriones sean desarrollados individualmente, lo que incrementaría la cantidad de medio de cultivo utilizado y el espacio (Shamonki *et al.*, 2016).

Debe de tomarse en consideración, que los estudios de niPGT, se han enfocado en el estudio de aneuploidías. Es importante que una vez que se logre homogenizar la metodología para la toma de muestra, amplificación y análisis, lograr transpolar este conocimiento para lograr una metodología no invasiva

de enfermedades monogénicas y mosaicismo (Del Collado *et al.*, 2023). Los embriones mosaicos plantean un obstáculo a la generalización de esta técnica, debido a que diversos autores han planteado la teoría de que el embrión tiene la capacidad de corregir estas líneas celulares, sin embargo, esta corrección sucedería posterior a la etapa de blastocisto, después de la toma del estudio.

Lo que significa que el DNA libre circulante no es un reflejo real del contenido genético del embrión, dando la posibilidad de descartar embriones sanos (Tomic *et al.*, 2022; Bellver *et al.*, 2019).



CONCLUSIÓN

Se ha demostrado una alta concordancia entre los resultados obtenidos por el DNA libre circulante obtenido del medio de cultivo y los obtenidos por biopsia de trofoectodermo, demostrando que este método no invasivo tiene un alto potencial para su aplicación clínica, ofreciendo un menor costo y facilidad de aplicación al no requerir de equipo y entrenamiento especializado, sin embargo, se requiere continuar estudiando para lograr estandarizar la metodología para modificar el *gold standard* que existe el día de hoy para la realización del diagnóstico genético preimplantacional por biopsia de trofoectodermo.

Agradecimientos

Este trabajo no habría sido posible sin el apoyo de mis colegas, quienes me mantuvieron motivada y enfocada. A mi familia, por su apoyo incondicional y paciencia, nada sería posible sin ustedes.

BIBLIOGRAFÍA

Bellver J, Bosch E, Espinós JJ, *et al.* Second-generation preimplantation genetic testing for aneuploidy in assisted reproduction: a SWOT analysis. *Reprod Biomed Online.* 2019;39(6):905-915. doi:10.1016/j.rbmo.2019.07.037

Bianchi DW, Parker RL, Wentworth J, *et al.* DNA sequencing *versus* standard prenatal aneuploidy screening. *N Engl J Med.* 2014;370(9):799-808. doi:10.1056/NEJMoa1311037

Capalbo A, Ubaldi FM, Cimadomo D, *et al.* Consistent and reproducible outcomes of blastocyst biopsy and aneuploidy screening across different biopsy practitioners: a multicentre study involving 2586 embryo biopsies. *Hum Reprod.* 2016;31(1):199-208. doi:10.1093/humrep/dev294

Cinnioglu C, Glessner H, Jordan A, Bunshaft S. A systematic review of noninvasive preimplantation genetic testing for aneuploidy. *Fertil Steril.* 2023;120(2):235-239. doi:10.1016/j.fertnstert.2023.06.013

Dawson A, Griesinger G, Diedrich K. Screening oocytes by polar body biopsy. *Reprod Biomed Online.* 2006;13(1):104-109. doi:10.1016/s1472-6483(10)62023-8

De Rycke M, Berckmoes V. Preimplantation genetic testing for monogenic disorders. *Genes (Basel).* 2020;11(8):871. doi:10.3390/genes11080871

Del Collado M, Andrade GM, Gonçalves NJN, Fortini S, Perecin F, Carriero MM. The embryo non-invasive pre-implantation diagnosis era: how far are we? *Anim Reprod.* 2023;20(2):e20230069. doi:10.1590/1984-3143-AR2023-0069

Fiorentino F, Biricik A, Bono S, *et al.* Development and validation of a next-generation sequencing-based protocol for 24-chromosome aneuploidy screening of embryos. *Fertil Steril.* 2014;101(5):1375-1382. doi:10.1016/j.fertnstert.2014.01.051

Hammond ER, McGillivray BC, Wicker SM, *et al.* Characterizing nuclear and mitochondrial DNA in spent embryo culture media: genetic contamination identified. *Fertil Steril.* 2017;107(1):220-228.e5. doi:10.1016/j.fertnstert.2016.10.015

Handayani N, Aubry D, Boediono A, *et al.* The origin and possible mechanism of embryonic cell-free DNA release in spent embryo culture media: a review. *J Assist Reprod Genet.* 2023;40(6):1231-1242. doi:10.1007/s10815-023-02813-z

Hawke DC, Watson AJ, Betts DH. Extracellular vesicles, microRNA and the preimplantation embryo: non-invasive clues of embryo well-being. *Reprod Biomed Online.* 2021;42(1):39-54. doi:10.1016/j.rbmo.2020.11.011

Kakourou G, Mamas T, Vrettou C, Traeger-Synodinos J. An update on non-invasive approaches for Genetic Testing of the preimplantation embryo. *Curr Genomics*. 2022;23(5):337-352. doi:10.2174/1389202923666220927111158

Kuznyetsov V, Madjunkova S, Abramov R, *et al*. Minimally invasive cell-free human embryo aneuploidy testing (miPGT-A) utilizing combined spent embryo culture medium and blastocoel fluid -towards development of a clinical assay. *SciRep*. 2020;10(1):7244. doi:10.1038/s41598-020-64335-3

Melzer KE, McCaffrey C, Adler A, Colls P, Munne S, Grifo JA. Developmental morphology and continuous time-lapse microscopy (TLM) of human embryos: can we predict euploidy? *Fertil Steril*. 2012;98(3):S136. doi:10.1016/j.fertnstert.2012.07.501

Navarro-Sánchez L, García-Pascual C, Rubio C, Simón C. Non-invasive preimplantation genetic testing for aneuploidies: an update. *Reprod Biomed Online*. 2022;44(5):817-828. doi:10.1016/j.rbmo.2022.01.012

Priya PK, Mishra VV, Roy P, Patel H. A study on balanced chromosomal translocations in couples with recurrent pregnancy loss. *J Hum Reprod Sci*. 2018;11(4):337-342. doi:10.4103/jhrs.JHRS_132_17

Rubio C, Navarro-Sánchez L, García-Pascual CM, *et al*. Multicenter prospective study of concordance between embryonic cell-free DNA and trophoctoderm biopsies from 1301 human blastocysts. *Am J Obstet Gynecol*. 2020;223(5):751.e1-751.e13. doi:10.1016/j.ajog.2020.04.035

Shamonki MI, Jin H, Haimowitz Z, Liu L. Proof of concept: preimplantation genetic screening without embryo biopsy through analysis of cell-free DNA in spent embryo culture media. *Fertil Steril*. 2016;106(6):1312-1318. doi:10.1016/j.fertnstert.2016.07.1112

Tomic M, Vrtacnik Bokal E, Stimpfel M. Non-invasive preimplantation genetic testing for aneuploidy and the mystery of genetic material: A review article. *Int J Mol Sci*. 2022;23(7):3568. doi:10.3390/ijms23073568

Vera-Rodríguez M, Díez-Juan A, Jiménez-Almazán J, *et al*. Origin and composition of cell-free DNA in spent medium from human embryo culture during preimplantation development. *Hum Reprod*. 2018;33(4):745-756. doi:10.1093/humrep/dey028

Viotti M, Victor AR, Barnes FL, *et al*. Using outcome data from one thousand mosaic embryo transfers to formulate an embryo ranking system for clinical use. *Fertil Steril*. 2021;115(5):1212-1224. doi:10.1016/j.fertnstert.2020.11.041

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 U S A*. 2016;113(42):11907-11912. doi:10.1073/pnas.1613294113

Zhang J, Xia H, Chen H, *et al*. Less-invasive chromosome screening of embryos and embryo assessment by genetic studies of DNA in embryo culture medium. *J Assist Reprod Genet*. 2019;36(12):2505-2513. doi:10.1007/s10815-019-01603-w

Zhang WY, von Versen-Höynck F, Kappahn KI, Fleischmann RR, Zhao Q, Baker VL. Maternal and neonatal outcomes associated with trophoctoderm biopsy. *Fertil Steril*. 2019;112(2):283-290.e2. doi:10.1016/j.fertnstert.2019.03.033

Más allá de lo esencial. Excelencia en cada gota.

Cada embrión tiene una historia y comienza en el DÍA CERO.

En Kitazato, creemos en el poder de los comienzos.
Por eso, hemos ampliado nuestra gama de medios para FIV
y Andrología, acompañándote desde el primer paso.

ANDROLOGÍA

- SepaSperm® Wash
- SepaSperm® Solution
- SepaSperm® Gradientes 45% and 90%
- PVP
- Sperm Freeze y Sperm Freeze G-Plus

MEDIOS PARA FIV

- Flushing Buffer
- Gamete Buffer
- Hialuronidasa
- Medio de Fecundación



¡Consulta
nuestro
catálogo!



KITAZATO®



PRIMERA REUNIÓN

GGII ASEBIR 2026

20 de noviembre, 2026

Centro Comet Retiro
Calle de Alfonso, 30, 28014, Madrid

NOTICIAS

I Reunión GGII ASEBIR 2026

¡Ya está en marcha la I Reunión GGII ASEBIR 2026!

Un encuentro único para compartir conocimientos, experiencias y los últimos avances en el ámbito de la reproducción asistida. Profesionales, investigadores y expertos se reunirán para impulsar la innovación, el aprendizaje colaborativo y el desarrollo de nuevas iniciativas.

En septiembre os enviaremos información sobre programa, ponentes e inscripciones.

Tomad nota de la fecha y anotadla en vuestras agendas. Os invitamos a seguir las novedades y a formar parte de esta primera edición que marcará un punto de encuentro para la comunidad científica y profesional.

20/11/2026

Centro Comet Retiro (Madrid)

¡TOMA NOTA!



BECAS

3.^a Edición

BECAS GENEA BIOMEDX & ASEBIR

Es crucial formar profesionales con altas capacidades para alcanzar la excelencia. Con este objetivo GENEa BIOMEDX y ASEBIR, en 2025, pusieron en marcha, de forma conjunta, la **TERCERA edición de las BECAS GENEa Biomedx – ASEBIR**, con 4 Becas para Embriólogos Júnior.

Las becas consisten en una estancia de 2 semanas en una clínica de reproducción asistida. Para ayudar a embriólogos juniors a aprender los diferentes procedimientos y técnicas, su gestión, el manejo del paciente... En definitiva, entender, de la mano de los mejores profesionales cómo es el trabajo en un laboratorio de FIV y andrología. Cada beca cuenta con una bolsa de 1.250 € por alumno, repartiéndose 625 € para los gastos de la clínica y 625 € como ayuda al desplazamiento y estancia del alumno durante las dos semanas que durará la estancia.

Para su tercera edición se presentaron 7 solicitudes y, tras la revisión de la documentación aportada, el Jurado decidió adjudicar las becas a los siguientes socios que han disfrutado de su estancia formativa durante el primer trimestre de 2026:

- ▶ **VICTOR LÓPEZ MENCHERO JUAN** (Socio 2121)
- ▶ **LINA BALSAMO** (Socia 1776)
- ▶ **CARLA GIMÉNEZ RODRÍGUEZ** (Socia 1834)
- ▶ **TANIA CARRIÓN SISTERNAS** (Socia 2004)



1.ª Edición

ESTANCIAS FORMATIVAS ASEBIR

Por su parte, **ASEBIR** puso en marcha, en 2025, como ampliación a las anteriores becas y con el mismo formato y condiciones, las **ESTANCIAS FORMATIVAS ASEBIR 1.ª Edición**, a la que se presentaron 15 solicitudes y tras la revisión de la documentación aportada y después de una difícil deliberación, el Jurado decidió adjudicar las becas a los siguientes socios que han disfrutado de su estancia entre abril y julio de este año:

- ▶ **CAROLINA MARTÍNEZ GARNES** (Socia 2075)
- ▶ **IRUNE PONTEJO REINOSO** (Socia 2120)
- ▶ **MARINA GIRÁLDEZ ARGENTE** (Socia 1971)
- ▶ **ROSA MARÍA PACHECO RENCÓN** (Socia 2142)

Felicidades a los 8 socios que han conseguido su beca, deseamos que os resulte provechoso y que disfrutéis de la experiencia.

Y no queremos dejar pasar la oportunidad de agradecer a los Centros que se han comprometido con este proyecto y acogen a los becados, muchas gracias a todos por vuestro compromiso y colaboración, no solo en esta edición, sino también en las anteriores:

- Hospital Quirónsalud Zaragoza
- CREA
- Grupo Nextclinics Spain (Sevilla, Valencia y Murcia)
- Hospital Ruber Internacional
- FIVAP

Si tu CENTRO está interesado en participar en esta iniciativa, ponte en contacto con la secretaría de ASEBIR en el teléfono **91 367 89 94**, o a través del correo asebir@asebir.com



¡NUEVA CONVOCATORIA!

Recordaros a todos que está abierto el plazo de solicitud de beca tanto para **BECAS Genea BIOMEDX & ASEBIR – 4.ª edición**, cuyo plazo de solicitud finaliza el **31 de julio**, como de las **ESTANCIAS FORMATIVAS ASEBIR – 2.ª Edición** cuyo plazo de presentación de solicitudes finalizará el **2 de noviembre de 2026**.

<https://asebir.com/formacion/becas-genea-biomedx-asebir/>

<https://asebir.com/formacion/becas-asebir/>

¡Animaos a participar!

CURSO ONLINE

Curso Online ASEBIR IA aplicada a la Reproducción Asistida

CURSO ORGANIZADO POR:



GI CALIDAD DEL
LABORATORIO DE RA
ASEBIR

El Grupo de Interés de Calidad de ASEBIR, siempre activo y comprometido con la innovación, ha puesto en marcha un interesante curso *online* destinado a introducir a los embriólogos en el uso práctico, ético y responsable de la inteligencia artificial aplicada al ámbito de la reproducción asistida. El curso está coordinado por Carla Olmedo y cuenta con la participación como docentes de Ernesto Veiga, Lourdes Sánchez, Marta Borrallo, Nereyda Ortiz, Sara García y Enric Güell.

Aunque el programa se desarrollará entre el 14 de septiembre y el 22 de diciembre, en el momento de cerrar esta edición las plazas disponibles estaban prácticamente agotadas, lo que refleja el gran interés que esta temática despierta entre los profesionales del sector.

A lo largo del curso, los participantes adquirirán los conocimientos fundamentales sobre inteligencia artificial, comprendiendo sus conceptos clave, su funcionamiento y su potencial impacto en la toma de decisiones clínicas. El contenido se estructura según el siguiente mapa formativo.

Deseamos a los coordinadores y ponentes el mayor de los éxitos y confiamos en que el curso cumpla las expectativas generadas, resultando de gran utilidad y aprovechamiento para todos los alumnos inscritos.

Mapa del curso

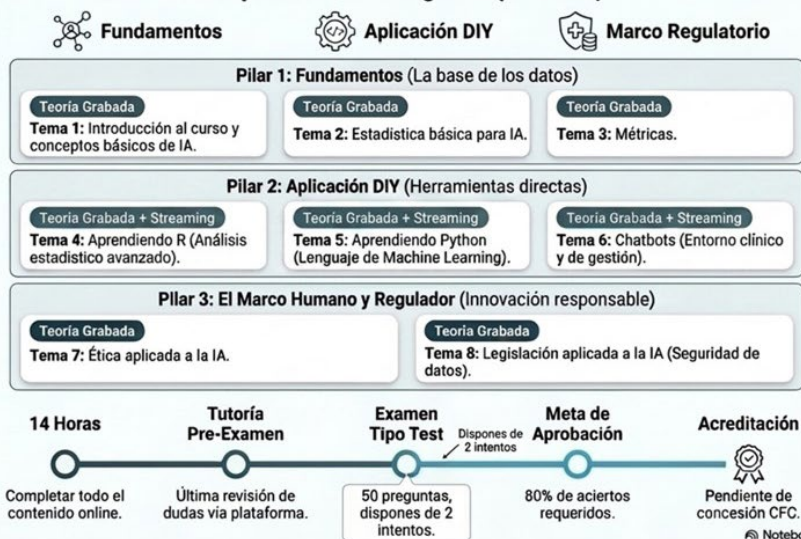
Modalidades de Aprendizaje

- Teoría Grabada (Asíncrona)**
 - **Temas:** 1-8.
 - **Formato:** 8 clases teóricas grabadas + Material en PDF.
- Clases en Streaming (Síncrona)**
 - **Temas:** 4, 5 y 6.
 - **Formato:** 3 sesiones en directo (2h c/u).
 - **Práctica:** Resolución de ejercicios (Contsulfiv) + PDFs.

Ciclo de Asimilación



Arquitectura del Programa (3 Pilares)



NUEVO PORTAL DE TRANSPARENCIA

Entre todos, un ASEBIR mejorado

Con el objetivo de reforzar la comunicación, la participación y el acceso a la información dentro de la Asociación, ASEBIR ha puesto en marcha un nuevo Portal de Transparencia disponible en su página web.

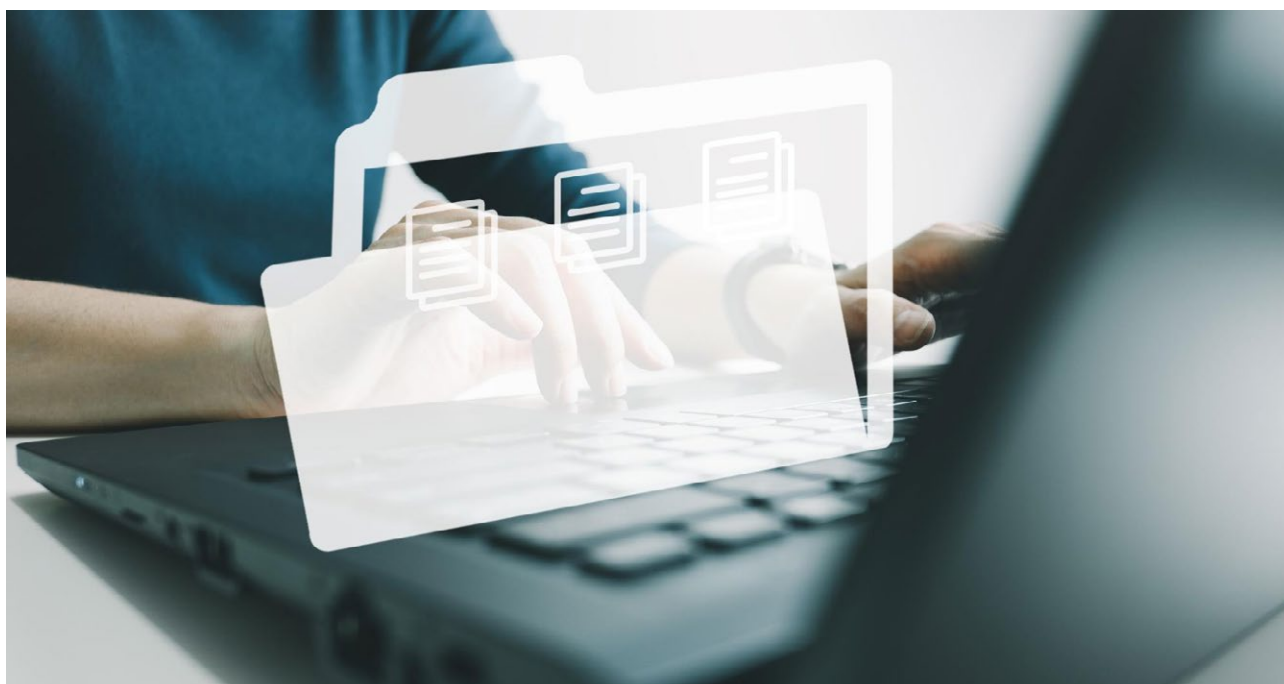
Esta iniciativa nace con la voluntad de acercar a los asociados la actividad que desarrolla la Sociedad, ofreciendo un espacio donde consultar de forma clara y actualizada los proyectos en marcha, las acciones impulsadas por la Junta Directiva, los grupos de interés y de trabajo y otras actividades de interés para la comunidad profesional.

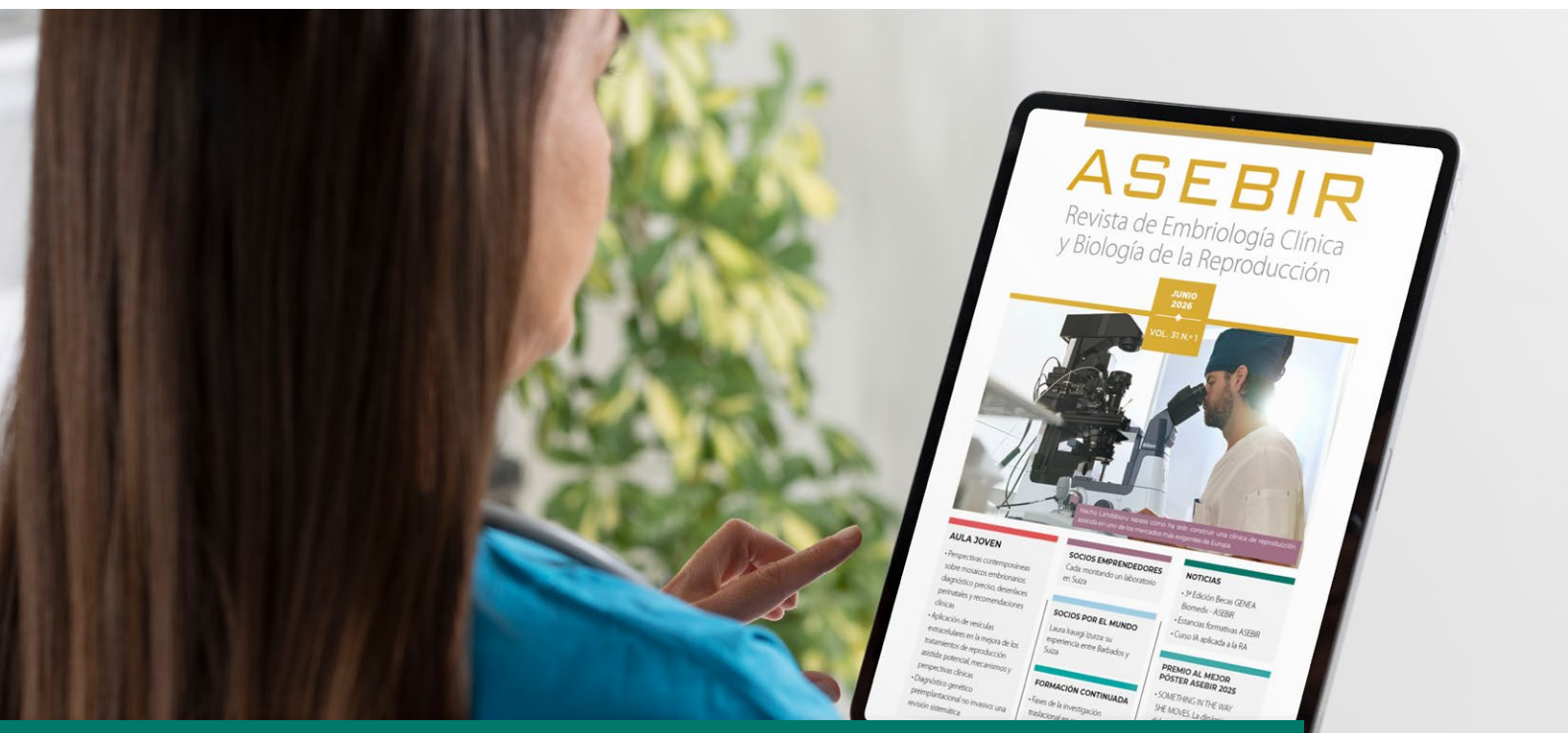
El Portal de Transparencia pretende convertirse en una herramienta dinámica que permita a los socios conocer de primera mano los temas que se están abordando en cada momento, así como los retos y oportunidades que afronta la Asociación.

De este modo, se fomenta una participación más activa y una mayor implicación de los profesionales en la construcción del futuro de ASEBIR.

Con esta nueva herramienta, ASEBIR reafirma su compromiso con la transparencia, la gobernanza participativa y la mejora continua, promoviendo un modelo de gestión abierto en el que la colaboración de todos sus miembros desempeña un papel esencial.

Invitamos a todos los asociados a visitar el Portal de Transparencia, concebido para construir, entre todos, una Asociación más cercana, representativa y alineada con los intereses de sus profesionales.





LA REVISTA DE ASEBIR DA UN PASO ADELANTE

DOI para todos los artículos y puesta en marcha de la revisión por pares de manera formal

La revista de ASEBIR inicia una nueva etapa con la incorporación de importantes novedades destinadas a fortalecer la calidad científica de sus publicaciones y aumentar su proyección nacional e internacional.

A partir de ahora, todos los artículos publicados en la revista contarán con un **Digital Object Identifier (DOI)**, un identificador único y permanente que permitirá localizar, citar y acceder de forma inequívoca a los trabajos científicos en el entorno digital.

La asignación del DOI representa un avance significativo para los autores, ya que facilita la visibilidad de sus publicaciones, mejora su trazabilidad y favorece su integración en los sistemas de información científica utilizados a nivel internacional.

Además, esta implantación constituye uno de los requisitos fundamentales que siguen las publicaciones científicas de referencia y refuerza el compromiso de ASEBIR con la difusión y preservación del conocimiento generado por sus profesionales.

Junto a esta novedad, la revista comenzará a implementar de forma progresiva un **proceso formal de revisión por pares**, con el objetivo de consolidar los estándares de calidad editorial y científica de los manuscritos publicados.

Ambas iniciativas forman parte de la estrategia de crecimiento y mejora continua, orientada a posicionar la revista de ASEBIR entre las publicaciones científicas de referencia en el ámbito de la reproducción humana asistida, puesto que constituyen pasos fundamentales hacia un objetivo estratégico a largo plazo: **la futura indexación de la revista en bases de datos científicas de reconocido prestigio.**

Alcanzar este propósito requerirá seguir reforzando la calidad de los manuscritos y la participación activa de autores y revisores, pero permitirá aumentar significativamente la visibilidad, el impacto y el reconocimiento de los trabajos publicados.

Desde ASEBIR queremos agradecer la colaboración de todos los profesionales que contribuyen con sus investigaciones, revisiones y experiencias clínicas al crecimiento de la revista. Su participación resulta esencial para seguir construyendo una publicación científica sólida, rigurosa y alineada con los más altos estándares internacionales.

NUEVAS “NORMAS DE PUBLICACIÓN”

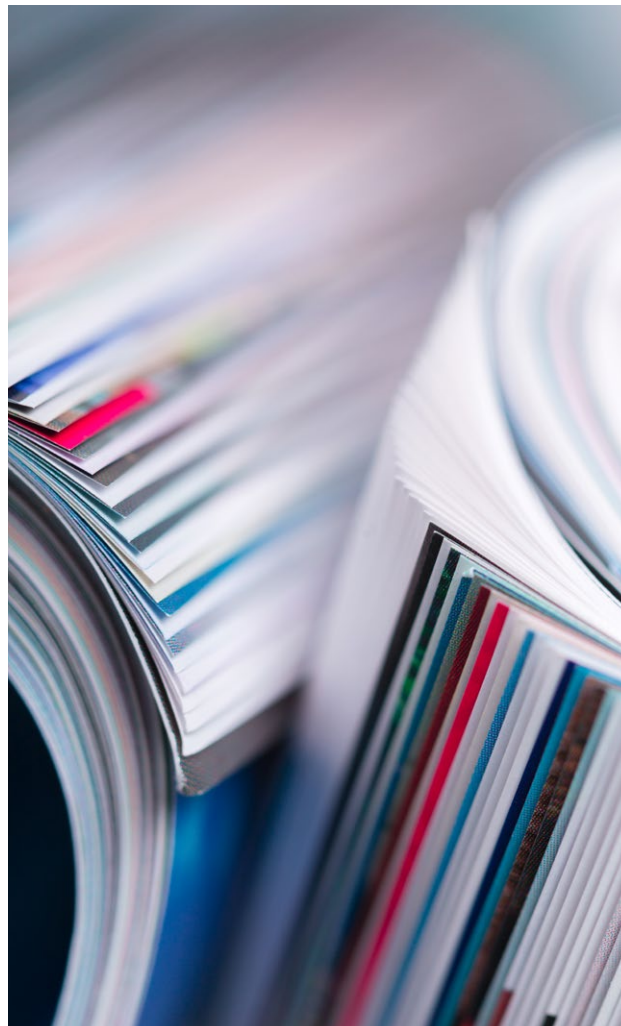
Para impulsar la calidad científica y una futura indexación

Como parte de esta estrategia de mejora continua, se ha iniciado un proceso de adaptación con el objetivo de cumplir los estándares exigidos por las principales bases de datos e índices científicos nacionales e internacionales con la finalidad de, a largo plazo, conseguir la indexación de la misma. La futura indexación de la revista supondrá un importante reconocimiento a la calidad de los trabajos publicados y contribuirá a aumentar su visibilidad, impacto y difusión dentro de la comunidad científica. Sin embargo, alcanzar este objetivo requiere la colaboración activa de autores, revisores y editores, así como el cumplimiento riguroso de las normas de publicación establecidas.

Por ello, recordamos a todos los autores que los manuscritos enviados **deberán ajustarse estrictamente** a las directrices editoriales que estarán disponibles en breve en la página web de la revista.

La experiencia de las revistas científicas que han logrado su indexación demuestra que la calidad editorial depende tanto del rigor de los procesos de revisión como del cumplimiento de las normas por parte de los autores. Cada manuscrito que se ajusta adecuadamente a estas directrices contribuye a fortalecer la credibilidad, visibilidad e impacto científico de la publicación.

Animamos a todos los autores a consultar detenidamente las normas de publicación antes de enviar sus trabajos. Su colaboración es esencial para seguir consolidando la revista de ASEBIR como un referente científico en el ámbito de la reproducción asistida y para avanzar con éxito hacia su futura indexación en las principales bases de datos científicas.





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

