



Universidad
Zaragoza

Trabajo Fin de Máster

Título del trabajo: Influencia del número de donaciones previas en el resultado reproductivo obtenido en el programa de donación de ovocitos.

English title: Influence of the number of donations on the reproductive result in egg donation program.

Autor

Carmen Rodríguez Ruiz de Oña.

Director/es

Dra. M^a Eugenia Ballesteros Moffa.

Dr. José Serna López.

Dra. Elisa Gil Arribas.

FACULTAD DE MEDICINA DE ZARAGOZA

ÍNDICE

1. Resumen -----	pág. 3
2. Introducción -----	pág. 3
• Edad materna avanzada -----	pág. 3
• Ovogénesis -----	pág. 4
• Fecundación in vitro con óvulos de donante -----	pág. 5
• Métodos de clasificación y elección embrionaria -----	pág. 9
3. Justificación del estudio -----	pág. 13
4. Hipótesis -----	pág. 14
5. Objetivo principal -----	pág. 14
6. Objetivos secundarios -----	pág. 14
7. Materiales y métodos -----	pág. 15
8. Resultados -----	pág. 19
9. Discusión -----	pág. 26
10. Conclusiones -----	pág. 28
11. Bibliografía -----	pág. 29

RESUMEN

El retraso de la maternidad, que actualmente impera en nuestra sociedad, ha propiciado un aumento significativo de los ciclos de fecundación *in vitro* con ovocitos procedentes de donante. Este aumento requiere una buena selección de donantes y un análisis exhaustivo de los programas de ovodonación para comprobar su buen funcionamiento. Este estudio pretende analizar los resultados del programa de donación de óvulos de IVI Zaragoza, para, de este modo, conocer si su sistema de selección de donantes es adecuado. Para afinar más los datos, se analizaron todos los ciclos de fecundación *in vitro* con óvulos donados desde el 2011 hasta el 2017 inclusive, cuyo desarrollo embrionario fue realizado en un incubador con tecnología *time-lapse*, ya que está descrito que dicha tecnología mejora la selección embrionaria y, por tanto, los resultados clínicos.

Los resultados obtenidos en este estudio fueron favorables, ya que no se apreciaron diferencias de resultados entre los diferentes ciclos de donación. Esto nos hizo concluir que la selección inicial, en nuestro programa, es adecuada y nos habla de la buena salud del programa de ovodonación del centro.

INTRODUCCIÓN

1. Edad materna avanzada.

La revolución social y laboral de la mujer de las últimas décadas, las dificultades para encontrar empleo y vivienda estables para los jóvenes y las limitaciones para conciliar vida familiar y laboral, han supuesto un retraso de la maternidad en España, tal y como se aprecia en los datos del Instituto Nacional de Estadística (INE)⁽¹⁾ donde vemos que la edad media de las españolas para tener a su primer hijo se acerca cada vez más a los 31 años. Este aumento de la edad, afecta a la fertilidad de la mujer⁽²⁾, quedando reflejado principalmente

en una disminución de la reserva ovárica, de la calidad ovocitaria, así como en un incremento de la incidencia de problemas obstétricos.

Se sabe que la edad es el primer marcador de reserva y calidad ovocitaria y a pesar del aumento de la esperanza de vida y de la calidad de la misma, la fertilidad sigue su curso natural, siendo cada vez más complicado hacer coincidir la edad fértil con el momento apropiado para la maternidad. A esta realidad, se le suma el desconocimiento de la población general al respecto, y la falsa creencia del poder omnipotente de las técnicas de reproducción asistida, por lo que es importante hacer entender a la población que la fertilidad de las mujeres disminuye con la edad, iniciando su declive en la primera parte de la década de los 30⁽³⁾, y haciéndose muy notable a partir de los 40. De esta manera, tanto en la práctica como en la literatura se concluye como principal factor pronóstico reproductivo, la edad de la mujer.

Múltiples estudios realizados a lo largo del siglo XX^(2,4,5) han demostrado este hecho, siendo pionero el estudio de Tiezte⁽⁴⁾ publicado en 1957 sobre la fertilidad según los grupos de edad en la población huterita (grupo protestante que convive en comunidades agropecuarias en los estados de Dakota y Montana que no usa métodos anticonceptivos de ningún tipo). Todos ellos llegan a la conclusión de que la edad de la mujer influye drásticamente en la fertilidad.

En nuestro medio, los datos que arroja la Sociedad Española de Fertilidad (SEF) en su registro de 2015⁽⁶⁾ demuestran un marcado aumento del número de ciclos en las mujeres mayores de 35 años.

2. Ovogénesis.

Para comprender que la fertilidad femenina es finita debemos entender la embriología y biología femeninas. Las mujeres nacen con un número de folículos primordiales limitado para toda su vida reproductiva, que según los estudios actuales vienen determinados genéticamente y alcanzan su cénit en la semana 12 de gestación⁽⁷⁾. Por lo que podemos afirmar que las mujeres están

programadas desde esa semana de gestación (comienzo de la ovogénesis) para toda su vida fértil. Esos ovocitos primarios permanecen quiescentes hasta la primera ovulación en la pubertad. De hecho, las niñas llegan al nacimiento con unos 2 millones de ovocitos primarios y a la pubertad con unos 400.000. De ellos, sólo unos 400 se transformarán en ovocitos secundarios y serán ovulados. A medida que avanza la edad reproductiva la pérdida folicular es mayor, ya que unos 1.000 folículos disminuyen cada mes. Este ritmo aumenta a partir de los 35 años hasta la menopausia, momento en el que esa dotación disminuye a menos de 1.000 en total, siendo los últimos y por tanto de peor calidad⁽⁸⁾.

En cualquier caso, la reserva ovocitaria es característica de cada mujer, y tiene un comportamiento individual, por lo que no se puede esperar la misma reserva en todas las mujeres del mismo rango etario. Se sabe que la edad es el primer indicador, pero una mujer joven puede tener su reserva ovárica comprometida por diferentes motivos (alteraciones genéticas, antecedentes yatrógenos, enfermedades ginecológicas, etc...).

3. Fecundación *in vitro* con óvulos de donante.

Comentado todo lo anterior, es comprensible el notable aumento de los tratamientos de donación de ovocitos.

El primer caso conocido de embarazo con ovocitos donados fue publicado en 1983 por Trounson y su equipo⁽⁹⁾; desde entonces, esta técnica ha ido creciendo y mejorando sus resultados, convirtiéndose en un pilar fundamental de la reproducción asistida. De este modo y según datos de la SEF en España, en 2010⁽¹⁰⁾ hubo 7.749 ciclos de transferencia de embriones a partir de ovocitos de donante y en 2014⁽¹¹⁾ se alcanzaron los 16.630, aumentando en sólo 4 años a más del doble y suponiendo el 14,3% del total de tratamientos de fecundación *in vitro* (FIV) realizados en todo el país, con una tasa de gestación por transferencia de 55,6%. Ante este incremento, y la actual imposibilidad de rejuvenecimiento ovárico^(12,13) el requerimiento de ovocitos donados se convierte en una realidad, lo que nos conduce a la imperiosa necesidad de

aumentar el reclutamiento de donantes y mejorar su selección por parte de las clínicas de reproducción, para satisfacer los programas de ovodonación con la mayor calidad posible.

MARCO LEGAL Y ANONIMATO.

La legislación que rige la Reproducción Asistida en España es la 14/2006 del 26 de mayo de 2006.

Nuestra ley es adecuada para receptoras y donantes de igual modo, ya que prima el anonimato bidireccional, aspecto que es interpretado con seguridad. La receptora sabe que la donante seleccionada para ella es compatible fenotípicamente y nunca sabrá de quién ha recibido los óvulos, y la donante sabe que no tendrá ningún tipo de responsabilidad sobre los futuros vástagos producto de la donación. Basando el proceso de donación en la siguiente declaración de Herz⁽¹⁴⁾: “la mujer que da a luz y cría es claramente la madre”.

Éste es un punto muy diferente con la legislación de otros países como el Reino Unido, donde las donantes pueden ser anónimas o conocidas por la receptora (suelen ser amigas íntimas o hermanas, y parece que está aumentando la opción de conocerse a través de las redes sociales)⁽¹⁵⁾. Aparte de que esta forma de selección “a la carta” puede tener unos resultados reproductivos mejorables⁽¹⁶⁾, ya que estas donantes no son mujeres seleccionadas de acuerdo a criterios reproductivos, sino sociales, tiene unas connotaciones éticas y psicológicas complicadas.

SELECCIÓN DE DONANTES.

En España la selección de las donantes se hace de acuerdo a criterios objetivos, deben cumplir un largo listado de requisitos para asegurar un buen resultado y evitar de este modo un daño físico o psicológico.

Según la normativa vigente, deben ser mujeres mayores de edad y menores de 35 años, hacerlo de manera voluntaria y no coaccionada, poseer buena

reserva ovárica y estar sanas en todos los siguientes aspectos: físico, genético, no padecer enfermedades de transmisión sexual (ETS), no portar enfermedades hereditarias, y presentar buena salud psicológica.

Cuando las mujeres interesadas en la donación de ovocitos acuden por primera vez a nuestro centro, se les realiza una entrevista con anamnesis personal completa, reciben una exhaustiva explicación del proceso para minimizar miedos a posibles repercusiones en su futura vida fértil, ya que como describen Serna y colaboradores⁽¹⁷⁾ en su estudio de 2005 no hay ningún efecto perjudicial sobre la función ovárica después de la hiperestimulación ovárica controlada repetida. Se les habla de sus aspectos legales y se les realiza una ecografía transvaginal con recuento de folículos antrales (RFA) para poder tener una idea estimada de la posible respuesta ovárica de la mujer⁽¹⁸⁾. Una vez consideradas aptas, pasan el examen del psicólogo del centro y si éste les da la conformidad, se les realiza revisión ginecológica completa con citología, cultivos vaginales, analítica sanguínea con preoperatorio completo, serologías, cariotipo, test de portadores^(19,20), grupo sanguíneo y Rh. Una vez que el resultado de todas las citadas pruebas es normal, se acepta a la mujer como donante.

A causa de estas exigencias, alrededor del 50% de las personas interesadas en donar no son seleccionadas. La mitad de éstas son rechazadas por factores psicológicos y genéticos y la otra mitad por causas como: la disminución de la reserva ovárica, la obesidad, las patologías ováricas observadas en la ecografía, el hipotiroidismo, las infecciones como hepatitis B, hepatitis C, clamidia y VIH, entre otras menos comunes^(21,22).

Datos analizados en IVI Zaragoza del año 2017 muestran que aproximadamente sólo una de cada cuatro candidatas a donante de óvulos fue aceptada, tal y como se aprecia a continuación: En ese año hubo 132 primeras visitas de mujeres interesadas en donar ovocitos, de ellas solo 40 acudieron a la entrevista psicológica, programada unos días más tarde. Dos candidatas fueron consideradas no aptas por el departamento de psicología, 4 por el médico y 2 fueron rechazadas por anomalías en su cariotipo. Sólo 30 fueron aptas para donar (22% de las consultas iniciales).

Las donantes suelen estar a la espera de ser llamadas para donar con anticonceptivos orales (ACO). De este modo, se puede comenzar una estimulación ovárica controlada (COS) en cualquier momento, ya que, gracias a los avances tecnológicos acontecidos en los últimos años dentro de los laboratorios de reproducción asistida, los tratamientos se han vuelto más sencillos y cómodos a través de las técnicas de vitrificación de ovocitos y embriones. Dicha técnica nos permite tener un banco de gametos amplio con fenotipos variados para no tener que hacer esperar a los receptores. Sobre todo, cuando tienen características fenotípicas o raciales menos comunes en nuestro entorno. La disminución de las listas de espera para la recepción de ovocitos, disminuye el estrés que en muchas ocasiones produce el paso a la donación. Así, las donaciones pueden ser en fresco o de banco, teniendo ambas versiones resultados similares como demuestran los estudios de Ana Cobo^(23,24) y de Domingues y colaboradores⁽²⁵⁾.

||

[JSL1]

MECANISMO DE SINCRONIZACIÓN ENTRE RECEPTORA Y DONANTE.

La sincronización de receptora y donante se realiza con el uso de anticonceptivos en la donante y la preparación endometrial de la receptora con ciclo sustituido. Ocasionalmente, se utilizan análogos de la GnRH en la mujer receptora para inhibir el ciclo y favorecer la sincronización, pero, aprovechando la disponibilidad de donantes, el uso de análogos cada vez es menos necesario, dada la agilidad de las donaciones.

Se considera un endometrio apto para la recepción embrionaria cuando alcanza, al menos, los 6 mm de grosor, medidos con ecografía transvaginal 2D en plano sagital, habitualmente a los 7-10 días del comienzo de la medicación.

De forma paralela, y de acuerdo con los protocolos habituales de estimulación ovárica, se inicia el tratamiento de la donante utilizando dosis medias de gonadotropinas en ciclo de antagonistas y desencadenando la maduración

ovocitaria con un bolo de agonista de la GnRH, para minimizar los riesgos de hiperestimulación. El ciclo se monitoriza de manera convencional con ecografía transvaginal y controles seriados de E₂ y P₄ séricas. La obtención de ovocitos se realiza por punción ovárica transvaginal ecodirigida bajo sedación.

Ya en el laboratorio, solamente los ovocitos maduros, llamados Metafase II (MII) son los que se utilizan. La microinyección intracitoplasmática (ICSI) se realiza con la muestra capacitada de semen de la pareja o con banco de semen, según la planificación previa del tratamiento.

A las 17-19 horas post-microinyección se evalúa la fecundación. Solamente los ovocitos con 2 corpúsculos polares (CP) y 2 pronúcleos (PN) son considerados válidos.

En los días siguientes, se evalúan los diferentes parámetros morfocinéticos del desarrollo embrionario hasta el estadio de blastocisto, gracias a la tecnología *timelapse*, que favorece una mejor selección embrionaria. De esta manera, la elección del embrión con mayor potencial de embarazo permite la oferta, cada vez más amplia, de transferencia de un único embrión.

La receptora comienza su soporte de fase lútea con progesterona vaginal o subcutánea a partir del día 1 de vida embrionaria. Con test cuantitativo en sangre de beta-hCG se diagnostica el embarazo 12 días después de la transferencia (si ésta se realizó en fase de blastocisto).

4. Métodos de clasificación y elección embrionaria

a) CLASIFICACIÓN EMBRIONARIA TRADICIONAL (MORFOLÓGICA).

La evaluación morfológica basada en la observación microscópica de los preembriones es el método más habitual para valorar la calidad embrionaria. En España se realiza a través de la clasificación de la asociación para el estudio de la biología de la reproducción (ASEBIR)⁽²⁶⁾ donde se valora fundamentalmente:

- Número de células.
- Porcentaje de fragmentación.

- Simetría.
Y otros factores secundarios:
- Multinucleación.
- Vacuolización, etc.

Según esta clasificación podemos encontrar diferentes tipos de preembriones para transferir teniendo en cuenta su desarrollo embrionario:

- **Categoría A:** Óptima calidad con máxima capacidad de implantación.
- **Categoría B:** Preembrión de buena calidad con elevada capacidad de implantación.
- **Categoría C:** Preembrión de calidad regular con probabilidad de implantación baja.
- **Categoría D:** Preembrión de mala calidad con probabilidad de implantación baja.

La limitación de esta técnica es la subjetividad y la larga curva de aprendizaje.

b) INCUBADORES CINEMATOGRAFICOS O *TIMELAPSE*.

En la búsqueda de nuevos marcadores de calidad ovocitaria y preembrionaria, IVI Zaragoza ha implementado la tecnología *timelapse* en la evaluación embrionaria. Estos *incubadores cinematográficos* incorporan una cámara diseñada para adquirir automáticamente las imágenes en puntos de tiempo predefinidos, permitiendo después ver de forma continuada el desarrollo del preembrión. De este modo, la morfología clásica se une a la cinética (tiempos de división de las células) para proponer un nuevo sistema de clasificación morfocinético.

El sistema *timelapse* permite determinar de forma exacta el tiempo en el que se producen las divisiones de los preembriones, por lo tanto, la información disponible es mucho mayor y ayuda a sustentar la decisión de elección del preembrión más idóneo para la transferencia. Con la aplicación del algoritmo morfocinético de Meseguer⁽²⁷⁾ el grupo IVI comprobó que la tasa de gestación aumenta en un 20% en los ciclos que utiliza la selección morfocinética, frente a la valoración morfológica de los incubadores tradicionales^(27,28). Los datos reflejan la mejora de los resultados clínicos como consecuencia de la mejora de las condiciones de cultivo, (ya que no es necesario sacarlos del incubador para

su valoración) así como de la implementación de un sistema de selección embrionaria más efectivo.

Diferentes grupos de investigación han abordado esta nueva tecnología en los últimos años, sin embargo, existe variabilidad en los resultados obtenidos. Rubio y colaboradores⁽²⁸⁾ en el 2014 llegaron a la conclusión de que el uso de tecnología cinematográfica mejora globalmente los resultados reproductivos. Del mismo modo, Basile⁽²⁹⁾ considera muy útil el uso de la morfocinética para la selección embrionaria. Del Carmen Nogales y su equipo⁽³⁰⁾ consideran que aunque no es capaz de detectar un embrión anormal, el *timelapse* puede ser potencialmente útil para descartar los embriones con alto riesgo de anomalías cromosómicas complejas. Otros investigadores, en cambio, consideran que no queda demostrada la mejoría de resultados y refieren un claro rechazo al uso de esta costosa tecnología mientras no se realicen ensayos aleatorizados donde no se aleatoricen los ovocitos ni los embriones, si no las pacientes⁽³¹⁾. Goodman en el 2016⁽³²⁾ publica que el *timelapse* no mejora significativamente los resultados clínicos reproductivos en los pacientes ni en aquellos con transferencias de blastocisto, pero afirma que la ausencia de multinucleación, el momento de la blastulación y la valoración morfocinética, datos resultantes gracias a la tecnología cinematográfica, se asociaron con las tasas de implantación del blastocisto. Por otro lado, el grupo de investigación de Insúa detalla en el 2017⁽³³⁾ que no se observan efectos perjudiciales y consideran que aunque serían necesarios estudios más amplios, el uso de incubadores con tecnología *timelapse* es una alternativa efectiva y segura para el cultivo de embriones.

La clasificación morfocinética se basa en la medición de los tiempos que tardan en producirse los hitos fundamentales del desarrollo embrionario y su sincronía. Se han publicado varios algoritmos que relacionan morfología con cinética embrionaria. Los más conocidos son los de Mesequer para transferencias en D+3 de desarrollo⁽²⁷⁾ y de blastocisto⁽³⁴⁾.

El incubador con tecnología *timelapse* empleado en este estudio es el incubador Embryoscope®. Sus ventajas son:

- Se trata de incubador y microscopio todo en uno.
- Posee una pantalla incorporada para poder hacer el seguimiento.

- Permite un seguimiento continuo y sin manipulación de todos los embriones a la vez.
- Ayuda en la selección de los embriones con mayor poder de implantación.

Inconvenientes del Embryoscope®:

- Tiene una capacidad limitada para embriones por paciente y placa.
- Posee espacio sólo para 6 pacientes a la vez.
- No tiene un sistema automatizado para predecir el futuro del embrión.
- Precio elevado.

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Con este estudio se pretende analizar la calidad del programa de ovodonación y su sistema previo de selección de las donantes de la clínica IVI Zaragoza. Se quiere ampliar el tamaño muestral de los estudios realizados en donantes como el realizado por Jain y colaboradores⁽³⁵⁾ o el de Caligara⁽³⁶⁾. Y comparar los resultados obtenidos por donante entre el primer ciclo de donación con los siguientes en relación al número de ovocitos extraídos en punción, el número de MII, la tasa de gestación y el número de blastocistos viables por ciclo, todo ello sustentado en el análisis morfocinético gracias al incubador Embryoscope®.

HIPÓTESIS

Una adecuada preselección de donantes de ovocitos es la clave para obtener los mismos resultados clínicos, independientemente del número de ciclo de estimulación ovárica al que se somete la donante.

OBJETIVO PRINCIPAL

Comparar la tasa de gestación entre el primer ciclo de donación y los siguientes.

OBJETIVOS SECUNDARIOS

1. Analizar el número de ovocitos y ovocitos Metafase II obtenidos de las donantes en cada estimulación ovárica controlada.
2. Comparar el número de embriones viables en D+5 y D+6 totales (transferidos y vitrificados) entre el primer ciclo de donación y los siguientes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Centro y financiación

El estudio se realiza en la clínica IVI Zaragoza y no requirió financiación.

Legislación

Se solicitó aprobación del proyecto a la Unidad de Ayuda y Gestión en la Investigación del grupo IVI (UAGI) recibiendo el número de proyecto 1410-ZAR-069-JS. A continuación, el CEIC de Aragón (CEICA) dio dictamen favorable con fecha 3 de febrero de 2016 para la realización del estudio. En el 2018 se solicitó nueva aprobación al CEICA de una enmienda para ampliar la muestra a todos los ciclos de donación de óvulos desde el año 2011 al 2017, recibiendo dictamen favorable el 23 de mayo de 2018.

De acuerdo con el Artículo 2, de la ley 14/2007 del 3 julio de Investigación Biomédica los datos fueron anonimizados, de forma que se ocultó la información que pudiese usarse para identificar pacientes concretos en los listados.

La selección y asignación de donantes con receptoras se realizó siguiendo la legislación vigente de reproducción asistida 14/2006 del 26 de mayo de 2006.

Diseño del estudio

Estudio retrospectivo, descriptivo y comparativo de los resultados obtenidos en todos los ciclos de donación de ovocitos de IVI Zaragoza entre 2011 y 2017 en los que se usó como incubador el Embryoscope® según el número de estimulación ovárica de la donante. Se compararon número de ovocitos en punción, número de MII, tasa de gestación y número de blastocistos viables (transferidos y vitrificados).

Sujetos de estudio:

Se incluyeron todos los ciclos de recepción de embriones en fresco y vitrificados procedentes de donación de ovocitos de IVI Zaragoza desde el año 2011 al 2017 cuyo desarrollo embrionario se hubo realizado en el incubador Embryoscope®. La asignación de donantes a receptoras se hizo, como habitualmente, mediante el programa informático SIVIS® que selecciona y sincroniza a donante y receptora según características fenotípicas, y bajo supervisión de un facultativo encargado de cada caso.

Criterios de inclusión:

- Semen de pareja.
- Ciclos realizados con banco de semen.
- Índice de masa corporal (IMC) <30 kg/m² de la receptora.
- Transferencias realizadas en estadio de blastocisto (D+5/D+6) en fresco y vitrificado.
- Uso del incubador con tecnología *timelapse* Embryoscope® durante el desarrollo embrionario en el laboratorio.

Criterios de exclusión:

- Ciclos de diagnóstico genético pre-implantacional por enfermedad genética masculina.
- Uso de incubador tradicional.

Método de control de sesgos:

1. **Sesgo de selección:** estricto control de criterios de inclusión y exclusión. Todas las pacientes procedían del mismo centro de reproducción asistida (IVI Zaragoza).
2. **Sesgo de información:** Los datos se extrajeron de la base de datos del programa clínico informático SIVIS® del centro, que había sido exhaustivamente rellenados por los mismos 3 facultativos, de acuerdo a

las normas de cumplimentación del programa. La compilación de los datos fue posteriormente revisada y aquellos datos incompletos o contradictorios se eliminaron de la base de datos y fueron declarados perdidos.

3. **Sesgo de confusión:** Se eliminaron factores que pudieron ser causa de alteración de los resultados como la obesidad y el diagnóstico genético pre-implantacional. Para ello se revisó cuidadosamente la base de datos y se descartaron aquellos casos en los que hubo dudas de posibles factores intercurrentes.

Variables de estudio:

Variables cuantitativas:

- Número de ovocitos obtenidos en punción.
- Número de MII.
- Número de embriones D+5 y D+6 viables por ciclo de donación.

Variable cualitativa:

- Gestación sí o no.

Análisis de los datos y procesado estadístico:

Para llevar a cabo el análisis estadístico del proyecto se utilizó el lenguaje de programación estadístico "R"⁽³⁷⁾, que permite realizar tanto el análisis exploratorio inicial de los datos como la posterior modelización estadística para analizar si había diferencia entre cada ciclo de estimulación de las donantes.

Para la modelización estadística, se decidió emplear el modelo de regresión de Poisson, dado que ésta es la más adecuada para explicar datos que se obtienen como consecuencia de un conteo, que es exactamente nuestro caso

(ejemplo: los ovocitos maduros como variable respuesta, ya que tenemos un conteo de los ovocitos obtenidos por cada donante y de este modo podemos observar el rendimiento de cada ciclo).

RESULTADOS

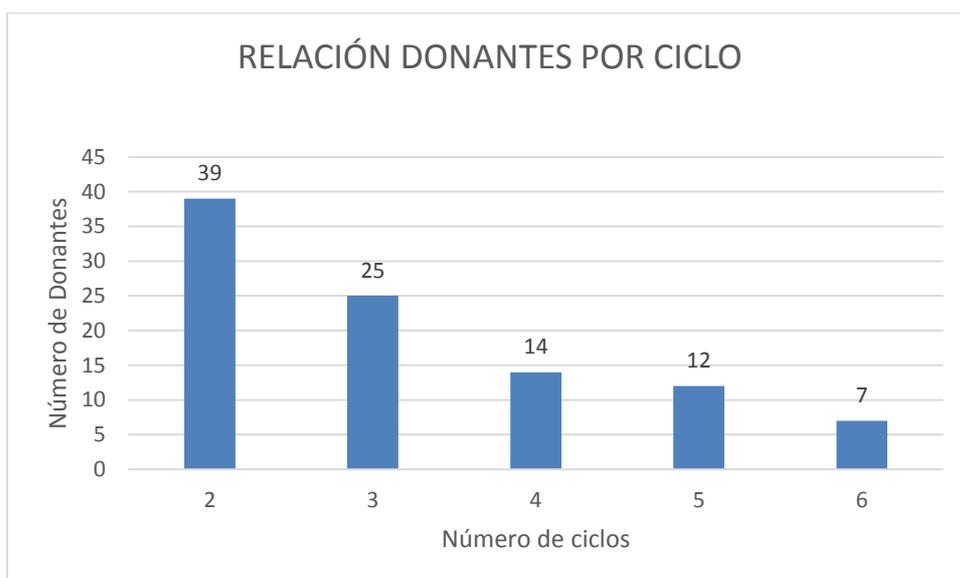
En este estudio que analiza los resultados obtenidos en el programa de ovodonación de IVI Zaragoza entre los años 2011 y 2017, se han obtenido los siguientes resultados:

El número total de donantes de ovocitos que han sido consideradas aptas y han llegado a punción cumpliendo todos los requisitos del estudio fue de 162 mujeres con una edad media de 25 años, un IMC medio de 22.5 Kg/m² y con una media de donaciones por donante de 2.35.

De ellas, 65 sólo donaron en una ocasión, por lo que no fueron incluidas en el estudio, ya que lo que se quiso evaluar era una comparación de resultados entre la primera y las sucesivas donaciones. De esta forma, como sólo nos interesó analizar la evolución de diferentes variables respuesta en función del número de ciclos de donación, se evitaba que el primer ciclo estuviera sobrerrepresentado.

Así que las 97 incluidas en el estudio se reparten del siguiente modo (**Tabla 1**):

Tabla 1: relación de donantes por ciclos realizados.



Objetivo principal: Análisis de resultados gestacionales.

Se aplicó un modelo de regresión de Poisson sobre la gestación clínica por número de transferencias.

Consideraciones:

1. Dado que el objetivo consistía en medir el rendimiento de cada ciclo de donante, la variable indicadora de dicho rendimiento fue el éxito reproductivo por número de transferencias.
2. Como el modelo tenía en cuenta el número de transferencias hasta el éxito o la última transferencia de una paciente, fue posible asumir independencia entre transferencias y pacientes.

Se creó un modelo de regresión de Poisson en el que se usó como variable respuesta el número de gestaciones clínicas y como variable explicativa el número de ciclo, teniendo en esta ocasión como factor de corrección (*offset*) el número de transferencias embrionarias (**Tabla 2**).

Tabla 2: Relación entre gestación de receptora y ciclo de donante.

	Estimación del efecto	p-valor
Ciclo 2	-0.05763	0.6258
Ciclo 3	-0.04256	0.7634
Ciclo 4	-0.08701	0.6045
Ciclo 5	-0,1372	0.5885
Ciclo 6	0.3567	0.4314

Tomamos el ciclo 1 como categoría de referencia, de forma que los resultados del ciclo 2, 3, 4 y sucesivos se interpretan siempre como el efecto que tiene sobre la variable respuesta (núm. de gestaciones).

La columna de estimación del efecto explica la estimación del efecto que tiene la variable explicativa (el núm. de ciclo) sobre la variable respuesta (núm. de gestaciones). También reciben el nombre de coeficientes de regresión Poisson del modelo.

El p -valor nos indica la probabilidad de que la estimación de la variable explicativa (núm. de ciclo) en cuestión sea distinta de 0 (si la variable es estadísticamente significativa o no dentro del modelo). Cuando es inferior a 0.05 se considera que la variable explicativa tiene un efecto estadísticamente significativo sobre la variable respuesta. En esta tabla en concreto ningún p -valor de las categorías de la variable es inferior a 0.05, por lo que concluimos que dicha variable no tiene efectos significativos en el modelo.

Así que pudimos concluir que en este modelo no existieron diferencias estadísticamente significativas en el número de ciclos en lo que se refiere al número de gestaciones clínicas.

Objetivos secundarios:

1. Maduración ovocitaria:

Para el análisis de la **maduración ovocitaria** se empleó el modelo de regresión de Poisson con el orden del ciclo de donación por donante como factor del modelo, sobre la tasa de ovocitos maduros (MII). De este modo, el factor del número de ovocitos aspirados se introdujo como un factor de corrección por ciclo. Así pues, el modelo tiene la capacidad de corregir el efecto por número de ovocitos aspirados.

En primer lugar, se representa un diagrama de cajas en el que se muestra la tasa de ovocitos maduros/ovocitos aspirados para cada ciclo de donación **(Figura 1)**.

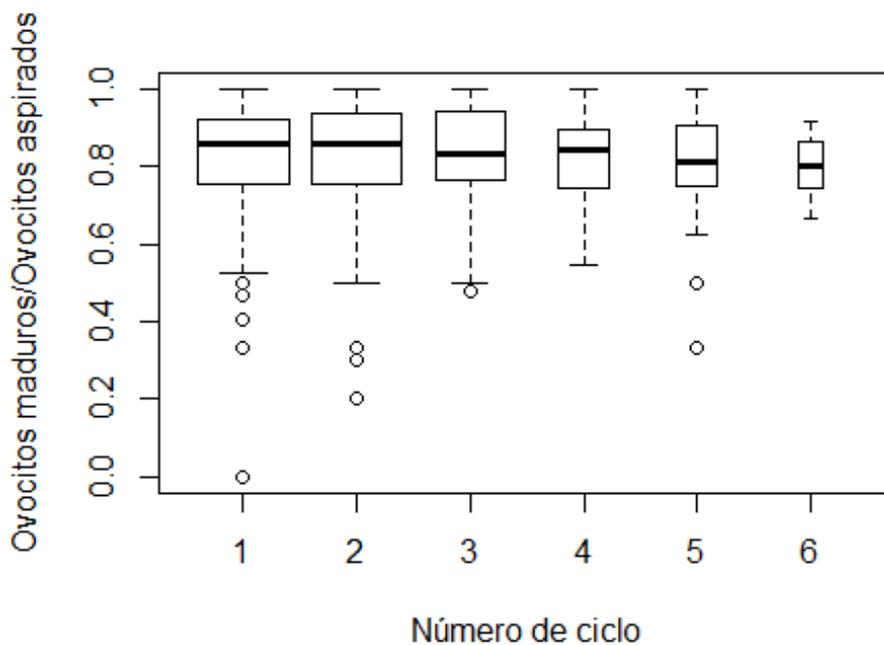


Figura 1. Diagrama de cajas del número de ovocitos maduros/ovocitos recuperados por punción.

A primera vista no parecía que existieran diferencias en dicha relación entre los diferentes ciclos. Para comprobarlo de forma más rigurosa, planteamos un modelo de regresión de Poisson obteniendo los siguientes resultados (**Tabla 3**):

Tabla 3. Relación entre ovocitos maduros/ovocitos totales aspirados según el ciclo de estimulación de la donante.

	Estimación del efecto	p-valor
Ciclo 2	0.0185	0.6012
Ciclo 3	0.01882	0.6477
Ciclo 4	-0.006507	0.8948
Ciclo 5	-0.04612	0.4814
Ciclo 6	-0.03265	0.7852

Según los resultados y de acuerdo con el modelo, no existen diferencias estadísticamente significativas en cuanto al número de ovocitos maduros obtenidos en los diferentes ciclos. Es decir, la maduración ovocitaria no parece verse afectada a medida que se incrementa el número de ciclos de estimulación ovárica.

A continuación, se creó otro modelo de regresión más complejo partiendo del anterior, en el que añadimos las siguientes variables explicativas: niveles séricos de E₂ el día de la inducción, niveles séricos de P₄ el día de la inducción, IMC de la donante, y edad de la donante.

Los resultados fueron los siguientes (**Tabla 4**):

Tabla 4. Relación entre edad, IMC, E₂ y P₄ el día de la inducción de la ovulación y ovocitos maduros en punción.

	Estimación del efecto	p-valor
Ciclo 2	0.02774	0.5676
Ciclo 3	0.01136	0.8222
Ciclo 4	-0.01951	0.7577
Ciclo 5	-0.06016	0.4879
Ciclo 6	-0.05974	0.6368
E2	-5,40E-03	0.5854
P4	0.01467	0.3423
IMC Donante	-0.00147	0.8241
Edad Donante	0.008422	0.05866

De nuevo, no se hallaron diferencias significativas en la maduración ovocitaria por lo que se refiere al número de ciclos controlando el resto de variables mencionadas.

2. Número de embriones viables por ciclo:

Para el análisis del número de **embriones viables** por ciclo de donación en D+5 y D+6 las variables de efecto fueron el origen (embrión fresco vs. embrión vitrificado) y el día de transferencia (solamente se compararon D+5 y D+6) en el que hemos usado como variable respuesta el número de embriones viables y como variable explicativa el número de ciclo de la donante, teniendo como *offset* el número de embriones totales (**Tabla 5**).

Tabla 5. Relación del número total de embriones viables (frescos y vitrificados) por ciclo de donante.

	Estimación del efecto	p-valor
Ciclo 2	0.05856	0.2527
Ciclo 3	0.0559	0.3461
Ciclo 4	0.05492	0.4569
Ciclo 5	0.1062	0.3083
Ciclo 6	0.1752	0.3088

De forma similar al apartado anterior, no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes ciclos de donación por lo que se refiere al número de embriones viables.

Posteriormente continuamos con un modelo más complejo basándonos en el anterior, en el que añadimos como variables explicativas la edad de la donante, el IMC de la donante y el estado del ovocito (**Tabla 6**).

Tabla 6: Número de embriones viables por ciclo en relación con la edad e IMC de la donante y el estado del ovocito.

	Estimación del efecto	p-valor
Ciclo 2	0.05387	0.2984
Ciclo 3	0.05627	0.3494
Ciclo 4	0.05709	0.4455
Ciclo 5	0.1063	0.3128
Ciclo 6	0.1867	0.2833
Edad Donante	-0.001089	0.8426
IMC Donante	0.008393	0.2886
Ovocito fresco	0.2065	0.3297
Ovocito Vitrificado	-0.0194	0.6468

Las conclusiones fueron las mismas que para el modelo simple: aun controlado por estas nuevas variables, no existieron diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes ciclos de donación por lo que se refiere al número de embriones viables.

Por último, consideramos un modelo basado en el anterior, pero en el que se incluyó un efecto de interacción de la edad y el IMC de la donante con el número de ciclo (**Tabla 7**):

Tabla 7. Interacción de la edad e IMC de la donante por ciclo en el número de embriones viables.

	Estimación del efecto	p-valor
Ovocitos Fescos	0.1952	0.3588
Ovocitos Vitrificados	-0.02114	0.6228
Ciclo 1 Edad Donante	0.001808	0.8073
Ciclo 2 Edad Donante	0.001735	0.8378
Ciclo 3 Edad Donante	-0.008568	0.4358
Ciclo 4 Edad Donante	-0.003613	0.7841
Ciclo 5 Edad Donante	-0.007356	0.7104
Ciclo 6 Edad Donante	-0.02936	0.5757
Ciclo 1 IMC Donante	0.004216	0.6582
Ciclo 2 IMC Donante	0.006399	0.5487
Ciclo 3 IMC Donante	0.01907	0.1735
Ciclo 4 IMC Donante	0.0129	0.4372
Ciclo 5 IMC Donante	0.01975	0.4242
Ciclo 6 IMC Donante	0.05341	0.4565

Incluso teniendo en cuenta la posible interacción de la edad de la donante en cada donación y el IMC, siguió sin demostrarse, de acuerdo al modelo, la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre el número de ciclos por lo que se refiere al número de embriones viables.

DISCUSIÓN [JSL2]

Tal y como se planteaba en la hipótesis de este estudio, una buena selección previa de candidatas a donantes es la clave para conseguir buenos resultados reproductivos en el programa de donación de óvulos. Prueba de ello es la no diferencia de resultados entre los diferentes ciclos de donación en los objetivos marcados.

Del mismo modo, se puede afirmar que el uso de un incubador *timelapse* permite que la cantidad de información que se obtenga sea mayor y más objetiva^(27,37,38). Así, la evaluación embrionaria es más completa, aporta una mayor información y mejora las tasas de éxito de los ciclos de FIV al favorecer una mejor selección embrionaria.

Para no ver alterados los resultados del estudio se decidió no incluir a donantes y receptoras con un IMC mayor de 30, ya que en la literatura se encuentran un gran número de trabajos en los que hablan de la relación del IMC con los resultados gestacionales y obstétricos, quedando demostrado que un IMC elevado conlleva peores tasas en los ciclos de reproducción asistida. Para aportar más datos sobre el tema podemos hablar de los estudios realizados por Provost^(40,41) sobre relación de IMC con resultados gestacionales tanto en tratamientos con óvulos propios como donados. En ellos se observan peores resultados en las mujeres con IMC elevado en ambos casos. Imterat⁽⁴²⁾ habla del impacto del IMC en la fertilidad femenina y en los resultados en reproducción asistida. Por otro lado, Kawwass⁽⁴³⁾ y colaboradores no sólo hablan de peores tasas gestacionales y peores resultados obstétricos en IMC elevados.

Como primera limitación del estudio podemos decir que no se excluyeron las parejas de receptores con factor masculino severo, aunque existan múltiples artículos que traten dicho tema y su efecto en la fertilidad tanto natural como en reproducción asistida. Podemos poner como ejemplo varios estudios. Entre ellos, destaca el desarrollado por Mazzilli y colaboradores⁽⁴⁴⁾ en el cual defienden que el factor masculino severo afecta la competencia embrionaria temprana en términos de tasa de fecundación y potencial de desarrollo. Sin embargo, afirman que la tasa de embriones euploides y el potencial de

implantación de los blastocistos obtenidos son independientes de la calidad del semen.

Pan y su equipo⁽⁴⁵⁾ relatan la importancia de la valoración del factor masculino ya que influye en las tasas de embarazo.

Por otro lado Borges y colaboradores⁽⁴⁶⁾ defienden que su estudio mostró que no hay diferencia en los resultados de tasa de embarazo entre las parejas con infertilidad de factor masculino o tubárico, lo que indica que el ICSI supera los problemas específicos asociados con el factor masculino.

Otra de las limitaciones que podemos encontrar en este estudio es la inclusión en las bases de datos de las parejas receptoras con fallos de implantación previos, abortos de repetición y con factor uterino como miomas o atrofia endometrial aunque existan numerosas referencias bibliográficas en las que traten estas etiologías como causa de esterilidad. Ya que fue imposible poder excluirlos por motivos técnicos al anonimizar los datos.

A pesar de dichas limitaciones, la igualdad de resultados obtenida demuestra la gran calidad de las donantes seleccionadas y el buen funcionamiento del programa de ovodonación analizado.

CONCLUSIONES

- No existen diferencias estadísticamente significativas en la tasa de gestación entre los diferentes ciclos de donación por donante.
- No existen diferencias estadísticamente significativas en el número de ovocitos aspirados entre ciclos de la misma donante.
- No existen diferencias estadísticamente significativas en el número de MII por ciclo de donación y donante.
- No existen diferencias estadísticamente significativas en el número de embriones viables (tanto frescos como vitrificados) por ciclo de donación y donante.

BIBLIOGRAFÍA

1. Instituto Nacional de Estadística. Edad Media a la Maternidad por orden del nacimiento según nacionalidad (española/extranjera) de la madre [Internet]. [cited 2018 Jun 3]. Available from: <http://www.ine.es/jaxiT3/Datos.htm?t=1579>.
2. Speroff L. The effect of aging on fertility. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 1994 Apr;6(2):115–20.
3. Gómez de Segura R. ¿Cómo influye la edad de la mujer y del varón en la fertilidad natural y en los tratamientos de reproducción asistida? In: Bruna Catalán I, Coroleu Lletget B, editors. *Lo esencial en Medicina reproductiva*. 2nd ed. Barcelona: Elsevier; 2016. p. 5–7.
4. Tietze C. Reproductive Span and Rate of Reproduction Among Hutterite Women. *Fertil Steril*. 1957 Jan 1;8(1):89–97.
5. Hendershot GE, Mosher WD, Pratt WF. Infertility and age: an unresolved issue. *Fam Plann Perspect*. 1982.
6. Sociedad Española de Fertilidad. *Registro Nacional de Actividad 2015*. Madrid; 2016.
7. Barattini J, Raso D, Cogorno M, Lotti B, Neuspiller F. Edad y reproducción. In: Remohi J, Bellver J, Ferrando M, Requena A, Pellicer A, editors. *Manual práctico de esterilidad y Reproducción Humana Aspectos clínicos*. 5th ed. Madrid: Panamericana; 2017. p. 17–27.
8. Franasiak JM, Forman EJ, Hong KH, Werner MD, Upham KM, Treff NR, et al. The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: a review of 15,169 consecutive trophoctoderm biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening. *Fertil Steril*. 2014 Mar;101(3):656–663.e1.
9. Trounson A, Leeton J, Besanko M, Wood C, Conti A. Pregnancy established in an infertile patient after transfer of a donated embryo fertilised in vitro. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1983;286(6368):835.
10. Prados F, Jose De Los Santos M, Cabello Y, Buxaderas R, Segura A, Hernández J, et al. *Registro Nacional de Actividad 2010*. 2010.
11. SEF Sociedad Española de Fertilidad. *Registro Nacional de Actividad 2014*. 2014.

12. Herraiz S, Buigues A, Díaz-García C, Romeu M, Martínez S, Gómez-Seguí I, et al. Fertility rescue and ovarian follicle growth promotion by bone marrow stem cell infusion. *Fertil Steril*. 2018 May;109(5):908–918.e2.
13. Herraiz S, Romeu M, Buigues A, Martínez S, Díaz-García C, Gómez-Seguí I, et al. Autologous stem cell ovarian transplantation to increase reproductive potential in patients who are poor responders. *Fertil Steril*. 2018 Jun 27.
14. Herz EK. Infertility and bioethical issues of the new reproductive technologies. *Psychiatr Clin North Am*. 1989 Mar;12(1):117–31.
15. Graham S, Jadvá V, Freeman T, Ahuja K, Golombok S. Being an identity-release donor: a qualitative study exploring the motivations, experiences and future expectations of current UK egg donors. *Hum Fertil (Camb)*. 2016 Dec 26;19(4):230–41.
16. Randal AE. The personal, interpersonal, and political issues of egg donation. *J Obstet Gynaecol Can*. 2004 Dec;26(12):1087–90.
17. Serna J, García-Velasco JA. Effect of repeated assisted reproduction techniques on the ovarian response. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2005 Jun;17(3):233–6.
18. Hansen KR, Hodnett GM, Knowlton N, Craig LB. Correlation of ovarian reserve tests with histologically determined primordial follicle number. *Fertil Steril*. 2011 Jan;95(1):170–5.
19. Garrido N, Bosch E, Alamá P, Ruiz A. The time to prevent mendelian genetic diseases from donated or own gametes has come. *Fertil Steril*. 2015 Oct 1;104(4):833–5.
20. Martin J, Asan, Yi Y, Alberola T, Rodríguez-Iglesias B, Jiménez-Almazán J, et al. Comprehensive carrier genetic test using next-generation deoxyribonucleic acid sequencing in infertile couples wishing to conceive through assisted reproductive technology. *Fertil Steril*. 2015 Nov;104(5):1286–93.
21. Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine, Practice Committee of Society for Assisted Reproductive Technology. Recommendations for gamete and embryo donation: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2013 Jan;99(1):47–62.

22. Reh A, Amarosa A, Licciardi F, Krey L, Berkeley AS, Kump L. Evaluating the necessity for universal screening of prospective oocyte donors using enhanced genetic and psychological testing. *Hum Reprod.* 2010 Sep 1;25(9):2298–304.
23. Cobo A, Coello A, Remohí J, Serrano J, de los Santos JM, Meseguer M. Effect of oocyte vitrification on embryo quality: time-lapse analysis and morphokinetic evaluation. *Fertil Steril.* 2017 Sep;108(3):491–497.e3.
24. Cobo A, Garrido N, Pellicer A, Remohí J. Six years' experience in ovum donation using vitrified oocytes: report of cumulative outcomes, impact of storage time, and development of a predictive model for oocyte survival rate. *Fertil Steril.* 2015 Dec;104(6):1426–1434.e8.
25. Domingues TS, Aquino AP, Barros B, Mazetto R, Nicolielo M, Kimati CM, et al. Egg donation of vitrified oocytes bank produces similar pregnancy rates by blastocyst transfer when compared to fresh cycle. *J Assist Reprod Genet.* 2017 Nov 16;34(11):1553–7.
26. ASEBIR. Criterios ASEBIR de Valoración Morfológica de Oocitos, Embriones Tempranos y Blastocistos Humanos | Asebir. 3ª edición. 2015.
27. Meseguer M, Herrero J, Tejera A, Hilligsoe KM, Ramsing NB, Remohi J. The use of morphokinetics as a predictor of embryo implantation. *Hum Reprod.* 2011 Oct 1;26(10):2658–71.
28. Rubio I, Gal A, Larreategui Z, Ayerdi F, Bellver J, Herrero J, et al. Clinical validation of embryo culture and selection by morphokinetic analysis: a randomized, controlled trial of the EmbryoScope. *Fertil Steril.* 2014;102:1287–94.
29. Basile N, Vime P, Florensa M, Aparicio Ruiz B, García Velasco JA, Remohí J, et al. The use of morphokinetics as a predictor of implantation: a multicentric study to define and validate an algorithm for embryo selection. *Hum Reprod.* 2015 Feb;30(2):276–83.
30. Del Carmen Nogales M, Bronet F, Basile N, Martínez EM, Liñán A, Rodrigo L, et al. Type of chromosome abnormality affects embryo morphology dynamics. *Fertil Steril.* 2017 Jan;107(1):229–235.e2.
31. Armstrong S, Vail A, Mastenbroek S, Jordan V, Farquhar C. Time-lapse in the IVF-lab: how should we assess potential benefit? *Hum Reprod.* 2015 Jan 1;30(1):3–8.

32. Goodman LR, Goldberg J, Falcone T, Austin C, Desai N. Does the addition of time-lapse morphokinetics in the selection of embryos for transfer improve pregnancy rates? A randomized controlled trial. *Fertil Steril*. 2016 Feb 1;105(2):275–85.e10.
33. Insua MF, Cobo AC, Larreategui Z, Ferrando M, Serra V, Meseguer M. Obstetric and perinatal outcomes of pregnancies conceived with embryos cultured in a time-lapse monitoring system. *Fertil Steril*. 2017 Sep 1;108(3):498–504.
34. Motato Y, Jos de los Santos M, Jos Escriba M, en Aparicio Ruiz B, Remohí J, Meseguer M. Morphokinetic analysis and embryonic prediction for blastocyst formation through an integrated time-lapse system. *Fertil Steril*. 2016;105:376–384.e9.
35. Jain A, Robins JC, Williams DB, Thomas MA. The effect of multiple cycles in oocyte donors. *Am J Obstet Gynecol*. 2005 May;192(5):1382–4.
36. Caligara C, Navarro J, Vargas G, Simón C, Pellicer A, Remohí J. The effect of repeated controlled ovarian stimulation in donors. *Hum Reprod*. 2001 Nov;16(11):2320–3.
37. R Core Team. *R: A language and environment for statistical computing*. Vienna, Austria.; 2018.
38. Aguilar J, Motato Y, Escribá MJ, Ojeda M, Muñoz E, Meseguer M. The human first cell cycle: impact on implantation. *Reprod Biomed Online*. 2014 Apr;28(4):475–84.
39. Wong CC, Loewke KE, Bossert NL, Behr B, De Jonge CJ, Baer TM, et al. Non-invasive imaging of human embryos before embryonic genome activation predicts development to the blastocyst stage. *Nat Biotechnol*. 2010 Oct 3;28(10):1115–21.
40. Provost MP, Acharya KS, Acharya CR, Yeh JS, Steward RG, Eaton JL, et al. Pregnancy outcomes decline with increasing body mass index: analysis of 239,127 fresh autologous in vitro fertilization cycles from the 2008–2010 Society for Assisted Reproductive Technology registry. *Fertil Steril*. 2016 Mar;105(3):663–9.
41. Provost MP, Acharya KS, Acharya CR, Yeh JS, Steward RG, Eaton JL, et al. Pregnancy outcomes decline with increasing recipient body mass index: an analysis of 22,317 fresh donor/recipient cycles from the 2008–

- 2010 Society for Assisted Reproductive Technology Clinic Outcome Reporting System registry. *Fertil Steril*. 2016 Feb;105(2):364–8.
42. Imterat M, Agarwal A, Esteves SC, Meyer J, Harlev A. Impact of body mass index on female fertility and ART outcomes. *Panminerva Med*. 2018 Jun 28.
 43. Kawwass JF, Kulkarni AD, Hipp HS, Crawford S, Kissin DM, Jamieson DJ. Extremities of body mass index and their association with pregnancy outcomes in women undergoing in vitro fertilization in the United States. *Fertil Steril*. 2016 Dec;106(7):1742–50.
 44. Mazzilli R, Cimadomo D, Vaiarelli A, Capalbo A, Dovere L, Alviggi E, et al. Effect of the male factor on the clinical outcome of intracytoplasmic sperm injection combined with preimplantation aneuploidy testing: observational longitudinal cohort study of 1,219 consecutive cycles. *Fertil Steril*. 2017 Dec;108(6):961–972.e3.
 45. Pan MM, Hockenberry MS, Kirby EW, Lipshultz LI. Male Infertility Diagnosis and Treatment in the Era of In Vitro Fertilization and Intracytoplasmic Sperm Injection. *Med Clin North Am*. 2018 Mar;102(2):337–47.
 46. Borges Jr. E, Zanetti BF, Braga DP de AF, Setti AS, Figueira R de CS, Nardi AC, et al. Overcoming male factor infertility with intracytoplasmic sperm injection. *Rev Assoc Med Bras*. 2017 Aug;63(8):697–703.