

Fertility & Sterility

Artículos Seleccionados Traducidos



FERTILITY AND STERILITY

Editor-in-Chief:

Alan H. DeCherney, M.D.
Chief, Reproductive Biology and Medicine Branch,
National Institutes of Health, Bethesda, Maryland

A Publication of the American
Society for Reproductive Medicine

www.fertstert.org

ISSN: 0015-0262

For more information about
submission to *Fertility & Sterility*,
please contact:

Eric Steinmull, Managing Editor
Fertility and Sterility Editorial Office
American Society for Reproductive
Medicine

1209 Montgomery Highway
Birmingham, AL 35216-2809
Tel: 205-978-5000

Email: esteinmull@asrm.org

Submit manuscripts online at
<http://ees.elsevier.com/fst>

For information about
advertising in *Fertility & Sterility*,
please contact:

Carol Clark
Elsevier
360 Park Avenue South
New York, New York 10010

Tel: 212-633-3719

Fax: 212-633-3820

Email: ca.clark@elsevier.com



ELSEVIER 1105560/05

Fertility and Sterility is a monthly international journal for obstetricians, gynecologists, reproductive endocrinologists, urologists, basic scientists and others who treat and investigate problems related to infertility and other human reproductive conditions.

The Journal publishes peer-reviewed original scientific articles in clinical and laboratory research relevant to reproductive endocrinology, urology, andrology, physiology, immunology, genetics, contraception, and menopause.

Fertility and Sterility encourages and supports meaningful basic and clinical research, and facilitates and promotes excellence in professional education, in the field of reproductive medicine.

Access to www.us.fertstert.org is included with your paid subscription!

For more information or to order, contact

Phone:

1-800-654-2452 (U.S. and Canada)

1-314-453-7041 (other countries)

Visit:

www.us.elsevierhealth.com

Cultivo in Vitro de embriones humanos de día 3 a día 5 de desarrollo: comparación de resultados tras cultivo a concentración elevada de oxígeno ~20% o a concentración reducida de oxígeno (5%).

Comparison of 5% and ambient oxygen during days 3-5 of in vitro culture of human embryos

Laszlo Nanassy Ph.D.^a, C. Anthony Peterson B.S.^a, Aaron L. Wilcox B.S.^a, C. Matthew Peterson M.D.^b, Ahmad Hammoud M.D.^b, Douglas T. Carrell Ph.D.^{abc}

^a Department of Surgery, ^b Department of Obstetrics and Gynecology, and ^c Department of Physiology, Andrology and IVF. Laboratories, University of Utah School of Medicine, Salt Lake City, Utah

Resumen

Objetivo: Comparar los resultados, en términos de calidad embrionaria y embarazo, al cultivar los embriones humanos de día 3 a día 5 bajo concentración de oxígeno presente en el ambiente o bajo un 5% de concentración.

Diseño: análisis comparativo retrospectivo de dos sistemas de cultivo diferentes.

Lugar: clínica universitaria dedicada a la infertilidad.

Paciente(s): trescientos ochenta y dos pacientes sometidos a tratamientos de FIV.

Intervención(es): Los embriones fueron cultivados a 5% CO₂ (~20% O₂) hasta el día 3 de desarrollo embrionario. Luego fueron asignados a dos grupos diferentes y cultivados, hasta el día de la transferencia, a concentración elevada de oxígeno ~20% o a concentración reducida de oxígeno (5%).

Principal resultado(s) medido(s): calidad embrionaria, tasas de embarazo y tasas de implantación.

Resultado(s): no hubo diferencias en las características demográficas (edad, tipo de infertilidad) entre los dos grupos. Las puntuaciones de los embriones a día 3 y día 5, y las tasas de blastulación no variaron entre los grupos. No se observaron diferencias entre las concentraciones de 5% y 20% de oxígeno en las tasas de embarazo bioquímico (71.27% vs 78.72), tasas de embarazo clínico (58.56% vs 64.36%), o en las tasas de implantación (44.06 vs 44.16%).

Conclusión(es): las concentraciones reducidas de oxígeno en la mezcla de gas, desde el día 3 hasta el día de la transferencia, no supuso mejor desarrollo embrionario ni dio lugar a mayores tasas de embarazo o implantación. Estos datos no apoyan la hipótesis del beneficio de la reducción de concentración de oxígeno en los cultivos largos de embriones (día 3-5) y subrayan la necesidad de proseguir con los estudios en todas las etapas de cultivo in Vitro.

(Fertil Steril(®) 2010;93:579-85. (©)2010 by American Society for Reproductive Medicine.)

Palabras clave: Fecundación in Vitro. Concentraciones de oxígeno. Blastocistos. Tasas de implantación. Cultivo embrionario.

Summary

Objective: *To compare the effect of two oxygen concentrations used during days 3-5 of human embryo culture on embryo quality and pregnancy outcome.*

Design: *Retrospective analysis of the use of two culture conditions.*

Setting: *University-based infertility clinic.*

Patient(s): *Three hundred eighty-two patients undergoing IVF.*

Intervention(s): *Embryos were cultured in 5% CO₂ balanced (~20% O₂) gas phase until day 3 then assigned to ~20% or reduced (5%) oxygen concentration groups and cultured until ET.*

Main Outcome Measure(s): *Embryo quality, pregnancy rates, and implantation rates.*

Result(s): *There were no differences in demographic features (age, type of infertility) between the two groups. The embryo scores at day 3 and day 5, blastulation rate, and transfer score did not differ between groups. No differences were observed between the 5% and 20% oxygen concentrations in the chemical pregnancy rate (71.27% vs. 78.72%), clinical pregnancy rate (58.56% vs. 64.36%), or implantation rate (44.06% vs. 44.16%).*

Conclusion(s): *Reduced oxygen concentration in the gas mixture from day 3 until ET did not support better embryo development or result in higher pregnancy or implantation rates. These data do not support the hypothesis that beneficial effects of reduced oxygen concentration can be gained by employing the strategy during the latter stages of embryo culture (days 3-5) only and highlight the need for further studies through all stages of in vitro culture. (Fertil Steril® 2010;93:579-85. ©2010 by American Society for Reproductive Medicine.)*

Key Words: In vitro fertilization. Oxygen concentration. Blastocysts. Implantation rate. Embryo culture

Niveles reducidos de oxígeno durante el cultivo embrionario es beneficioso en muchas especies de mamíferos incluidos ratones (1-3), ganado (4-6), y cerdos (7, 8). El nivel de oxígeno en el aparato reproductor femenino es de $\leq 40\%$ de O₂ atmosférico (9). Durante la FIV en humanos, el cultivo embrionario se realiza habitualmente en incubadoras convencionales que utilizan concentraciones de oxígeno atmosférico, proponiendo que el exceso de oxígeno es perjudicial para los embriones tempranos a través de la generación de radicales libres de oxígeno (10, 11).

Algunos estudios no han revelado posibles efectos de las reducidas concentraciones de oxígeno en la calidad de embriones y/o tasas de implantación o embarazo (12-16). Sin embargo, se ha publicado un incremento en las tasas de embarazo e implantación (17) y tasas de nacimientos más elevadas (18) tras el cultivo embrionario preimplantacional a concentraciones más bajas de O₂.

En muchas especies de mamíferos se ha observado una concentración de oxígeno más baja en el útero que en las trompas. La concentración de oxígeno en las trompas de los monos rhesus estaría en un rango de 5% a 8.7%, mientras que en el útero es de solamente ~2% (9). Así, los embriones están expuestos a tensiones de oxígeno reducidas en el momento en que llegan al útero, momento que se corresponde con la formación de blastocisto y con la implantación. En un

estudio reciente y preliminar, se ha encontrado que la reducción del oxígeno en el gas atmosférico, durante los días 3-5 de cultivo in Vitro de embriones humanos, incrementa la división y la tasa de embarazos con resultados similares a los obtenidos al cultivar con bajos niveles de oxígenos desde el día 1 al día 5 de desarrollo embrionario. Esto indica que una menor concentración de oxígeno es crítica y beneficiosa especialmente durante los estadios de 8 células a blastocisto, coincidiendo con los estudios que demuestran menor concentración de oxígeno en el útero que en las trompas (9, 19).

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto en los embriones humanos de las elevadas (~20%) y reducidas (5%) concentraciones de oxígeno durante el cultivo embrionario de día 3 hasta la transferencia embrionaria. Se comparó el desarrollo embrionario, la calidad embrionaria y las tasas de embarazo e implantación obtenidas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron los datos de pacientes infértiles sometidas a tratamientos de FIV entre mayo de 2006 y noviembre de 2007. Se utilizó un protocolo común de cultivo hasta día 3 de desarrollo y un posterior protocolo de alternancia de dos mezclas de gas diferentes

durante los días 3-5 de cultivo embrionario. Los datos fueron analizados retrospectivamente como parte de un programa de garantía de calidad. El estudio fue aprobado por el Comité institucional de revisiones de la Universidad de UTA.

FIV

La estimulación ovárica se realizó utilizando el protocolo largo. Se combinaron estimulaciones con agonistas de la GnRH con FSH recombinante (rFSH; Follistim, Organon, Ravensburg, Germany; and Gonalf; Serono Inc., Rockland, MA) y gonadotropina urinaria (Repronex; Ferring Pharmaceuticals, Suffern, NY). La recuperación ovocitaria fue realizada aproximadamente 36 horas después de la administración de hCG mediante aspiración transvaginal guiada con ecografía. Antes de la inseminación, los ovocitos se incubaron durante 3 horas en el Medio de Fertilización Quinn (Quinn's Sage, Biopharma, Trumbull, CT) suplementado con 10% SPS (Quinn's Sage). Se utilizaron dos modelos de incubadores para el cultivo. Para cultivo a concentraciones de oxígeno atmosférico se utilizó un incubador modelo n° 3110 de Forma Científica (Evanston, IL). Para el cultivo a concentración de oxígeno al 5% se utilizó un incubador modelo n° 3130 de Thermo Electron Corporation (Marietta, OH).

En la preparación del semen se utilizó una centrifugación estándar de gradiente de densidad (Isolate; Irvine Scientific, Santa Ana, CA). En el lavado y resuspensión de las muestras de esperma se utilizó Medio de Fertilización Quinn suplementado con 10% SPS de Quinn.

Cuando los pacientes tenían una prueba de penetración de semen normal (SPA) se realizó una inseminación estándar para FIV con microgota (20). La inseminación estándar se realizó con 150,000-300,000 espermatozoides móviles progresivos por cada gota de 50 μ L. En los pacientes con oligozoospermia (<20 millones de espermatozoides/ml) o con un bajo valor SPA se realizó inyección intracitoplasmática de esperma (ICSI). Se valoró la fecundación a las 18-20 horas postinseminación, y los cigotos fueron colocados en un nuevo medio de cultivo. La mitad de ellos fueron cultivados en 100 μ L de un medio de cultivo de un solo paso (Global, LifeGlobal, Guelph, Ontario, Canada), y la otra mitad fueron cultivados en gotas de un medio secuencial (Quinn's Sage). Todos al 5% CO₂ equilibrado con aire ambiental (~20% O₂) en fase gaseosa hasta día 3.

En la mañana del día 3 de cultivo, los embriones fueron colocados en gotas frescas de medio de cultivo

(incluyendo los embriones cultivados en el medio de un solo paso). Todos los embriones de cada paciente fueron cultivados en concentración de oxígeno de ~20% o en concentración de oxígeno reducido (5%) hasta ET. Las pacientes fueron seleccionadas para los grupos de tratamiento por su número de identificación FIV (los ciclos numerados impares realizaron el cultivo con 5% de oxígeno).

Se incluyeron en el estudio los casos adecuados para una posible transferencia en día 5. Los criterios de inclusión fueron la presencia de, al menos, dos embriones de 6 células con moderada a poca fragmentación en día 3. Generalmente los dos embriones de mejor calidad morfológica fueron transferidos al finalizar el período de cultivo. Antes de la transferencia, todos los embriones transferidos fueron cultivados durante 1 hora en el Medio para Blastocitos de Quinn (Quinn's Sage) suplementado con 50% de SPS de Quinn. Se asignó puntuación a los embriones obtenidos. Las puntuaciones embrionarias en día 3 se calcularon a partir de los grados embrionarios y el número de blastómeras presentes. El grado embrionario fue determinado por la fragmentación celular y la morfología de las blastómeras, con un 0 para los mejores y un 3 para los peores (21). La puntuación de embriones en día 5 se calculó a partir del grado de desarrollo alcanzado por el embrión (blastocisto, blastocisto temprano, mórula cavitada y mórula) y también se consideró el nivel de fragmentación, la expansión del trofoectodermo y la morfología de la masa celular interna y trofoectodermo.

Se consideraron embarazos bioquímicos aquellos con una hCG >5 mIU/ml; los embarazos clínicos se confirmaron por la presencia de un saco gestacional con latido cardíaco positivo a la 6° semana después de la transferencia embrionaria. Las tasas de implantación se calcularon dividiendo el número de embriones con latido cardíaco entre el número de embriones transferidos y multiplicando por 100.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó el análisis estadístico mediante el software Stata 9.2 de estadística (StataCorp, College Station, TX). Las variables continuas fueron analizadas mediante la prueba de t de Estudiante; los datos de porcentaje fueron analizados usando χ^2 análisis. El análisis de dirección única de discrepancia con la corrección Bonferroni fue utilizado al comparar cuatro grupos diferentes. $P < .05$ se consideró estadísticamente significativo. Se realizó un cálculo de poder post-hoc.

RESULTADOS

Se realizaron un total de 542 procedimientos de FIV durante el período del estudio. Veintiséis casos fueron excluidos por razones misceláneas del estudio, incluyendo a 14 casos debido a manipulación embrionaria para diagnóstico genético preimplantacional y ocho casos por congelación embrionaria en estadio pronuclear por hiperestimulación ovárica. Ciento treinta y cuatro pacientes fueron también excluidas por realizar transferencia en día 3. Finalmente en el estudio se pudieron analizar 382 casos de transferencias en día 5: 189 casos en el grupo de 5% O₂ y 193 casos en el grupo de ~20% O₂ (Fig.1).

La demografía de los grupos del estudio se presenta en la Tabla 1. No se observaron diferencias en la edad media de las pacientes, tipo de infertilidad, número de ovocitos extraídos, número de ciclos previos de FIV, u otros factores relevantes (Tabla 1). Además, no se observaron diferencias en las tasas de fecundación (91.00% vs 91.68%) entre las pacientes. Ni la concentración de oxígeno ni el medio de cultivo tuvieron efecto en las tasas de división hasta día 3 ni en las puntuaciones obtenidas de los embriones. No se encontraron diferencias en las etapas de desarrollo (Tabla 2).

No encontramos ninguna diferencia en el desarrollo embrionario hasta día 5 entre ambos grupos (51.45% y 56.93% en Global y Quinn's Sage ~20% O₂; 55.21% y 55.74% en Global y Quinn's Sage al 5%, respectivamente). Sin embargo, el cultivo en medio Global resultó tener menor puntuación embrionaria comparado con las puntuaciones de aquellos cultivados en medio Quinn's Sage (3.78 ± 0.130 vs 4.28 ± 0.133 ; $P=.0079$) bajo ~20% de tensión de O₂. Se observó una tasa de blastulación más elevada en embriones cultivados en medio Global en 5% oxígeno que en aquellos cultivados en ~20% O₂ en el mismo medio (31.55% vs 25.68% en 5% y ~20% O₂ en medio Global; $P=.0019$). Hubo ocho casos en el grupo de 5% de O₂ sin transferencia y cinco casos sin transferencia en el grupo de ~20% O₂. El número de embriones transferidos (2.09 vs 2.10) y la puntuación embrionaria (15.17 vs 15.56) de los embriones transferidos no fue diferente entre los grupos de baja y alta concentración de oxígeno. El porcentaje de pacientes con embriones supernumerarios para criopreservación tampoco mostraron ninguna diferencia. De forma similar, las tasas de embarazos bioquímicos (71.27% y 78.72% en los grupos de 5% y ~20% O₂, respectivamente) y clínicos (58.56% y 64.36% en los grupos de 5% y ~20% O₂, respectivamente) no difirieron entre

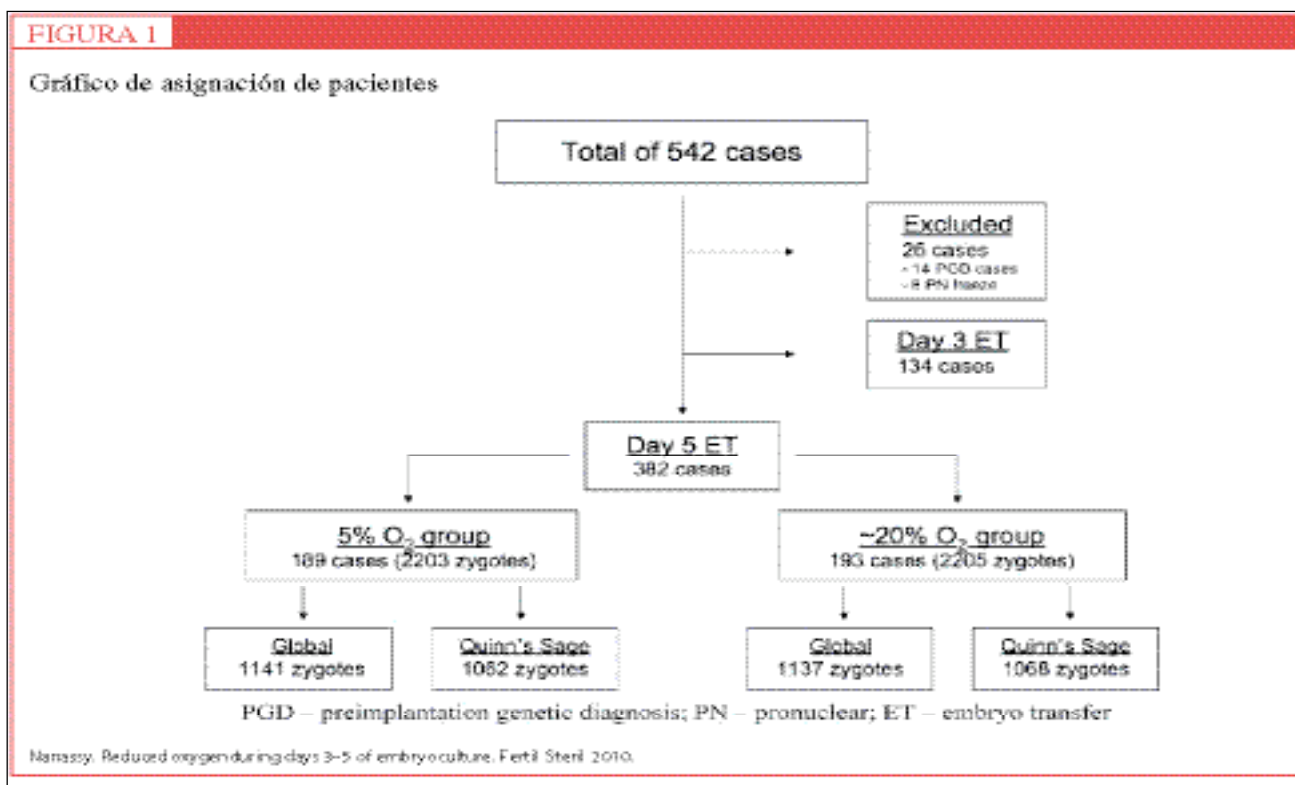


TABLA 1

Resumen de las características demográficas de los pacientes incluidos en el estudio

	Concentración de O ₂ al 5%	Concentración de ~20% O ₂	P
Nº de casos analizados	189	193	
Edad ± SEM ^a			
Femenino	32,65 ± 0,416	33,45 ± 0,433	.9092
Masculino	34,32 ± 0,431	34,96 ± 0,464	.8432
Tipo de infertilidad, n (%) ^b :			
Masculino	62 (32,80)	59 (30,57)	.7184
Tubérico	9 (4,76)	9 (4,66)	.8415
Endometriosis	16 (8,47)	15 (7,77)	1.0000
Idiopático	14 (7,41)	13 (6,74)	1.0000
Otros	88 (46,56)	97 (50,26)	.3078
Nº de ovocitos recuperados, N (x ± SEM) ^a :			
Total	2916 (15,43 ± 0,501)	2820 (14,61 ± 0,484)	.1206
Nº de ovocitos maduros	2421 (12,81 ± 0,452)	2405 (12,46 ± 0,445)	.2916
Nº de procedimientos de infertilidad, n (%) ^b :			
ICSI	120 (63,49)	122 (63,21)	1.0000
IVF	60 (31,75)	58 (30,05)	.8065
Casos de inseminaciones	9 (4,76)	13 (6,74)	.5430
Tasas de fecundación, n/N (%) ^b :			
ICSI	1412/1576 (89,59)	1374/1513 (90,81)	.2815
IVF	791/845 (93,61)	829/892 (92,94)	.6468
Total	2203/2421 (91,00)	2205/2405 (91,68)	.4237

^aTest T-Student

^bAnálisis χ^2

Manusc. Oxígeno reducido durante los días 3-5 de cultivo embrionario. Fertil Steril 2010

TABLA 2

Datos de desarrollo embrionario y embarazo de los grupos con concentraciones de oxígeno al 5% y ~20% cultivados en dos medios diferentes

	Concentración de O ₂ al 5% [Global, Quinn ^a]	Concentración de ~20% O ₂ [Global, Quinn ^a]
Tasa de división en día 3, n/N (%)	1952/2203 (88,61) [1014/1141 (88,87), 938/1062 (88,32)]	1968/2205 (89,25) [1018/1137 (89,53), 950/1068 (88,95)]
Día 3 ES, x ± SEM	4,56 ± 0,076 [4,62 ± 0,088, 4,52 ± 0,094]	4,53 ± 0,074 [4,32 ± 0,080, 4,55 ± 0,088]
Tasa de división en día 5, n/N (%)	1222/2203 (55,47) [630/1141 (55,21), 592/1062 (55,74)]	1193/2205 (54,10) [585/1137 (51,45), 608/1068 (56,93)]
Día 5 ES, x ± SEM	4,13 ± 0,111 [4,03 ± 0,144, 4,31 ± 0,148]	4,07 ± 0,104 [3,78 ± 0,130, ^a 4,28 ± 0,133]
Tasa de blastulación, n/N (%)	671/2203 (30,46) [360/1141 ^b (31,55), 311/1062 (29,28)]	616/2205 (27,94) [292/1137 (25,68), 324/1068 (30,34)]
% de pacientes con embriones congelados, n/N (%)	108/189 (57,14)	103/193 (53,48)
Nº de embriones transferidos n ± SEM	2,09 ± 0,026	2,10 ± 0,024
Puntuación de transferencia, x ± SEM	15,17 ± 0,469	15,56 ± 0,214
Tasa de embarazo bioquímico, n/N (%)	129/181 (71,27)	148/188 (78,72)
Tasa de embarazo clínico, n/N (%)	106/181 (58,56)	121/188 (64,36)
Tasa de implantación, n/N (%)	167/379 (44,06)	174/394 (44,16)

^aDiferencia significativa del medio Quinn en el grupo de oxígeno ~20%; P = .0019

^bDiferencia significativa del medio Global en el grupo de oxígeno ~20%; P = .0019

Manusc. Oxígeno reducido durante los días 3-5 de cultivo embrionario. Fertil Steril 2010

los dos grupos cultivados a diferentes concentraciones de oxígeno de día 3 hasta la transferencia embrionaria. Las tasas de implantación (44.06% y 44.16% en los grupos de 5% y ~20% O₂, respectivamente) también fueron similares (Tabla 2).

DISCUSION

Las concentraciones de oxígeno en el aparato reproductor femenino oscilan entre 2% y 8%. Además, la concentración de oxígeno es menor en el útero que en las trompas en los hamsters, conejos y monos rhesus. Así, los blastocitos in vivo y los embriones en estadio de implantación están expuestos a menor concentración de oxígeno que en estadio de división embrionaria (9). Un estudio previo reveló que reducir las concentraciones de oxígeno, durante los días 3-5 de cultivo in Vitro era más beneficioso que el cultivo continuo a 20% de oxígeno y, de forma similar, que el cultivo a 5% de oxígeno a lo largo de los días 1-5 de desarrollo (19). En este estudio, se evaluó el impacto de las concentraciones de oxígeno reducidas en la mezcla de gas utilizada para los cultivos embrionarios humanos durante los días 3-5, no encontrando efecto beneficioso alguno del oxígeno reducido en la calidad embrionaria, desarrollo embrionario, tasas de embarazo o tasas de implantación cuando se inició a partir del estadio de desarrollo temprano de división (día 3).

Los embriones in vivo nunca están expuestos a concentraciones ~20% O₂, que incrementarían el riesgo de formación de especies de oxígeno reactivo (ROS) (9). Los ROS incluyen los radicales aniones superóxido (O₂⁻), peróxido de hidrógeno (H₂O₂), y los radicales hidroxilos (OH⁻) formados durante la reducción de oxígeno correspondiente a la reducción de uno, dos y tres electrones, respectivamente (11). Los radicales superóxido son usualmente eliminados por la superóxido dismutasa, resultante de la formación de peróxido de hidrógeno, el cual es degradado por las catalasas y peroxidadas (Ej: glutatión peroxidasa). Los superóxido y peróxido de hidrogeno no son muy perjudiciales: sin embargo, los H₂O₂ no eliminados pueden formar agentes oxidantes altamente tóxicos, radicales hidroxilos en la presencia de metales, como el hierro y el cobre. Los ROS elevados pueden producir daños en el DNA, alteraciones en las mitocondrias, peroxidación lipídica, o modificaciones en las proteínas (10, 11, 17).

Es evidente que la concentración de oxígeno elevada puede alterar el desarrollo potencial de los embriones (22). El efecto perjudicial de las altas concentraciones de oxígeno ha sido demostrado en estudios

con animales. En el ratón, no se encontraron diferencias en las tasas de desarrollo de estadios de mórula y blastocisto ni en la morfología embrionaria bajo concentraciones de oxígeno bajas o elevadas. Sin embargo, se ha encontrado una reducción significativa en el número de células de la masa celular interna y masa celular interna/total de células a altas concentraciones de O₂, y un aumento significativo de fetos por blastocistos transferidos a concentraciones reducidas de oxígeno (2).

Estos resultados se confirmaron en un estudio posterior de Rinaudo et al. Evaluó perfiles de expresión génica además de los datos de desarrollo embrionario (3). Encontraron que el empleo de un 5% de O₂ supuso mejor desarrollo a blastocisto y también dio lugar a un número mayor de células de la masa celular interna. Los perfiles de expresión génica de embriones que se desarrollaron a baja concentración de oxígeno se aproximaban a aquellos perfiles de embriones desarrollados in vivo y cultivados a concentración de oxígeno del 20% (3). Recientemente, un estudio de análisis de espectrometría de masas reveló un proteoma variable en embriones de ratones dependientes de concentraciones de oxígeno durante el cultivo. El cultivo embrionario a bajas concentraciones de O₂ resultó en un perfil proteómico similar a aquel de embriones in vivo y diferente de aquellos cultivados bajo oxígeno al 20% (23). Por otra parte, un estudio en ganado mostró un estrés oxidativo y respuesta al estrés de transcripción de los patrones de expresión génica de embriones cultivados a baja concentración de oxígeno similar a lo observado en los embriones in vivo, en contraste a lo encontrado en los embriones cultivados a altas concentraciones de oxígeno (6). Estos estudios indican posibles mecanismos en los cuales las concentraciones de oxígeno pueden afectar a la calidad embrionaria e indican las áreas potenciales que conciernen a los descendientes de FIV. Nuestro estudio no incluyó expresión génica, ni potencial de variabilidad epigenética, u otras variables posibles en los descendientes, a pesar de la elevada tasa de embarazo en el grupo cultivado bajo concentración elevada de oxígeno.

Actualmente no existe uniformidad acerca de la concentración de oxígeno utilizada en los sistemas de cultivo de embriones humanos. Los estudios que evalúan los efectos de las diferentes concentraciones de oxígeno son controvertidos. No se ha publicado aumento de las tasas de embarazo después de la transferencia en día 2 (12), tampoco en las tasas de embarazo al evaluar diferentes tensiones de oxígeno por Higdon et al., aunque en ese estudio no se informaba del día de transferencia (24). Dumoulin et al. no en-

contraron diferencias en el desarrollo embrionario y la tasa de embarazo cuando los embriones se cultivaron a diferentes concentraciones de oxígeno; sin embargo, cuando los embriones sobrantes del ciclo fueron posteriormente cultivados, se encontró una mayor tasa de formación de blastocistos y mayor número de células por blastocisto en el grupo de embriones cultivados a concentraciones de oxígeno reducido (13). Bahaceci et al. observó mayor puntuación en embriones de día 3 en el grupo cultivado a 5% de O₂ que en el grupo cultivado a nivel de O₂ atmosférico, sin embargo los resultados clínicos fueron similares después la transferencia embrionaria y similares a los resultados publicados por Kea et al. (25). Meintjes et al. no encontraron diferencias en las tasas de embarazo e implantación pero sí un mayor número de embriones supernumerarios que alcanzaron el estadio de blastocisto a un 5% O₂ (26). También se han publicado tasas mas elevadas de embarazo e implantación (17).

Kim et al. publicaron mayores tasas de desarrollo y embarazo cuando los embriones fueron cultivados a concentraciones de oxígeno de 5% durante todo el período de cultivo o solo desde día 3, que cuando se utilizó O₂ al 20% durante los 5 días de cultivo (19). Waldesntrom et al. publicó un mayor desarrollo embrionario y un 10% más de tasas de parto después de transferir blastocitos cultivados, durante todo el período de cultivo, bajo concentración de oxígeno reducida (18). Un reciente estudio de Kovacic et al. mostró que una concentración reducida de oxígeno daba lugar a una tasa de blastulación mayor, pero no hubo aumento en las tasas de embarazo e implantación (16). Estos estudios muestran una gran disparidad de opiniones al respecto.

La interpretación de estos estudios es realmente difícil debido a la variabilidad de los resultados. Esto puede estar explicado por el uso de diferentes medios de cultivo, diferentes condiciones de cultivo (Ej.: el uso de microgotas cubiertas por aceite), diferentes estadios de desarrollo en la transferencia, un inadecuado tamaño de muestra u otras deficiencias de diseño (Tabla 3). Se debería considerar las diferencias existentes ,en cuanto a tasas de embarazo, entre los diferentes programas a la hora de evaluar el peso estadístico de estos estudios. Se necesitan más estudios prospectivos y randomizados para establecer un efecto claro de las concentraciones de oxígeno en el cultivo preimplantacional de embriones humanos. Sin embargo, este estudio muestra claramente que el cultivo

de embriones humanos, bajo una concentración de oxígeno reducido, entre los días 3-5 no aumenta la morfología embrionaria, tasa de implantación o tasas de embarazo cuando la tasa de embarazo del laboratorio ya de por sí es elevada. Una cuestión de interés sería si las tasas de embarazo al transferir un único embrión (SET) aumentan al cultivar a bajas concentraciones de oxígeno. Nuestros datos actuales indican que no hay diferencia en la morfología embrionaria o en las tasa de implantación, sin embargo es posible que un estudio con mayor poder estadístico o un estudio con una menor tasa de embarazo de base como es la esperada con SET pueda detectar diferencias en las tasas de embarazo.

Este estudio se centra en la morfología embrionaria y en el potencial de implantación, sin embargo, es importante para estudios futuros el considerar otros efectos potenciales, como cambios en la expresión génica o diferencias epigenéticas causadas por la concentración de oxígeno (27). Se ha publicado la pérdida de imprinting del gen H19 en embriones de ratones cultivados en medio de Whitten, mientras que utilizando el medio KSOM+AA sólo se han encontrado niveles reducidos de expresión paterna (28). En otro estudio, el suplemento sérico de medio de cultivo afectaba la expresión de genes con imprinting. Ratones expuestos a suero presentaban un peso superior de hígado y corazón a los 20 meses de edad y también mostraban un comportamiento anormal y deficiencias en la memoria implícita (29). Estos estudios nos muestran la importancia de considerar estos factores en futuros estudios.

En resumen, cuando las tasas de control son óptimas, el cultivo de embriones humanos a 5% de concentración de oxígeno durante los días 3-5 de desarrollo no mejora las tasas de implantación, embarazo o de blastulación. Esto se podría deber a alguna de estas tres posibilidades, 1º: se necesita un estudio con poder estadístico elevado para detectar una diferencia, 2º: es posible no obtener ventajas del cultivo a baja concentración de oxígeno, 3º: el cultivo de embriones a baja concentración de oxígeno, durante los días 3-5, ya no puede superar los efectos negativos inducidos durante los días 1-2 de cultivo bajo concentración de oxígeno atmosférico.

Actualmente se siguen realizando estudios que logren responder a estos interrogantes.

TABLA 3

Estudios que evalúan el efecto de concentraciones de oxígeno en embriones humanos preimplantatorios

Concentración de O ₂	N	Medio	ET	DR	PR	IR	LB	MES	Cell no.
Durmoulin et al. 1995 (12) (no difference in DR, PR, or IR between 5% and ~20% O ₂ groups)									
~20%	129	HTF	Day 2	70.1 ^{a*}	19.4	8.8	—	—	—
5%	128			67.8 ^{a*}	24.2	11.7	—	—	—
Durmoulin et al. 1999 (13) (higher number of cells per surplus blastocyst at days 5 and 6 in 5% O ₂ group)									
~20%	690	HTF	Day 2, 3	45 ^b , 36 ^c	25.5	14.0	—	—	—
5%	690			49 ^b , 42 ^c	26.7	13.4	—	—	—
~20%	1006 ^d		—	23.0 ^{e*}	—	—	—	—	31.9 ^f , 33.7 ^g
5%	1034 ^d		—	30.0 ^{e,u}	—	—	—	—	39.2 ^{f,v} , 45.6 ^{g,u}
Gardner et al. 1999 (25) (higher number of cells at days 3 and 5 in 5% O ₂ culturing frozen/thawed embryos)									
~20%	59	G1.2, 2.2	—	27 ^{a*}	—	—	—	—	5.3 ^c , 34.5 ^f
5%				31 ^{a*}	—	—	—	—	6.7 ^{c,v} , 51.3 ^{f,u}
Meintjes et al. 2000 (26) (higher number of supernumerary embryos for cryopreservation)									
~20%	65	Not reported	Day 2, 3, 5	—	40	30	—	—	—
5%	65			—	51	37	—	—	—
Catt and Herrman 2000 (17) (higher PR and IR in 5% O ₂ group)									
~20%	128	HTF	Day 5	74 ^b	19	10	—	—	—
5%	133			75 ^b	32 ^v	14 ^v	—	—	—
Kinn et al. 2005 (19) (higher DR and PR in the low and the reduced O ₂ groups)									
~20%	59	Not reported	Day 5	61.9	45.8	—	—	—	—
~20%-5%	63			70.5 ^v	52.4 ^v	—	—	—	—
5%	57			76.0 ^v	54.4 ^v	—	—	—	—
Bahceci et al. 2005 (14) (higher MES at day 3 in 5% O ₂ group, but no difference in PR and IR in ICSI cases)									
~20%	375	G 1.3	Day 2, 3	64.5	48.3	25.5	—	20.8 ^c , 56.4 ^d	—
5%	337			70.3	51.0	27.5	—	20.1 ^c , 62.5 ^{d,u}	—
Kear et al. 2007 (15) (higher MES at day 3 in 5% O ₂ group, but no difference in DR and PR)									
~20%	45 ^c , 12 ^f	Sage	Day 3, 5	—	31 ^c , 33 ^f	—	—	17.4 ^c , 21.3 ^f	—
5%	39 ^c , 10 ^f			—	28 ^c , 70 ^f	—	—	21.0 ^{c,v} , 22.6 ^f	—
Higdon et al. 2008 (24) (PR did not differ between groups)									
~20%	158	HTF	Not reported	—	48 ^l , 51 ^l	—	—	—	—
5%	55			—	51 ^l , 51 ^l	—	—	—	—
Walderstrom et al. 2008 (18) (higher LB in 5% O ₂ group)									
~20%	197	Blast assist	Day 5	42.1	38.7	—	32	—	—
5%	199			47.8 ^v	56.9 ^v	—	42 ^v	—	—
Kovacic and Marandjevic 2008 (16) (higher blastulation rate but no improvement in PR and IR)									
~20%	397 ^k , 462 ^{lk}	Blast assist	Day 5	63.1 ^l , 54.7 ^l	37.5 ^l , 42.9 ^l	34.8 ^l , 37.5 ^l	—	4.42 ^l , 4.19 ^l	—
5%	388 ^k , 462 ^{lk}			73.2 ^{lv} , 67.4 ^{lv}	68.4 ^l , 50.0 ^l	58.6 ^l , 40.0 ^l	—	3.38 ^{lv} , 4.04 ^l	—

Nota: N= número de pacientes; DR= tasa de desarrollo; PR= tasa de embarazo; IR= tasa de implantación; LB= tasa de recién nacidos; MES= puntuación media de embriones; HTF= fluido tribiario humano.

*Porcentaje de cigotos con 2 PN

^a Datos de día 2

^c Datos de día 3

^d Nº de embriones sobrantes

^e Tasa de blastocistos

^f Datos de día 5

^g Datos de día 6

^h Porcentaje de embriones transferidos o criopreservados

^l Casos de IVF

^j Casos de ICSI

^k Nº de ovocitos

^u Significativamente mayor

Manusc. Oxígeno reducida durante los días 3-5 de cultivo embrionario: Fertil April 2010

BIBLIOGRAFÍA

1. **Eppig JJ, Wigglesworth K.:** Factors affecting the developmental competence of mouse oocytes grown in vitro: oxygen concentration. *Mol Reprod Dev* 1995; 42:447-56.
2. **Karagenc L, Sertkaya Z, Ciray N, Ulug U, Bahceci M.:** Impact of oxygen concentration on embryonic development of mouse zygotes. *Reprod Biomed Online* 2004;9:409-17.
3. **Rinaudo PF, Giritharan G, Talbi S, Dobson AT, Schultz RM.:** Effects of oxygen tension on gene expression in preimplantation mouse embryos. *Fertil Steril* 2006;86(Suppl 4):1252-65, 65e1-e36.
4. **Fukui Y, McGowan LT, James RW, Pugh PA, Tervit HR.:** Factors affecting the in-vitro development to blastocysts of bovine oocytes matured and fertilized in vitro. *J Reprod Fertil* 1991;92:125-31.
5. **Van Soom A, Yuan YQ, Peelman LJ, de Matos DG, Dewulf J, Laevens H, et al.:** Prevalence of apoptosis and inner cell allocation in bovine embryos cultured under different oxygen tensions with or without cysteine addition. *Theriogenology* 2002;57:1453-65.
6. **Balasubramanian S, Son WJ, Kumar BM, Ock SA, Yoo JG, Im GS, et al.:** Expression pattern of oxygen and stress-responsive gene transcripts at various developmental stages of in vitro and in vivo preimplantation bovine embryos. *Theriogenology* 2007;68:265-75.
7. **Kitagawa Y, Suzuki K, Yoneda A, Watanabe T.:** Effects of oxygen concentration and antioxidants on the in vitro developmental ability, production of reactive oxygen species (ROS), and DNA fragmentation in porcine embryos. *Theriogenology* 2004;62:1186-97.
8. **Booth PJ, Holm P, Callesen H.:** The effect of oxygen tension on porcine embryonic development is dependent on embryo type. *Theriogenology* 2005;63:2040-52.
9. **Fischer B, Bavister BD.:** Oxygen tension in the oviduct and uterus of rhesus monkeys, hamsters and rabbits. *J Reprod Fertil* 1993;99:673-9.
10. **Johnson MH, Nasr-Esfahani MH.:** Radical solutions and cultural problems: could free oxygen radicals be responsible for the impaired development of preimplantation mammalian embryos in vitro? *Bioessays* 1994;16:31-8.
11. **Guerin P, El Mouatassim S, Menezo Y.:** Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings. *Hum Reprod Update* 2001;7:175-89.
12. **Dumoulin JC, Vanvuchelen RC, Land JA, Pieters MH, Geraedts JP, Evers JL.:** Effect of oxygen concentration on in vitro fertilization and embryo culture in the human and the mouse. *Fertil Steril* 1995;63: 115-9.
13. **Dumoulin JC, Meijers CJ, Bras M, Coonen E, Geraedts JP, Evers JL.:** Effect of oxygen concentration on human in-vitro fertilization and embryo culture. *Hum Reprod* 1999;14:465-9.
14. **Bahceci M, Ciray HN, Karagenc L, Ulug U, Bener F.:** Effect of oxygen concentration during the incubation of embryos of women undergoing ICSI and embryo transfer: a prospective randomized study. *Reprod Biomed Online* 2005;11:438-43.
15. **Kea B, Gebhardt J, Watt J, Westphal LM, Lathi RB, Milki AA, et al.:** Effect of reduced oxygen concentrations on the outcome of in Vitro fertilization. *Fertil Steril* 2007;87:213-6.
16. **Kovacic B, Vlasisavljevic V.:** Influence of atmospheric versus reduced oxygen concentration on development of human blastocysts in vitro: a prospective study on sibling oocytes. *Reprod Biomed Online* 2008;17:229-36.
17. **Catt JW, Henman M.:** Toxic effects of oxygen on human embryo development. *Hum Reprod* 2000;15 (Suppl 2):199-206.
18. **Waldenstrom U, Engstrom AB, Hellberg D, Nilsson S.:** Low-oxygen compared with high-oxygen atmosphere in blastocyst culture, a prospective randomized study. *Fertil Steril* Published online June 11, 2008 [Epub ahead of print].
19. **Kim S, Kwon H, Kim E, Kim J, Choi D, Cha K.:** The comparison of embryo developments and pregnancy rates in human in vitro culture conditions at different gas phase. *Fertil Steril* 2005;84(Suppl 1):S16.
20. **Freeman MR, Archibong AE, Mrotek JJ, Whitworth CM, Weitzman GA, Hill GA.:** Male partner screening before in vitro fertilization: preselecting patients who require intracytoplasmic sperm injection with the sperm penetration assay. *Fertil Steril* 2001;76:1113-8.
21. **Aoki VW, Wilcox AL, Peterson CM, Parker-Jones K, Hatasaka HH, Gibson M, et al.:** Comparison of four media types during 3-day human IVF embryo culture. *Reprod Biomed Online* 2005;10:600-6.
22. **Bavister B.:** Oxygen concentration and preimplantation development. *Reprod Biomed Online* 2004; 9:484-6.
23. **Katz-Jaffe MG, Linck DW, Schoolcraft WB, Gardner DK.:** A proteomic analysis of mammalian preimplantation embryonic development. *Reproduction* 2005;130:899-905.
24. **Higdon HL 3rd, Blackhurst DW, Boone WR.:** Incubator management in an assisted reproductive technology laboratory. *Fertil Steril* 2008;89:703-10.
25. **Gardner D, Lane M, Johnson J, Wagley L, Stevens J, Schoolcraft W.:** Reduced oxygen tension increases blastocyst development, differentiation, and viability. *Fertil Steril* 1999;72 (Suppl 1):S30-1.
26. **Meintjes M, Hill K, Johnston T, Waugh A,**

- Rodriguez A, Madden J.:** The effect of lowered incubator oxygen tension on implantation-, pregnancy-, and cryopreservation rates in a predominantly day-5 embryo transfer program. *Fertil Steril* 2000;74:P-511.
27. **Loneragan P, Fair T, Corcoran D, Evans AC.:** Effect of culture environment on gene expression and developmental characteristics in IVF-derived embryos. *Theriogenology* 2006; 65:137-52.
28. **Doherty AS, Mann MR, Tremblay KD, Bartolomei MS, Schultz RM.:** Differential effects of culture on imprinted H19 expression in the preimplantation mouse embryo. *Biol Reprod* 2000; 62:1526-35.
29. **Fernandez-Gonzalez R, Moreira P, Bilbao A, Jimenez A, Perez-Crespo M, Ramirez MA, et al.:** Long-term effect of in vitro culture of mouse embryos with serum on mRNA expression of imprinting genes, development, and behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:5880-5.

La obesidad en las mujeres afecta los resultados de fertilización in Vitro pero no la calidad embrionaria

Female obesity impairs in vitro fertilization outcome without affecting embryo quality

José Bellver M.D., Yanira Ayllón M.D., Marcos Ferrando M.D., Marco Melo M.D.,
Eduardo Goyri M.D., Antonio Pellicer M.D., José Remohí M.D., Marcos Meseguer Ph.D.

Instituto Valenciano de Infertilidad, University of Valencia, Valencia, Spain

Resumen

Objetivo: Comparar la calidad embrionaria y los resultados en los programas de FIV en relación al índice de masa corporal de las mujeres

Diseño: Estudio retrospectivo

Lugar: Universidad en asociación con clínica de infertilidad, entre Enero de 2001 y Abril de 2007

Paciente(s): Mujeres que realizaron un total de 6500 ciclos de FIV e inyección intracitoplasmática (ICSI).

Intervención(es): Seis mil quinientas mujeres en ciclos de FIV-ICSI fueron incluidas y divididas en cuatro grupos: delgadas (<20 kg/m²; n = 1,070; 16.5%); normal (20-24.9 kg/m²; n = 3,930; 60.5%); sobrepeso (25-29.9 kg/m²; n = 1,081; 16.6%); y obesas (≥30 kg/m²; n = 419; 6.4%).

Principales resultado(s) medido(s): Comparación de la calidad embrionaria y resultados (tasas de implantación, embarazos, abortos, nacimientos) entre los grupos según el IMC.

Resultado(s): No se encontró diferencia en el procedimiento de inseminación, tasa de fecundación, día de TE, media del número de embriones transferidos y congelados, porcentaje de blastocitos transferidos, o calidad embrionaria en día 2 o 3, entre ambos grupos. Sin embargo, las tasas de implantación, embarazo y nacimiento fueron más bajas en mujeres obesas. De hecho, las tasas de embarazo y nacimiento se redujeron con cada unidad de IMC (kilogramos por metro cuadrado) con un odd ratio significativo de 0.984 (95% de intervalo de confianza 0.972-0.997) y 0.981 (95% intervalo de confianza 0.967-0.995), respectivamente. Además, la tasa acumulativa de embarazo después de cuatro ciclos de FIV se redujo a medida que el IMC se incrementaba.

Conclusión(es): La obesidad en las mujeres afecta los resultados de FIV pero no la calidad embrionaria, señalando una alteración en el ambiente uterino. (Fertil Steril® 2010; 93:447-54. (©)2010 by American Society for Reproductive Medicine.)

Palabras clave: Obesidad. Resultados de FIV. Calidad embrionaria. Implantación. Embarazo. Nacimiento.

Summary

Objective: *To compare embryo quality and reproductive outcome in our IVF program according to the women's body mass index (BMI).*

Design: *Retrospective study.*

Setting: *University-affiliated infertility clinic, between January 2001 and April 2007.*

Patient(s): *Women undergoing a total of 6,500 IVF-intracytoplasmic sperm injection (ICSI) cycles.*

Intervention(s): *Six thousand five hundred IVF-ICSI cycles were included and divided into four groups: lean (<20 kg/m²; n 1/4 1,070; 16.5%); normal (20-24.9 kg/m²; n 1/4 3,930; 60.5%); overweight (25-29.9 kg/m²; n 1/4 1,081; 16.6%); and obese (≥30 kg/m²; n 1/4 419; 6.4%).*

Main Outcome Measure(s): *Comparison of embryo quality and reproductive outcome (implantation, pregnancy, miscarriage, and live birth rates) among BMI groups.*

Result(s): *No difference in insemination procedure, fertilization rate, day of ET, mean number of transferred and cryopreserved embryos, percentage of blastocyst transfers, or embryo quality on day 2 and 3 was found among groups. However, implantation, pregnancy, and live birth rates were poorer in obese women. In fact, pregnancy and live birth rates were reduced progressively with each unit of BMI (kilograms per square meter) with a significant odds ratio of 0.984 (95% confidence interval 0.972-0.997) and 0.981 (95% confidence interval 0.967-0.995), respectively. In addition, the cumulative pregnancy rate after four IVF cycles was reduced as BMI increased.*

Conclusion(s): *Female obesity impairs IVF outcome, but embryo quality is not affected, pointing to an alteration in the uterine environment. (Fertil Steril! 2010;93:447-54. "2010 by American Society for Reproductive Medicine).*

Key words: Obesity. IVF outcome. Embryo quality. Implantation. Pregnancy. Live birth.

El aumento de la prevalencia de obesidad en los países desarrollados es el resultado de una combinación de factores: ejercicio reducido, cambios en la composición de la dieta, incremento en la ingesta calórica (1). En Estados Unidos y en la mayoría de los países europeos, el 60% de las mujeres tienen sobrepeso (25 kg/m²), incluyendo 30% que son obesas (30 kg/m²) y 6% presentan obesidad mórbida (35 kg/m²), según los criterios de la Organización Mundial de la Salud (1-3). La prevalencia de bajo peso es de aproximadamente 5% a 6%, y por lo tanto, cerca del 35% de las mujeres podrían ser consideradas de peso normal. La obesidad afecta a la población general y de mayor edad pero también a mujeres jóvenes quienes intentan o logran el embarazo. En un estudio reciente desarrollado en Gran Bretaña (4) con 36,821 mujeres jóvenes de 24 a 28 años de edad media en 2004, la prevalencia de obesidad fue del 9.9% en 1990 y 16% y se estimó que será del 22% en el 2010. Por lo que, la obesidad está aumentando en mujeres en edad reproductiva, candidatas para técnicas de reproducción asistida. Las mujeres obesas tienen casi tres veces más probabilidades de riesgo de infertilidad que las no obesas (5) y de no lograr el embarazo tanto en ciclos naturales como asistidos (6,7). La mayoría de los reportes muestran tasas de nacimiento más bajas en pacientes obesas que en no

obesas, particularmente cuando este parámetro es calculado por ciclo iniciado de FIV-ICSI. (8-10). La probabilidad más baja de dar a luz un recién nacido sano parece ser el resultado de una combinación entre las tasas de implantación y embarazo más bajas (PRs), las tasas de abortos bioquímicos y clínicos (8, 9, 11-13) y de las mayores complicaciones en el segundo y tercer trimestre del embarazo.

La mayoría de las complicaciones en el segundo y tercer trimestre del embarazo son debidas a las manifestaciones del síndrome metabólico de la obesidad. Sin embargo, lo que ocurre entre la concepción y el final del tercer trimestre parece ser el resultado de un diálogo anormal entre el ovocito (y, el embrión resultante) y el endometrio.

Mirando el complejo ovocito-embrión, muchos reportes han mostrado una baja respuesta a la estimulación ovárica controlada en mujeres obesas en tratamientos de FIV (7, 9, 14, 15) y una afectación significativa en el ovocito y la calidad embrionaria incluyendo menor número de ovocitos recuperados (7, 8, 13, 15), menor número de ovocitos maduros (16), peor calidad ovocitaria con tasas de fecundación más bajas (17, 18), peor calidad embrionaria (19), menor incidencia de TE, y menor número de embriones transferidos (9, 16, 19). Sin embargo, otros autores no han encontrado diferencias en esos parámetros con

respecto al IMC (20-23). Es por eso que hay falta de consenso con respecto al supuesto daño del ovocito y el embrión en las mujeres obesas en tratamiento de FIV y el grado de alteración que supone.

El endometrio también podría estar afectado por la obesidad (24). El mejor modelo humano para analizar ambos componentes (embrión y endometrio) es el modelo de donación de óvulos, en los que ovocitos de donantes sanas, jóvenes, no obesas son dados a receptoras con diferentes IMC y estudiar sus resultados. Recientemente se evaluó una muestra enorme de receptoras de óvulos donados sin factores de riesgo de aborto que realizaban su primer ciclo (N = 2,656) (25). Los embarazos en curso por ciclo iniciado fueron significativamente menores en mujeres obesas que en delgadas y controles normales, indicando que el endometrio, o su ambiente juega un rol importante en los resultados más pobres de las mujeres obesas. El objetivo del presente estudio es evaluar el efecto del IMC de las mujeres en la calidad embrionaria en los resultados a través de un análisis retrospectivo en nuestro programa de FIV.

MATERIAL Y MÉTODOS

Población estudiada

En forma retrospectiva consideramos todos los ciclos de FIV llevados a cabo en nuestra institución entre el 1 de Enero de 2001 y el 1 de Abril de 2007, en los cuales el IMC de las pacientes fue registrado al inicio del ciclo de estimulación. Un total de 6500 ciclos de FIV fueron elegidos para el estudio. Para comparar la calidad embrionaria como las tasas de implantación, embarazo, aborto y nacimiento en relación al IMC, (calculado como peso/altura²), estos ciclos fueron divididos en cuatro grupos: delgadas con < 20 kg/m² (n = 1,070; 16,5%), normal con 20 a 24,9 kg/m² (n = 3,930; 60,5%), sobrepeso con 25 a 29,9 kg/m² (n = 1,081; 16,6%), y obesas con ≥ 30 kg/m² (n = 419; 6,4%). Se registraron factores potenciales de confusión, como edad, etiología de infertilidad, hábito de fumar, número de ciclos de FIV, protocolos de estimulación ovárica, características del semen y tipo de fertilización (FIV o ICSI).

Protocolos de estimulación ovárica

Se utilizaron dos protocolos de estimulación ovárica controlada (EOC) en las pacientes: protocolo largo con agonistas y corto con antagonistas. Solo 2,2%

de nuestras pacientes fueron estimuladas con otras drogas.

En el protocolo largo con agonistas la inhibición hipofisaria se realizó con la administración diaria de 1mg de acetato de leuprolide (Procrin; Abbott S.A., Madrid, España) comenzando en la mitad de la fase lútea del ciclo menstrual previo. Esta dosis se continuó hasta que el reposo ovárico fue confirmado por un control ecográfico durante la siguiente menstruación, en ese momento la dosis del agonista de la GnRH fue reducido a la mitad y mantenido hasta la administración de la hCG. En el protocolo corto, las pacientes recibieron antes anticonceptivos orales (3mg de drospirenona más 0,03 mg de E₂ (Yasmin; Schering, Madrid, España) durante el ciclo previo al procedimiento de FIV-ICSI programado. La estimulación ovárica comenzó 5 días después de haber discontinuado la píldora. Se administró una dosis diaria de 0,25 mg de antagonista de la GnRH (Cetrotide; Serono Laboratories, Madrid, España) comenzando el día 6 de la estimulación.

En ambos protocolos, FSH recombinante (Gonal-F; Serono; o Puregon; Organon, Barcelona, España) fue administrada con o sin gonadotropina menopáusica humana altamente purificada (Menopur; Ferring, Madrid, España) o LH recombinante (Luveris; Serono). En día 1 o 2 de la estimulación ovárica, las dosis variaron de 150 a 300 U/día dependiendo de la edad de la paciente, el recuento de folículos antrales, ciclos menstruales, hormonas basales, y respuesta a estimulaciones ováricas previas (cuando se realizaron). A partir del día 3 de la estimulación, las dosis de gonadotropinas fueron ajustadas según los niveles séricos de E₂ y de la respuesta ovárica, evaluada por ecografía vaginal cada 2 días. La gonadotropina coriónica humana (Ovitrelle; Serono) fue administrada por vía SC cuando al menos dos folículos alcanzaron un diámetro medio ≥ 18mm. La administración diaria de gonadotropinas y de agonistas de GnRH terminó el día de la administración de la hCG, pero los antagonistas de GnRH se administraron ese día inclusive. La punción folicular fue programada 36 horas más tarde.

La transferencia embrionaria se realizó 2 o 3 o 5 a 6 días después de la punción. En nuestro programa, 400mg/día de progesterona micronizada vía vaginal (Progeffik; Laboratorios Effik S.A., Madrid, España, or Utrogestan, SEID S.A., Barcelona, España) fue administrada desde el día de la fecundación (día +1) y continuó hasta que al menos se conoció el resultado del test de embarazo.

Seguimiento

Se analizaron un total de 81,581 ovocitos. La fecundación fue evaluada 18 horas después y el clivaje embrionario 24 horas después. La morfología embrionaria fue estudiada en día 2 y 3 (48-72 horas) tomando en cuenta el número de células y el porcentaje de fragmentación. Obviamente estos parámetros embrionarios fueron calculados como un promedio de la cohorte embrionaria por paciente incluyendo también la tasa de fecundación y embriones transferidos y congelados (26).

El test de embarazo de β -hCG cuantitativo se realizó catorce a dieciséis días después de la recuperación ovocitaria, y se consideró positivo con un resultado de >10 UI/L. Con una β -hCG positiva, un segundo test de β -hCG y una ecografía transvaginal se realizó 1 semana más tarde (21-23 días después de la punción). La ecografía se repitió semanalmente hasta la detección del latido cardíaco embrionario y después mensualmente. Se continuó con la P micronizada con la misma dosis hasta el día 80 del embarazo.

Las tasas de embarazo e implantación se consideraron por ET. El embarazo bioquímico (pérdida temprana del embarazo) fue diagnosticado cuando un test de embarazo positivo se hace negativo antes de la detección ecográfica del saco embrionario en la semana cinco de embarazo o más tarde. El aborto fue definido cuando no se alcanzó la semana 22 de gestación después de la detección de un saco gestacional.

Por ecografía. El nacimiento fue considerado cuando el feto nació vivo más allá de la semana 22 de gestación.

Estadística

Se utilizó el test de chi-cuadrado seguido de la corrección de Bonferroni (multiplicando el p valor por el número de comparaciones realizadas) para comparar las tasas clínicas (variables binarias) realizadas entre grupos según el IMC (<20 kg/m², 20-24,9 kg/m², 25-29,9 kg/m², = 30 kg/m²). Las tasas acumulativas de embarazo en cuatro ciclos fueron comparadas con el análisis de supervivencia de Kaplan-Meier, seguido del Log-rank, los tests de Breslow y Tarone-Ware se utilizaron para evaluar la igualdad de distribución de supervivencias de los diferentes niveles del factor.

Nosotros correlacionamos los parámetros de calidad embrionaria (número de blastómeros y porcentaje de fragmentación embrionaria 48 y 72 horas después de la fecundación) con el IMC de las mujeres por el análisis de regresión lineal. Los tests paramétricos fueron usados para comparar entre los grupos según

IMC y las variables continuas. Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) para las comparaciones múltiples post hoc con la corrección del método Bonferroni. Finalmente, teniendo en cuenta que la categorización de una variable continua, como el IMC, reduce el poder estadístico, también realizamos el análisis de regresión logística en el cual se cuantificó el efecto del IMC de las mujeres sobre la probabilidad de embarazo. Se desarrolló un modelo en el cual el IMC maternal fue considerado como variable independiente. El significado de este modelo fue calculado por el test omnibus. El significado (razón de probabilidad), y las incertidumbres explicadas por el modelo fueron evaluadas por Nagelkerke R². El Odds ratio del efecto del incremento de 1 unidad de IMC en los resultados de embarazo fueron expresados juntos con 95% de intervalo de confianza (IC) R² y su importancia.

En el análisis de regresión, los posibles factores de confusión también fueron considerados: número de ciclos, dosis de gonadotropinas, edad de las mujeres, y niveles de E₂ el día de la administración de la hCG. Estos factores fueron introducidos por el método forward step. Haciendo este procedimiento chequeamos el efecto confuso de otras variables diferentes al IMC en los resultados (embarazo, aborto, nacimiento). En el análisis informático aquellas variables en las cuales el p valor (por el método de Wald) era >2 se introdujeron progresivamente. Después del análisis estadístico, las variables estudiadas se clasificaron como aquellas que modifican o no de forma importante ($<10\%$ de variación en el odds ratio [OR]) el efecto del IMC en los parámetros considerados en los resultados. Un valor $p < 0.05$ fue considerado significativo. El análisis estadístico fue realizado con el pack estadístico de Ciencias Sociales 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) y MedCalc Software (Ghent, Belgium).

RESULTADOS

La tasa total de embarazo fue 44,1%, la tasa total de implantación fue 31,9%, la tasa total de aborto fue 11,6% y la tasa total de nacimientos 27,9%. La edad de las pacientes fue levemente mayor en el grupo con sobrepeso que en el grupo de mujeres delgadas y normales. Sin embargo, esta diferencia fue 1 año de edad media, no siendo relevante clínicamente (Tabla 1). Como muestra la Tabla 1, no hubieron diferencias entre los grupos de IMC con respecto a estos parámetros: hábito de fumar, (porcentaje de fumadoras y número de cigarrillos por día), factor masculino, número

TABLA 1

Características descriptivas del grupo de estudio (N = 6,500).

	< 20 kg/m ² (n l 1,070)	20-24.9 kg/m ² (n l 3,930)	25-29.9 kg/m ² (n l 1,081)	R ≥ 30 kg/m ² (n l 419)	P ^a
Parturientes (n)	669	2,620	676	262	
Edad (y)	34.0 ± 4.3	34.3 ± 4.4	35.0 ± 4.6	34.6 ± 4.6	< .001 ^{ab}
IMC (kg/m ²)	19.0 ± 0.0	22.2 ± 0.0	26.8 ± 0.0	33.6 ± 0.2	
Hábito de fumar (%)	33.0	31.2	32.8	30.2	NS
Cigarrillos/día (n)	4.4 ± 8.1	3.7 ± 7.0	4.0 ± 7.6	4.5 ± 8.2	NS
Duración de infertilidad (y)	3.0 ± 2.1	3.2 ± 2.5	3.5 ± 3.1	4.0 ± 3.1	< .001 ^{abcd}
Origen de la infertilidad femenina					< .001
Oligo o anovulación (%)	10.2	12.3	13.3	21.0	
UI-fallop de IUI (%)	51.1	53.3	50.1	47.9	
Calidad ovocitaria pobre/LR (%)	10.1	10.3	10.8	10.8	
Tuberculosis (%)	12.8	11.5	16.5	12.8	
Endometriosis (%)	13.7	12.4	9.3	7.5	
Factor masculino (%)	22.5	25.1	25.5	25.2	NS
Factor de IV por pacientes (n)	1.6 ± 0.0	1.5 ± 0.0	1.6 ± 0.1	1.6 ± 0.1	NS
Protocolo COH NS					NS
Largo con agonistas de la GnRH (%)	50.0	51	51.5	51.0	
Conto con antagonistas de la GnRH (%)	47.7	47.1	45.6	45.3	
Otros (%)	2.3	1.9	2.9	3.7	
Dosis total de FSH (IU)	2184.1 ± 909.6	2,176.9 ± 919.9	2,215.4 ± 859.2	2,394.7 ± 899.3	< .001 ^{cd}
Dosis total de hMG (IU)	1,228.8 ± 689.6	1,254.8 ± 749.0	1,215.7 ± 717.0	1,282.5 ± 763.5	NS
Dosis total de LH (IU)	811.4 ± 484.3	835.2 ± 472.8	857.4 ± 532.5	884.2 ± 372.2	NS
Duración de COH (días)	11.3	11.0	10.9	11.2	NS
B ₂ en día de hCG (pg/ml)	2,069.0 ± 1,201.9	1,993.7 ± 1,158.0	1,932.5 ± 1,188.8	1,966.1 ± 1,209.1	NS

Nota: al menos que se indique lo contrario, los valores son medias ± SD. IUI inseminación intravaginal; LR: baja respuesta; NS: no significativo; IU: esterilidad de origen desconocido; UI: IUI sépticas [1] infertilidad idiopática después de análisis de semen, histerosalpingo-grafía, ecografía vaginal de útero y ovario, y hormonas de la mujer basales de día 3; [2] factor masculino leve; o [3] falta de tres o cuatro ejes de IUI.

^a Valores P obtenidos por comparación de grupo a grupo, < 20 kg/m² vs. 25-29.9 kg/m²

^b Valores P obtenidos por comparación de grupo a grupo, 20-24.9 kg/m² vs. 25-29.9 kg/m²

^c Valores P obtenidos por comparación de grupo a grupo, 20-24.9 kg/m² vs. 30 kg/m²

^d Valores P obtenidos por comparación de grupo a grupo, < 20 kg/m² vs. 30 kg/m²

^e Valores P obtenidos por comparación de grupo a grupo, 25-29.9 kg/m² vs. 30 kg/m²

Enlace Obesity and/or quality and/or sistema Perfil 5 abril 2016

ro medio de ciclos de FIV realizados por paciente en el período del estudio, protocolos de estimulación ovárica, y niveles de E₂ en el día de la administración de la hCG. Pero hubo una proporción significativamente mayor de mujeres con oligo o anovulación y menos con endometriosis en el grupo de sobrepeso y obesas, siendo más notable en este último grupo. De igual manera, la infertilidad era de mayor duración a medida que se incrementaba el IMC. Además, la dosis total de FSH usada para la EOC fue significativamente más alta en las mujeres obesas que en el resto de los grupos con otro IMC (Tabla 1). La duración de la estimulación ovárica fue de 11 días aproximadamente en todas las pacientes (Tabla 1).

Con respecto a los parámetros de laboratorio, un número similar de ovocitos fueron recuperados en punción, con la misma proporción de maduros cuando se realizó ICSI, sin importar el IMC de las pacientes. No se observaron diferencias en el procedimiento de inseminación, tasa de fecundación, día de TE, o número medio de ET. El número medio de embriones congelados y porcentaje de blastocitos transferidos tampoco mostraron diferencias entre grupos de IMC (Tabla 2). Estudios de correlación entre IMC y tasas de fecundación ($r = 0,015$, $P = .160$), calidad embriónica

en día 2 (número de blastómeras $r = 0,012$, $P = .477$; fragmentación embrionaria $r = 0,006$, $p = .737$), y calidad embriónica en día 3 (número de blastómeras $r = 0,011$, $P = .505$; fragmentación embrionaria $r = 0,007$, $P = .693$) no mostraron asociaciones significativas, indicando que la calidad embriónica era similar en todos los grupos de IMC. Las tasas de implantación, embarazo, aborto y nacimiento se muestran en la Tabla 3. La tasa de aborto global (bioquímico más clínico) en las pacientes obesas fue levemente más alto que en los otros tres grupos pero no estadísticamente significativo.

Sin embargo, las tasas de implantación, embarazo, aborto y nacimiento fueron más bajas en este grupo, aún cuando se llevó a cabo un subanálisis de ciclos con diagnóstico de oligo o anovulación (datos no mostrados). Cuando se realizó un análisis de regresión logística una disminución significativa en las tasas de embarazo y nacimiento fue evidente con cada unidad que se incrementaba el IMC. El significado del modelo fue calculado por el test omnibus (razón de probabilidad). El OR del efecto por cada unidad de IMC incrementada en los resultados reproductivos fueron expresados juntos con un 95% de IC, siendo el OR 0,984 (95% IC, 0,972-0,997), $P = .016$ para emba-

TABLA 2

Parámetros de laboratorio de fertilización in vitro

	< 20 kg/m ² (n [1,070])	20-24,9 kg/m ² (n [3,990])	25-29,9 kg/m ² (n [1,081])	≥ 30 kg/m ² (n [419])
Ovocitos aspirados (n)	12,6 ± 7,7	12,6 ± 8,0	12,3 ± 7,9	13,0 ± 8,8
Ovocitos Metafase II (n)	8,8 ± 5,5	8,9 ± 5,9	8,5 ± 5,6	9,1 ± 6,2
Procedimiento de inseminación (%)				
FIV	6,1	5,1	5,4	6,3
ICSI	17,8	16,0	16,5	14,4
FIV-ICSI	76,1	78,9	78,1	79,3
Tasa de fertilización (%)	72,4 ± 24,4	73,0 ± 24,2	72,5 ± 24,2	74,0 ± 24,1
Día de ET	3,4 ± 1,3	3,5 ± 1,3	3,5 ± 1,3	3,6 ± 1,3
Embriones transferidos (n)	2,0 ± 0,7	2,0 ± 0,7	2,0 ± 0,7	2,0 ± 0,6
Embriones criopreservados (n)	1,4 ± 2,6	1,4 ± 2,7	1,5 ± 2,9	1,4 ± 2,7
Blastocitos transferidos (%)	29,3	31,7	34,3	35,3

Nota: al menos que se indique, los valores son medias en SD

P= no significativo para todas las comparaciones.

Bellver. Obesity, embryo quality, and IVF outcomes. Fertil. Steril 2010.

TABLA 3

Resultados de embarazos en el grupo de estudio (N = 6,500)

	< 20 kg/m ² (n = 1,070)	20-24,9 kg/m ² (n = 3,930)	25-29,9 kg/m ² (n = 1,081)	≥ 30 kg/m ² (n = 419)	P (4 study groups)
Tasa de implantación (%)	31,0	32,8	31,3	26,4	.03
PR (%)	45,0	44,8	42,3	37,9	.03
Pérdida de embarazo temprana (%)	7,1	6,2	6,3	6,9	NS
Tasa de aborto clínico (%)	12,8	11,1	11,2	14,1	NS
Tasa de aborto global (%)	19,9	17,3	17,5	21,5	NS
Tasa de recién nacidos vivos (%)	29,3	31,3	29,1	23,7	.01

Nota: NS no significativo

Beilver. Obesity, embryo quality, and IVF outcome. Fertil Steril 2010.

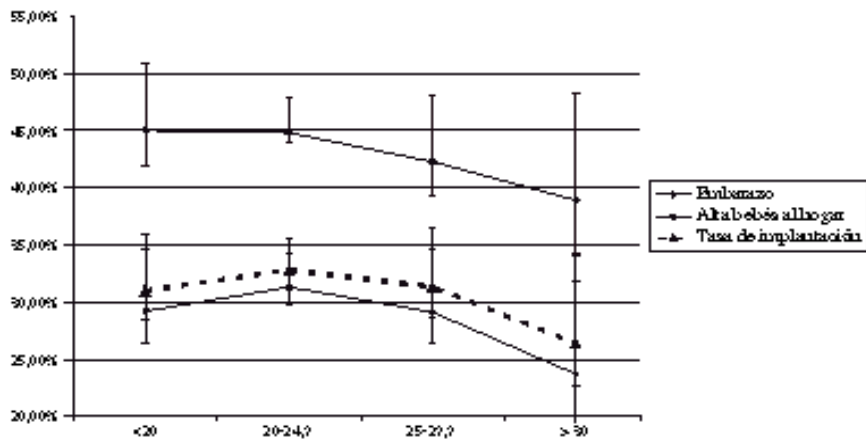
raza; OR 1,009 (95% IC 0,989-1.028), P=.643 para aborto; y OR 0,981 (95% CI 0,967-0.995), P.009 para nacimiento. La Figura 1 muestra una tendencia significativa hacia tasas de embarazo, implantación y nacimiento más bajas a medida que se incrementa el IMC, siendo más evidente en el grupo de obesas.

Un análisis de regresión logística binario se realizó para estudiar el efecto del IMC en las tasas de embarazo, aborto y nacimiento pero introduciendo posi-

bles factores de confusión: número de ciclos, dosis de gonadotropinas, edad y niveles de E₂ en el día de la administración de hCG. Estos factores fueron introducidos por el método step forward. Haciendo este procedimiento chequeamos el efecto de confusión de otras variables diferentes al IMC en los resultados reproductivos (embarazos, abortos, nacimientos). Después del análisis estadístico, confirmamos que todas las variables consideradas no modificaban en for-

FIGURA 1

Tasa de implantación, embarazo y nacidos vivos en ciclos de FIV/CSI de acuerdo al IMC de las mujeres. Cada punto representa porcentajes y 95% de IC.



Beilver. Obesity, embryo quality, and IVF outcome. Fertil Steril 2010.

ma importante (<10% de variación en el OR) el efecto de IMC en los parámetros de los resultados (datos no mostrados). Finalmente, la tasa acumulativa de embarazos en más de cuatro ciclos de FIV fue evaluada de acuerdo al IMC de las mujeres. Las tasas acumulativas de embarazos en cuatro ciclos fueron comparadas con el análisis de supervivencia de Kaplan-Meier, seguido por el Log rank, tests de Breslow, y Tarone-Ware para evaluar la igualdad de la distribución de supervivencia para los diferentes niveles del factor. Diferentes curvas de tasas acumulativas de embarazos fueron observadas para los diferentes grupos según IMC (Log rank 0,015, Breslow 0,024, Tarone-Ware 0.017), concluyendo que una tasa acumulativa más baja se lograba a medida que se incrementaba el IMC, y fueron desde 87,1% en el grupo de >30 de IMC a 93,7% en el grupo de <20 de IMC. En los grupos de peso normal y sobrepeso las tasas acumulativas de embarazo fueron 92,3% y 89,2%, respectivamente.

DISCUSIÓN

Este estudio mostró que los resultados de FIV se ven afectados en las mujeres obesas, pero no así la calidad embrionaria. Un retraso en la concepción espontánea ha sido reportado en las mujeres obesas, causado principalmente por un riesgo más alto de infertilidad de causa ovulatoria, pero aún en mujeres con ciclos ováricos regulares en las que la probabilidad de embarazo está reducida en un 5% por cada unidad de IMC que exceda los 29 kg/m² (27). Estos hallazgos sugieren la presencia de anovulación a pesar de menstruaciones regulares, la liberación del ovocito con un potencial de fecundación reducido, o alteraciones endometriales (28). En nuestro grupo de estudio la duración de la infertilidad fue progresivamente más alta a medida que se incrementaba el IMC, y la causa principal de infertilidad en el grupo de obesas fue la oligo o anovulación (Tabla 1), confirmado por reportes previos.

En tratamientos de FIV y también en inducciones de ovulación, se han requerido mayores dosis de gonadotropinas en mujeres obesas durante la estimulación ovárica, destacando un estado especial de "resistencia a las mismas" (9, 29, 30) presente tanto en protocolos largos como cortos (15). Este estado lleva a largos períodos de estimulación y mayores tasas de cancelación (9, 18, 31,32), como también concentraciones intrafoliculares de hCG más bajas (33), picos de E₂ más bajos (16, 34), y una recuperación de ovocitos significativamente menor (7, 9, 13, 15, 30). Sin

embargo, algunos reportes, no han encontrado efecto negativo de la obesidad en la respuesta ovárica en FIV (20-22). En nuestro estudio, las pacientes obesas recibieron mayores dosis de FSH. Teniendo en consideración la naturaleza retrospectiva de nuestro trabajo, las dosis no fueron iniciadas ni mantenidas de igual manera en los cuatro grupos de IMC. Entonces, en mujeres, con baja respuesta folicular, las dosis de gonadotropinas fueron incrementadas y la mayoría eran obesas. Es por eso, que a pesar del estado de resistencia a las gonadotropinas en nuestra población obesa, la duración de la EOC y los niveles séricos de E₂ en el día de la administración de hCG (Tabla 1), como también los ovocitos obtenidos (Tabla 2), fue similar en todos los grupos.

La calidad ovocitaria también puede verse afectada como resultado de la obesidad, con menor número de ovocitos maduros y tasas de fecundación más bajas (16-18). Sin embargo, aunque algunos autores han reportado peor calidad ovocitaria y embrionaria en pacientes obesas (8, 9, 19, 33, 35), otros no han podido demostrar esta asociación (22, 23). Además, los estudios que muestran diferencias no concuerdan sobre las alteraciones específicas detectadas en la calidad embrionaria (9, 16-18, 33), y un reporte incluso ha relatado que la calidad embrionaria en mujeres obesas está relacionada con la edad materna (19). Igual, una incidencia menor de ET y menor número medio de ET fue observado en asociación lineal con el aumento del IMC en algunos (9, 16, 19) pero no en todos (21, 22) los estudios. Por lo tanto, existe falta de consenso en relación a la afectación ovocitaria y embrionaria teórica en mujeres obesas en tratamientos de FIV y el grado en el que estas se alteran. En nuestro estudio, no hubo diferencias en el número de ovocitos maduros, proceso de inseminación, tasa de fecundación, día de TE, número medio de ET y congelados, y porcentaje de blastocitos transferidos entre grupos de IMC (Tabla 2). Además, no hubo una correlación significativa entre parámetros de calidad embrionaria en día 2 o 3 del clivaje embrionario (número de blastómeros, y fragmentación embrionaria) y el IMC de las pacientes. Por lo tanto, la calidad ovocitaria y embrionaria basadas en criterios morfológicos convencionales no se vieron afectadas por la obesidad. Esto podría explicar, al menos parcialmente, la discordancia en la literatura actual sobre este tema. Tal vez más estudios podrían explorar otros parámetros morfológicos, moleculares o metabólicos. Por otro lado, el rol del endometrio probablemente sea más importante que lo que se cree hasta ahora, como se ha sugerido recientemente (25).

A pesar de la falta de conocimiento sobre la contri-

bución del embrión y el endometrio en el aspecto reproductivo en las pacientes obesas, la mayoría de los reportes muestran una probabilidad más baja de recién nacidos sanos por la combinación de tasas de implantación y embarazos más bajas, abortos bioquímicos y clínicos más altos, y mayores complicaciones durante el embarazo tanto para la madre como para el feto (12). Se ha descrito que la implantación embrionaria se ve afectada por la obesidad en algunos (22, 29) pero no en todos los estudios (9, 14, 16). Tasas de embarazo más bajas también han sido mostradas en mujeres obesas después de la inducción a la ovulación o técnicas de reproducción asistida (29, 33, 36). Nichols et al. (22) observó un OR para la concepción de 0.53 (95% CI 0.32-0.86) en mujeres con sobrepeso en tratamiento de FIV. Igualmente Wang et al. (23) describió una reducción progresiva del OR para fecundación en pacientes en tratamientos de FIV desde los 25 kg/m² (OR 0.81, 95% de IC 0.68-0.97) a los ≥ 35 kg/m² (OR 0.50, 95% IC 0.32-0.77) de IMC. Este efecto parece ser más acentuado en casos de obesidad central (37). Sin embargo, otros autores, no han encontrado una asociación significativa entre IMC altos y probabilidad de embarazo después de un FIV (9, 15, 21, 31).

Un estudio sistemático reciente sobre el efecto del sobrepeso y la obesidad en técnicas de reproducción asistida (13) mostró que las tasas de embarazo en mujeres sin sobrepeso (20-25 kg/m²) eran significativamente mayores (OR 1.40, 95% IC 1.22-1.60) que en mujeres con sobrepeso (>25 kg/m²). De la misma manera las mujeres no obesas (20-30 kg/m²) presentaron mayores tasas de embarazo (95% IC 1.20-1.80) que pacientes obesas (>30 kg/m²). En nuestro estudio, las tasas de implantación y embarazo presentaron una tendencia a peores resultados a medida que el IMC se incrementaba (Fig. 1) y fueron significativamente más bajas en pacientes obesas (Tabla 3). La tasa de embarazo se redujo progresivamente con cada unidad de IMC (kilogramos por metro cuadrado) con un OR significativo de 0.984 (95% IC 0.972-0.997). La tasa acumulativa de embarazo fue más baja con el incremento del IMC cuando se consideraron más de cuatro ciclos de FIV. Ochenta y siete sobre 100 mujeres obesas lograron el embarazo en cuatro ciclos, comparado con noventa y dos de 100 mujeres con IMC normal. Cuando se llevó a cabo un subanálisis de ciclos con diagnóstico de oligo o anovulación para determinar las implicancias de esta causa de infertilidad en los resultados obtenidos, se detectaron hallazgos similares. Por lo tanto, las tasas de implantación y embarazo más bajas observadas en el grupo de obesas no pueden ser atribuidas a su alta prevalencia de desórdenes ovulatorios.

Se han observado tasas de aborto más altas en mujeres obesas que conciben naturalmente (38-40) y a través de inducción a la ovulación (38, 41, 42) y en FIV-ICSI (8, 9, 29, 43). Estos abortos son bioquímicos (8, 9) y clínicos (9) e incluso recurrentes (40, 44). Sin embargo, la mala calidad embrionaria en no obesas, ha sido relacionada con un riesgo más alto de pérdida precoz del embarazo (45). En un review sistemático por Maheshwari et al. (13), el OR para aborto fue significativamente más alto en mujeres con (>25 kg/m²; OR 1.33, 95% CI 1.06-1.68) y obesas (>30 kg/m²; OR 1.53, 95% CI 1.27-1.84) que en mujeres sin sobrepeso (<25 kg/m²) y no obesas (<30 kg/m²), respectivamente. En un reciente metanálisis, por Metwally et al. (46) con respecto al efecto del IMC alto en el riesgo de aborto después de un embarazo espontáneo o asistido determinó que las pacientes con un IMC ≥ 25 kg/m² tenían odds significativamente más altos de presentar aborto, sin importar el método de concepción (OR 1.67, 95% IC 1.25-2.25). Sin embargo, cuando los autores consideraron el método específico de concepción, la tasa de abortos estaba incrementada sólo en la inducción a la ovulación y la donación de óvulos pero no en FIV.

De igual manera, en nuestro estudio las tasas de aborto bioquímico, clínico y global no mostraron diferencias entre grupos. Este hallazgo podría ser explicado principalmente por la falta de diferencias en la calidad embrionaria detectadas en nuestro estudio, porque la mala calidad embrionaria descrita en mujeres obesas ha sido el parámetro principal relacionado con un incremento del riesgo de aborto, como se mencionó antes (8, 33, 35, 45).

Las complicaciones obstétricas durante el segundo y el tercer trimestre del embarazo hacen que la probabilidad de un recién nacido sano sea menor (11, 47, 48). Fedorcsak et al. (8) (N=383) describió una tasa de nacimiento de 75% en mujeres con un IMC <25 kg/m² después de un FIV-ICSI, y sólo en 63% (P=.04) en aquellas con un IMC ≥ 25 kg/m². Lintsen et al. (10) (N= 8,457) encontró que el sobrepeso (definido como un IMC ≥ 27 kg/m²) para tener un efecto significativo en la tasa de embarazo por ciclo de FIV, calculando un OR de 0,67 (95% IC 0.48-0.94). Recientemente, Fedorcsak et al. (9) (N= 5,019) observó una asociación lineal entre IMC más altos y tasas de nacimiento y acumulativas más bajas, con un OR de 0.75 (95% IC 0,57-0,95) en mujeres con un IMC ≥ 30 kg/m². Estos autores también encontraron que 41 de 100 mujeres obesas dieron a luz un recién nacido(s) en tres ciclos de tratamiento, comparado con 50 de 100 mujeres con peso corporal normal. En nuestro estudio, la tasa de nacimiento fue significativamente más baja

(23.7%) en el grupo de obesas que en los otros tres grupos (Tabla 3) y se redujo progresivamente con cada unidad de IMC que se incrementaba (OR 0.981; 95% IC 0.967-0.995).

Según nuestro conocimiento este es el reporte clínico más grande de un solo centro, publicado hasta ahora sobre el efecto de la obesidad en los resultados de reproducción después de un FIV. El presente estudio llega a las mismas conclusiones sobre la implicancia del ambiente uterino en los resultados reproductivos peores de las pacientes obesas que aquellos estudios realizados en relación al impacto de la obesidad en el modelo de donación de óvulos (25), dando fuerza a nuestros hallazgos. Sin embargo, los dos hándicaps más importantes de nuestro trabajo son su naturaleza retrospectiva y la falta de consideración de otros factores de confusión, además del hábito de fumar, la edad y el factor masculino, especialmente el tipo de distribución de la obesidad y la presencia de obesidad en las parejas masculinas. Hasta ahora, la obesidad masculina no ha sido reconocida como causa de afectación de la calidad espermática y la infertilidad (49), especialmente cuando se combina con obesidad femenina (50).

Concluimos que la obesidad femenina claramente está relacionada con una afectación en los resultados de FIV. La implicación real de los gametos, embriones y endometrio es desconocida todavía, pero el ambiente uterino parece jugar un rol importante. Estudios futuros en mujeres obesas basados en características genómicas, proteómicas y metabólicas del endometrio podrían mostrar información interesante.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Norman RJ, Noakes M, Wu R, Davies MJ, Moran L, Wang JX.:** Improving reproductive performance in overweight/obese women with effective weight management. *Hum Reprod Update* 2004;10:267-80.
2. **International Obesity Task Force and European Association for the Study of Obesity.:** Obesity in Europe. The case for action. London: International Obesity Task Force and European Association for the Study of Obesity, 2002. Available from: URL:<http://www.ietf.org>.
3. **World Health Organization.:** Preventing and managing the global epidemic. Report of the World Health Organization on obesity. Geneva: World Health Organization, 1997.
4. **Heslehurst N, Eells LJ, Simpson H, Batterham A, Wilkinson J, Summerbell CD.:** Trends in maternal obesity incidence rates, demographic predictors, and health inequalities in 36,821 women over a 15-year period. *BJOG* 2007;114:187-94.
5. **Rich-Edwards JW, Goldman MB, Willett WC, Hunter DJ, Stampfer MJ, Colditz GA, et al.:** Adolescent body mass index and infertility caused by ovulatory disorder. *Am J Obstet Gynecol* 1994;171:171-7.
6. **Zaadstra BM, Seidell JC, Van Noord PA, te Velde ER, Habbema JD, Vrieswijk B, et al.:** Fat and female fecundity: prospective study of effect of body fat distribution on conception rates. *BMJ* 1993;306:484-7.
7. **Crosignani PG, Ragni G, Parazzini F, Wyssling H, Lombroso G, Perotti L.:** Anthropometric indicators and response to gonadotrophin for ovulation induction. *Hum Reprod* 1994;9:420-3.
8. **Fedorcsak P, Storeng R, Dale P, Tanbo T, Abyholm T.:** Obesity is a risk factor for early pregnancy loss after IVF or ICSI. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2000;79:43-8.
9. **Fedorcsak P, Dale PO, Storeng R, Ertzeid G, Bjerke S, Oldereid N, et al.:** Impact of overweight and underweight on assisted reproduction treatment. *Hum Reprod* 2004;19:2523-8.
10. **Lintsen AM, Pasker-de Jong PC, de Boer EJ, Burger CW, Jansen CA, Braat DD, et al.:** Effects of subfertility cause, smoking and body weight on the success rate of IVF. *Hum Reprod* 2005;20:1867-75.
11. **Linne Y.:** Effects of obesity on women's reproduction and complications during pregnancy. *Obes Rev* 2004;5:137-43.
12. **Bellver J, Busso C, Pellicer A, Remohi J, Simon C.:** Obesity and assisted reproductive technology outcomes. *Reprod Biomed Online* 2006;12:562-8.
13. **Maheshwari A, Stofberg L, Bhattacharya S.:** Effect of overweight and obesity on assisted reproductive technology-a systematic review. *Hum Reprod Update* 2007;13:433-44.
14. **Dechaud H, Anahory T, Reyftmann L, Loup V, Hamamah S, Hedon B.:** Obesity does not adversely affect results in patients who are undergoing in vitro fertilization and embryo transfer. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2006;127:88-93.
15. **Wittermer C, Ohl J, Bailly M, Bettahar-Lebugle K, Nisand I.:** Does body mass index of infertile women have an impact on IVF procedure and outcome? *J Assist Reprod Genet* 2000;17:547-52.
16. **Dokras A, Baredziak L, Blaine J, Syrop C, VanVoorhis BJ, Sparks A.:** Obstetric outcomes after in vitro fertilization in obese and morbidly obese women. *Obstet Gynecol* 2006;108:61-9.
17. **Krizanovska K, Ulcova-Gallova Z, Bouse V, Rokyta Z.:** Obesity and reproductive disorders. *Sb Lek* 2002;103:517-26.

18. **van Swieten EC, van der Leeuw-Harmsen L, Badings EA, van der Linden PJ.:** Obesity and Clomiphene Challenge Test as predictors of outcome of in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Gynecol Obstet Invest* 2005;59:220-4.
19. **Metwally M, Cutting R, Tipton A, Skull J, Ledger WL, Li TC.:** Effect of increased body mass index on oocyte and embryo quality in IVF patients. *Reprod Biomed Online* 2007;15:532-8.
20. **Lewis CG, Warnes GM, Wang XJ, Matthews CD.:** Failure of body mass index or body weight to influence markedly the response to ovarian hyperstimulation in normal cycling women. *Fertil Steril* 1990;53:1097-9.
21. **Lashen H, Ledger W, Bernal AL, Barlow D.:** Extremes of body mass do not adversely affect the outcome of superovulation and in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1999;14:712-5.
22. **Nichols JE, Crane MM, Higdon HL, Miller PB, Boone WR.:** Extremes of body mass index reduce in vitro fertilization pregnancy rates. *Fertil Steril* 2003;79:645-7.
23. **Wang JX, Davie MJ, Norman RJ.:** Body mass and probability of pregnancy during assisted reproduction treatment: retrospective study. *BMJ* 2000;321:1320-1.
24. **Metwally M, Tuckerman EM, Laird SM, Ledger WL, Li TC.:** Impact of high body mass index on endometrial morphology and function in the peri-implantation period in women with recurrent miscarriage. *Reprod Biomed Online* 2007;14:328-34.
25. **Bellver J, Melo MA, Bosch E, Serra V, Remohi J, Pellicer A.:** Obesity and poor reproductive outcome: the potential role of the endometrium. *Fertil Steril* 2007;88:446-51.
26. **Meseguer M, Martinez-Conejero JA, O'Connor JE, Pellicer A, Remohi J, Garrido N.:** The significance of sperm DNA oxidation in embryo development and reproductive outcome in an oocyte donation program: a new model to study a male infertility prognostic factor. *Fertil Steril* 2008;89:1191-9.
27. **van der Steeg JW, Steures P, Eijkemans MJ, Habbema JD, Hompes PG, Burggraaff JM, et al.:** Obesity affects spontaneous pregnancy chances in subfertile, ovulatory women. *Hum Reprod* 2008;23:324-8.
28. **Gesink Law DC, Macle hose RF, Longnecker MP.:** Obesity and time to pregnancy. *Hum Reprod* 2007;22:414-20.
29. **Loveland JB, McClamrock HD, Malinow AM, Sharara FI.:** Increased body mass index has a deleterious effect on in vitro fertilization outcome. *J Assist Reprod Genet* 2001;18:382-6.
30. **Fedorcsak P, Dale PO, Storeng R, Tanbo T, Abyholm T.:** The impact of obesity and insulin resistance on the outcome of IVF or ICSI in women with polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod* 2001;16:1086-91.
31. **Mulders AG, Laven JS, Imani B, Eijkemans MJ, Fauser BC.:** IVF outcome in anovulatory infertility (WHO group 2)-including polycystic ovary syndrome-following previous unsuccessful ovulation induction. *Reprod Biomed Online* 2003;7:50-8.
32. **Loh S, Wang JX, Matthews CD.:** The influence of body mass index, basal FSH and age on the response to gonadotrophin stimulation in non-poly cystic ovarian syndrome patients. *Hum Reprod* 2002;17:1207-11.
33. **Carrell DT, Jones KP, Peterson CM, Aoki V, Emery BR, Campbell BR.:** Body mass index is inversely related to intrafollicular HCG concentrations, embryo quality and IVF outcome. *Reprod Biomed Online* 2001;3:109-11.
34. **Spandorfer SD, Kump L, Goldschlag D, Brodtkin T, Davis OK, Rosenwaks Z.:** Obesity and in vitro fertilization: negative influences on outcome. *J Reprod Med* 2004;49:973-7.
35. **Cano F, Garcia-Velasco JA, Millet A, Remohi J, Simon C, Pellicer A.:** Oocyte quality in polycystic ovaries revisited: identification of a particular subgroup of women. *J Assist Reprod Genet* 1997;14:254-61.
36. **Ku SY, Kim SD, Jee BC, Suh CS, Choi YM, Kim JG, et al.:** Clinical efficacy of body mass index as predictor of in vitro fertilization and embryo transfer outcomes. *J Korean Med Sci* 2006;21:300-3.
37. **Wass P, Waldenström U, Rossner S, Hellberg D.:** An android body fat distribution in females impairs the pregnancy rate of in-vitro fertilization- embryo transfer. *Hum Reprod* 1997;12:2057-60.
38. **Hamilton-Fairley D, Kiddy D, Watson H, Paterson C, Franks S.:** Association of moderate obesity with a poor pregnancy outcome in women with polycystic ovary syndrome treated with low dose gonadotrophin. *Br J Obstet Gynaecol* 1992;99:128-31.
39. **Norman RJ, Clark AM.:** Obesity and reproductive disorders: a review. *Reprod Fertil Dev* 1998;10:55-63.
40. **Lashen H, Fear H, Sturdee D.:** Obesity is associated with increased risk of first trimester and recurrent miscarriage: matched case control study. *Hum Reprod* 2004;19:1644-6.
41. **Mulders AG, Laven JS, Eijkemans MJ, Hughes EG, Fauser BC.:** Patient predictors for outcome of gonadotrophin ovulation induction in women with normogonadotrophic anovulatory infertility: a meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2003;9:429-49.
42. **Ramsay JE, Greer I, Sattar N.:** ABC of obesity. Obesity and reproduction. *BMJ* 2006;333:1159-62.
43. **Wang JX, Davies MJ, Norman RJ.:** Obesity increases the risk of spontaneous abortion during infertility treatment. *Obes Res* 2002;10:551-4.