

PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

REALIZADO POR:

Pedro Alejandro Velandia Toro
Residente de 2º año de Endocrinología

TITULO:

**Factores relacionados con éxito de la inyección intracitoplasmática de
espermatozoides y criotransfer en una clínica de Bogotá**

TUTORES

Dr. José Ignacio Madero
Dr. Daniel A. Buitrago

Identificación del proyecto

Institución académica: Universidad del Rosario

Dependencia: Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud

Título de la investigación:

“Factores relacionados con éxito de la inyección intracitoplasmática de espermatozoides y criotransfer en una clínica de Bogotá”

Instituciones participantes:

Clínica *Eugin* (Sede Bogotá)

Tipo de investigación:

Estudio de tipo observacional, descriptivo, de corte transversal con componente analítico.

Investigador principal:

Pedro Alejandro Velandia Toro

Residente de 2º año de Endocrinología

Asesor clínico o temático:

Dr. José Ignacio Madero

Medico Ginecobotetra especialista en fertilidad

Asesor metodológico:

Dr. Daniel A. Buitrago

Profesor auxiliar de carrera. Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud

“La Universidad del Rosario no se hace responsable de los conceptos emitidos por los investigadores en su trabajo, solo velará por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia”

Tabla de contenido

Índice de tablas.....	7
Índice de ilustraciones	8
Glosario de terminología en técnicas de reproducción asistida.....	9
1. Resumen	18
2. Planteamiento del problema de estudio:.....	19
2.1. La infertilidad como problema de salud pública.....	21
3. Justificación del trabajo de investigación:.....	22
4.1. Inyección intracitoplasmática de semen (ICSI) y crío transferencia embrionaria como estrategia de tratamiento en infertilidad	23
4.2.1. Fertilización in vitro con inyección intracitoplasmática de espermatozoide.....	24
4.3. Fases de la técnica FIV/ICSI crío transferencia de embriones:.....	25
4.3.1. Estimulación ovárica controlada:	25
4.3.2. Tipos de protocolo de estimulación ovárica utilizados en la Clínica de referencia:	25
4.3.3. Extracción de los óvulos y fecundación in vitro	28
4.3.4. Transferencia de embriones congelados:	28
4.3.5. Crío preservación:	28
4.4. Factores relacionados con el del éxito y calidad de IVF/ICSI	28
4.4.1. Factores paternos y maternos	30
4.5. Predicción de desenlaces en fertilidad.....	31
4.5.1. Hormona antimülleriana en fertilidad:	34
4.5.1.3. Medición de hormona antimulleriana:	37
4.5.2. Conteo folicular antral en fertilidad	37
4.5.2.1. Técnica para realización del conteo folicular antral:.....	38
5. Objetivo general	38
5.1. Objetivos específicos:	39
6. Hipótesis de estudio.....	40
6.1. Hipótesis nula:.....	40
6.2. Hipótesis alterna:.....	40
7. Metodología:	41
7.1. Población.....	41

7.1.1. Universo:	41
7.1.2. Población objetivo:.....	41
7.2. Muestra:.....	41
7.2.1. Criterios de inclusión:	41
7.2.2. Criterios de exclusión:.....	41
7.2. Definición de variables de análisis:.....	42
7.2.1. Cuadro de operacionalización de variables	42
7.3. Técnicas, instrumento y procedimientos de recolección de datos.....	44
7.4. Control de Sesgos:.....	45
7.4.1. Sesgos de selección:	45
7.4.2. Sesgos de información:	45
7.4.3. Sesgos de confusión:	45
7.5. Plan de procesamiento y análisis.....	46
8. Alcances y limitaciones:.....	47
9. Aspectos Éticos	48
10. Presupuesto.....	49
11. Cronograma de Actividades	49
12. Resultados	50
12.1. Características de la población.....	50
12.2. Hormona Antimulleriana y Embarazo	55
12.2.1. Hormona Antimulleriana (AMH) y su relación con la edad y el recuento folicular antral	56
12.3. Relación de variables con resultados de embarazo	57
12.3.1. Características antropométricas y Embarazo.....	57
12.3.2. Características sociodemográficas y Embarazo	58
12.3.3. Comorbilidad y Embarazo.....	58
12.3.4. Antecedente tóxico/exposicional y embarazo	59
12.3.5. Condiciones Ginecobstetricias y Embarazo	59
12.3.6. Parámetros de infertilidad y embarazo	60
12.3.7. Hallazgos de la ecografía y embarazo	62
12.3.8. Parámetros del ciclo de estimulación y embarazo.....	63
12.3.9. Parámetros de la ICSI y embarazo	63

12.3.10. Parámetros de la transferencia y embarazo	64
12.3.11. Intervenciones realizadas y embarazo	64
12.4. Factores que se asocian al éxito del embarazo – Análisis multivariado.....	65
13. Discusión.....	66
14. Conclusiones	74
15. Bibliografía.....	77

Índice de tablas

Tabla 1. Antecedentes clínicos de las pacientes sometidas a FIV/ICSI	51
Tabla 2. Antecedentes Ginecobstetricia de las pacientes sometidas a FIV/ICSI	51
Tabla 3. Historial de infertilidad de las pacientes sometidas a FIV/ICSI.....	52
Tabla 4. Hallazgos ecográficos basales de las pacientes sometidas a FIV/ICSI	52
Tabla 5. Parámetros de laboratorio Basales.....	53
Tabla 6. Resultados del ciclo de estimulación ovárica	54
Tabla 7. Parámetros ICSI y transferencia por paciente	54
Tabla 8. Comparación del embarazo bioquímico y embarazo clínico de las pacientes	55
Tabla 9. Comparación de Hormona antimulleriana categorizada y Embarazo	55
Tabla 10. Valores de Hormona Antimulleriana y correlación con Conteo de folículos antrales.....	56
Tabla 11. Características antropométricas y Embarazo.....	57
Tabla 12. Parámetros sociodemográficos, tratamiento previo y Embarazo	58
Tabla 13. Comorbilidades y embarazo en pacientes sometidas a ICSI.....	59
Tabla 14. Antecedentes Toxicológico/exposicionales y Embarazo	59
Tabla 15. Características ginecobstétricas y embarazo	60
Tabla 16. Parámetros de infertilidad y Embarazo	61
Tabla 17. Hallazgos en la ecografía basal y embarazo	62
Tabla 18. Variables del ciclo de estimulación y embarazo	63
Tabla 19. Parámetros de análisis de la ICSI y Embarazo:	63
Tabla 20. Parámetros de la transferencia y embarazo:	64
Tabla 21. Intervenciones previas y embarazo.....	65
Tabla 22. Valores de R^2 para el modelo explicativo de Embarazo bioquímico en pacientes con ICSI.....	65
Tabla 23. Modelo de regresión logística binaria para embarazo bioquímico en pacientes con ICSI.....	66

Índice de ilustraciones

Grafico 1. Correlación entre valores basales de Hormona antimulleriana (AMH) y conteo de folículos antrales basales en pacientes sometidas a tratamientos de estimulación ovárica	56
Grafica 2. Correlación entre la edad y los valores de AMH en pacientes sometidas a tratamiento de ICSI.....	57

Glosario de terminología en técnicas de reproducción asistida

Aborto espontáneo: Pérdida espontánea de un embarazo clínico antes de completadas las 20 semanas de edad gestacional (18 semanas después de la fecundación) o si la edad gestacional es desconocida, la pérdida de un embrión/feto de menos de 400 g.

Aborto inducido: La interrupción deliberada de un embarazo clínico que tiene lugar antes de completar las 20 semanas de edad gestacional (18 semanas después de la fecundación) o si la edad gestacional es desconocida, de un embrión o fetos de menos de 400 g.

Aborto recurrente espontáneo: Pérdida de dos o más embarazos clínicos.

Aborto retenido: Aborto clínico donde el embrión o feto es no viable y no es expulsado espontáneamente del útero.

Anomalías congénitas: Todas las anomalías estructurales, funcionales y genéticas diagnosticadas en fetos abortados, en bebés al nacer o en el período neonatal.

Bajo peso al nacer: Peso al nacer menor a 2.500 g.

Blastocisto: Embrión, 5 ó 6 días después de la fecundación, con masa celular interna, capa externa de trofoectodermo y cavidad o blastocele lleno de líquido.

Ciclo cancelado: Ciclo de TRA en el cual la estimulación ovárica y el monitoreo han sido llevados a cabo con la intención de hacer un tratamiento, pero no se procedió a la aspiración folicular o a la transferencia del embrión, en el caso de un embrión descongelado.

Ciclo de donación de ovocitos: Ciclo en el cual los ovocitos de una donante son obtenidos para aplicación clínica o de investigación.

Ciclo de receptora de embriones: Un ciclo de TRA en el cual la mujer recibe cigotos o embriones donados.

Ciclo de receptora de ovocitos: Ciclo de TRA en el cual una mujer recibe ovocitos de una donante.

Ciclo de transferencia de embriones crio preservados/descongelados (TEC/D): Procedimiento de TRA en el cual el monitoreo es llevado a cabo con la intención de transferir embriones crio preservados- descongelados. Nota: un ciclo de TEC/D es iniciado cuando la

medicación específica es indicada o el monitoreo del ciclo es iniciado con la intención de tratamiento.

Ciclo de transferencia de embriones: Ciclo de TRA durante el cual uno o más embriones son colocados en el útero o en la trompa de Falopio.

Ciclo de transferencia de ovocitos crio preservados/descongelados (TEC/D): Procedimiento de TRA en el cual el monitoreo es llevado a cabo con la intención de fecundar ovocitos crio preservados/descongelados y transferir los embriones formados.

Ciclo iniciado: Ciclo de TRA en el cual la mujer recibe medicación para estimulación ovárica, o monitoreo en el caso de ciclos naturales, con la intención de llevar a cabo un tratamiento, independientemente de si se realiza la aspiración de ovocitos.

Ciclo natural de FIV: Procedimiento de FIV en el cual uno o más ovocitos son obtenidos de los ovarios durante un ciclo menstrual espontáneo sin uso de drogas.

Ciclo natural modificado: Procedimiento de FIV en el cual uno o más ovocitos son obtenidos de los ovarios durante un ciclo menstrual espontáneo. Las drogas son administradas con el único propósito de bloquear el pico espontáneo de LH e inducir la maduración final del ovocito

Ciclo para receptora de espermatozoides: Ciclo de TRA en el cual una mujer recibe espermatozoides de un donante que no es su pareja.

Cirugía reproductiva: Procedimientos quirúrgicos realizados para diagnosticar, conservar, corregir, y/o mejorar la función reproductiva.

Crio preservación: La congelación o la vitrificación y el almacenamiento de gametos, cigotos, embriones o tejido gonadal.

Diagnóstico genético reimplantación (DGP): Análisis de cuerpos polares, blastómeros o trofoectodermo de ovocitos, cigotos o embriones para la detección de alteraciones específicas, genéticas, estructurales, y/o cromosómicas.

Donación de embriones: Transferencia de embriones resultantes de gametos (espermatozoides y ovocitos) que no se originaron de la receptora y su pareja.

Eclosión asistida: Procedimiento in vitro mediante el cual la zona pelúcida de un embrión es adelgazada o perforada por métodos químicos, mecánicos o con láser para ayudar en la eclosión del blastocisto.

Eclosión: Proceso mediante el cual un embrión en el estado de blastocisto se separa de la zona pelúcida.

Edad gestacional: Edad de un embrión o feto calculada al sumar dos semanas (14 días) al número de semanas completadas después de la fecundación. Nota: para transferencia de embriones crio preservados/ descongelados, la fecha estimada de fecundación es calculada restando la edad del embrión en el momento de la crio preservación a la fecha de la transferencia de embriones crio preservados y descongelados.

Embarazo bioquímico (aborto espontáneo preclínico): Embarazo diagnosticado sólo por la detección de HCG en suero u orina y que no se desarrolla en embarazo clínico.

Embarazo clínico con latido cardíaco fetal: Embarazo diagnosticado con ecografía o por documentación clínica de al menos un feto con latido cardíaco. Esto incluye embarazo ectópico.

Embarazo clínico: Embarazo diagnosticado por visualización ecográfica de uno o más sacos gestacionales o signos clínicos definitivos de embarazo. Esto incluye embarazo ectópico. Nota: múltiples sacos gestacionales son contados como un solo embarazo clínico.

Embarazo ectópico: Un embarazo en el cual la implantación tiene lugar fuera de la cavidad uterina.

Embrión/feto reducción: Procedimiento para reducir el número de embriones o fetos viables en un embarazo múltiple.

Embrión: Producto de la división del cigoto hasta el fin del estadio embrionario (8 semanas después de la fecundación)

Estimulación ovárica controlada (EOC) para ciclos no de TRA: Tratamiento farmacológico en el cual las mujeres son estimuladas para inducir el desarrollo de más de un ovocito.

Estimulación ovárica controlada (EOC) para TRA: Tratamiento farmacológico en el cual las mujeres son estimuladas para inducir el desarrollo de múltiples folículos ováricos para obtener múltiples ovocitos en la aspiración folicular.

Estimulación ovárica suave para FIV: Procedimiento mediante el cual los ovarios son estimulados con gonadotropinas y/o otros compuestos con la intención de limitar el número de ovocitos obtenidos para FIV a menos de siete.

Fecundación in vitro (FIV): Técnica de Reproducción Asistida (TRA) que involucra fecundación extracorpórea.

Fecundación: Penetración de un ovocito por un espermatozoide y la combinación de sus materiales genéticos, lo que resulta en la formación de un cigoto.

Feto: Producto de la fecundación desde el fin del desarrollo embrionario, a las 8 semanas después de la fecundación, hasta el aborto o el nacimiento.

Gestación/ Nacimiento múltiple: Embarazo/parto con más de un feto/bebé.

Gestante subrogada: Mujer que lleva adelante un embarazo habiendo acordado que ella entregará el bebé a los padres previstos. Los gametos pueden originarse de los padres previstos y/o de terceros.

Implantación: La unión y subsecuente penetración del blastocisto libre de zona pelúcida usualmente en el endometrio, que comienza 5 a 7 días después de la fecundación.

Inducción de ovulación (IO): Tratamiento farmacológico de mujeres con anovulación u oligovulación con la intención de inducir ciclos ovulatorios normales.

Infertilidad: Enfermedad del sistema reproductivo definida como la incapacidad de lograr un embarazo clínico después de 12 meses o más de relaciones sexuales no protegidas.

Inyección intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI, por sus siglas en inglés): Procedimiento mediante el cual un solo espermatozoide es inyectado en el citoplasma de un ovocito.

MESA (por sus siglas en inglés): Aspiración microquirúrgica de espermatozoides epidídimarios.

MESE (por sus siglas en inglés): Extracción microquirúrgica de espermatozoides epidídimarios.

Micro manipulación: Tecnología que permite efectuar procedimientos microquirúrgicos en espermatozoides, ovocitos, cigotos o embriones.

Micro TESE (por sus siglas en inglés): Extracción microquirúrgica de espermatozoides testiculares.

Mortalidad perinatal: Muerte fetal o neonatal que ocurre durante el embarazo tardío (a las 20 semanas completas de edad gestacional o más tarde), durante el nacimiento, o hasta completados los siete días después del nacimiento.

Muerte fetal (mortinato): Muerte que ocurre antes de la completa expulsión o extracción del producto de una fecundación, a partir de la semana 20 de edad gestacional. La muerte es determinada por el hecho de que el feto no respire ni muestre otra evidencia de vida, tal como latido fetal, pulsación del cordón umbilical, o movimiento definido de los músculos voluntarios.

Muerte neonatal temprana: Muerte de un nacido vivo dentro de los primeros 7 días del nacimiento.

Muerte neonatal: Muerte de un recién nacido vivo dentro de los 28 días del nacimiento.

Múltiples de alto orden: Embarazo o parto con tres o más fetos o neonatos.

Muy bajo peso al nacer: Peso menor a 1.500 g.

Nacimiento a término completo: Nacimiento de un recién nacido vivo o mortinato que tiene lugar entre las 37 y 42 semanas de edad gestacional.

Nacimiento postérmino: Nacimiento vivo o muerto que tiene lugar después de completadas las 42 semanas de edad gestacional.

Nacimiento prematuro extremo: Parto de un nacido vivo o muerto que tiene lugar después de la semana 20 y antes de las 32 semanas completas de edad gestacional.

Nacimiento pretérmino (extremo): Un nacimiento vivo o mortinato que sucede después de la semana 20 y antes de la semana 28 de edad gestacional.

Nacimiento pretérmino: nacimiento que tiene lugar después de 20 semanas y antes de completadas las 37 semanas de edad gestacional.

Nacimiento vivo: Expulsión completa del cuerpo de su madre del producto de la fecundación, independientemente de la duración del embarazo, si después de la separación respira o muestra cualquier otra evidencia de vida, tales como latido del corazón, pulsación del cordón umbilical, movimiento definido de músculos voluntarios, independientemente de si el cordón umbilical ha sido cortado o si la placenta está unida.

Parto: la expulsión o extracción de uno o más fetos de la madre después de completadas 20 semanas de edad gestacional.

Pequeño para edad gestacional: peso al nacer menor a dos desviaciones estándares de la media o menor que el décimo percentil de acuerdo a los gráficos locales de crecimiento intrauterino.

Período neonatal: Intervalo de tiempo que comienza con el nacimiento y termina con 28 días completados después del nacimiento.

PESA (por sus siglas en inglés): Aspiración percutánea de espermatozoides epididimarios.

Peso bajo al nacer (extremo): Peso al nacer inferior a 1.000 g.

Reproducción médicamente asistida (RMA): Reproducción lograda a través de la inducción de ovulación, estimulación ovárica controlada, desencadenamiento de la ovulación, técnicas de reproducción asistida (TRA), inseminación intrauterina, intracervical o intravaginal, con semen del esposo/pareja o un donante.

Saco gestacional: Estructura que contiene líquido asociada con un embarazo temprano, la cual puede estar localizada dentro o fuera del útero (en caso de un embarazo ectópico).

Saco(s) o embrión (es) evanescente(s): Documentación ecográfica de la desaparición espontánea de uno o más sacos gestacionales o embriones de un embarazo en marcha.

Síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO) severo: El SHO es severo cuando se tiene que indicar hospitalización (Ver definición de “Síndrome de hiperestimulación ovárica”).

Síndrome de hiperestimulación ovárica (SHO): Respuesta sistémica exagerada a la estimulación ovárica caracterizada por un amplio espectro de manifestaciones clínicas y de laboratorio. Se clasifica en suave, moderado o severo de acuerdo al grado de distensión abdominal, agrandamiento de los ovarios y complicaciones respiratorias, hemodinámicas y metabólicas.

Tamizaje genético preimplantación (PGS, por sus siglas en inglés): Análisis de cuerpos polares, blastómeros o trofoectodermo de ovocitos, cigotos o embriones para la detección de aneuploidías, mutaciones y/o arreglos del ADN.

Tasa acumulativa de partos con al menos un bebé nacido vivo: El número estimado de partos con al menos un bebé nacido vivo resultado de un ciclo de TRA iniciado o aspirado, incluyendo el ciclo en el cual se transfirieron embriones en fresco y los subsecuentes ciclos en los cuales se transfieran embriones criopreservados y descongelados. Esta tasa es usada cuando se ha transferido menos del total de embriones en fresco y embriones criopreservados y descongelados de un solo ciclo de TRA. Nota: el nacimiento de un bebé único, o múltiples es registrado como un solo parto.

Tasa de embarazo clínico: El número de embarazos clínicos expresados por 100 ciclos iniciados, ciclos de aspiración o ciclos de transferencia de embriones. Nota: cuando se expresen las tasas de embarazo clínico, el denominador (iniciados, aspirados o transferencias) debe ser especificado.

Tasa de implantación: Número de sacos gestacionales observados, dividido por el número de embriones transferidos.

Tasa de nacimientos vivos: Número de nacimientos que hayan resultado en al menos un nacido vivo expresado por 100 ciclos iniciados, ciclos de aspiración, o ciclos de transferencia de embriones. Cuando se exprese la tasa de nacidos vivos el denominador (ciclos iniciados, aspirados o de transferencias) debe especificarse.

Tasa de parto después de TRA por paciente: Número de partos con al menos un nacido vivo por paciente después de un número especificado de tratamientos de TRA.

Tasa de partos: El número de partos expresados por cada 100 ciclos iniciados, ciclos de aspiración o ciclos de transferencia de embriones. Cuando la tasa de partos es expresada, el denominador (iniciados, aspirados o transferencias) debe ser especificado. Esto incluye partos que resultaron en el nacimiento de uno o más nacidos vivos y/o mortinatos. Nota: el parto de un solo bebé único o múltiple, es registrado como un solo parto.

Tasa total de nacimientos con al menos un nacido vivo: Número total estimado de partos con al menos un recién nacido vivo como resultado de un ciclo de TRA iniciado o aspirado incluyendo todos los ciclos en fresco y los ciclos crio preservados y descongelados. Esta tasa es usada cuando todos los embriones –en fresco y los crio preservados/descongelados - de un ciclo de FIV han sido usados. Nota: El parto de un bebé único o múltiple, es registrado como un solo parto.

Técnicas de Reproducción Asistida (TRA): Todos los tratamientos o procedimientos que incluyen la manipulación tanto de ovocitos como de espermatozoides o embriones humanos para el establecimiento de un embarazo. Esto incluye, pero no está limitado sólo a, la fecundación in vitro y la transferencia de embriones, la transferencia intratubárica de gametos, la transferencia intratubárica de cigotos, la transferencia intratubárica de embriones, la criopreservación de ovocitos y embriones, la donación de ovocitos y embriones, y el útero subrogado. TRA no incluye inseminación asistida (inseminación artificial) usando espermatozoides ni de la pareja ni de un donante.

TESA (por sus siglas en inglés): Aspiración de espermatozoides testiculares.

TESE (por sus siglas en inglés): Extracción de espermatozoides testiculares.

Torsión ovárica: rotación parcial o completa del pedículo vascular ovárico que causa obstrucción del flujo sanguíneo ovárico, y puede llevar a la necrosis de tejido ovárico.

Transferencia de embriones (TE): procedimiento mediante el cual uno o más embriones son colocados en el útero o en la trompa de Falopio.

Transferencia electiva de embriones: transferencia de uno o más embriones, seleccionados a partir de una cohorte más grande de embriones.

Transferencia intratubárica de gametos: Un procedimiento de TRA en el cual ambos gametos (ovocitos y espermatozoides), son transferidos a la trompa de Falopio.

Transferencia intratubárica de cigoto: Procedimiento mediante el cual uno o más cigotos son transferidos a la trompa de Falopio.

Vitrificación: Método ultrarrápido de crio preservación que previene la formación de hielo dentro de una suspensión que se solidifica de manera similar al vidrio.

Zigoto: Célula diploide resultante de la fecundación de un ovocito por un espermatozoide, la cual subsecuentemente se divide para formar un embrión.

1. Resumen

Este estudio explora la relación entre determinados factores de tipo sociodemográfico, clínico y paraclínico con los resultados del tratamiento de inyección intracitoplasmática de semen /fertilización in vitro (**FIV/ICSI**) y crío transferencia de embriones, en una institución especializada en tratamientos de fertilidad; en razón a que este tipo de tratamientos acarrear consigo un valor emocional, social y económico significativo dentro de la dinámica del derecho individual y de la pareja de la reproducción, y de la estructuración de una familia. Se realizó mediante la sustracción de datos clínicos y paraclínicos de manera retrospectiva de las historias clínicas disponibles, para un posterior análisis estadístico de la relación con el desenlace duro como es el **embarazo químico**, con los parámetros considerados como principalmente relacionados a nivel internacional, para la valoración de éxito de este tipo de tratamientos. Dentro de los parámetros que se analizaran para la búsqueda de relaciones están: **Edad materna, Índice de masa corporal, exposición a tóxicos, estatus gestacional, numero de tratamientos de ICSI y fertilización in vitro previos, tipo de infertilidad, conteo folicular antral, valor de hormona antimulleriana pretratamiento, tipo de protocolo de estimulación ovárica, entre otros.** Todos parámetros que han sido debatidos en la literatura como de relevancia para el análisis de tratamientos de fertilidad.

2. Planteamiento del problema de estudio:

El aumento de los niveles educativos y la participación de las mujeres en la fuerza de trabajo ha dado lugar a un claro aumento de la edad media a la que mujeres deciden llevar cabo una gestación (1). En las sociedades de estilo “occidental”, la fertilidad natural comienza a disminuir después de los 30 años, muchas mujeres, se enfrentarán a problema inesperado que es intentar la gestación con una reserva ovárica disminuida lo que se ha convertido en un reto clásico en terapias de fertilidad (2). El envejecimiento ovárico se caracteriza por el declive relacionado con la edad en la cantidad de folículos primordiales y la calidad de los ovocitos allí contenidos, factor que condiciona directamente la planeación del manejo y la posibilidad de resultados de las terapias de reproducción asistida (3). Después del pico de fertilidad (20 años aproximadamente), se espera que las mujeres pierdan tres cuartas partes de su reserva folicular hacia los 30 a 40 años de edad, con una disminución gradual y sostenida hasta la falla ovárica que se representa como la menopausia (4); Sin embargo, una mala respuesta a la estimulación ovárica en pacientes jóvenes y el rango de la edad cronológica en la que la menopausia ocurre, sugiere que el potencial reproductivo de las mujeres depende no sólo de la edad cronológica, sino también en la reserva ovárica, la cual puede verse influenciada por diversos factores tanto intrínsecos como extrínsecos lo que complejiza aún más la interpretación de los casos, y genera la necesidad de llevar a una individualización de las estrategias de manejo y ha llevado a la medicina actual a optar por avances tecnológicos cada vez más sofisticados con el objetivo de dar solución a esta problemática, que se calcula afecta a cerca de 2.5 millones de parejas, que cursan con problemas relacionados con subfertilidad e infertilidad y cerca de 700.000 parejas, se encuentran a la espera de implementar un tratamiento para ello (5).

Hace más de 30 años los avances tecnológicos en medicina lograron el nacimiento del primer niño por medio de fertilización in vitro (FIV) (6), y se plantea que en el mundo hay más de 3 millones de niños nacidos como resultado de tratamientos con FIV/Inyección citoplasmática de semen (ICSI). Con el tiempo por medio de la estandarización y la optimización de las técnicas de tratamiento se reportan tasas de éxito para embarazo de alrededor 27.9% por transferencia realizada las cuales pueden ser más o menos optimistas de acuerdo a condiciones propias del paciente y del procedimiento en sí mismo, por lo que los tratamientos de IVF/ICSI se han convertido en los métodos de manejo principales para el

manejo de aquellos casos de parejas con infertilidad principalmente con factor masculino severo (7).

Actualmente la principal condición considerada como evento adverso del tratamiento de IVF/ICSI, es la proporción aumentada de embarazos múltiples que se ha relacionado con un peor pronóstico obstétrico, esto por los efectos del resultado asociado de la prematuridad y sus efectos como son: El bajo peso al nacer, parto pre término, muerte neonatal, condiciones de discapacidad como una mayor incidencia de parálisis cerebral, retrasos del desarrollo del lenguaje, y trastornos del comportamiento (8) etc. Adicional otras condiciones consideradas como evento adverso como es el síndrome de hiperestimulación ovárica, el cual, aunque es una complicación rara es muy seria (9), por lo que hay estrategias claras dentro de los protocolos de tratamientos para disminuir la incidencia de los mismos.

Es muy importante tener en cuenta aspectos como los costos, ya que se plantea que un ciclo de FIV en promedio tiene un costo de más de USD\$12.000, por lo que aun estos tratamientos generan controversia y debate acerca de su costo – beneficio, efecto social de los múltiples nacimientos y la edad materna, en relación con costos del manejo de embarazos de alto riesgo y manejo de partos múltiples, pre término y de neonatos de bajo peso; adicional al hecho que no hay clara evidencia acerca del impacto en costos, del manejo de estados depresivos la pérdida de fuerza laboral a consecuencia de la infertilidad involuntaria (10).

Por otro lado, no existe dentro de los protocolos de manejo metodologías específicas para la optimización de resultados con un propósito de individualización del tratamiento en pro de buscar los mejores resultados aparte de la experiencia y la capacidad de cada institución para mejorar sus resultados. En nuestro país no hay estudios y en general existe un vacío en información propia que respalde conductas individualizadas, lo cual es importante ya que si se considera como un problema en salud pública es necesario determinar qué condiciones favorecen o no los resultados de este tipo de tratamientos, teniendo en cuenta que cerca de 700.000 parejas anhelan tratamientos para la resolución de este problema a de salud, adicional que solo el 3% de las parejas con este tipo de problemas tiene la capacidad económica para cubrir este tipo de tratamientos, y que el 30% de las pacientes con problemas de fertilidad van a requerir tratamientos de reproducción asistida según estadísticas de la Fundación Colombiana de parejas infértiles.

2.1. La infertilidad como problema de salud pública

La fertilidad para la especie humana no es fácil, ya que se plantea un 25% de posibilidad de embarazo por relación sexual en una mujer que se encuentre en etapa de ovulación de su ciclo menstrual y de acuerdo a reportes de la organización mundial de la salud (OMS) cerca de 80 millones de personas en el mundo se ven afectados por problemas de fertilidad, con un aproximado de 10% de mujeres afectadas, en encuestas demográficas entre 1990 y 2004 la publicadas en 2012, 1 de cada 4 parejas en países en desarrollo se han encontrado afectadas por la subfertilidad e infertilidad (11).

La infertilidad es definida de acuerdo a la OMS como una enfermedad del sistema reproductivo y como tal se determina como discapacidad cuando se plantea en términos de igualdad. El campo de la medicina reproductiva y endocrinología crecen rápidamente en el abordaje de este problema y su manejo abarca desde los tratamientos más sencillos y de fácil aplicación hasta tratamientos complejos y de alta innovación. Un paradigma en el manejo de los problemas de infertilidad fue la implementación de 1978 por el Dr. Robert Edwards (1924 – 2013) de la técnica de fertilización in vitro, que le permitió ser acreedor al premio nobel de medicina en el año 2010, desde entonces se presume cerca de 30 millones de nacimientos relacionados con el uso de estas técnicas esto debido a la depuración, estandarización y optimización de las mismas.

3. Justificación del trabajo de investigación:

En Colombia hay un creciente número de centros para el manejo de tratamientos de asistencia en fertilidad. El 16 de febrero de 2015 se sanciona **la ley 1751** la cual reglamenta el acceso de parejas con este diagnóstico a tratamientos de asistencia en fertilidad como un derecho fundamental y obligatorio, bajo conceptos esenciales como son como son: **“La salud reproductiva, igualdad, libre desarrollo de la personalidad, el derecho a formar una familia y continuar con el proyecto de vida entre otros”**. Por lo anterior se hace necesario identificar y distribuir de forma adecuada los recursos necesarios para el acceso oportuno y racional a estos tratamientos, ya que será parte de la política pública en salud, destinando recursos públicos para la misma, lo que acarrea una carga onerosa para el sistema. En el momento, en Colombia no existen estudios de carácter analítico acerca de factores relacionados con el éxito de los tratamientos de fertilidad en nuestra población, ya que la mayoría de la literatura disponible es de estudios sobre poblaciones muy diferentes a la nuestra, principalmente de países del primer mundo en los que estos tipos de tratamientos son de un mayor acceso e implementación. En un centro de fertilidad de alta complejidad y con altos parámetros de calidad, es necesario procurar una adecuada caracterización de su población de intervención que con el tiempo lleve a determinar aquellos factores útiles para predicción y pronóstico de resultados, para poder mejorar los resultados de los tratamientos allí implementados, así mismo, el impacto a nivel de costo efectividad, social, psicológico para los pacientes que como se mencionó previamente va a trascender al aspecto en salud pública; Por esta razón se debe considerar que adelantos en investigaciones acerca de la calidad y variables que impacten el éxito de estos tratamientos es necesaria, mucho más, considerando que implicara una desgaste emocional, social y económico para los actores del problema, considerando que en un sistema de salud con recursos públicos y finitos como es el nuestro, la priorización de los tratamientos y su relación con costo beneficio individual y social son factores trascendentales en la toma de decisión de su implementación.

4. Marco teórico

4.1. Inyección intracitoplasmática de semen (ICSI) y crío transferencia embrionaria como estrategia de tratamiento en infertilidad

Desde hace más de 20 años, se ha empleado la inyección intracitoplasmática de semen (ICSI) como un tratamiento para el manejo de la pareja infértil, si bien no es la técnica más usada ya que esta es la inseminación intrauterina, la ICSI tiene un rol claro, en especial aquellos casos que se presentan por factor masculino severo (12), lo que ha permitido mejorar la posibilidad de embarazo en estos casos, ya que condiciones como la hipo motilidad espermática, la falta de adherencia a la zona pelúcida y la reacción acrosomal pueden ser superadas por parte del embriólogo por medio de la implementación de esta estrategia de tratamiento.

4.2. Aspectos técnicos de la capacitación del semen para ICSI

En condiciones naturales, el ácido hialurónico (AH) hace parte de los mecanismos de selección del espermatozoide, ya que solo aquellos espermatozoides capacitados “maduros” poseen receptores específicos para adherir ácido hialurónico, considerándolo como el “*selector fisiológico*” de espermatozoides, condición que se aprovecha para su utilización en procedimientos de in vitro (13), adicional que aquellos espermatozoides con capacidad de adhesión de AH tienen mejor morfología (14), menor riesgo de aneuploidía (15) y menor fragmentación del DNA (14). El termino en embriología para definir este procedimiento de selección del espermatozoide se denomina “*capacitación*” del semen y se relaciona con una serie de ventajas adicionales para mejorar los resultados de la intervención:

- Se plantea que la recuperación del espermatozoide por la pipeta es más sencilla con los que tienen adherido el AH (16).
- No hay efectos negativos en el desarrollo del cigoto post inyección (17).
- El AH se metaboliza sin dificultad por el ovocito (18).

El uso de ácido hialurónico se considera adicional ventajoso frente a la utilización de otras sustancias de tipo sintético como polivinilpirrolidona plástica que se utiliza para reducir la motilidad espermática, y que se ha relacionado que tiene efectos tóxicos en el ovocito (19).

Comercialmente existen discos plásticos con micro puntos de AH, que requieren una preparación especial en busca de optimizar la selección de los espermatozoides “*capacitados*”. Son discos plásticos tradicionales con 3 micro puntos de AH en polvo, el cual requiere rehidratación con micro gotas de 5 μ L de medio de cultivo fresco en cada micro punto de ácido hialurónico, luego gotas de 2 μ L de la suspensión de espermatozoides tratados se contacta con el medio de cultivo previamente preparado, para llevar a una incubación posterior por 5 minutos en solución oleosa. Posteriormente con la pipeta de ICSI, se seleccionan los espermatozoides con mejor motilidad que tengan ácido hialurónico adherido para ser inyectados en un ovocito (20).

En general la mayoría de los estudios muestran una tendencia a la mejoría de los desenlaces con la utilización de metodología ICSI fisiológica en medio enriquecido con AH en términos de tasas de fertilización, calidad embrionaria, tasa de embarazos, tasas de implantación que son los principales parámetros de calidad de los tratamientos de fertilidad (21,22)

4.2.1. Fertilización in vitro con inyección intracitoplasmática de espermatozoide

La inyección intracitoplasmática de técnica consiste en la inseminación de un óvulo mediante la micro inyección de un espermatozoide en su interior, tiene la ventaja que solo se precisa un espermatozoide por ovulo, mientras que sin ICSI se requiere entre 50.000 y 100.000 espermatozoides por ovulo para lograr la fertilización, en la clínica de fertilidad que se analizó para este estudio, esta es la técnica de elección para todos los tratamientos de fecundación in vitro. Los requerimientos para su realización son los mismos que se tiene para la fecundación in vitro clásica ya que lo que cambia es la técnica de inseminación. La ICSI se desarrolló en 1992 para tratar casos de esterilidad masculina por azoospermia, oligospermia, astenozoospermia (23). Hoy en día se utiliza de forma habitual como una de las metodologías que mejor resultados aporta en términos de éxito gestacional, por ejemplo, el registro de la Sociedad Europea de Reproducción y Embriología Humana (ESHRE) del año 2012 donde se analizaron base de datos de 34 países con cerca de 312.600 procedimientos de ICSI y 139.558 de transferencias embrionarias se alcanzaron tasas de embarazo de 32.3% por transferencia en el año 2011 (24).

4.3. Fases de la técnica FIV/ICSI crio transferencia de embriones:

4.3.1. Estimulación ovárica controlada:

Se realiza la estimulación de los ovarios mediante la administración de hormonas durante 2 a 3 semanas, con un seguimiento estricto de los niveles hormonales efectores y el conteo folicular periódico, hasta lograr un número y tamaño adecuados para la extracción. En la clínica Eugin los tipos de protocolo más utilizados son los de corta duración en base a la utilización de análogos agonistas de la hormona gonadotrópica coriónica humana (**GnRH**) o el protocolo con análogo antagonista de **GnRH**, la elección de uno u otro es en base a un análisis previo clínico y paraclínico del pronóstico de la respuesta de la paciente al tratamiento.

4.3.2. Tipos de protocolo de estimulación ovárica utilizados en la Clínica de referencia:

4.3.2.1. Protocolo largo con Agonista de GnRh:

Se utiliza en pacientes en las que se considera que tienen una adecuada reserva ovárica. La paciente inicia el tratamiento en día 21 a 23 del ciclo anterior, en el cual se le realiza una ultrasonografía transvaginal para verificar que ocurrió la ovulación, en caso que no haya ovulado se espera una semana y se realiza una nueva evaluación.

Una vez que se comprueba que la paciente ha ovulado, se inicia la administración de acetato de Leuprolide (Análogo de la GnRH), a la dosis de 0,1 cc SC diario equivalente a 3,75 mg, en horas de la noche, durante 10 a 14 días, luego se realiza una ultrasonografía transvaginal, para corroborar que el endometrio es lineal (menos de 3 mm) y los ovarios no presenten desarrollo folicular (folículos menores de 10 mm). Se miden los niveles de estradiol y progesterona séricos, que deben ser menores de 60 pg/mL y alrededor de 0, respectivamente. Con esto se comprueba que ocurrió la supresión hipofisaria, al día siguiente, se inicia el tratamiento con Hormona folículo estimulante recombinante (**FSHr**) nombres comerciales (Puregón®, Fostimón®, Merional®, Gonal-F® o Luverys®) cuya dosis puede variar de acuerdo a las características de cada paciente. La dosis del agonista de GnRH se disminuye a la mitad (0,05 cc). La primera valoración se realiza a los 5 días de haber iniciado el tratamiento con gonadotropinas, mediante determinación sérica de estradiol y progesterona,

así como por la medición, con ultrasonido transvaginal, del crecimiento folicular y las características del endometrio proceso llamado seguimiento folicular.

Estas mediciones se realizan en forma diaria o interdiaria, hasta que se obtienen por lo menos 3 folículos de más de 18 mm de diámetro, con niveles de estradiol de 200 a 300 pg/L por folículo maduro. En ese momento, se indican entre 5.000 y 10.000 UI de hormona gonadotrópica coriónica humana **HCG** (Gonasi®, Pregnyl®) o 250 unidades de hormona gonadotrópica coriónica humana recombinante **HCGr** (Ovidrel®), y entre 36 a 48 horas después se realiza la aspiración folicular para el ICSI.

El análogo de GnRH se mantiene hasta el día siguiente de aplicar la HCG, y desde el día siguiente de la aspiración se inicia un tratamiento con progesterona micronizada (Utrogestan®, Geslutin®), a dosis de 3 a 5 cápsulas por vía vaginal, cada 12 horas, que se mantiene hasta las 8 a 9 semanas de embarazo. También se indica un esteroide como metilprednisolona (Medrol®), Defalzacort (Lantadin ®), a la dosis de 1 tableta de 16 mg diaria, durante 5 días consecutivos entre 8:00 y 8:30 am, con el fin de disminuir la respuesta inmunológica y favorecer la implantación.

El protocolo largo también se puede iniciar desde el segundo o tercer día del ciclo menstrual, pero tiene el inconveniente que, con frecuencia, se forman folículos de más de 10 mm después de finalizar el agonista. Entre las ventajas de usar este protocolo está que se puede controlar el tiempo de la estimulación, porque se puede acortar el uso de agonista a 10 días o prolongarlo 3 o 5 días más. Por otro lado, la aspiración se puede realizar entre 36 y 40 horas luego de la HCG, sin incrementar el riesgo de ovulación precoz.

La principal desventaja es que la paciente se realiza el tratamiento durante prácticamente un mes y, con frecuencia, requieren una dosis mayor de gonadotropinas, lo que aumenta los costos. Cuando se sospecha que la paciente no va a tener una adecuada respuesta folicular, como en las mayores de 35 años, con antecedentes de endometriosis o de cirugía en anexos, con una valoración hormonal previa alterada o con antecedentes de mala respuesta a la estimulación folicular, se utilizan los llamados protocolos “*Flare up*”, que son el corto, ultracorto y de suspensión, los cuales se describirán después. Entre las ventajas de estos protocolos, está que mejora la respuesta folicular y que el tiempo de tratamiento es más corto que en el protocolo largo. Entre las desventajas está que la aspiración se debe realizar a las

36 horas exactas de colocarse la HCG porque existe aumento del riesgo de ovulación precoz. Otra desventaja es que después de iniciado el tratamiento no se puede prolongar o acortar.

4.3.2.2. Protocolo corto con análogo agonista de GnRH

El día 2 o 3 del ciclo, se realiza un ultrasonido para corroborar que los ovarios estén en reposo y la línea endometrial delgada (3mm). Al día siguiente, se comienza con análogo de la GnRH Acetato de Leuprolide (Lupron®), a la dosis de 0,05 cc SC diario, junto con las gonadotropinas (Puregón®, Fostimón®, Merional® o Luverys®), a dosis que varían de acuerdo a cada paciente bajo criterio clínico, pero que pueden ser de 300 unidades de Puregón® o 227 unidades de Fostimón®, Merional® o Gonal-F®. Cuando se usa sólo FSH (Puregón® o Gonal-F®), se puede agregar Luverys® (LH) a la dosis de 75 unidades subcutánea diaria. El seguimiento folicular y la indicación del resto de los medicamentos se realizan en forma similar al del protocolo largo.

4.3.2.3. Protocolo ultracorto con agonista de GnRH

En este caso, al igual que en el protocolo corto, el agonista se usa desde el día 2 o 3 del ciclo, pero sólo por 2 ó 3 días. El seguimiento folicular y el resto de medicamentos se realizan como se describió para el protocolo largo. Este tipo de protocolo no es de utilización en la clínica analizada.

4.3.2.4. Protocolo con análogo antagonista de la GnRH

Cuando se usa el protocolo con antagonistas de la GnRH, la estimulación ovárica se inicia con gonadotropinas de la misma forma que en el protocolo corto, iniciando el día 2 o 3 del ciclo menstrual y evaluando a los 5 días de tratamiento. Una vez se obtengan uno o más folículos dominantes de 14 mm de diámetro, usualmente el día 6 o 7 de estimulación, se inicia la administración diaria subcutánea del antagonista (Orgalutran® o Cetoritide®), a la dosis de una ampolla subcutánea diaria, a primera hora de la mañana. Este tratamiento se mantiene hasta el día siguiente de haber aplicado la HCG. El monitoreo folicular y la aspiración se realiza igual que con el protocolo largo. Otro esquema del uso de antagonistas, es mediante la administración de una sola dosis de acción prolongada el día 7 u 8 de estimulación. Este tipo de protocolo es el más frecuente uso en la clínica analizada y se plantea para uso en pacientes en quienes se plantea potencial de pobre respuesta a los protocolos de estimulación.

4.3.3. Extracción de los óvulos y fecundación in vitro

La extracción de los óvulos producto del proceso de estimulación previa se hace mediante punción - aspiración de los folículos, mediante técnica mínimamente invasiva transvaginal, bajo anestesia, con guía ecográfica. Una vez extraídos, los óvulos se mantienen unas horas bajo cultivos especiales en medios que dan soporte metabólico apropiado, mientras se prepara el semen capacitado. Mediante técnica de inyección intracitoplasmática se introduce un espermatozoide elegido a cada ovulo.

4.3.4. Transferencia de embriones congelados

Al día siguiente de la extracción y fecundación de los óvulos se determina el número de óvulos que han sido fertilizados; en los 2 a 3 días siguientes, estos óvulos fertilizados se convertirán en pre embriones, los cuales serán calificados por ciertos parámetros de laboratorios morfológicos, para posteriormente escoger los que tienen las mejores características de desarrollo para ser transferidos al útero receptor el cual previamente ha sido preparado mediante estimulación hormonal por el médico tratante. En la clínica Eugin el numero habitual de embriones transferidos es de 2 por las implicaciones de la multiplicidad como un factor obstétrico de alta relevancia. El proceso de transferencia embrionaria no requiere anestesia. Es usual que de los embriones trasferidos se implante solo uno, sin embargo, existe la posibilidad de implantación de ambos lo que lleva a un embarazo múltiple.

4.3.5. Crio preservación

Aquellos pre embriones no transferidos se enfrían a una tasa acelerada de $-1.500^{\circ} \text{C/min}$ (vitrificación de embriones) con nitrógeno líquido para ser almacenados en un banco de embriones, debidamente identificados, La razón es dejar una reserva para su utilización en ciclos posteriores en caso de fallo para conseguir el embarazo en el primer intento.

4.4. Factores relacionados con el del éxito y calidad de IVF/ICSI

Tradicionalmente los resultados de IVF se expresan en términos de embarazo bioquímico y clínico, sin embargo, una definición universal y satisfactoria acerca del éxito de un tratamiento no se ha podido consensuar, ya que dentro de la competencia entre los centros de tratamiento de fertilidad, se han implementado diversas metodologías y parámetros para reportar sus resultados de manera particular, adicional que algunos pacientes ingresan

frecuentemente a más de un ciclo de estimulación y/o transferencia, por lo cual, los resultados en muchas ocasiones se reportan como acumulados de múltiples tratamientos, y no el crudo de los resultados individuales por cada tratamiento.

Otros parámetros que se utilizan para determinar éxito de los tratamientos de ICSI, es la valoración de parámetros de calidad del embrión, ya que esto determina el número de embriones para congelar y/o transferir; aspectos como el grado de fragmentación del núcleo (25), apariencia del citoplasma, irregularidad del blastómero (26), valoración de la zona precluida (27) entre otros, llevó a la creación en el primer método cualitativo unificado denominado ***puntaje acumulativo del embrión***, que busca servir como herramienta para la elección del mejor embrión y así optimizar las tasas de embarazo. Cabe anotar que con la optimización del conocimiento la calidad del embrión, su caracterización no solo se basa en aspectos morfológicos si no en parámetros dinámicos de la división celular como el tiempo para la primera división mitótica (28) complicando aún más la posibilidad de usar estas determinaciones como parámetros estandarizados de éxito.

La mayoría de los embriones se transfieren 2 o 3 días posterior a la fertilización, con el objetivo de determinar cuál es apto para la intención de la transferencia, simulando de alguna forma, la dinámica de la implantación del embrión, por lo tanto, la implantación sincrónica del blastocisto y la dinámica de la preparación endometrial, es esencial para el éxito del tratamiento, es así que un blastocisto de buena calidad tiene un alto potencial de embarazo, lo que plantea que el parámetro de estadio de desarrollo se convierta en un factor relevante con implicaciones en el éxito del tratamiento, sin embargo, esto todavía es objeto de debate ya que en un metanálisis no se encontró diferencia entre transferencias en día 2-3 vs blastocisto (38.8% vs 40.3%), adicional con un efecto negativo para tasas de congelación por lo que actualmente la información es insuficiente para generar una conclusión (29), es así que el estado “*maduracional*” del embrión entre día 3 o blastocisto para el momento de la transferencia no se contempla como una de las variables más relevantes de predicción de éxito en FIV/ICSI.

Con el avance en los análisis genéticos, la condición genética del embrión se ha convertido en un factor ponderable y muy importante para la interpretación de los resultados de los tratamientos de fertilidad tipo ICSI, ya que *in vivo*, los embriones con determinadas

anormalidades genéticas, son eliminados gradualmente mediante selección natural, sobre todo en estadio de desarrollo muy tempranos. En los tratamientos de ICSI puede existir embriones morfológicamente normales, pero con anormalidades genéticas que se pueden considerar indeseables (30), por lo que se ha planteado que el análisis genético del embrión (AGE) permitiría la selección de aquellos embriones con composición genética normal mejorando potencialmente la tasa de nacimientos vivos, sin embargo, por razón del alto costo de su realización, se ha limitado su implementación a casos en los que se plantea un alto riesgo de anormalidades genéticas como edad materna avanzada, baja respuesta ovárica, falla implantadora recurrente (7, 31- 34), adicional que es una prueba de difícil interpretación en razón al mosaicismo fetal. Condiciones técnicas más complejas como el metabolismo interno del embrión, y los factores de calidad de los embriones congelados – descongelados en la literatura son de muy difícil interpretación, confusos, no estandarizados, contradictorios por lo que tampoco se tiene un consenso acerca de su aplicación clínica.

4.4.1. Factores paternos y maternos

La calificación del embrión por sí sola no puede predecir con certeza los resultados de la FIV/ICSI y teniendo en cuenta que el cigoto tiene la misma cantidad de DNA cromosómico paterno como materno es muy importante contemplar estos factores y su papel en la dinámica de calidad de embrión y éxito del embarazo.

Dentro de los factores maternos más importantes a considerar como predictores de éxito de ICSI están parámetros tan diferentes como la **edad, los predictores de receptividad endometrial (35), la reserva folicular ovárica (36), el envejecimiento folicular (37 – 38), la respuesta a la estimulación ovárica (39), índice de masa corporal y obesidad (40 - 43), diagnostico principal de infertilidad, condiciones hormonales, comorbilidades crónicas, exposición a tóxicos entre otros. A nivel paterno, factores como la calidad del esperma (conteo, concentración, morfología, motilidad, morfología), historia de infecciones de la vía gónada - semino – uretral, e historia de fertilidad**, se han considerado clásicamente como predictores de éxito, sin embargo esto no se aleja de la controversia pues en análisis individuales con poblaciones más pequeñas como el estudio de Raheem et al del año 2013 del departamento de andrología de Londres, en el que no encontraron diferencias significativas en desenlaces del tratamiento e ICSI en términos de fertilización, generación

embrionaria, embarazo clínico nacimiento vivo, aborto en relación con edad paterna, causa de la azoospermia, histopatología testicular, tipo de espermatozoides usado y el uso de pentoxifilina (44), por ello, el análisis individual de casos bajo un solo parámetro a veces es insuficiente para sentar una posición acerca de factores pronóstico como una variable independiente (45).

Un tratamiento tipo ICSI es dependiente de factores técnicos y humanos, las consideraciones acerca de las condiciones de las intervenciones en este tipo de tratamiento son también de trascendental relevancia para la estimación de resultados y se exponen múltiples factores de los implicados como importantes, algunos de ellos ponderables y otros no, dentro de los más frecuentemente analizados el tipo de procedimiento, protocolos de estimulación ovárica, experiencia del equipo de manejo entre otros (45).

4.5. Predicción de desenlaces en fertilidad

Desde el nacimiento del primer ser humano generado por medio de técnica de fertilización in vitro, se ha generado la necesidad de la optimización de las técnicas utilizadas para de alguna forma, mejorar los resultados de la intervención (46), se han realizado varios estudios de cohorte que se han planteado determinar, cuáles son los factores pueden predecir los resultados de estos tratamientos; Sin embargo, los factores considerados para el análisis varían de acuerdo a cada estudio por lo que no se cuenta con un modelo predictivo único para este fin. Basándose en los aportes de los estudios previos en el año 2010 se realizó una revisión sistemática y metanálisis para los resultados de la fertilización in vitro por Loendersloot et al. (46). En total analizaron 14 estudios y determinaron que los predictores que alcanzaron relevancia fueron: **Edad femenina, duración de la subfertilidad/infertilidad, FSH basal, conteo folicular antral, número de ovocitos recuperados, técnica de fertilización, Número de embriones transferidos, calidad del embrión, como predictores de embarazo con tratamientos de fertilización in vitro.**

Con respecto al parámetro edad femenina, encontraron que 4 de los estudios categorizaron de acuerdo a rangos de edad, y documentaron que la posibilidad de embarazo es mayor en mujeres entre 30 – 35 años con 2,8 a 3,2 veces mayor posibilidad que las mujeres mayores de 40 años. En cerca de 10 estudios restantes se planteó la edad como una variable continua y se concluyó mediante el análisis estadístico que a mayor edad hay un menor chance de embarazo por técnicas de FIV (46).

Al analizar el tiempo de subfertilidad de acuerdo a la subdivisión de la variable tiempo en cerca de tres estudios reportaron que la duración de la infertilidad más de 12 meses, se relaciona con menor chance de embarazo. En 2 de los estudios que se analizaron, con 1077 pacientes se calculó un OR de 0.99 (95% IC 0,98 – 1,0) para la posibilidad de embarazo al incrementarse la duración de la infertilidad (46).

Acerca del tipo de infertilidad, planteada en términos de primaria vs secundaria, la información no fue conclusiva debido a la heterogeneidad entre los estudios con un OR de 1,04 (95% IC 0,65 – 1,43) en favor de causas primarias (46).

En cuanto al predictor Hormona folículo estimulante (FSH), documentaron 7 estudios que analizaron esta variable, 2 de ellos plantearon la variable en forma dicotómica en términos de su valor en 0-10 UI y > 10 UI, encontrando que la posibilidad de embarazo era superior en aquellas mujeres con FSH < 10 UI, sin embargo, también se encontró mucha heterogeneidad entre los estudios. En resumen, se plantea un OR de (0,94, 95% IC 0,88 – 1,0) para los niveles altos de FSH basal y la disminución de tasas de embarazos por FIV (46).

Para el número de ovocitos recuperados, se encontró que no había gran heterogeneidad entre los estudios y en general se categorizaron en rescate de menos de 5, 6 – 10 y > 11 ovocitos recuperados y se concluye un OR de 1.04 (IC 95% 1,02 – 1,07) para el número total de ovocitos recuperados y la posibilidad de embarazo. (47 - 50), Sin embargo es de anotar que desde ya hace un buen tiempo si se ha contemplado que el estado maduracional ovocitario para el momento de la inyección intracitoplasmática de semen impacta en resultados; Por ejemplo en un estudio de 2004 en el que se analizaron 237 mujeres con aproximadamente 436 ciclos de estimulación entre julio de 1999 y julio de 2000 en quienes se utilizó protocolo largo de estimulación ovárica, en aquellos casos en donde solo se encontraron ovocitos en estadio MI (178 ciclos) fueron inyectados para su posterior comparación con los inyectados en estadio MII, para un análisis de los resultados tasas de degeneración, fertilización, encontrando que la ICSI en ovocitos MI mostro un desempeño deficiente comparado con los inyectados en MII, en términos de tasa de degeneración 11% vs 4% ($p < 0.0001$), tasa de fertilización 28 vs 68% ($p < 0.0001$) y fertilización multipronucleada 10 vs 4% ($p < 0.01$), concluyendo que es preferible la inyección de ovocitos en estadio de metafase II vs la inyección de ovocitos en metafase MI (51).

Al analizar la técnica de fertilización, no se logró un análisis crítico ya que de los estudios que reportaron esta variable, uno mostro superioridad del FIV sobre ICSI y el otro favoreció la ICSI, por lo cual no informaron conclusiones. (47)

Para la variable del número de embriones transferidos, no se pudieron dar conclusiones ya que a pesar que se realizó una división dicotómica en la que subdividieron las transferencias en 2 o menos embriones o más de 2 embriones, no se encontraron diferencias significativas. Para el parámetro de calidad de embrión tampoco se llegó a una conclusión, ya que se encontró gran heterogeneidad en la metodología de calificación de factores de la calidad del embrión lo que no permitió tabulación apropiada de los datos (47)

En el 2011, una publicación de una análisis multivariado de 2450 pacientes de un solo centro en Asia, que ingresaron a su primer tratamiento de infertilidad entre 2002 y 2007, encontraron 9 factores independientes en un modelo multivariable como predictores de embarazo clínico, lo cuales fueron: **Número total de embriones de buena calidad, número total de embriones, edad femenina, conteo folicular antral, tasa de fertilización, duración de la infertilidad, engrosamiento endometrial, número de folículos maduros recuperados, nivel de progesterona el día de la inyección de HCG**; sin embargo dentro del análisis encontraron que los dos factores predictores más importantes para el tratamiento de ICSI, fueron la calidad y cantidad de todos los embriones (52).

Con respecto a otras subpoblaciones, en el año 2013 un grupo iraquí del centro de fertilidad de la ciudad de Najaf, se plantearon un interrogante similar al de la presente investigación, de forma prospectiva y retrospectiva buscaron determinar los factores que afectan el resultado y desenlaces de la ICSI. En ese estudio consideraron variables como **la edad, tipo causa y duración de la subfertilidad, análisis hormonales, engrosamiento endometrial, tipo de protocolo de estimulación ovárica, número de ovocitos recuperados, número de embriones transferidos y parámetros del semen**. En este análisis incluyeron una total de 140 mujeres, con 117 ciclos con una tasa de embarazos de 25,27%, una tasa de fertilización de 39.87%, en este estudio encontraron que los factores que afectan significativamente la fertilidad fueron la **edad avanzada, tipo y causa de subfertilidad**, también encontraron que en cuanto a parámetros de la calidad del esperma fue más relevante el número total de esperma que otros parámetros, así mismo hallaron relevancia número total de embriones

transferidos en tazas de embarazos; Concluyendo posterior al análisis estadístico que la edad femenina y el tipo de infertilidad son los dos más importantes determinantes en los resultados de estos tratamientos (53).

4.5.1. Hormona antimülleriana en fertilidad:

La hormona antimülleriana (HAM), hace parte de la familia del factor transformante beta, la cual es producida en las mujeres adultas exclusivamente por las células de la granulosa. Desde hace un tiempo ha considerado como un marcador de reserva ovárica, relacionándola con resultados de las terapias de reproducción asistida (54). Es así que en la clínica donde realizamos el análisis la medición de hormona antimülleriana se ha convertido poco a poco en rutina de la valoración del paciente y su interpretación es relevante no solo en casos complejos sino también como un marcador basal, que puede llegar a tener impacto en los resultados.

La medición sérica de la hormona anti-Mülleriana (HAM) se ha aplicado en diferentes escenarios clínicos, basado principalmente en su capacidad para reflejar el número de folículos antrales y pre-antrales presentes en los ovarios. También se ha propuesto como un sustituto para recuento de folículos antrales (CFA) y en el estudio de síndrome de ovario poliquístico (SOP) (55). Las concentraciones séricas de HAM, producidas por células de la granulosa de los folículos primordiales, son independientes del influjo de gonadotropinas, por lo tanto, sus valores en suero permanecen relativamente constantes dentro del ciclo menstrual, ya sea en mujeres con ovulación normal o mujeres con infertilidad (56). Por tanto, un nivel de HAM puede ser obtenido en cualquier día del ciclo menstrual lo que se plantea como ventaja frente a otros marcadores. A diferencia de los informes originales, la evidencia actual sugiere que los niveles de HAM pueden ser menores con el uso exógeno de hormonas (por ejemplo, píldoras anticonceptivas orales, GnRH) (57, 58), así como obesidad e hipogonadismo hipogonadotrófico (59); por el contrario, es predecible que mujeres con síndrome de ovario poliquístico presentan entre 2 a 3 veces valores superiores de HAM (60) por lo cual no se puede considerar como un marcador específico.

4.5.1.1. Aspectos fisiológicos de la hormona antimülleriana

La hormona antimülleriana (HAM) actúa suprimiendo el reclutamiento cíclico de los folículos primordiales para el pool de folículos en crecimiento, es producida principalmente

por el pool de folículos preantrales y antrales, por lo cual se le considera un subrogado aproximado del número de folículos antrales (61). Dadas estas características tan particulares de la HAM, se ha planteado como uno de los más eficaces marcadores de la reserva ovárica, que es uno de los paradigmas considerar en los tratamientos para infertilidad (62). Una característica que se interpreta como ventajosa de la medición de la HAM es que no se modifica con el momento del ciclo menstrual o embarazo a diferencia de otros marcadores bioquímicos de reserva ovárica (58, 63) y que los niveles disminuyen desde edades tempranas (64). Así mismo hay evidencia acerca de la correlación entre las mediciones de HAM y la respuesta a terapias de estimulación ovárica en terapia de reproducción asistida funcionando como un predictor cualitativo de estos tratamientos (65).

La reserva ovárica disminuida (ROD) predice los chances de embarazo, y esta a su vez se relaciona con pérdida gestacional (66). El conocer que paciente con una reserva ovárica disminuida se beneficia de tratamiento es clave para predicción de éxito en fertilidad lo que ha sido un foco e interés en medicina en los últimos años. Dentro de los propósitos de este estudio está un análisis individual de la variable hormona antimulleriana en tratamiento de ICSI, ya que un estudio y análisis ha adquirido relevancia en el abordaje del manejo de estas pacientes.

En tratamientos de fertilidad los predictores tradicionales de potencial reproductivo son la edad materna (67), las concentraciones de Hormona Folículo estimulante (FSH) en fase folicular del ciclo (68), las concentraciones de inhibina sérica (69), Sin embargo, ninguno de estos parámetros es considerado confiable generando la necesidad de implementar otro tipo de pruebas como el conteo folicular antral (CFA) y la medición de HAM, ya que ambos reflejan el número de folículos dispuestos para ser reclutados por dosis supra fisiológicas de FSH durante los tratamientos de fertilización in vitro (FIV), planteando que sean interpretados como predictores e la respuesta a FIV. En el año 2007 Lekamge Et al, en una cohorte de 126 pacientes (54 con niveles bajos de HAM y 72 pacientes con niveles altos de HAM) demostró que las tasas de fertilización en pacientes con bajos niveles de HAM era inferior comparado con los pacientes con niveles elevados independiente de variables como la técnica de reproducción asistida. Adicional a esto los pacientes con niveles bajos de HAM, alcanzaron menos ovocitos, generaron menos embriones y presentaron una mayor incidencia

de aborto durante la transferencia, disminuyendo la tasa de embarazos en cerca del 50% vs el otro con niveles altos (70)

4.5.1.2 Hormona antimülleriana y desenlaces en tratamientos de fertilidad:

Recientemente gran interés se ha despertado, para conocer la relación que puede existir entre los valores de HAM con aspectos como la implantación, embarazo, parto, y morfología del embrión, todos estos parámetros considerados predictores de éxito en terapias de reproducción asistida (71 - 73). En un metanálisis reciente realizado en Escocia, donde extrajeron resultados de 13 estudios y más de 6000 pacientes se evaluó la implicación de la HAM como predictor de éxito de gestación como variable independiente de la edad, encontrando un OR de 2.48 (95% IC: 1.81 - 3.22), llegando a un OR de 4.63 (95% IC 2.75 – 7.81), concluyendo que se encuentra asociación como predictor de nacimiento vivo en pacientes que son sometidos a terapia de fertilidad, pero con una exactitud predictiva baja (74). Otro metanálisis en cerca de 1000 pacientes mostró una débil asociación de la concentración de HAM y embarazo (75). Más recientemente una revisión sistemática publicada en 2015 evidencio que hay una débil asociación entre los valores de HAM, la implantación y tasa de embarazo, haciendo la salvedad que puede tener utilidad en consejería para terapias de fertilidad principalmente en pacientes con disminución de la reserva ovárica (ROD) (76), sin embargo, existen múltiples estudios observacionales que han mostrado que si existe una relación entre los valores séricos de HAM y los resultados de la terapia de reproducción asistida (TRA) (77 - 79). La razón de la variación entre los resultados se ha atribuido a la heterogeneidad de poblaciones, protocolos de estimulación, técnicas de ultrasonografía, técnica de medición de la HAM, así mismo se han determinado diferencias raciales y étnicas para los valores de HAM (80).

En general los valores séricos de HAM <1.66 ng/ml se han asociado con una pobre respuesta a la estimulación ovárica, mala calidad de los embriones y pobres resultados del embarazo en FIV (81). Es de anotar que la información sobre los valores del umbral de HAM, para diferenciar buenos y malos resultados es escasa en la literatura. De hecho, algunos autores utilizaron un valor de AMH en el momento de la administración de la HCG de 2.7 ng/ml, para distinguir entre 2 grupos de pacientes; quienes tenían una HAM por encima de este valor tenían significativamente un mayor número de embriones de 6 células, mejor morfología de

los mismos, una mejor calidad de los ovocitos y de su capacidad implantadora. Eldar-Geva et al. en 2005 publicó que un punto de corte de HAM 2.52 ng/ml en fase folicular o lútea tiene un valor predictivo positivo del 67% y negativo 61% para predecir un embarazo (82). Un corte de 0.69 ng/ml discriminó entre la cancelación o continuación de un curso ciclo (83), mientras que en otro estudio un valor de 1.13 ng/ml se indicó como predictor de una pobre reserva ovárica en un ciclo de FIV posterior, con una sensibilidad de 80% y una especificidad del 85%. (84).

4.5.1.3. Medición de hormona antimulleriana:

Las concentraciones de AMH en suero en este centro se midieron utilizando la técnica de ELISA con el **KIT GEN II** (*Beckman Coulter, California, USA*). La sensibilidad analítica de este ensayo es 0.08 ng/dl (0,57 pmol/L). La Conversión de la medición de AMH comúnmente informada en ng/ml a pmol/ L se puede hacer usando el multiplicador de 7,14 (es decir 1ng/ml = 7,14 pmol /L), en su mayoría el procesamiento de la prueba se realizado en el mismo laboratorio de referencia.

4.5.2. Conteo folicular antral en fertilidad

Los folículos que alcanzan el tamaño de 2 mm (folículos antrales) son muy sensibles a la acción de la FSH, logrando una buena correlacionan con el número de folículos primordiales pudiendo ser fácilmente visualizados por una ecografía transvaginal (85). Por lo tanto, el número de folículos antrales entre 2-10 mm se puede considerar como un sustituto marcador de la reserva ovárica que se puede utilizar para predecir la respuesta a las gonadotropinas exógenas (86). La principal ventaja percibida de CFA es que su medición está disponible en los centros de fertilidad con la obtención de resultados inmediatos. Sin embargo, su amplia disponibilidad contrasta con la falta de estandarización y con ello una limitación en la reproducibilidad de los resultados, con una amplia variabilidad técnica intraobservador e interobservador. Aunque con esta técnica la predicción del embarazo es pobre, el CFA tiene una aceptable predicción del número de ovocitos que serán recuperados después de la estimulación varias publicaciones respaldan este concepto, una de las más recientes es la de Silva et al en el año 2014 en la que se propusieron determinar si el conteo folicular antral se correlacionaba con el número de ovocitos recuperados en pacientes que ingresaban a protocolos de estimulación para FIV. Se documentaron datos de cerca de 193 pacientes ente

al año 2010 y 2012, incluyendo el análisis de pacientes que tenían otros predictores de disminución de la reserva ovárica como la FSH > 10 y categorizaron la variable en 3 grupos así: hasta 10 folículos, 11 – 22 folículos y > 23 folículos. Este grupo documentó una tasa de embarazos del 35.6%, con una correlación significativa entre el conteo folicular antral y el número de ovocitos recuperados ($p < 0.05$) y una correlación negativa entre el conteo folicular antral y la edad ($p < 0.05$), cabe mencionar que en este trabajo no encontraron diferencia significativa al comparar los diferentes grupos con el grupo con prueba de embarazo positiva ($p = 0.16$) (87), sin embargo si se considera el estudio de metanálisis de Loendersloot et al (46) en un grupo poblacional mayor, el número de ovocitos recuperados y su estadio de maduración tiene impacto en los resultados de gestación por lo cual la realización del CFA, sigue siendo un estándar de realización en todas las consultas de infertilidad. En conclusión, el CFA tiene ventajas como su inmediatez y amplia disponibilidad; pero sigue siendo una medida subjetiva afectado por el operador, el equipo utilizado, y variables del paciente tales como un alto índice de masa corporal y la patología pélvica (88).

4.5.2.1. Técnica para realización del conteo folicular antral:

El CFA se evalúa por medio de exploración transvaginal con el uso de una sonda de 7,5 MHz. El examen ecográfico se realizó entre el día 2-5 del ciclo menstrual, se excluyeron ovarios con cuerpos lúteos lo suficientemente grandes como para comprimir de manera significativa el parénquima ovárico. Las estructuras circulares o sonolucientes ovaladas en los ovarios, sin evidencia de flujo por análisis Doppler, eran considerados como los folículos, pero sólo aquellos entre 2 - 10 mm de diámetro se incluyeron en el conteo de folículos antrales. Después de un ciclo de estimulación las pacientes que producen ≥ 8 ovocitos fueron clasificados como mujeres con reserva ovárica normal, mientras que aquellas productoras de ≤ 4 ovocitos fueron clasificados como pacientes con una mala reserva ovárica.

5. Objetivo general

Explorar los factores relacionados con el éxito, en tratamientos de inyección intracitoplasmática de semen/fertilización in vitro (ICSI/FIV) y crío transferencia embrionaria en pacientes con tratamiento para infertilidad en una clínica de fertilidad de Bogotá, 2015 – 2016.

5.1. Objetivos específicos:

- Describir la población que es sometida a tratamientos de fertilidad con FIV/ICSI y criotransferencia en términos de condiciones basales como edad, estatus marital, Índice de masa corporal, comorbilidades pre tratamiento, exposición a tóxicos pretratamiento, causa y tipo de infertilidad, estatus gestacional previo, condiciones ginecológicas basales, tipo de protocolo de estimulación ovárica recibido, resultados del ciclo de estimulación ovárica, parámetros de la transferencia embrionaria y resultados de la transferencia de embrionaria.
- Describir las características paraclínicas basales de la población de estudio a nivel de ecografía ginecológica y perfil hormonal basal
- Analizar la relación de valores basales de la Hormona Antimulleriana con parámetros en tratamientos de fertilidad como reserva ovárica, envejecimiento ovárico y los resultados del tratamiento de ICSI/FIV en términos de embarazo bioquímico y clínico.
- Determinar los factores clínicos, paraclínicos o del procedimiento relacionados con los resultados del tratamiento en términos de embarazo bioquímico y clínico.

6. Hipótesis de estudio

6.1. Hipótesis nula: Las variables sociodemográficas, clínica y paraclínicas no muestran relación con el éxito del tratamiento de FIV/ICSI para la población estudiadas

6.2. Hipótesis alterna: Las variables sociodemográficas, clínicas y paraclínicas muestran relación con el éxito del tratamiento de FIV/ICSI y crio transferencia de embriones para la población estudiada

7. Metodología:

Es un estudio de tipo observacional, descriptivo, de corte transversal con componente analítico.

7.1. Población

7.1.1. Universo: Historia clínica de mujeres que asisten a tratamientos de fertilidad en una clínica especializada en Bogotá entre los años 2015 y 2016

7.1.2. Población objetivo: Historia clínica de mujeres en tratamiento para infertilidad con FIV/ICSI y crío transferencia embrionaria en la Clínica Eugén Bogotá entre los años 2015 y 2016 en primer tratamiento realizado después de la consulta inicial

7.2. Muestra: No se realizó ningún proceso de muestreo debido a que se analizó toda la población objetivo disponible

7.2.1. Criterios de inclusión:

- Historia clínica de pacientes mayores de 18 años hasta 50 años que ingresan para tratamiento de ICSI/IVF y criotransferencia de embriones, como terapia para manejo de infertilidad entre 2015 y 2016, en una clínica especializada de la ciudad de Bogotá.
- Pacientes que tengan datos completos en la historia clínica digital para el análisis de las variables de relación.

7.2.2. Criterios de exclusión:

- Pacientes que realizan tratamiento con subrogación de útero
- Transferencias de ovo donación

7.2. Definición de variables de análisis:

7.2.1. Cuadro de operacionalización de variables

VARIABLES SOCIODEMOGRAFICAS					
VARIABLE	DEFINICIÓN	CATEGORIA	NATURALEZA	ESCALA DE MEDICION	ANALISIS
Edad	Edad en años cumplidos	No aplica	Cuantitativa	Razón - Continua	Medidas de tendencia y dispersión
Tipo de tratamiento previo	Tipo de tratamiento recibido para infertilidad	1. Medico 2. Quirúrgico 3. Ambos	Cualitativa	Nominal	Frecuencias absolutas y relativas
Tipo de Infertilidad	Tipo de Infertilidad como etiológica básica	1. Primaria 2. Secundaria	Cualitativa	Nominal - Dicotómica	Frecuencias absolutas y relativas
Tiempo de infertilidad	Tiempo de infertilidad para el momento de la primera consulta	No aplica	Cuantitativa	Razón - Continua	Medidas de tendencia y dispersión
Condición gestacional previa	Presentación de embarazo y/o aborto previo al tratamiento	1. Si 2. No	Cualitativa	Nominal - Dicotómica	Frecuencias absolutas y relativas
Estado Civil	Estado conyugal para el momento de la consulta inicial	1. Casada 2. Soltera 3. Unión Libre 4. Separada 5. Divorciada 6. Pareja Homosexual	Cualitativa	Nominal	Frecuencias absolutas y relativas
Exposición toxico ambiental pretratamiento	Exposición a agentes tóxicos previo al inicio de tratamiento	<ul style="list-style-type: none"> • Tabaco • Alcohol • Drogas • Ambiental 	Cualitativa	Nominal	Frecuencias absolutas y relativas
VARIABLES CLINICAS					
Índice de Masa corporal	Índice en Kg/m2 para el momento del inicio del tratamiento	No aplica	Cuantitativa	Razón - continua	Medidas de tendencia y dispersión
Enfermedades crónicas de base	Enfermedad con diagnóstico previo al inicio del tratamiento	<ul style="list-style-type: none"> • Hipertensión arterial • Diabetes • Enf. Pulmonar crónica • Cáncer • Reumatológica • Hematológica • Obesidad • Hipotirodismo • Cardiovascular • Enfermedad mental 	Cualitativa	Nominal	Frecuencias absolutas y relativas
Etiología de infertilidad	Diagnóstico médico de la causa de la infertilidad	<ul style="list-style-type: none"> • Factor masculino • Reserva. Ovárica Disminuida • Hipotiroidismo • Obesidad • Hipogonadismo • Anomalía Uterina • Endometritis crónica • Miomatosis • Tubárico • Endometriosis 	Cualitativa	Nominal	Frecuencias absolutas y relativas

		<ul style="list-style-type: none"> • S. Ovario Poliquístico • Enf. Autoinmune • Mujer Sola 			
Dismenorrea	Presencia de dismenorrea al diagnóstico	<ol style="list-style-type: none"> 1. Si 2. No 	Cualitativa	Nominal dicotómica	Frecuencias absolutas y relativas
Dispareunia	Presencia de dispareunia al diagnóstico				
VARIABLES PARACLINICAS					
Conteo Folicular antral basal	# de folículos antrales en Ecografía de la primera consulta	No aplica	Cuantitativa	Razón - continua	Medidas de tendencia y dispersión
Alteraciones uterinas en la ecografía basal	Reporte de las alteraciones anatómicas uterinas de la ecografía de la primera consulta	<ul style="list-style-type: none"> • Ovario Único • Quiste ovárico • Masa Ovárica • Endometriosis • Anomalías uterinas • Miomatosis • Adenomiosis • Alteraciones endometriales 	Cualitativa	Nominal	Frecuencias absolutas y relativas
Hormona Antimülleriana	Valor de la hormona Antimülleriana basal (ng/ml)	No aplica	Cuantitativa	Razón - continua	Medidas de tendencia y dispersión
TSH	Valor de la TSH basal (mU/ml)	No aplica	Cuantitativa	Razón - continua	Medidas de tendencia y dispersión
FSH	Valor de la FSH basal mU/ml	No aplica	Cuantitativa	Razón - continua	Medidas de tendencia y dispersión
Prolactina	Valor de la prolactina basal ng/ml	No aplica	Cuantitativa	Razón - continua	Medidas de tendencia y dispersión
VARIABLES DEL PROCEDIMIENTO					
Tipo de protocolo de estimulación ovárica	Protocolo con el cual se realiza la estimulación ovárica	<ol style="list-style-type: none"> 1. Agonista corto 2. Agonista Largo 3. Antagonista 	Cualitativa	Nominal	Frecuencias absolutas y relativas
Tasa de recuperación ovocitaria	Tasa de acuerdo a los ovocitos recuperados del total de ciclos	No aplica	Cuantitativa	Razón - continua	Medidas de tendencia y dispersión
Tasa de Fertilización	Tasa de acuerdo a los ovocitos fertilizados del total de inyectados	No aplica	Cuantitativa	Razón - Continua	Medidas de tendencia y dispersión
Tasa de logro Embrionario	Tasa de acuerdo a los embriones logrados del total de ovocitos fertilizados	No aplica	Cuantitativa	Razón - continua	Medidas de tendencia y dispersión
Tasa de Embriones de excelente calidad	Tasa de los embriones tipo 1 y 2 del total de embriones formados	No aplica	Cuantitativa	Razón - continua	Medidas de tendencia y dispersión
Tasa de embarazo Bioquímico	Tasa de los embarazos con prueba de embarazo positiva	No aplica	Cuantitativa	Razón - continua	Medidas de tendencia y dispersión
Tasa de Embarazo Clínico	Tasa de los embarazos confirmados con saco gestacional y latido cardíaco por ecografía	No aplica	Cuantitativa	Razón - Continua	Medidas de tendencia y dispersión

7.3. Técnicas, instrumento y procedimientos de recolección de datos

Se realizó la revisión de historias clínicas del periodo de estudio de la clínica, para la identificación y registro en base de datos creada. La información se extrajo de los registros realizados por los médicos tratantes de la paciente. Dicho proceso estuvo a cargo del investigador principal únicamente.

Se diseñó una base de datos en ACCESS, en la cual se incluyeron las variables determinadas a partir del marco teórico, de acuerdo con lo descrito en el cuadro de operacionalización de variables. Posteriormente se realizaron las relaciones entre las tablas manteniendo la coherencia de la relación entre datos, para el registro de los datos dentro del sistema ACCESS, se diseñaron los formularios correspondientes integrando un sistema de fácil utilización por el investigador. Los datos que se registran se hacen en base a los relevantes para el tema de investigación, respaldado en aquellos que han sido citados por la literatura que trata del tema.

Se revisaron las historias clínicas una por una, en base a un PIN de identificación de registro interno, de acuerdo al registro de procedimientos de ICSI y crío transferencia de embriones dentro de los años 2015 y 2016, teniendo en cuenta que estos datos sean registrados manteniendo la privacidad de los mismos y asegurando un registro inmediato y preservando la confidencialidad. Estos datos gracias al sistema de ACCESS quedan tabulados inmediatamente, los cuales pueden ser exportados posteriormente a EXCEL para ser analizados por cualquier sistema estadístico.

7.4. Control de Sesgos:

7.4.1. Sesgos de selección: Se controlaron por medio de las siguientes estrategias:

- Restricción del análisis a historia clínica de las pacientes que cumplan con los criterios de inclusión y exclusión.

7.4.2. Sesgos de información: Se controlaron por medio de los siguientes métodos:

1. El instrumento de recolección de información para la base de datos, el cual se validó para la recolección estandarizada de la información, en todas las historias clínicas los pacientes se estandarizaron la forma de registro con variables dicotómicas. Los parámetros nominales se registrarán de acuerdo a como se planteó en el instrumento el cual no permitió hacer registros fuera de esa plataforma o modificando las nominaciones.
2. El investigador principal es el único que realiza recolección de datos, el investigador es médico especialista que conoce del tema y puede evitar registro erróneo por desconocimiento
3. El registro de datos es directo de lo registrado en la historia clínica del paciente por parte del médico tratante principal, se hace en tiempo real sobre el instrumento que se encuentra en medio informático. No se registrará información por escritura o grabaciones y se asume como cierta la información registrada.
4. Toda la información se almacena en un único PC, bajo custodia del investigador principal

7.4.3. Sesgos de confusión: Se controlaron con los análisis multivariados que ajustan las asociaciones de acuerdo con la confusión y la interacción de las variables.

7.5. Plan de procesamiento y análisis

Para el análisis univariado, se realizó la descripción de las frecuencias absolutas y relativas de las variables cualitativas (Tipo de infertilidad, tipo de protocolo de estimulación ovárica, enfermedad crónica de base, causa de infertilidad, exposición toxico ambiental, alteraciones anatómicas uterinas de la ecografía basal), y para las cuantitativas (edad, # de tratamientos previos, condiciones gestacional previa, índice de masa corporal, conteo basal de folículos antrales, valor de hormona antimulleriana) se describirán a través de medidas de tendencia central, dispersión y normalidad

Se realizó comparación de proporciones de acuerdo al desenlace mediante *chi cuadrado* para las variables cualitativas y prueba *U Mann-Whitney* para las variables cuantitativas. Se consideran como diferencias significativas las asociaciones con $p < 0,05$

Para las variables no normales, en especial los resultados hormonales se implementó el análisis con pruebas no paramétricas de *Shapiro-Wilk o Kolmogórov-Smirnov* de acuerdo al caso, considerándose significativo asociaciones con $\alpha < 0,2$.

Se realizará análisis multivariado con regresión con las variables con $p < 0,2$, de acuerdo con el criterio de *Hosmer – Lemeshow* este análisis se realizará por medio de la utilización del software SPSS.

8. Alcances y limitaciones:

Este estudio de investigación permitió describir de forma completa las características de generales de las pacientes que fueron sometidas a este tipo de tratamiento para infertilidad durante el periodo de 2015 – 2016. Permitiendo su caracterización como base fundamental para otras posibles investigaciones, con un enfoque de profundización mayor que permita una aproximación superior a la comprensión de la problemática de los determinantes de éxito en estos tipos de tratamientos.

Este estudio representa únicamente la población estudiada, por lo cual no se puede inferir sus resultados para otras poblaciones.

No permitirá realizar es una asociación causal ya que primordialmente es un trabajo descriptivo.

9. Aspectos Éticos

Esta investigación cumple con las indicaciones de la declaración de Helsinki para los principios éticos de las investigaciones médicas en seres humanos adoptada por la 18ª Asamblea Médica Mundial, Helsinki, Finlandia, junio 1964 y enmendada por la 29ª Asamblea Médica Mundial, Tokio, Japón, octubre 1975, 35ª Asamblea Médica Mundial, Venecia, Italia, octubre 1983, 41ª Asamblea Médica Mundial, Hong Kong, septiembre 1989, 48ª Asamblea General Somerset West, Sudáfrica, octubre 1996, 52ª Asamblea General, Edimburgo, Escocia, octubre 2000, Nota de Clarificación, agregada por la Asamblea General de la AMM, Washington 2002, Nota de Clarificación, agregada por la Asamblea General de la AMM, Tokio 2004, 59ª Asamblea General, Seúl, Corea, octubre 2008, 64ª Asamblea General, Fortaleza, Brasil, octubre 2013.

Se realizará siguiendo las indicaciones y criterios de la resolución 8430 de 1993 expedida por el ministerio de salud de la república de Colombia. Se considera una investigación sin riesgo, de acuerdo a lo estipulado en el artículo 11 de dicha resolución. Esta investigación está aprobada por el comité de ética de la institución en donde se realizará.

La información aquí recolectada será utilizada solamente para los fines específicos de la investigación planteada, garantizando la confidencialidad de la misma con acceso únicamente por parte del investigador principal y los colaboradores para el análisis, esta información será guardada por el investigador y si se requiere acceso posterior solo será para fines de investigación o análisis en caso de aprobación por el comité de ética de la institución de referencia

Este documento cuenta con aprobación del comité de ética institucional del hospital base de rotación del residente registrado en el acta 14 – 2017 del 26 de abril de 2017.

10. Presupuesto

ITEM	DESCRIPCION	VALOR POR UNIDAD	TIEMPO	TOTAL
Honorarios del investigador	No realiza cobro	\$0	4 meses	\$0
Viáticos de sostenimiento	Diario de gastos de alimentación y transporte	\$20.000	4 meses	\$2'400.000
Laptop	Portátil ASUS Touch	\$1'700.000	Único	\$1'700.000
Material de oficina	Implementos básicos para el registro de la información	\$100.000	Único	\$100.000
Desgaste de equipos utilizados para la investigación	Desgaste por el uso extra de equipos de la institución	\$100.000/mes	4 meses	\$400.000
Total				4'600.000

11. Cronograma de Actividades

	Semana de trabajo																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
Análisis y generación de la pregunta de investigación	■																
Presentación de la propuesta de investigación		■	■														
Presentación del protocolo de investigación				■	■												
Generación de la base de datos y recolección de datos						■	■	■									
Tabulación de la información recolectada									■	■							
Análisis estadístico											■	■					
Análisis de resultados													■	■			
Generación de documento e entrega del trabajo de investigación																■	■

12. Resultados

12.1. Características de la población

En total se recolectó información de 157 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión planteados. La edad promedio al momento de la consulta inicial de las pacientes que ingresaron a manejo para infertilidad con este tipo de tratamientos fue de 35,6 años (DE +/- 4), el promedio de talla fue de 1,60 mts (DE +/- 0,1) y el peso promedio fue de 61,1 Kg (DE +/-8,0), el índice de masa corporal promedio fue de 23,22 Kg/m² (DE +/- 2,7). Para las características sociodemográficas, el 86,7% de las pacientes eran casadas (n=137), 10,1% (n=16) tenían unión marital de hecho y el 2,5% (n=4) solteras.

Con respecto a tratamiento previos diferentes a la inyección intracitoplasmática de semen para el manejo de la infertilidad/subfertilidad, fue llamativo el hallazgo que el 100% de las pacientes ya habían tenido algún tipo de manejo para esta condición. Se observó que poco más de 6 de cada 10 pacientes ya se habían sometido a algún tipo de manejo médico (Hormonal, nutricional, hábitos, homeopáticos, etc.) (tabla 1), así mismo más del 30% de las pacientes ya habían tenido algún tipo de intervención de tipo invasivo/quirúrgico (Laparoscopia, polipectomía, histeroscopia, etc.) (Tabla 1) para el manejo de infertilidad.

Dentro de las condiciones consideradas como comorbilidad a la infertilidad, se encontró que la más frecuente fue el Hipotiroidismo, seguido de la Obesidad y condiciones reumatológicas (artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, Psoriasis etc.) (Tabla 1); El resto de condiciones patológicas investigadas como enfermedades cardiovasculares, enfermedad renal crónica, cáncer no ginecológico, enfermedad pulmonar crónica, enfermedades hematológicas, enfermedad mental se presentaron en frecuencias de menos del 1%.

En cuanto a la exposición a tóxicos llama la atención que más de un 5% de la población analizada y en la que se planeaba un manejo de especializado para la infertilidad, presentaba tabaquismo activo para el momento de la consulta, así mismo un poco más del 2% de las pacientes tenían consumo considerado como activo de alcohol (Tabla 1).

Tabla 1. Antecedentes clínicos de las pacientes sometidas a FIV/ICSI

Variable	Categoría	n (%)
Tratamientos previos para infertilidad (no ICSI)	Manejo médico solamente	103 (65,2)
	Manejo quirúrgico solamente	12 (7,6)
	Manejo con tratamiento combinado	42 (26,6)
Comorbilidad (3 primeras causas)	Hipotiroidismo	15 (9,6)
	Obesidad	5 (3,2)
	Condiciones Reumatológicas	5 (3,2)
Tóxicos	Tabaquismo	9 (5,7)
	Alcohol	4 (2,5)
	Drogas	2 (1,3)
	Exposiciones / Ambiental	1 (0,6)

En relación al historial de ginecología, la edad media para la menarquia de las pacientes fue de 12,7 años. El 61,8% (n=101) de los pacientes presentaban irregularidad de los ciclos menstruales, el 43,3% (n=68) presentaba quejas de dismenorrea y el 3,2% (n=5) dispareunia. El 38,1% (n=60) de los pacientes ya habían presentado por lo menos una gestación clínica, la media de antecedentes de embarazo por paciente fue de 0,7 por paciente. El 28,66% (n=45) habían presentado al menos un aborto, con un poco más de 1 de cada 10 pacientes que se podía catalogar como aportadora frecuente (2 o más abortos) (Tabla 2). Al analizar la presentación de estas condiciones en los casos de las embarazadas (n=65) se relacionan así: Regular vs irregular (66,2 vs 33,8%), Dismenorrea si vs no (44,2% vs 55,4%), Dispareunia si vs no (1,5% vs 98,5%).

Tabla 2. Antecedentes Ginecología de las pacientes sometidas a FIV/ICSI

Variable	Categoría	n (%)
Alteraciones Menstruales	Irregular	97 (61,8)
	Regular	60 (38,2)
	Dismenorrea	68 (43,3)
Gestas previas	1 embarazo	31 (51,6)
	2 embarazos	17 (28,3)
	3 embarazos	8 (13,3)
	4 embarazos	2 (3,3)
Abortos	Al menos un aborto	45 (28,6)
	Más de 2 abortos	16 (10,1)

Los datos acerca del historial de infertilidad, mostraron que la infertilidad como subtipo más frecuente fue la primaria, en algo más de 6 de cada 10 de las pacientes (Tabla 3), y como diagnóstico etiológico la distribución por frecuencias mostró que cerca del 85% de las pacientes presentaban factor masculino, siendo el más prevalente en la población, seguido por factor tubárico, endometriosis, síndrome de ovario poliquístico, reserva ovárica disminuida y miomatosis, con frecuencias relativas que no superaron el 21%; Otras condiciones etiológicas específicas consideradas, como hipotiroidismo, obesidad, Hipogonadismo, enfermedades autoinmunes, entre otras, se presentaron con frecuencias relativas inferiores al 5%. El tiempo promedio de infertilidad fue de 27,7 meses (DE 20), con el menor tiempo de infertilidad hasta consulta de 6 meses y el máximo tiempo de 160 meses.

Tabla 3. Historial de infertilidad de las pacientes sometidas a FIV/ICSI

Variable	Categoría	n (%)
Tipo de infertilidad	Primaria	101 (64,3)
	Secundaria	56 (35,7)
Causas de infertilidad por diagnóstico (4 primeras)	Factor masculino	103 (82,3)
	Factor Tubárico	33 (20,9)
	Endometriosis	25 (15,8)
	Sd. Ovario poliquístico	24 (15,2)
	Miomatosis	13 (8,2)

Con respecto a los parámetros ecográficos ginecológicos basales, se encontró que el promedio de conteo folicular antral fue de 12.5 folículos antrales por paciente (DE 7,1). En cuanto a alteraciones ecográficas reportadas, la más frecuente fue la Miomatosis uterina, seguido por la adenomiosis, quistes ováricos, alteraciones endometriales (principalmente poliposis), ovario único, endometrioma, anomalías müllerianas. (Tabla 4).

Tabla 4. Hallazgos ecográficos basales de las pacientes sometidas a FIV/ICSI

Variable	Categoría	n (%)
Alteraciones Ecográficas (4 primeras)	Miomatosis	24 (15,3)
	Adenomiosis	21 (13,4)
	Quiste Ovárico	15 (9,6)
	Pólipo Endometrial	13 (8,3)

A nivel de parámetros de laboratorio, y teniendo en cuenta que no se logró obtener el reporte de la totalidad de las pacientes, se logró recabar datos de hormona antimülleriana de 81

mujeres con un valor hormonal promedio de 2,64 ng/dl (DE 2,12); Con respecto a la TSH, los datos corresponden a 45 pacientes con valor hormonal promedio de 2,5 UI/ml (DE 2,13); La FSH estuvo disponible en 26 pacientes con un valor promedio de 6,75 UI/ml (DE 2,89), los valores de prolactina presentaron una media de 21,3 ng/ml (DE 17,05). La distribución de las variables hormonales mostro un comportamiento no normal de acuerdo a la prueba de Kolmogorov – Smirnov (para distribuciones mayores a 50 datos) y Shapiro - Wilk (distribuciones de menos de 50 datos) (Tabla 5).

Tabla 5. Parámetros de laboratorio Basales

Variable	n	Media	DE	Mediana	Max	Min	Rango
TSH	45	2,5	2,1	2	14,9	0,1	14,9
AMH	81	2,6	2,0	2,31	11,5	0,1	11,4
FSH	26	6,8	2,9	6	16,5	3,1	13,4
Prolactina	25	21,3	17	14,16	75,2	5,0	70,2

Con respecto a las intervenciones se encontró que se iniciaron 208 ciclos de estimulación ovárica en 180 pacientes en los 2 años de análisis (una paciente puede haber sido sometida a más de 1 ciclo); Sin embargo, para el análisis se utilizaron los 157 primeros ciclos de las pacientes sometidas a ICSI y transferencia de embriones. El protocolo de estimulación más frecuentemente utilizado en las pacientes sometidas a ICSI, fue con el antagonista de GnRH en una proporción de 87,2% (n=137), seguido por el uso de protocolos de agonista corto en 12,7% (n=20 pacientes). La duración promedio del ciclo de estimulación ovárica fue de 9,2 días (DE 1,52). Con respecto a resultados del ciclo, la media del conteo folicular pre aspiración fue de 10,8 ovocitos por paciente (DE 6,84), se lograron rescatar un total de 1683 ovocitos correspondiente a un promedio de 10,71 ovocitos rescatados por paciente con ciclo iniciado. En cuanto al estado de maduración de los ovocitos recuperados la distribución fue en su mayoría ovocitos en Metafase 2 con un total de 1182 ovocitos, es estos ovocitos el cual es ideal para la inyección de semen capacitado, lo que corresponde a un 70,23% del total rescatada para una media de 7.52 (DE 4,85) (Tabla 6). El promedio de ovocitos inyectados por paciente fue de 7,7 (DE 4,85) y el promedio de ovocitos fertilizados por paciente fue de 5,9 (DE 4,08) (Tabla 7).

Tabla 6. Resultados del ciclo de estimulación ovárica

Variable	Media	DE	Mediana	Max	Min	Rango
Recuento Folicular Pre aspiración	10,8	6,8	9	44	2	42
Ciclos de estimulación previos	0	0,3	0	3	0	3
Profase	2,5	2,7	2	13	0	13
Metafase 1	0,7	1,9	0	15	0	15
Metafase 2	7,5	4,9	6	36	0	36

Con respecto a la transferencia y el logro embrionario se obtuvieron un total de 901 embriones, cuyas categorías de madurez fueron así: Tipo 1: n=254 (28,19%), Tipo 2: 491 (54,49%), Tipo 3: 82 (9,10%) y Tipo 4: 44 (4,8%). Esto se traduce en que cerca del 82,6% de los embriones que se produjeron fueron óptimos para optar a transferencia (Tipo 1 y 2). De estos embriones una media de 3,3 por paciente pasó a congelación (DE 3,1) y en promedio eran congelados a los 2,2 días del ICSI (De 1,39).

Tabla 7. Parámetros ICSI y transferencia por paciente

Variable	Media	DE	Mediana	Max	Min	Rango
Ovocitos Inyectados	7,7	4,9	6	36	1,0	35
Ovocitos Fertilizados	5,9	4,1	5	11	0	11
Embriones Tipo 1	1,6	2,1	1	11	0	11
Embriones Tipo 2	2,7	2,4	2	14	0	14
Embriones Tipo 3	0,5	1,0	0	6,0	0	6
Embriones tipo 4	0,3	0,7	0	4,0	0	4
Embriones Congelados	3,3	3,2	3	20	0	20
Edad Transferencia	35,9	4,0	36	45,5	21,3	24,2
# Embriones Transferidos	1,9	0,3	2	3,0	1,0	2

Con respecto a la transferencia, la edad promedio para el momento del procedimiento fue de 35,9 años (DE 3.95), el tiempo promedio para la realización de la primera transferencia después del ICSI fue de 35,9 días. Se transfirieron un total de 298 embriones en las 157 pacientes para una media de 1,9 embriones por paciente (Tabla 7). El número de embriones transferido más frecuente fue de 2 en n=137 transferencias, seguido por transferencia de 1 embrión en n=17 transferencias y solo un caso de transferencia de 3 embriones a petición de la paciente.

Con respecto a desenlaces de éxito, se obtuvo embarazo químico en 65 de las pacientes lo que corresponde a un 41,4% de las transferencias, Embarazo clínico en 61 lo que corresponder a una 38,9% de las transferencias. 11 pacientes ya habían sido sometidas a ICSI/FIV previo que corresponde al 7% de la población total estudiada, para el análisis de resultados analizamos las diferencias significativas ($p < 0,05$) entre embarazo bioquímico y clínico, y no encontramos diferencias entre los casos presentados como positivos entre los grupos, por lo que para el análisis de los desenlaces ambos se interpretaran como equivalentes (Tabla 8) tomando en cuenta solo uno de ellos (embarazo)

Tabla 8. Comparación del embarazo bioquímico y embarazo clínico de las pacientes

Variables	Embarazo Bioquímico				Total	
	Si		No			
Embarazo Clínico	Si	61	100,0%	0	0,0%	61
	No	4	4,2%	92	95,8%	
Total		65	41,4%	92	58,6%	15

12.2. Hormona Antimulleriana y Embarazo

Como se mencionó previamente, se obtuvieron datos de hormona antimulleriana (AMH) de 81 pacientes; en el análisis de su relación del embarazo químico, se observó que no existe diferencia significativa ($p = 0,178$) entre los niveles de AMH en las pacientes embarazadas con respecto a las no embarazadas. Así mismo, al realizar el análisis por medio de la categorización de la variable en tres ($AMH < 1ng/dl$, entre 1 - 3 ng/dl y $> 3 ng/dl$), no se identificó una diferencia significativa ($p > 0,05$) entre las embarazadas y las no embarazadas. Sin embargo, llamó la atención encontrar que las pacientes con AMH menor de 1, tenían una proporción de embarazos clínicos mucho menor que las pacientes con AMH entre 1 - 3 o mayor (Ver tabla 9).

Tabla 9. Comparación de Hormona antimulleriana categorizada y Embarazo

Variables	Embarazo				Total	Valor p	
	Si		No				
AMH Categorizada	Menor a 1	5	27,80%	13	72,20%	18	0,619
	Entre 1 y 3	13	40,60%	19	59,40%		
	Mayor a 3	9	32,10%	19	67,90%		
Total		27	34,60%	51	65,40%	78	

12.2.1. Hormona Antimulleriana (AMH) y su relación con la edad y el recuento folicular antral

Se analizó la relación entre valores de Hormona antimulleriana basal y recuento de folículos antrales, para determinar la relación de AMH como un marcador subrogado de reserva folicular, en tal sentido, el estadístico de Spearman, mostró un coeficiente de correlación positiva (0,569) entre AMH y conteo folicular antral (Grafica 1); así mismo, se observó una correlación negativa (-0,337) entre AMH y la edad al momento de la consulta (Grafica 2). Las asociaciones de las correlaciones, fueron estadísticamente significativas (tabla 10).

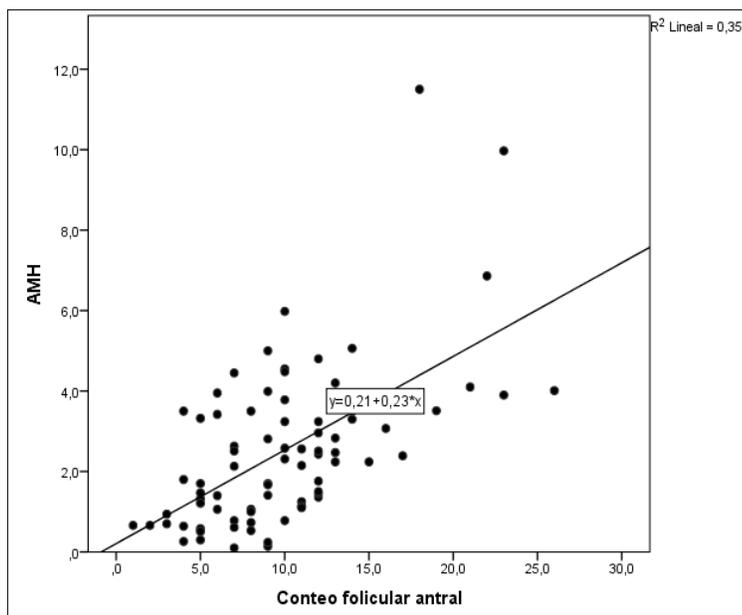
Tabla 10. Valores de Hormona Antimulleriana y correlación con Conteo de folículos antrales

Parámetro	Variable	Valor p
Hormona Antimulleriana	Conteo de folículos antrales	0,000**
	Edad al momento de la consulta	0,002**

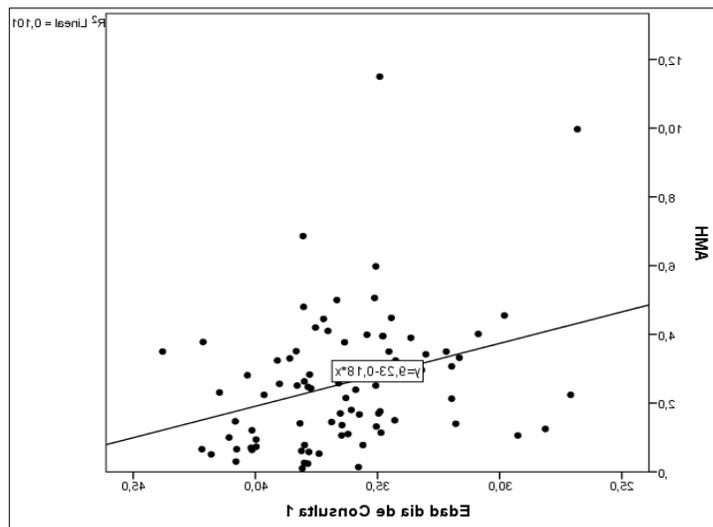
* Correlación de Spearman

** La correlación es significativa en el nivel 0.01

Grafico 1. Correlación entre valores basales de Hormona antimulleriana (AMH) y conteo de folículos antrales basales en pacientes sometidas a tratamientos de estimulación ovárica



Grafica 2. Correlación entre la edad y los valores de AMH en pacientes sometidas a tratamiento de ICSI



12.3. Relación de variables con resultados de embarazo

12.3.1. Características antropométricas y Embarazo

Al comparar las pacientes de acuerdo con el embarazo bioquímico, se observó una pequeña diferencia en la media de la edad, sin que esta alcanzara diferencias estadísticamente significativas, ya que aquellas mujeres que no se embarazaron fueron 0,9 años mayores que las mujeres que se embarazaron; las demás características, como talla, peso, índice de masa corporal no presentaron diferencias significativas al ser comparadas mediante la prueba U de Mann Whitney (Tabla 11).

Tabla 11. Características antropométricas y Embarazo

Variable	Emb	Media	IC 95%	Mediana	DE	Mín	Máx	Rango	Valor P
Edad	Si	35,1	(34,2 - 35,9)	35,0	3,5	25,7	44,8	19,0	0,054
	No	36,0	(35 - 36,8)	36,5	4,2	21,1	43,9	22,8	
Talla	Si	1,6	(1,6 - 1,6)	1,6	0,1	1,5	1,8	0,3	0,61
	No	1,6	(1,6 - 1,6)	1,6	0,1	1,5	1,8	0,3	
Peso	Si	61,2	(59,1 - 63,2)	60,0	8,2	46,0	85,0	39,0	0,902
	No	61,1	(59,4 - 62,7)	60,0	7,9	45,0	79,0	34,0	
IMC	Si	23,2	(22,5 - 23,8)	22,8	2,7	17,8	31,2	13,3	0,875
	No	23,2	(22,6 - 23,8)	22,6	2,7	17,7	30,9	13,2	

12.3.2. Características sociodemográficas y Embarazo

Con respecto al estado civil de las pacientes estudiadas, se observó una mayor proporción de mujeres casadas que solteras o de unión libre; en particular, la proporción de casadas, excedió en casi 20% la proporción de solteras y es mayor un 12% que las mujeres de unión libre. Como hallazgo interesante, se observó que la proporción de embarazadas entre las mujeres casadas fue del 43% mientras que la proporción de embarazos entre las mujeres solteras solo fue del 25%; no obstante, la prueba de significación estadística (χ^2) no mostró diferencias entre las categorías del estado civil. Acerca del tipo de tratamiento previo recibido, las proporciones de embarazadas fueron similares entre los tres tipos de tratamiento (Tabla 12).

Tabla 12. Parámetros sociodemográficos, tratamiento previo y Embarazo

Variable	Categoría	Embarazo				Total	Valor p
		Si	%	No	%		
Estado Civil	Casada	59	43,1%	78	56,9%	137	0,53
	Soltera	1	25,0%	3	75,0%	4	
	Unión Libre	5	31,3%	11	68,8%	16	
Tto Previo	Médico	41	39,8%	62	60,2%	103	0,81
	Quirúrgico	4	33,3%	8	66,7%	12	
	Médico y Quirúrgico	16	38,1%	26	61,9%	42	

12.3.3. Comorbilidad y Embarazo

Con respecto a las comorbilidades, se observó que la proporción de la presencia de una comorbilidad específica, es superior en las mujeres no embarazadas en comparación con las embarazadas para todas las variables, la comorbilidad más prevalente entre el grupo de pacientes embarazadas fueron el hipotiroidismo y las enfermedades reumatológicas, seguido por hipertensión arterial y obesidad, esta relación no llegó a ser significativa para ninguno de los análisis ($p > 0,05$). En cuanto a las pacientes no embarazadas, las comorbilidades más prevalentes fueron en igual proporción, diabetes, enfermedad pulmonar, cáncer enfermedades hematológicas, condiciones cardiovasculares, enfermedad renal crónica, enfermedad mental o emocional, seguidas por obesidad, problemas reumatológicos, hipotiroidismo. Dentro de estas variables tampoco se encontró relación significativa con la aplicación del método estadístico (Tabla 13).

Tabla 13. Comorbilidades y embarazo en pacientes sometidas a ICSI

Variable	Embarazo				Total	Valor p
	Si	%	No	%		
Hipertensión arterial	1	33,3%	2	66,7%	3	0,78
Diabetes Mellitus	0	0,0%	1	100,0%	1	0,40
Enf. Pulmonar	0	0,0%	2	100,0%	2	0,23
Cáncer	0	0,0%	1	100,0%	1	0,40
Reumatológicas	2	40,0%	3	60,0%	5	0,95
Hematológicas	0	0,0%	1	100,0%	1	0,40
Obesidad	1	20,0%	4	80,0%	5	0,95
Hipotiroidismo	6	40,0%	9	60,0%	15	0,91
Cardiovascular	0	0,0%	1	100,0%	1	0,40
Enf. renal crónica	0	0,0%	1	100,0%	1	0,40
Mental/Emocional	0	0,0%	1	100,0%	1	0,40

12.3.4. Antecedente tóxico/exposicional y embarazo

En cuanto a la exposición a agentes tóxicos, en las mujeres embarazadas se observó un antecedente positivo de consumo de tabaco y drogas superior al no consumo de los mismos agentes, en contraste, se presentó un antecedente de consumo inferior de alcohol y exposición tóxica ambiental laboral. Ninguna de estas variables tuvo una relación estadísticamente significativa ($p < 0.05$) (Tabla 14)

Tabla 14. Antecedentes Tóxico/exposicionales y Embarazo

Variable	Categoría	Embarazo				Total	Valor p
		Si	%	No	%		
Tabaquismo	Si	4	44,4%	5	55,6%	9	0,37
	No	57	38,5%	91	61,5%	148	
Alcohol	Si	1	25,0%	3	75,0%	4	0,50
	No	60	39,2%	93	60,8%	153	
Drogas	Si	1	50,0%	1	50,0%	2	0,80
	No	60	38,7%	95	61,3%	155	
Exposicional ambiental laboral	Si	0	0,0%	1	100,0%	1	0,40
	No	61	39,1%	95	60,9%	156	

12.3.5. Condiciones Ginecobstetricias y Embarazo

Con respecto a las variables ginecobstetricias, se observó en las pacientes embarazadas una diferencia de 1,3 folículos antrales en el conteo basal a favor de las que se embarazaron. No se observaron diferencias en aspectos como la edad de la menarquia, gestaciones previas,

abortos y tiempo de infertilidad, entre las pacientes que lograron gestación y las que no; Las pruebas estadísticas mostraron que no existieron diferencias significativas entre los dos grupos (Tabla 15).

Tabla 15. Características ginecobstétricas y embarazo

Variable	Emb	Media	IC 95%	Mediana	DE	Mín	Máx	Rango	Valor P
Menarquia	Si	12,6	(12,2 - 12,9)	12,0	1,3	10	16	6	0.538
	No	12,8	(12,4 - 13,0)	12,5	1,5	9	17	8	
Gestas	Si	0,7	(0,4 - 0,9)	0	1,1	0	5	5	0.931
	No	0,7	(0,4 - 0,9)	0	1,2	0	5	5	
Abortos	Si	0,5	(0,2 - 0,6)	0	0,8	0	3	3	0.713
	No	0,4	(0,2 - 0,5)	0	0,8	0	4	4	
Tiempo de Infertilidad	Si	27,6	(21,6 - 33,4)	24	23,9	12	160	148	0.961
	No	27,7	(24,2 - 31,2)	24	16,9	6,0	96	90	
Conteo Folicular Antral	Si	13,3	(11,4 - 15,0)	12	7,3	1,0	41	40	0.291
	No	12	(10,5 - 13,5)	10	7,1	2,0	32	30	

12.3.6. Parámetros de infertilidad y embarazo

Para estos parámetros se observó que para las pacientes embarazadas hay una proporción mayor de mujeres con ciclos regulares, infertilidad secundaria, factor masculino, hipogonadismo, factor tubárico, síndrome de ovario poliquístico, causas autoinmunes e idiopáticas. Se observó también en embarazadas una mayor proporción sin dismenorrea, obesidad, sin hipotiroidismo, anomalías müllerianas, miomatosis, endometriosis, y mujer sola. (Tabla 16)

En otro sentido, en las que no se embarazaron, se presentó una mayor proporción de mujeres con irregularidad menstrual, dismenorrea, dispareunia, infertilidad primaria, con reserva ovárica disminuida, hipotiroidismo, obesidad, miomatosis, endometriosis y endometritis crónica. Dentro de este grupo, llamo la atención que la presentación de dispareunia fue poco más de 20% más alta comparada con aquellas que no presentaron dicho síntoma. Algo similar se observó, en la proporción de hipotiroidismo ya que todas las mujeres que presentaron dicha enfermedad no se embarazaron (Tabla 16).

Para la medición de la miomatosis uterina, se observó que la totalidad de las mujeres que presentaron la patología no lograron embarazo, dicha relación fue estadísticamente significativa ($p=0,001$). Para el resto de variables no se encontraron diferencias significativas en su presentación con relación al embarazo (Tabla 16)

Tabla 16. Parámetros de infertilidad y Embarazo

Variable	Categ.	Embarazo				Total	Valor p
		Si	%	No	%		
Ciclos	Reg.	39	40,2%	58	59,8%	97	0,34
	Irreg.	22	36,7%	38	63,3%	60	
Dismenorrea	Si	26	38,2%	42	61,8%	68	0,78
	No	35	39,3%	54	60,7%	89	
Dispareunia	Si	1	20%	4	80,0%	5	0,32
	No	60	39,5%	92	60,5%	152	
Tipo Subfert,	Prim.	38	37,6%	63	62,4%	101	0,78
	Sec.	23	41,1%	33	58,9%	56	
Reserva ovárica disminuida	Si	5	22,7%	17	77,3%	22	0,15
	No	56	41,5%	79	58,5%	135	
Factor Masculino	Si	53	40,8%	77	59,2%	130	0,61
	No	8	29,6%	19	70,4%	27	
Hipotiroidismo	Si	0	0,0%	2	100,0%	2	0,23
	No	61	39,4%	94	60,6%	155	
Hipogonadismo	Si	3	42,9%	4	57,1%	7	0,94
	No	58	38,7%	92	61,3%	150	
Obesidad	Si	1	33,3%	2	66,7%	3	0,77
	No	60	39%	94	61,0%	154	
Anomalía uterina (Mulleriana)	Si	1	33,3%	2	66,7%	3	0,77
	No	60	39,0%	94	61,0%	154	
Miomatosis Uterina	Si	0	0,0%	13	100,0%	13*	0,01*
	No	61	42,4%	83	57,6%	144*	
Tubárico	Si	14	42,4%	19	57,6%	33	0,59
	No	47	37,9%	77	62,1%	124	
Endometriosis	Si	9	36%	16	64,0%	25	0,55
	No	52	39,4%	80	60,6%	132	
Endometritis	Si	0	0,0%	3	100,0%	3	0,14
	No	61	39,6%	93	60,4%	154	
Sind ovario poli quístico	Si	11	45,8%	13	54,2%	24	0,35
	No	50	37,6%	83	62,4%	133	
Autoinmune	Si	1	100%	0	0,0%	1	0,23
	No	60	38,5%	96	61,5%	156	
Idiopática	Si	1	50%	1	50,0%	2	0,80
	No	60	38,7%	95	61,3%	155	
Mujer Sola	Si	1	33,3%	2	66,7%	3	0,77
	No	60	39%	94	61%	154	

* Prueba de X². Asociación significativa ($p<0,05$)

12.3.7. Hallazgos de la ecografía y embarazo

En la observación de los parámetros ecográficos y su relación con embarazo, se encontró que para las pacientes que consiguieron embarazo, hubo una proporción mayor de ovario único, quiste ovárico, y alteraciones/poliposis endometrial; así mismo, se observó una proporción menor de endometriomas, anomalías müllerianas, adenomiosis y miomatosis.

De manera consecuente, en las no embarazadas, se observó mayor proporción de endometriomas, anomalías uterinas müllerianas, miomatosis y una proporción menor de ovario único, quiste ovárico y alteraciones endometriales.

Dentro de las características ecográficas basales, se determinó una diferencia proporcional no significativa, pero de interés clínico, entre el hallazgo de adenomiosis y el embarazo, pues hubo una mayor proporción de mujeres con adenomiosis dentro de las no embarazadas ($p=0,08$); para el resto de los hallazgos, aunque no se encontraron diferencias significativas se observaron algunas diferencias importantes en las proporciones de presentación (tabla 17). Teniendo en cuenta, la comparación de los hallazgos ecográficos en función de la presentación del embarazo, mostró que la adenomiosis fue más prevalente en las no embarazadas (17,4%) con respecto a las embarazadas (7,7%); de otro lado, la alteración endometrial presentó un comportamiento contrario, ya que se observó mayor prevalencia en la embarazadas (12,3%) con respecto a las no embarazadas (5,4%).

Tabla 17. Hallazgos en la ecografía basal y embarazo

Variable	Categoría	Embarazo Bioquímico				Total	Valor p
		Si	%	No	%		
Ovario Único	Si	1	100,0%	0	0,0%	1	0,23
	No	60	38,5%	96	61,5%	156	
Quiste Ovárico	Si	6	40,0%	9	60,0%	15	0,91
	No	55	38,7%	87	61,3%	142	
Endometrioma	Si	2	33,3%	4	66,7%	6	0,68
	No	59	39,1%	92	60,9%	151	
Anomalía uterina (Mulleriana)	Si	0	0,0%	3	100,0%	3	0,14
	No	61	39,6%	93	60,4%	154	
Miomatosis	Si	6	25,0%	18	75,0%	24	0,19
	No	55	41,4%	78	58,6%	133	
Adenomiosis	Si	5	23,8%	16	76,2%	21	0,08
	No	56	41,2%	80	58,8%	136	
Alteración Endomet/Pólipo	Si	8	61,5%	5	38,5%	13	0,12
	No	53	36,8%	91	63,2%	144	

* Prueba de X². Asociación significativa ($p<0,05$)

12.3.8. Parámetros del ciclo de estimulación y embarazo

Para las variables del ciclo de estimulación, se observó una diferencia de (+1,1) folículos antrales pre aspiración y de ovocitos metafase 2 rescatados, entre las pacientes que se embarazaron comparadas con las que no (tabla 18). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las medidas de resumen de las variables y el embarazo químico.

Tabla 18. Variables del ciclo de estimulación y embarazo

Variable	Emb.	Media	IC 95%	Mediana	DE	Mín	Máx	Rango	Valor P
Duración de Estimulación (Días)	Si	9,1	(8,8 - 9,4)	9	1,4	7	14	7	0.592
	No	9,3	(8,9 - 9,6)	9	1,6	7	14	7	
Recuento Folicular preasp.	Si	11,3	(9,5 - 13)	10	7	2	44	42	0.447
	No	10,4	(9,0 - 11,8)	9	6,7	2	31	29	
Profase	Si	2,3	(1,6 - 2,9)	2	2,5	0,0	13	13	0.464
	No	2,6	(2,0 - 3,2)	2	2,9	0,0	13	13	
Metafase 1	Si	0,7	(0,2 - 1,0)	0	1,6	0,0	10	10	0.934
	No	0,7	(0,2 - 1,1)	0	2,1	0,0	15	15	
Metafase 2	Si	8,2	(6,7 - 9,5)	7	5,5	0,0	36	36	0.165
	No	7,1	(6,1 - 7,9)	6	4,3	1	19	18	

12.3.9. Parámetros de la ICSI y embarazo

La observación de estas variables mostro, que en promedio se presentó un mayor número de ovocitos inyectados (+1,2.), ovocitos fertilizados (+1,3), embriones tipo 1 (+0,6), embriones tipo 2 (+0,4), y embriones congelados (+0,8) en las pacientes embarazadas. Se observó que, para los parámetros de número de ovocitos fertilizados y embriones tipo I, la diferencia de las medianas fue estadísticamente significativa (tabla 19).

Tabla 19. Parámetros de análisis de la ICSI y Embarazo:

Variable	Emb.	Media	IC 95%	Mediana	DE	Mín	Máx	Rango	Valor P
Ovocitos Inyectados	SI	8,4	(7,1 - 9,7)	7	5,4	2	36	34	0.084
	No	7,2	(6,2 - 8,0)	6	4,4	1	20	19	
Ovocitos Fertilizados	Si	6,7	(5,5 - 7,8)	6	4,7	1	32	31	0,036*
	No	5,4	(4,6 - 6,1)	4	3,6	1	18	17	
	SI	2,0	(1,4 - 2,5)	1	2,2	0,0	11	11	0.020*

Embriones Tipo 1	No	1,4	(0,9 - 1,7)	1	2,0	0,0	11	11	
Embriones Tipo 2	Si	3,5	(2,7 - 4,1)	3	2,7	0,0	14	14	0,241
	No	2,9	(2,4 - 3,3)	2	2,1	0,0	9	9	
Embriones Tipo 3	Si	0,6	(0,2 - 0,8)	0	1,1	0,0	6	6	0,690
	No	0,5	(0,2 - 0,6)	0	1,0	0,0	5	5	
Embriones Tipo 4	Si	0,3	(0,1 - 0,4)	0	0,6	0,0	3	3	0,175
	No	0,3	(0,1 - 0,4)	0	0,7	0,0	4	4	
Embriones Congelados	Si	3,8	(2,8 - 4,6)	3	3,6	0,0	20	20	0,113
	No	3,0	(2,3 - 3,5)	2	2,9	0,0	12	12	
Día de Congelación	Si	2,5	(2,1 - 2,8)	3	1,4	0,0	5	5	0,057
	No	2,1	(1,8 - 2,3)	3	1,4	0,0	5	5	

*Relación significativa $p \leq 0.05$

12.3.10. Parámetros de la transferencia y embarazo

Para estos parámetros se observó una diferencia de aproximadamente 10 días más en el tiempo de transferencia en las pacientes no embarazadas; adicionalmente, las edades para el momento de la transferencia fueron cerca de 1 año superior en las pacientes no embarazadas parámetro que alcanzo una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) (Tabla 20)

No se encontraron diferencias relevantes entre los parámetros tiempo para transferencia, y número de embriones transferidos con el desenlace embarazo bioquímico. (Ver tabla 20).

Tabla 20. Parámetros de la transferencia y embarazo:

Variable	Emb	Media	IC 95%	Mediana	DE	Mín	Máx	Rango	Valor p
Tiempo para transfer (Días)	Si	51,8	(22,6 - 80,9)	4,0	117,6	1,0	674	673	0,630
	No	61,9	(37,7 - 86,1)	3,0	116,8	0,0	613	613	
Edad para el transfer	Si	35,4	(34,4 - 36,2)	35,6	3,6	26,8	45,5	18,8	0.047*
	No	36,3	(35,4 - 37,1)	36,7	4,2	22,3	44,2	21,9	
Embriones Transferidos	Si	2,0	(1,9 - 2,0)	2,0	0,2	1,0	2,0	1,0	0,065
	No	1,9	(1,7 - 1,9)	2,0	0,4	1,0	3,0	2,0	

12.3.11. Intervenciones realizadas y embarazo

En cuanto a los parámetros de la intervención, se determinó que no existen diferencias significativas entre el tipo de ciclo implementado y la presentación de embarazo, no obstante, llama la atención una mayor proporción relativa de embarazos con el uso de protocolo con antagonista de GnRH; adicionalmente, el hecho de haber sido sometido a procedimientos de ICSI o IVF previos no mostró asociación significativa con la presentación de embarazo bioquímico (tabla 21).

Tabla 21. Intervenciones previas y embarazo

Variable	Categoría	Embarazo Bioquímico				Total	Valor p
		Si	%	No	%		
Tipo Ciclo	Agonista corto	6	30,0%	14	70,0%	20	0,27
	Antagonista GNRH	55	40,1%	82	59,9%	137	
ICSI/IVF Previos	Si	4	36,4%	7	63,6%	11	0,86
	No	57	39,0%	89	61,0%	146	

12.4. Factores que se asocian al éxito del embarazo – Análisis multivariado

Se construyó un modelo multivariado de regresión logística binaria, a fin de determinar las asociaciones que se presentan entre los factores estudiados y la presentación del embarazo bioquímico; se incluyeron las variables que presentaron asociaciones con valor de $p < 0,2$. En total se incluyeron 12 variables, de las cuales 4 fueron cualitativas y las demás cuantitativas. La capacidad explicativa de modelo se determinó entre 11,3% y 15,3% (tabla 22).

Tabla 22. Valores de R^2 para el modelo explicativo de Embarazo bioquímico en pacientes con ICSI

Paso	Logaritmo de la verosimilitud -2	R cuadrado de Cox y Snell	R cuadrado de Nagelkerke
1	194,071 ^a	0,113	0,153

Una vez ajustado el modelo de regresión por diferentes variables, se observó que solo la presentación de miomatosis uterina se encontró asociada a la presentación del embarazo bioquímico, como un factor que disminuye la probabilidad de embarazarse (OR = 0,02 IC95% 0,01 – 0,99); lo anterior indicó, que es un 88,2% menos probable presentar un embarazo bioquímico en las pacientes que tienen miomatosis uterina (tabla 23).

Tabla 23. Modelo de regresión logística binaria para embarazo bioquímico en pacientes con ICSI

Variable	B	Error estándar	Sig.	Exp(B)	95% C.I. para EXP(B)	
					Inferior	Superior
Miomatosis Uterina	-2,140	1,092	0,050	0,118	0,014	0,999

13. Discusión

Dentro de las variables generales basales, se encontró que el promedio de la población femenina que busca asistencia para la fertilidad no satisfecha corresponde a mujeres mayores de 35 años, un poco mayor de lo reportado en otras grupos poblacionales (52,94), esto probablemente tiene relación con papel que está teniendo la mujer en la sociedad a nivel laboral, la priorización de la consolidación de la familia con hijos, queda un poco relegada a la espera de alcanzar previamente metas de tipo profesional o económico (1).

Es importante recalcar, que la mayoría de las pacientes que se sometieron a tratamiento de asistencia en la fertilidad de este tipo, estaban en una relación monógama estable, y la gran mayoría tenían un estatus marital definido, lo que se comprobó por la alta proporción de mujeres casadas identificadas en el estudio, esto puede ser explicado por la decisión de optar por este tipo de tratamientos predominantemente en relaciones de pareja convencional (1); cabe recalcar que en la clínica en donde se realizó el presente estudio es de carácter privado, por lo que los pacientes que ingresan al manejo mediante contratación personal de servicios, lo que probablemente puede condicionar el ingreso a los tratamientos a personas y parejas estables y/o casadas, que están en capacidad de asumir el costo de los tratamientos.

Datos sobre estos parámetros, no están claramente descritos en Colombia, ni en la literatura relacionada, pues no ha sido foco del análisis en los estudios; esto se puede deber a que en muchos países donde se cuenta con registros sobre el tema, estos tratamientos se realizan a través del sistema de aseguramiento general en salud como parte de políticas de salud pública, lo que hasta ahora se está empezando a implementar en el país. Aunque el análisis de las variables descritas, no mostro diferencias significativas relacionadas con el embarazo, llamó la atención que la edad promedio de las mujeres que no embarazadas fue 0.9 años superior

que las embarazadas; así mismo, en las mujeres embarazadas, se observó que la proporción de casadas fue más de 20% superior a las no casadas lo que no permite hacer deducciones acerca del real impacto de estas condiciones sobre el resultado en la cohorte de estudio.

Con respecto a las variables antropométricas, no se documentó una prevalencia elevada de obesidad o desnutrición de acuerdo a los parámetros establecidos por la OMS, ya que solo 4 pacientes tenían $IMC > 30 \text{ Kg/m}^2$ y no se obtuvieron datos de pacientes en condición de desnutrición ($IMC < 17 \text{ Kg/m}^2$). Cabe considerar que, al ser un grupo poblacional seleccionado, muchas de estas pacientes fueron orientadas a corregir muchos aspectos clásicos que se reconocen como condicionantes de infertilidad (52 – 54), por lo que estos aspectos no fueron detectados en el presente estudio debido al diseño de la recolección de datos; en tal sentido, será necesario realizar estudios longitudinales que permitan establecer la asociación de dichas características y su evolución con los resultados en los procedimientos.

Adicionalmente, la distribución de dichas variables no mostró diferencias significativas al ser comparadas de acuerdo con el desenlace de embarazo; estos aspectos en particular no han sido considerados para el análisis en revisiones previas (46,52), ya que sus implicaciones en resultados para estos tratamientos son consideradas tema de debate en la literatura. Lo anterior se sustenta en que el estudio de Cai et al 2011(52) no se consideró como parámetro predictor o relacionado con éxito, sin embargo, en el estudio de Bellver et al 2010 (90), se consideró que la obesidad se relaciona con disminución de tasas de implantación.

Se detectó, que la totalidad de pacientes que fueron analizadas ya habían sido sometidas a algún tipo de tratamiento para el manejo de su condición de infertilidad, la mayoría a algún tipo de tratamiento médico, esto puede corresponder a que este grupo de pacientes, son en su mayoría referidas por médicos de atención primaria, especialistas en ginecología, endocrinología, entre otros, bajo un criterio clínico específico o un diagnóstico nosológico que es infertilidad. Esto hace que el grupo de población incluida en el presente estudio corresponda a una selección de pacientes con respecto a la población general que sufre dichas patologías. Al respecto, una escasa cantidad de estas pacientes habían sido sometidas a manejos específicos de terapia de reproducción asistida, que, hasta el momento, es la única medida con evidencia suficiente para considerarla como recomendación para el tratamiento

(91). Lo anterior, permitió considerar que la infertilidad constituyó un problema médico relevante para la población, aunque, también parece mostrar que existe algún tipo de demora o deficiencia en la identificación rápida y direccionamiento de las pacientes por parte de profesionales de la salud, ya que se debería tener la capacidad de identificar rápidamente factores pronóstico que se describen en la literatura para orientar a el individuo con infertilidad hacia un manejo especializado.

La comorbilidad crónica clínica más frecuente detectada fue el hipotiroidismo, que alcanzo cerca del 10% de la población estudiada, este hallazgo, contrasta llamativamente con lo referido en publicaciones como la de Verma I, et al. 2012 (89) quien reporto una prevalencia del 2 - 4% en mujeres en edad fértil, y hasta de 23% en infértiles en una cohorte de 394 mujeres de la india; igualmente, Vanderpump M, et al, 2011 (92), quien reporto una prevalencia del 2% en áreas yodo suficientes de Europa; la razón de esta diferencia puede corresponder a las diferentes rangos de corte para caracterizar el hipotiroidismo en estos países, adicional a la diferencia de yodo suplementación por territorio (104). El análisis de dichas comorbilidades en relación al resultado de embarazo, se evidenció que ninguna variable de comorbilidad fue francamente relacionada con éxito del tratamiento, aunque la proporción de presentación de comorbilidad fue siempre mayor en las mujeres no embarazadas.

La obesidad y los problemas reumatológicos siguieron en frecuencia al hipotiroidismo como condiciones de comorbilidad asociadas, pero con frecuencias muy inferiores con respecto a la primera, cuando se realizó el análisis de estas variables con el desenlace de embarazo químico no se encontraron relaciones significativas. Clásicamente las condiciones de comorbilidad se relacionan con infertilidad, sin embargo, su impacto específico sobre los resultados de ICSI no ha sido ampliamente estudiado en las publicaciones, probablemente debido a que este tipo de tratamientos se deben ofrecer a individuos con un perfil de comorbilidad estable y/o controlado como una estrategia de mejorar la posibilidad de buenos resultados. Esto probablemente sea una explicación plausible de los resultados presentados, ya que las pacientes son valoradas y deben tener condiciones de comorbilidad compensadas antes del optar por estos manejos (10).

Para la exposición a tóxicos, se documentó una baja frecuencia de uso o exposición a sustancias tóxicas (5%), sin embargo, son conocidos los efectos deletéreos de estas sustancias con el embarazo y teniendo en cuenta, que esta población consulta por su cuenta para someterse a tratamientos difíciles, prolongados y costosos, es muy probable una mayor adherencia a las recomendaciones médicas de suspender el consumo de dichas sustancias. Llamó la atención que entre las pacientes que lograron embarazadas se presentó una proporción mayor de exposición a tabaco y drogas en contraste con la exposición a alcohol y tóxicos ambientales laborales, aunque en el análisis estadístico, las diferencias no fueron estadísticamente significativas. Estas variables no han sido foco de estudio específico en las grandes cohortes evaluadas en algunas publicaciones, sin embargo, si se han adelantado esfuerzos para determinar el efecto de algunas exposiciones tóxicas individuales sobre los procedimientos de terapia de reproducción asistida de este tipo (95). En general la mayoría de artículos que tratan el tema se encaminan en el análisis de factores medibles de tipo clínico y de laboratorio (96).

Desde el punto de vista de ginecológico, el promedio de la edad para la menarca fue de 12.7 años, lo que se considera dentro del rango normal comparable a lo referido por Cabrera y cols. en 2014 (90), por lo que se presume que no había contexto de patologías del desarrollo sexual de base, dado que no se documentaron casos que cumplieran con criterio de pubertad acelerada o tardía.

Se presentó una alta prevalencia de alteraciones de la regularidad del ciclo menstrual (61.8%) y dismenorrea (43.3%) que pueden tener una alta relación con patologías uterinas de base que son condicionantes clásicos de infertilidad. La razón de encontrar una menor prevalencia de alteraciones como irregularidad menstrual, dismenorrea y dispareunia en embarazadas se puede relacionar con que estos sin síntomas clásicos de endometriosis que se relaciona clásicamente con infertilidad, como lo menciono Bulletti y cols en 2010 quienes aparte de encontrar una alta prevalencia de endometriosis en la población general (6 – 8%), además encontraron que hasta un 25 – 50% de las pacientes con infertilidad padecen endometriosis (97). Así mismo los parámetros relacionados con las gestaciones previas, abortos previos, tiempo de infertilidad o conteo folicular antral basal presentaron diferencias en el grupo estudiado, pero estas no fueron significativas para el desenlace. Para las condiciones

etiológicas de infertilidad, llamo la atención que la presencia de alguna alteración determinada, fue siempre proporcionalmente mayor en las pacientes no embarazadas. El factor masculino fue la condición etiológica de infertilidad más frecuente en un poco más del 80% de las pacientes; Otras condiciones etiológicas alcanzaron frecuencias cercanas al 20%. En el análisis de relación de las diferentes variables, se determinó que la presencia de miomatosis afectó negativamente la prevalencia de embarazo bioquímico ($p=0.01$), este es un factor relacionado clásicamente con problemas de implantación; Los resultados del presente estudio, contrastan con el estudio de Cai et al (52), en el cual se describieron el tiempo de infertilidad y el conteo de folículos antrales como factores de predicción de éxito en embarazo ($P<0.001$ respectivamente), esta discordancia, se puede derivar de que el grupo incluido en el presente estudio no correspondió a una muestra aleatoria y se limitó a todas las pacientes incluidas en una cohorte de atendidas en un centro de tratamiento de fertilidad, lo que implicó un reducido número de casos y homogeneidad en características clínicas, lo que reduce la capacidad de inferencia a otras poblaciones.

Para los hallazgos ecográficos basales, se encontró que la presencia de alteración fue proporcionalmente superior en todas las variables para las no embarazadas, excepto para ovario único que a un único caso con embarazo positivo y de pólipo endometrial que mostraron mayor proporción en embarazadas con 8 de 13 casos (61,5%). Adicionalmente se documentó que para la variable adenomiosis, la relación estuvo muy cerca de ser significativa ($p=0.08$) observándose diferencias importantes desde el punto de vista clínico con una prevalencia de 23.8% en embarazadas y de 76.2% en no embarazadas. En el estudio de Cai et al ($n=2450$) (52) no tuvieron en cuenta este tipo de variables en su análisis, a excepción de la medición de volúmenes ováricos sin alcanzar relevancia clínica o estadística, parámetro que no fue analizado en el presente estudio.

A nivel el laboratorio, no se logró obtener la información de todas las pacientes debido a problemas de registro en la historia clínica; sin embargo, el análisis incluyó todos los valores para las pacientes a las que se logró captar dicha información; con respecto a los valores de AMH, en promedio no fueron muy diferentes a los reportados en cohortes similares y en general no marcaron predicción para baja reserva ovárica de acuerdo lo publicado por Barbakadze (4) et al y La Marca (54), para este parámetro no se encontró una diferencia

significativa entre los valores de AMH categorizada y desenlaces en FVI/ICSI para éxito de embarazo, esto difiere a un estudio con propósitos similares de la india de Lekamge D, et al 2007 (70) en el que si se encontró relación con la categorización de AMH para algunos parámetros de resultados en estos tratamiento incluido embarazo; sin embargo, al realizar la correlación entre AMH y conteo folicular antral, se encontró que existió una relación significativa entre positiva entre AMH y conteo de folículos antrales, es decir a mayores niveles de AMH mayores conteos de folículos; adicionalmente, se observó una correlación negativa entre AMH y edad (Tabla 9 y 10) (grafica 1 y 2) lo que demostró a mayor edad la concentración de AMH disminuye. Considerando lo anterior y sustentado en estudios como el de La Marca (54), se puede considerar a la hormona antimulleriana como un marcador subrogado de la reserva ovárica.

En el análisis de los parámetros del ciclo de estimulación, las diferencias encontradas no fueron significativas cuando se relacionaron variables como la duración del ciclo, tipo de ciclo y logro ovocitario con el desenlace, si bien se observó una frecuencia de embarazos mayor en los pacientes sometidos a tratamiento de estimulación con antagonista de GnRh (40%) en contraste con los que recibieron protocolos con agonista corto (30%), en el análisis de la prueba estadística no se encontró que la diferencia fuera significativa. Como hallazgo particular, se encontró una pequeña diferencia en el recuento folicular pre aspiración y el número de ovocitos metafase 2 a favor de las pacientes que se embarazaron. En parámetros de ICSI, el número de ovocitos fertilizados mostro relación significativa con el desenlace de éxito ($p < 0.05$); al comparar este hallazgo con el estudio de Van Loendersloot et al, encontramos concordancia, pues en su análisis mostro relación del número de ovocitos obtenidos y la tasa de fertilización con resultados exitosos en tratamientos de fertilidad (46). Para el presente estudio no se analizó específicamente la tasa de fertilización con el desenlace, sin embargo, se calculó una tasa de fertilización mayor del 70% que se considera un estándar de buena calidad de laboratorio de fertilidad y éxito de tratamiento de tratamientos de fertilidad asistida (91).

Un hallazgo similar, se evidenció con el parámetro de embriones tipo 1, el cual también mostro una mayor numero de este tipo de embriones en las pacientes embarazadas (media de 2 embriones) en contraste con las no embarazadas (media de 1.6 embriones), estos hallazgos

mostraron una diferencia significativa en su relación con embarazo ($p < 0.05$); Este parámetro ha sido ampliamente discutido en la literatura como predictor de éxito en este tipo de tratamientos, por ejemplo en los estudios de Terriou et al en 2001 en el que centraron que la calidad embrionaria era un marcador superior de éxito incluso sobre el número de embriones transferidos (98), o el de Windt et al en el que los scores de madurez embrionaria mostraron superioridad en las tasas de embarazo (99). Otras variables que se investigaron del ICSI como en número de ovocitos inyectados, otros tipos de madurez embrionaria, en número de embriones congelados y el día de congelación del embrión no fueron diferentes entre los grupos en el presente estudio y esto se puede explicar que la calidad del laboratorio de fertilidad en la institución ha permitido una estandarización de proceso con un logro embrionario muy similar entre las pacientes.

Para la transferencia hubo una ligera diferencia no significativa entre los días desde la aspiración a la transferencia entre embarazadas (51.8 días) y no embarazadas (61.9 días) y la edad materna en embarazadas (35.4 años) y las no embarazadas (36.3 años), mostrando una relación significativa con el desenlace de embarazo para esta última ($p < 0.05$). No hubo diferencias para el número de embriones transferidos ya que por protocolo en la institución solo se transfieren máximo 2 embriones. Con la excepción de un caso en que la paciente solicitó que le fueran transferidos 3 embriones.

En el modelo multivariado de regresión logística, se observó que, aunque la capacidad explicativa no es superior del 20%, se logró establecer que la miomatosis es un “factor protector” del embarazo bioquímico (OR = 0,02. IC95% 0,01 – 0,99), lo que en términos prácticos se interpreta como aquellas mujeres con miomatosis tienen más baja prevalencia de embarazo bioquímico. Lo anterior es un hallazgo relevante, ya que si se considera que cerca de 1/3 de las mujeres en edad reproductiva presentan miomatosis (100) este parámetro y su implicación con éxito en tratamientos de fertilidad de este tipo es crucial. En la publicación de Kolankaya y cols (101), se revisan los diferentes mecanismos por los cuales la miomatosis se relaciona con infertilidad, si bien un mecanismo único no está definido, se plantea que variables como el número, tamaño y localización de la lesión son factores que influyen directamente en parámetros de implantación que pueden alterar el desenlace de este tipo de tratamientos (101), es por eso que este parámetro aun es controversial en el área de la

fertilidad. Esto queda evidenciado el estudio de Ramsey y cols. de 1998, en el que estudiaron el éxito de la FIV / intracitoplasmática (ICSI) en pacientes con Miomas que no invadieron la cavidad endometrial. Entre un total de 406 pacientes, 51 (12,6%) tuvieron miomas, 12 de ellos fueron excluidos del estudio y se les aconsejó que tuvieran miomectomía de aquellos que deformaban la cavidad endometrial previo a la realización de tratamiento. En el seguimiento no encontraron diferencias significativas en parámetros como embarazo total, embarazo clínico, e implantación, tasa de abortos, parto prematuro. En este estudio se documentó un aumento de la incidencia de miomatosis con la edad especialmente después de los 35 años y concluyeron, que, si la miomatosis no produce alteración de la cavidad de endometrial a menos de 7 cms de diámetro, no afecta el resultado del procedimiento (102). En otros estudios (103), se analizó la relación de la presencia y localización de los miomas con pacientes sin miomas en pacientes sometidas a tratamientos de FIV/ICSI, encontrando que las mujeres con miomas suberosos tenían las más bajas tasas de embarazo e implantación (10% vs 4,3%), así mismo aquellas con miomas mucosos tenían menores tasa de embarazo e implantación vs las pacientes con miomas suberosos o sin miomas (16,4% y 6,4%, 34,1 y 15,1% y 30,1 y 15,7% respectivamente). Es así que las intervenciones de los miomas suberosos en reproducción asistida se considera como opcional y la mayoría de recomendaciones se encaminan en manejar quirúrgicamente los miomas submucosos e intramurales que alteren la normal configuración de la cavidad endometrial (101).

Este estudio tiene limitaciones a considerar, la primera es que se basa en el análisis de datos con recolección retrospectiva, sobre una cohorte no aleatorizada, la información se extrajo de las historias clínicas registradas en la entidad de origen, esto genera que no exista una estandarización del registro de datos. El tipo de estudio no permite hacer inferencia sobre la población general, pero si permite inferir sobre la población factores relacionados con el desenlace. Se encontró subregistro en algunos datos especialmente en los resultados de laboratorios lo que limitó al análisis de variables como la hormona antimülleriana y su relación con embarazo, lo que era un objetivo de la investigación. Se considera que el tamaño de la muestra no permitió encontrar diferencias más de algunas variables relevantes en relación con desenlaces. Al ser un análisis de tipo descriptivo, no permite hacer inferencias sobre la población general y se limita a las relaciones probables del grupo estudiado con el desenlace planteado.

14. Conclusiones

Dentro de esta investigación se realizó una exploración en los factores que se han considerado relevantes para el análisis debido a su implicación en los resultados del tratamiento con terapia de reproducción asistida de alta complejidad. Se consideraron variables clásicamente citadas en la literatura como de relevancia para la consecución de resultados positivos, pero adicional se pretendió hacer el análisis sobre otros aspectos que no han sido tan extensamente analizados en la literatura. Se tuvieron en cuenta condiciones de tipo sociodemográfico, clínicos generales, clínico ginecológico, paraclínico con las limitaciones propias de un estudio de tipo retrospectivo, sin intervención, por lo cual, los hallazgos obtenidos, aunque no presentaron relación estadística en todos los casos, se consideraron relevantes pues permitió una caracterización clínica apropiada de la población estudiada.

Para los parámetros sociodemográficos se concluyó que hubo una mayor proporción de personas casadas que optaron por este tipo de tratamientos. Adicional la edad promedio para considerar estos tratamientos en las mujeres fue de más de 35 años. Todas las pacientes y/o parejas infértiles habían recibido algún tipo de tratamiento previo para manejo de su problema de infertilidad. En su mayoría las pacientes no presentaban alteraciones de la relación peso/talla en los parámetros de índice de masa corporal. En general la población no presentaba un perfil de comorbilidad alta, pero llamo la atención la prevalencia de hipotiroidismo un poco mayor que la población general, se consideró que puede relacionarse que esta población hacer parte de un grupo especial de individuos con una condición médica de base que pudo condicionar el resultado.

La exposición a tóxicos de la población fue baja, se encontraron diferencias discretas entre la exposición al cigarrillo y drogas en contraste con la exposición a alcohol y tóxicos ambientales/laborales en las pacientes que lograron embarazo, sin embargo, dichas diferencias no mostraron una relación significativa con el desenlace de éxito entre las que lograron embarazo y las que no lo lograron.

Los parámetros del historial ginecobstétrico se encontró cierta homogeneidad entre los grupos, pues no hubo diferencias para la edad de la menarquía, en número de gestas previas, abortos previos, tiempo de infertilidad y conteo folicular antral entre las pacientes que se embarazaron y las que no lograron embarazo.

Para las variables que se relacionan con infertilidad el factor masculino fue el más prevalente. La endometriosis fue un factor con fuerte tendencia negativa con baja prevalencia en las embarazadas y alta prevalencia en las no embarazadas. La miomatosis uterina como causa de infertilidad mostró una relación estadísticamente significativa con el desenlace de embarazo, así mismo fue el factor más fuertemente relacionado con una menor posibilidad de embarazo tanto en el análisis bivariado como en el análisis multivariado de regresión.

Para las alteraciones ecográficas se presentó una mayor prevalencia de presentación de condiciones consideradas como anormales en las pacientes no embarazadas, con excepción de la anormalidad ovario único y quiste ovárico que se presentaron con mayor frecuencia relativa en las embarazadas.

Se documentó una ligera diferencia entre variables como recuento folicular pre aspiración y número de ovocitos en metafase 2, los cuales fueron mayores en las pacientes embarazadas, estos parámetros se relacionan con la calidad de la intervención dentro de los protocolos de estimulación ovárica y con esto con una mayor probabilidad de éxito, para esta investigación la relación no alcanzó significancia estadística.

Se encontró relación con tendencia negativa y significativa entre los valores basales de AMH con la edad de la paciente al momento de la consulta y el recuento basal de folículos antrales, por lo que esta se comportó como un marcador de reserva ovárica y envejecimiento ovárico, esto reafirma conceptos expuestos en la literatura en los que la AMH es considerado como un marcador subrogado de la reserva folicular antral. Se encontró diferencia entre valores de la AMH y la prevalencia de embarazo, sobre todo un menor porcentaje de embarazos con valores de AMH menor a 1, sin embargo, en el análisis estadístico esta relación no mostró diferencias significativas entre grupos categorizados y el desenlace de embarazo.

Se documentó una relación significativa entre el número de ovocitos y fertilizados y el embarazo, así mismo se encontró relación entre la cantidad de embriones tipo 1 con el embarazo, que confirma la relevancia de parámetros técnicos del ciclo, de la ICSI y del laboratorio de fertilidad para obtener éxito con estos tratamientos.

Se observaron algunas diferencias en parámetros días transcurridos desde el ICSI hasta la transferencia de aproximadamente 10 días menos para la transferencia en las pacientes que

presentaron embarazo. Se encontró una diferencia de aproximadamente 1 año menos para el momento de la transferencia en las mujeres que lograron embarazo, en el análisis estadístico, dicha diferencia se mostró significativa lo que permite considerar que en este grupo la edad en el momento de la transferencia puede tener una relación con el desenlace de éxito de gestación.

Se encontró una diferencia porcentual del 10% más, de embarazos en las pacientes con uso de esquemas de estimulación con antagonistas de GnRH, y una diferencia porcentual del 3% aproximadamente más de embarazos en pacientes que no habían sido sometidas a tratamientos de estimulación ovárica FIV/ICSI previos. En el análisis estadístico estas diferencias no se mostraron significativas

Será necesario continuar con la recolección de datos del estudio para mejorar el tamaño de la muestra como estrategia para mejorar la posibilidad de obtener más resultados.

Este estudio tiene el aporte de ser la primera aproximación a la determinación de características de la población estudiada, que permitan diferenciar factores relacionados con éxito de este tipo de tratamientos, para una posterior consideración de estudios bajo otra metodología que permita ofrecer una mejor posibilidad de manejo para estos pacientes.

15. Bibliografía

1. Tarducci, M. (2008). Maternidades en el siglo XXI. In *Publicación científica y técnica* (Vol. 614). Espacio Editorial.
2. Gurtcheff, S. E., & Klein, N. A. (2011). Diminished ovarian reserve and infertility. *Clinical obstetrics and gynecology*, 54(4), 666-674.
3. Zarek, S. M., Mitchell, E. M., Sjaarda, L. A., Mumford, S. L., Silver, R. M., Stanford, J. B., ... & Schisterman, E. F. (2015). Is anti-Müllerian hormone associated with fecundability? Findings from the EAGeR trial. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 100(11), 4215-4221.
4. Barbakadze, L., Kristesashvili, J., Khonelidze, N., & Tsagareishvili, G. (2015). The correlations of anti-mullerian hormone, follicle-stimulating hormone and antral follicle count in different age groups of infertile women. *International journal of fertility & sterility*, 8(4), 393.
5. Tal, R., Tal, O., Seifer, B. J., & Seifer, D. B. (2015). Antimüllerian hormone as predictor of implantation and clinical pregnancy after assisted conception: a systematic review and meta-analysis. *Fertility and sterility*, 103(1), 119-130.
6. Steptoe, P. C., & Edwards, R. G. (1978). Birth after the reimplantation of a human embryo. *The Lancet*, 312(8085), 366
7. Calhaz-Jorge, C., de Geyter, C., Kupka, M. S., de Mouzon, J., Erb, K., Mocanu, E. (2016). Assisted reproductive technology in Europe, 2012: results generated from European registers by ESHRE. *Human Reproduction*.
8. Green, N. S. (2004). Risks of birth defects and other adverse outcomes associated with assisted reproductive technology. *Pediatrics*, 114(1), 256-259.
9. American Society for Reproductive Medicine. Ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril* 2006;86:S178–836.
10. Macaluso, M., Wright-Schnapp, T. J., Chandra, A., Johnson, R., Satterwhite, C. L., Pulver, A., ... & Pollack, L. A. (2010). A public health focus on infertility prevention, detection, and management. *Fertility and sterility*, 93(1), 16-e1.
11. National, Regional, and Global Trends in Infertility Prevalence Since 1990: A Systematic Analysis of 277 Health Surveys.

12. Van Steirteghem, A. C., Nagy, Z., Joris, H., Liu, J., Staessen, C., Smits, J., ... & Devroey, P. (1993). High fertilization and implantation rates after intracytoplasmic sperm injection. *Human Reproduction*, 8(7), 1061-1066.
13. Huszar, G., Ozenci, C. C., Cayli, S., Zavaczki, Z., Hansch, E., & Vigue, L. (2003). Hyaluronic acid binding by human sperm indicates cellular maturity, viability, and unreacted acrosomal status. *Fertility and Sterility*, 79, 1616-1624
14. Parmegiani, L., Cognigni, G. E., Bernardi, S., Troilo, E., Ciampaglia, W., & Filicori, M. (2010). "Physiologic ICSI": hyaluronic acid (HA) favors selection of spermatozoa without DNA fragmentation and with normal nucleus, resulting in improvement of embryo quality. *Fertility and sterility*, 93(2), 598-604
15. Jakab, A., Sakkas, D., Delpiano, E., Cayli, S., Kovanci, E., Ward, D., ... & Huszar, G. (2005). Intracytoplasmic sperm injection: a novel selection method for sperm with normal frequency of chromosomal aneuploidies. *Fertility and sterility*, 84(6), 1665-1673
16. Balaban, B., Lundin, K., Morrell, J. M., Tjellström, H., Urman, B., & Holmes, P. V. (2003). An alternative to PVP for slowing sperm prior to ICSI. *Human Reproduction*, 18(9), 1887-1889.
17. Mantikou, E., Youssef, M. A., van Wely, M., van der Veen, F., Al-Inany, H. G., Repping, S., & Mastenbroek, S. (2013). Embryo culture media and IVF/ICSI success rates: a systematic review. *Human reproduction update*, 19(3), 210-220.
18. Barak, Y., Menezo, Y., Veiga, A., & Elder, K. (2001). A physiological replacement for polyvinylpyrrolidone (PVP) in assisted reproductive technology. *Human Fertility*, 4(2), 99-103.
19. Jean, M., Mirallié, S., Boudineau, M., Tatin, C., & Barrière, P. (2001). Intracytoplasmic sperm injection with polyvinylpyrrolidone: a potential risk. *Fertility and sterility*, 76(2), 419-420.
20. Parmegiani, L., Cognigni, G. E., Bernardi, S., Troilo, E., Taraborrelli, S., Arnone, A., ... & Filicori, M. (2012). Comparison of two ready-to-use systems designed for sperm-hyaluronic acid binding selection before intracytoplasmic sperm injection: PICSi vs. Sperm Slow: a prospective, randomized trial. *Fertility and sterility*, 98(3), 632-637.

21. MénézO, Y., & Nicollet, B. (2004, May). Replacement of PVP by hyaluronate (SpermSlow™) in ICSI—Impact on outcome. In 2004 Abstract of 18th World Congress on Fertility and Sterility IFFS.
22. Nasr-Esfahani, M. H., Razavi, S. H. A. H. N. A. Z., Vahdati, A. A., Fathi, F., & Tavalae, M. (2008). Evaluation of sperm selection procedure based on hyaluronic acid binding ability on ICSI outcome. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 25(5), 197-203.
23. Palermo, G., Joris, H., Devroey, P., & Van Steirteghem, A. C. (1992). Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *The Lancet*, 340(8810), 17-18.
24. Cummins, J. M., Breen, T. M., Harrison, K. L., Shaw, J. M., Wilson, L. M., & Hennessey, J. F. (1986). A formula for scoring human embryo growth rates in in vitro fertilization: its value in predicting pregnancy and in comparison, with visual estimates of embryo quality. *Journal of In Vitro Fertilization and Embryo Transfer*, 3(5), 284-295.
25. Steer CV, Mills CL, Tan SL, Campbell S & Edwards RG (1992) The cumulativeembryo score: a predictive embryo scoring technique to select the optimal number ofembryos to transfer in an in-vitro fertilization and embryo transfer programme. *HumReprod* 7(1):117–119.
26. Bertrand, E., Van den Bergh, M., & Englert, Y. (1995). Fertilization and early embryology: Does zona pellucida thickness influence the fertilization rate?. *Human reproduction*, 10(5), 1189-1193.
27. Shoukir, Y., Campana, A., Farley, T., & Sakkas, D. (1997). Early cleavage of in-vitro fertilized human embryos to the 2-cell stage: a novel indicator of embryo quality and viability. *Human Reproduction*, 12(7), 1531-1536.
28. Blake, D., Proctor, M., Johnson, N., & Olive, D. (2002). Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted conception. *The Cochrane Library*.
29. Angell RR, Aitken RJ, van Look PF, Lumsden MA & Templeton AA (1983) Chromosome abnormalities in human embryos after in vitro fertilization. *Nature* 303(5915): 336–338.

30. Shahine LK & Cedars MI (2006) Preimplantation genetic diagnosis does not increase pregnancy rates in patients at risk for aneuploidy. *Fertil Steril* 85(1): 51 – 6.
31. Munne S, Lee A, Rosenwaks Z, Grifo J & Cohen J (1993) Diagnosis of major chromosome aneuploidies in human preimplantation embryos. *Hum Reprod* 8(12): 2185–2191.
32. Moutou C, Gardes N & Viville S (2004) Duplex, triplex and quadruplex PCR for the preimplantation genetic diagnosis (PGD) of cystic fibrosis (CF), an exhaustive approach. *Prenat Diagn* 24(7): 62–69.
33. Sermon K, De Rijcke M, Lissens W, De Vos A, Platteau P, Bonduelle M et al. (2002) Preimplantation genetic diagnosis for Huntington's disease with exclusion testing. *Eur J Hum Genet* 10(10): 591–598.
34. Rogers PA, Milne BJ & Trounson AO (1986) A model to show human uterine receptivity and embryo viability following ovarian stimulation for in vitro fertilization. *J In Vitro Fert Embryo Transf* 3(2):93–98.
35. Zuckerman, S. (1951). The number of oocytes in the mature ovary. *Recent Progress in Hormone Research*, 6, 63-109.
36. Faddy MJ, Gosden RG, Gougeon A, Richardson SJ & Nelson JF (1992) Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. *Hum Reprod* 7(10): 1342–1346.
37. Hassold TJ & Jacobs PA (1984) Trisomy in man. *Annu Rev Genet* 18: 69–97, Sherman SL, Freeman SB, Allen EG & Lamb NE (2005) Risk factors for nondisjunction of trisomy 21. *Cytogenet Genome Res* 111(3–4): 273–280.
38. Keay SD, Liversedge NH, Mathur RS, Jenkins JM (1997) Assisted conception following poor ovarian response to gonadotrophin stimulation. *Br J Obstet Gynaecol* 104(5): 521–527.
39. Zaadstra BM, Seidell JC, Van Noord PA, te Velde ER, Habbema JD, Vrieswijk B, et al. (1993) Fat and female fecundity: prospective study of effect of body fat distribution on conception rates. *BMJ* 306(6876): 484–487– 238.
40. Frisch RE (1987) Body fat, menarche, fitness and fertility. *Hum Reprod* 2(6): 521–533.

41. Schweiger U, Laessle R, Pfister H, Hoehl C, Schwingenschloegel M, Schweiger M et al. (1987) Diet-induced menstrual irregularities: effects of age and weight loss. *Fertil Steril* 48(5): 746–751.
42. Maconochie N, Doyle P, Prior S & Simmons R (2007) Risk factors for first trimester miscarriage — results from a UK-population-based case-control study. *BJOG* 114(2): 170–186.
43. Abdel Raheem, A., Rushwan, N., Garaffa, G., Zacharakis, E., Doshi, A., Heath, C., ... & Ralph, D. (2013). Factors influencing intracytoplasmic sperm injection (ICSI) outcome in men with azoospermia. *BJU international*, 112(2), 258-264
44. Zarinara, A., Zeraati, H., Kamali, K., Mohammad, K., Shahnazari, P., & Akhondi, M. M. (2016). Models predicting success of infertility treatment: A systematic review. *Journal of reproduction & infertility*, 17(2), 68).
45. Steptoe, P. C., & Edwards, R. G. (1978). Birth after the reimplantation of a human embryo. *The Lancet*, 312(8085), 366).
46. Van Loendersloot, L. L., Van Wely, M., Limpens, J., Bossuyt, P. M. M., Repping, S., & Van Der Veen, F. (2010). Predictive factors in in vitro fertilization (IVF): a systematic review and meta-analysis. *Human reproduction update*.
47. Strandell, A., Bergh, C., & Lundin, K. (2000). Selection of patients suitable for one-embryo transfer may reduce the rate of multiple births by half without impairment of overall birth rates. *Human Reproduction*, 15(12), 2520-2525.
48. El-Toukhy, T., Khalaf, Y., Hart, R., Taylor, A., & Braude, P. (2002). Young age does not protect against the adverse effects of reduced ovarian reserve—an eight year study. *Human Reproduction*, 17(6), 1519-1524.
49. Hunault, C. C., Eijkemans, M. J., Pieters, M. H., te Velde, E. R., Habbema, J. D. F., Fauser, B. C., & Macklon, N. S. (2002). A prediction model for selecting patients undergoing in vitro fertilization for elective single embryo transfer. *Fertility and sterility*, 77(4), 725-732.
50. Van der Gaast, M. H., Eijkemans, M. J. C., Van der Net, J. B., De Boer, E. J., Burger, C. W., Van Leeuwen, F. E., ... & Macklon, N. S. (2006). Optimum number of oocytes for a successful first IVF treatment cycle. *Reproductive biomedicine online*, 13(4), 476-480.

51. Strassburger, D., Friedler, S., Raziell, A., Kasterstein, E., Schachter, M., & Ron-El, R. (2004). The outcome of ICSI of immature MI oocytes and rescued in vitro matured MII oocytes. *Human Reproduction*, 19(7), 1587-1590.
52. Cai, Q. F., Wan, F., Huang, R., & Zhang, H. W. (2011). Factors predicting the cumulative outcome of IVF/ICSI treatment: a multivariable analysis of 2450 patients. *Human reproduction*, 26(9), 2532-2540.
53. Al-Ghazali, B. S., Al-Bderi, A. J., & Mubark, A. M. (2015). Factors Affecting Pregnancy Outcome in Subfertile Couples Subjected to Intracytoplasmic Sperm Injection. *Kufa Journal for Nursing Sciences*, 4(3).
54. La Marca, A., et al. "Anti-Müllerian hormone (AMH) as a predictive marker in assisted reproductive technology (ART)." *Human reproduction update* 16.2 (2010): 113-130.
55. Dewailly, D., Andersen, C. Y., Balen, A., Broekmans, F., Dilaver, N., Fanchin, R., ... & Mason, H. (2014). The physiology and clinical utility of anti-Müllerian hormone in women. *Human reproduction update*, 20(3), 370-385.
56. La Marca, A., Stabile, G., Artenisio, A. C., & Volpe, A. (2006). Serum anti-Mullerian hormone throughout the human menstrual cycle. *Human Reproduction*, 21(12), 3103-3107.
57. Bentzen, J. G., Forman, J. L., Pinborg, A., Lidegaard, Ø., Larsen, E. C., Friis-Hansen, L., ... & Andersen, A. N. (2012). Ovarian reserve parameters: a comparison between users and non-users of hormonal contraception. *Reproductive biomedicine online*, 25(6), 612-619.
58. Kallio, S., Puurunen, J., Ruukonen, A., Vaskivuo, T., Piltonen, T., & Tapanainen, J. S. (2013). Antimüllerian hormone levels decrease in women using combined contraception independently of administration route. *Fertility and sterility*, 99(5), 1305-1310.
59. Chan, C., & Liu, K. (2014). Clinical pregnancy in a woman with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism and low AMH: utility of ovarian reserve markers in IHH. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 31(10), 1317-1321
60. Pigny, P., Merlen, E., Robert, Y., Cortet-Rudelli, C., Decanter, C., Jonard, S., & Dewailly, D. (2003). Elevated serum level of anti-mullerian hormone in patients with

- polycystic ovary syndrome: relationship to the ovarian follicle excess and to the follicular arrest. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 88(12), 5957-5962.
61. Pellatt, Laura, Suman Rice, and Helen D. Mason. "Anti-Müllerian hormone and polycystic ovary syndrome: a mountain too high?." *Reproduction* 139.5 (2010): 825-833.
 62. Seifer, David B., and David T. MacLaughlin. "Mullerian Inhibiting Substance is an ovarian growth factor of emerging clinical significance." *Fertility and sterility* 88.3 (2007): 539-546 , Nelson, Scott M., et al. "Anti-Müllerian hormone: clairvoyance or crystal clear?." *Human Reproduction* 27.3 (2012): 631-636.
 63. La Marca, A., et al. "Anti-Müllerian hormone concentrations in maternal serum during pregnancy." *Human Reproduction* 20.6 (2005): 1569-1572.
 64. de Vet, Annemarie, et al. "Antimüllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging." *Fertility and sterility* 77.2 (2002): 357-362.
 65. Broer, S. L., et al. "AMH and AFC as predictors of excessive response in controlled ovarian hyperstimulation: a meta-analysis." *Human reproduction update* 17.1 (2011): 46-54.
 66. Levi, Andrew J., et al. "Reproductive outcome in patients with diminished ovarian reserve." *Fertility and sterility* 76.4 (2001): 666-669).
 67. Faddy, M. J., and R. G. Gosden. "Physiology: A mathematical model of follicle dynamics in the human ovary." *Human Reproduction* 10.4 (1995): 770-775
 68. Toner, James P., et al. "Basal follicle-stimulating hormone level is a better predictor of in vitro fertilization performance than age." *Fertility and sterility* 55.4 (1991): 784-791)
 69. Seifer, David B., et al. "Day 3 serum inhibin-B is predictive of assisted reproductive technologies outcome." *Fertility and sterility* 67.1 (1997): 110-114.
 70. Lekamge, Dharmawijaya N., et al. "Anti-Müllerian hormone as a predictor of IVF outcome." *Reproductive biomedicine online* 14.5 (2007): 602-610.
 71. Nelson, Scott M., Robin W. Yates, and Richard Fleming. "Serum anti-Müllerian hormone and FSH: prediction of live birth and extremes of response in stimulated

- cycles - implications for individualization of therapy." *Human Reproduction* 22.9 (2007): 2414-2421.
72. Fanchin, Renato, et al. "Anti-Mullerian hormone concentrations in the follicular fluid of the preovulatory follicle are predictive of the implantation potential of the ensuing embryo obtained by in vitro fertilization." *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 92.5 (2007): 1796-1802.
73. Silberstein, T., et al. "Müllerian inhibiting substance levels at the time of HCG administration in IVF cycles predict both ovarian reserve and embryo morphology." *Human Reproduction* 21.1 (2006): 159-163.
74. Iliodromiti, Stamatina, et al. "The predictive accuracy of anti-Müllerian hormone for live birth after assisted conception: a systematic review and meta-analysis of the literature." *Human reproduction update* (2014).
75. Broer, Simone L., et al. "Added value of ovarian reserve testing on patient characteristics in the prediction of ovarian response and ongoing pregnancy: an individual patient data approach." *Human reproduction update* 19.1 (2013): 26-36.
76. Tal, Reshef, et al. "Antimüllerian hormone as predictor of implantation and clinical pregnancy after assisted conception: a systematic review and meta-analysis." *Fertility and sterility* 103.1 (2015): 119-130.
77. Brodin, Thomas, et al. "Antimüllerian hormone levels are strongly associated with live-birth rates after assisted reproduction." *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 98.3 (2013): 1107-1114.
78. Irez, Tulay, et al. "Different serum anti-Müllerian hormone concentrations are associated with oocyte quality, embryo development parameters and IVF-ICSI outcomes." *Archives of gynecology and obstetrics* 284.5 (2011): 1295-1301.
79. Kaya, Cemil, Recai Pabuccu, and Hakan Satiroglu. "Serum antimüllerian hormone concentrations on day 3 of the in vitro fertilization stimulation cycle are predictive of the fertilization, implantation, and pregnancy in polycystic ovary syndrome patients undergoing assisted reproduction." *Fertility and sterility* 94.6 (2010): 2202-2207.
80. Seifer, David B., et al. "Variations in serum müllerian inhibiting substance between white, black, and Hispanic women." *Fertility and sterility* 92.5 (2009): 1674-1678.

81. Ebner, T., Sommergruber, M., Moser, M., Shebl, O., Schreier-Lechner, E., & Tews, G. (2006). Basal level of anti-Müllerian hormone is associated with oocyte quality in stimulated cycles. *Human reproduction*, 21(8), 2022-2026.
82. Eldar-Geva, T., Ben-Chetrit, A., Spitz, I. M., Rabinowitz, R., Markowitz, E., Mimoni, T., ... & Margalioth, E. J. (2005). Dynamic assays of inhibin B, anti-Mullerian hormone and estradiol following FSH stimulation and ovarian ultrasonography as predictors of IVF outcome. *Human reproduction*, 20(11), 3178-318.
83. Penarrubia, J., Fábregues, F., Manau, D., Creus, M., Casals, G., Casamitjana, R., ... & Balasch, J. (2005). Basal and stimulation day 5 anti-Müllerian hormone serum concentrations as predictors of ovarian response and pregnancy in assisted reproductive technology cycles stimulated with gonadotropin-releasing hormone agonist–gonadotropin treatment. *Human Reproduction*, 20(4), 915-922.
84. Tremellen, K. P., Kolo, M., Gilmore, A., & Lekamge, D. N. (2005). Anti-müllerian hormone as a marker of ovarian reserve. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 45(1), 20-24.
85. Hansen, K. R., Hodnett, G. M., Knowlton, N., & Craig, L. B. (2011). Correlation of ovarian reserve tests with histologically determined primordial follicle number. *Fertility and sterility*, 95(1), 170-175.
86. La Marca, A., & Sunkara, S. K. (2014). Reply: The two sides of the individualization of controlled ovarian stimulation. *Human reproduction update*, 20(4), 614-615.
87. Silva, G. M. D., Diniz, A. L. D., Bernardino Neto, M., Marcolini, T. T., Perillo, L. C. A., Pires, W. D. P., & Pessoa, S. M. (2014). Number of antral follicles and the success of in vitro fertilization: a multivariate analysis. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*, 36(10), 473-479.
88. Broekmans, F. J., de Ziegler, D., Howles, C. M., Gougeon, A., Trew, G., & Olivennes, F. (2010). The antral follicle count: practical recommendations for better standardization. *Fertility and sterility*, 94(3), 1044-1051.
89. Verma, I., Sood, R., Juneja, S., & Kaur, S. (2012). Prevalence of hypothyroidism in infertile women and evaluation of response of treatment for hypothyroidism on infertility. *International Journal of Applied and Basic Medical Research*, 2(1), 17–19.

90. Cabrera, S. M., Bright, G. M., Frane, J. W., Blethen, S. L., & Lee, P. A. (2014). Age of thelarche and menarche in contemporary US females: a cross-sectional analysis. *Journal of Pediatric Endocrinology & Metabolism: JPEM*, 27(0), 47–51. <http://doi.org/10.1515/jpem-2013-0286>
91. Bellver, J., Ayllón, Y., Ferrando, M., Melo, M., Goyri, E., Pellicer, A., ... & Meseguer, M. (2010). Female obesity impairs in vitro fertilization outcome without affecting embryo quality. *Fertility and sterility*, 93(2), 447-454.
92. De los Santos, M. J., Apter, S., Coticchio, G., Debrock, S., Lundin, K., Plancha, C. E., ... & Vermeulen, N. (2016). Revised guidelines for good practice in IVF laboratories (2015). *Human Reproduction*, 31(4), 685-686.
93. Mark P. J. Vanderpump; The epidemiology of thyroid disease. *Br Med Bull* 2011; 99 (1): 39-51
94. De Vries, M. J., De Sutter, P., & Dhont, M. (1999). Prognostic factors in patients continuing in vitro fertilization or intracytoplasmic sperm injection treatment and dropouts. *Fertility and sterility*, 72(4), 674-678.
95. Perin, P. M., Maluf, M., Czeresnia, C. E., Januário, D. A. N. F., & Saldiva, P. H. N. (2010). Impact of short-term preconceptional exposure to particulate air pollution on treatment outcome in couples undergoing in vitro fertilization and embryo transfer (IVF/ET). *Journal of assisted reproduction and genetics*, 27(7), 371-382.
96. Aguinaga del Hierro, M. J. (2014). Factores pronósticos de éxito o fracaso para fertilización in vitro en pacientes de la clínica INFES desde enero del 2007 hasta diciembre del 2012.
97. Bulletti, C., Coccia, M. E., Battistoni, S., & Borini, A. (2010). Endometriosis and infertility. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 27(8), 441-447.
98. Terriou, P., Sapin, C., Giorgetti, C., Hans, E., Spach, J. L., & Roulier, R. (2001). Embryo score is a better predictor of pregnancy than the number of transferred embryos or female age. *Fertility and sterility*, 75(3), 525-531.
99. Windt, M. L., Kruger, T. F., Coetzee, K., & Lombard, C. J. (2004). Comparative analysis of pregnancy rates after the transfer of early dividing embryos versus slower dividing embryos. *Human Reproduction*, 19(5), 1155-1162.

100. Buttram Jr, V. C., & Reiter, R. C. (1981). Uterine leiomyomata: etiology, symptomatology, and management. *Fertility and sterility*, 36(4), 433.
101. Kolankaya, A., & Arici, A. (2006). Myomas and assisted reproductive technologies: when and how to act?. *Obstetrics and gynecology clinics of North America*, 33(1), 145-152.
102. Ramzy, A. M., Sattar, M., Amin, Y., Mansour, R. T., Serour, G. I., & Aboulghar, M. A. (1998). Uterine myomata and outcome of assisted reproduction. *Human Reproduction*, 13(1), 198-202.
103. Eldar-Geva T, Meagher S, Healy DL, et al. Effect of intramural, subserosal, and submucosal uterine fibroids on the outcome of assisted reproductive technology treatment. *Fertil Steril* 1998;70(4):687 – 91.
104. Vanderpump, M. P., & Tunbridge, W. M. G. (2005). The epidemiology of thyroid diseases. *Werner and Ingbar's the thyroid: a fundamental and clinical text*, 398-406.

