



ORIGINAL

## Comparación de tasas de embarazo en transferencia embrionaria en pacientes mayores y menores de 40 años



Hector S. Godoy-Morales<sup>a</sup>, Radamés Rivas-López<sup>a</sup>, Ileana Mendiburu-G. Cantón<sup>b</sup>, Miguel Ángel Estrada-Maldonado<sup>b</sup>, Julio C. Avilés-Durán<sup>b</sup> y Abraham Zavala-García<sup>c,\*</sup>

<sup>a</sup> Unidad de Medicina de la Reproducción, Hospital Ángeles Pedregal, Ciudad de México, México

<sup>b</sup> Biología de la Reproducción, UNAM, Hospital Ángeles Pedregal, Ciudad de México, México

<sup>c</sup> Residencia Ginecología y Obstetricia, Facultad Mexicana de Medicina, Universidad La Salle, Hospital Ángeles Pedregal, México

Recibido el 25 de julio de 2018; aceptado el 10 de octubre de 2018

Disponible en Internet el 23 de noviembre de 2018

### PALABRAS CLAVE

Blastocisto;  
Transferencia  
embrionaria día 3;  
Transferencia  
embrionaria día 2

### Resumen

**Introducción:** La fisiología endometrial y la calidad embrionaria sufren cambios con respecto a la edad de la mujer, por lo tanto, el objetivo del presente estudio es determinar si el día de transferencia embrionaria afecta el resultado de tasas de embarazo (medido por fracción beta de la gonadotropina coriónica humana) en pacientes mayores y menores de 40 años.

**Metodología:** Se realiza un estudio retrospectivo de tipo casos y controles de 306 ciclos realizados en pacientes mayores y menores de 40 años, en las que se realizaron ciclos con técnicas FIV/ICSI en la unidad de medicina reproductiva del Hospital Ángeles Pedregal entre los años 2015-2018. Las variables incluyen edad, donación de gametos (ovodonación, donación espermática, embriodonación), tipo de ciclo (FIV, ICSI), día de transferencia embrionaria (2, 3, y 5,6), número de embriones transferidos, método de transferencia (en fresco, desvitrificación) y resultado de fracción beta de la gonadotropina coriónica humana.

**Resultados:** La población total fue de 306 ciclos, en pacientes mayores de 40 años (N = 161) y menores de 39 años (N = 145). De pacientes > 40, 22,3% tuvo una fracción beta de la gonadotropina coriónica humana positiva, en comparación con un 28,27% de las pacientes < 39 años. En cuanto al día de TE, reportamos que el día 5, 6 se asocia a mejores tasas de embarazo, en específico cuando se compara con las TE en día dos en menores de 39 años de edad (P = 0,029).

**Conclusiones:** Al comparar la TE en día 2 vs. día 5,6, encontramos resultados estadísticamente significativos en las tasas de embarazo en pacientes > 40 y < 39 años de edad.

© 2018 Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción y Sociedad Española de Fertilidad. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [abrahamzavala60@hotmail.com](mailto:abrahamzavala60@hotmail.com) (A. Zavala-García).

<https://doi.org/10.1016/j.medre.2018.10.001>

2340-9320/© 2018 Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción y Sociedad Española de Fertilidad. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

**KEYWORDS**

Blastocyst;  
Day-3 embryo  
transfer;  
Day-2 embryo  
transfer

**Comparison of embryo transfer pregnancy rates in patients greater than and less than 40 years-old****Abstract**

*Introduction:* Endometrial physiology and embryo quality greatly depend on the age of the patient, thus, the main objective of this study is to measure the pregnancy rates (by human  $\beta$ -Gonadotropin) in women older and younger than 40 years of age.

*Materials and methods:* A retrospective, case-control study was conducted in which 306 IVF cycles performed on patients between 24 and 58 years of age by conventional In-Vitro Fertilisation or intracytoplasmic sperm injection in the reproductive medicine unit of Hospital Ángeles.

Pedregal in Mexico City between January 2015 and January 2018.

*Results:* The total population of 306 cycles included 161 patients >40 years and 139 were < 39. In the >40 population, 22.3% had a positive  $\beta$ -fraction, compared to 28.27% in the < 39 population. As for the embryo transfer (ET) day, it was found that an ET in day 5/6 showed the highest pregnancy rates, specifically when compared against day 2 ET in patients under 39 years of age ( $P = .029$ ).

*Conclusions:* When comparing embryo transfer day 2 vs. day 5/6, a statistically significant difference was found in the pregnancy rates in patients over 40 and less than 39 years of age.

© 2018 Asociación para el Estudio de la Biología de la Reproducción y Sociedad Española de Fertilidad. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

**Antecedentes**

La tasa de embarazo clínico posterior a técnicas de fertilización in vitro (IVF) es de 40-50% y puede ser tan alta como un 60% en pacientes que son tratadas con IVF por primera vez (Fang et al., 2013). A pesar de grandes avances en IVF, muchos embriones fallan en implantarse; esto se exagera a mayor edad (Bruce et al., 2016). Más aun, algunos de los motivos por los cuales esta puede fallar, se debe a la receptividad endometrial, defectos embrionarios, factores inmunológicos y/o motivos multifactoriales.

En técnicas de reproducción asistida de alta complejidad, el día en el que se realiza transferencia embrionaria (TE) es de gran importancia, pues no solo existe diferencia entre tasas de embarazo y en número menor de embriones que se puede transferir; sino también, se han reportado diferencias en cuanto al desarrollo perinatal, tal como una mayor prevalencia de partos pretérmino en pacientes con TE en etapa de blastocisto vs. etapa de clivaje (día 3) (Dar et al., 2013). A pesar de esto, mantiene que la TE en día 5 es superior en tasa de implantación, en comparación a TE en etapa de clivaje (día 3) debido a una similitud fisiológica mayor (en etapa de clivaje el embrión estaría atravesando la salpinx y alcanzaría la cavidad endometrial en la etapa de blastocisto) (Maxwell et al., 2015) y a un mayor potencial de implantación que muestran los blastocistos (Smith et al., 2013).

Sin embargo, en un estado fisiológico, los niveles de progesterona ( $P_4$ ) se elevan rápidamente tras la ovulación, creando el endometrio secretor del ciclo endometrial fisiológico. Debido a la estimulación ovárica y suplementación con progesterona, se pueden alcanzar cifras supraelevadas

de progesterona con efecto deletéreo sobre la implantación, lo cual afectaría especialmente a los embriones de etapas mayores (Li et al., 2013). Por este motivo, un estudio realizado por Li et al. (2013), recomienda la TE en día 5 al momento de la administración de gonadotropina coriónica humana (HCG) en pacientes con elevación de  $P_4$  en fase folicular tardía (Li et al., 2013).

Durante la estimulación para la captura de oocitos, el endometrio es estimulado y como consecuencia, este sufre avance histológico, regulación a la baja de receptores de  $P_4$ , acortamiento de la fase lútea, asincronía glandular-estromal, activación de leucocitos inadecuada, angiogénesis avanzada y disminución del flujo endometrial (Bruce et al., 2016). Pacientes mayores por lo general requieren de mayor dosis y duración de gonadotropinas exógenas, lo cual conlleva a efectos deletéreos sobre el endometrio. Al igual que la calidad embrionaria, el factor endometrial juega un papel importante en el éxito o falla de implantación. Debido a los cambios en la fisiología endometrial que conlleva la edad, así como el efecto sobre la calidad embrionaria, decidimos realizar el siguiente estudio para valorar si el día de TE resulta en distintas tasas de embarazo (medido por HCG- $\beta$ ) en pacientes mayores (>40 años de edad) en comparación con aquellas menores de 39 años de edad.

En un estudio de Xin et al. (2012), se reporta que en pacientes menores de 35 años hay una mejor tasa de embarazo estadísticamente significativa en pacientes con TE en día 2 en comparación a día 3, con una mejor tasa de embarazo en pacientes con TE en día 3. Sin embargo, no existe diferencia estadísticamente significativa en pacientes con TE en día 2 vs. día 3 en pacientes mayores de 35 años (Xin et al., 2012).

Este estudio difiere de otros, como aquel realizado por Bastu et al. (2013), en el que no se encuentran diferencias estadísticamente significativas en TE en día 2 vs. día 3 en pacientes mayores y menores de 35 años de edad (Bastu et al., 2013).

Debido a la recomendación de TE en día 5 por la similitud fisiológica (Li et al., 2013) y resultados contradictorios en TE en día 2 y 3 en pacientes mayores y menores de 35 años (Xin et al., 2012; Bastu et al., 2013), decidimos comparar las tasas de embarazo bioquímico (por fracción HCG- $\beta$  positiva) en pacientes mayores y menores de 40 años con TE en días 2, 3 y 5,6.

## Material y métodos

### Diseño de estudio y selección de pacientes

El siguiente estudio se diseñó de tipo retrospectivo, de tipo casos y controles, de 306 ciclos realizados en pacientes entre 24 y 58 años de edad, en las que se realizaron ciclos con técnicas de reproducción asistida de alta complejidad (FIV/ICSI) en la unidad de medicina reproductiva del Hospital Ángeles Pedregal, Ciudad de México; en el periodo de enero de 2015 a marzo de 2018. Se dividieron por grupos de edad en mayores de 40 años y menores de 39 años con ciclos de alta complejidad de tipo FIV/ICSI.

Las variables incluyen edad, donación de gametos (ovodonación, donación de semen y donación de embriones) tipo de ciclo (FIV, ICSI), día de transferencia embrionaria (2, 3, y 5,6), número de embriones transferidos, método de transferencia (en fresco [EF], desvitrificación [DV]) y resultado de HCG- $\beta$ .

### Protocolo de estimulación ovárica controlada

Se realizaron 306 ciclos bajo estimulación ovárica controlada. Se utilizó una combinación de agonistas de GnRH y FSH recombinante y antagonistas de GnRH y menotropinas, ambos a dosis convencional con inicio en el día 2 del ciclo menstrual.

Al momento en el que los folículos medían más de 20 mm, se administró una dosis de 10.000 U/l de HCG o 500  $\mu$ g de HCG recombinante. La captura ovular se llevó a cabo 36 h posterior a la administración de HCG. Se realizó inseminación con técnica FIV convencional o ICSI dependiendo de los parámetros seminales (TFMS).

En el caso de pacientes con la indicación de donación de óvulos o embriones, se realizó preparación endometrial con el uso de estradiol ( $E_2$ ) transdérmico a dosis creciente. Dependiendo del día de transferencia embrionaria, se administró progesterona vaginal a 800 mg al día por día del estadio embrionario designado para transferir, a partir del día de la captura.

### Selección y transferencia embrionaria

Los embriones fueron observados a las 24, 48, 72 h y en caso de blasto, 120 h posterior a la captura de ovocitos (en caso de propios). Se mantuvieron en medio de cultivo Vitrolife G-IVF<sup>TM</sup> (Vitrolife, Inc; Frölunda, Suecia): G1<sup>TM</sup>

**Tabla 1** Características de la población (propios y donados) y porcentaje de fracción- $\beta$  positiva

| Edad           | Promedio | %(N)         | HCG- $\beta$ + % (N) |
|----------------|----------|--------------|----------------------|
| $\geq 40$ años | 43,068   | 52,61 (161)  | 22,30 (36)           |
| $\leq 39$ años | 35,366   | 47,38 (145)  | 28,27 (41)           |
| 58-24          | 39,418   | 100,00 (306) | 25,16 (77)           |

HCG- $\beta$ +: gonadotropina coriónica humana, fracción- $\beta$  positiva.

los días 1 a 3. El día 3, los embriones se transfirieron al medio G2<sup>TM</sup> para los días 3 a 5. Se almacenaron en incubadora con 7,5% CO<sub>2</sub> y humedad al 90%, a una temperatura de 37 °C. En base a la calidad embrionaria se decidió el día de transferencia (2, 3, 5-6). Embriones de buena calidad, se consideraron aquellos que al día 2 contaban con 2-4 blastómeras simétricas y sin fragmentos, al día 3 entre 6-8 blastómeras simétricas y sin fragmentos y al día 5, blasto expandido (presencia de blastocelo, masa celular interna definida y trofoectodermo). Los embriones se mantenían en incubación, se realizaba una calificación embrionaria cada 24 h y de acuerdo al desarrollo y morfología se decidía el día de transferencia. En caso de ser de buena calidad, se mantenían en incubación para transferir en calidad de blasto.

El principal resultado medible fue la tasa de embarazo por grupo de edad. Esta se realizó por toma de flebotomía para medir HCG- $\beta$  positiva ( $> 5$  mU/l) 12 días posterior a la transferencia embrionaria. Se midió la tasa de embarazo bioquímico en los días de transferencia 2, 3 y 5,6. De igual forma, estos se midieron por grupo etario, ya sea mayor de 40 años o menor de 39 años.

Para el análisis estadístico, se utilizaron medidas de tendencia central, así como t de Student a dos colas para la comparación de matrices, analizado por el programa SPSS versión 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EE. UU.).

## Resultados

La población total fue de 306 ciclos, en pacientes mayores de 40 años (N=161) y menores de 39 años (N=145). De estos ciclos, 62 (20,26%) fueron realizados en día 2, 177 (57,84%) en día 3 y 68 (22,22%) en día 5,6. De las pacientes mayores de 40 años, 22,3% tuvo una HCG- $\beta$  positiva, en comparación con 28,27% de las pacientes menores de 39 años (tabla 1).

En cuanto a la donación de gametos, en la población  $>40$  años, 28,84% recibió ovodonación, 6,83% recibió donación de semen y 11,80% recibió embriodonación. En contraste, aquellas pacientes  $<39$  años, 8,9% recibió donación de ovocitos, 8,2% donación de semen y 4,1% embriodonación (tabla 2).

En cuanto a las tasas de embarazo por TE en día 2 en mayores de 40 años, a la mayoría se le realizó ciclo en fresco (74,07%). Esto es muy similar a los ciclos en fresco realizados en la población menor de 39 años, el cual fue de 74,28%. Las tasas de embarazo (determinadas por fracción- $\beta$  positiva) en pacientes menores de 39 comparadas con pacientes mayores de 40 años fueron similares: 18,51% vs. 14,28%, respectivamente; con un valor de  $P=0,332$ , no estadísticamente significativo (tabla 3).

**Tabla 2** Donación de gametos en población >40 y < 39 años

| Edad     | Promedio | N   | Ovodonación% (N) | Donación de semen% (N) | Embriodonación% (N) |
|----------|----------|-----|------------------|------------------------|---------------------|
| ≥40 años | 43,068   | 161 | 24,84 (40)       | 6,83 (11)              | 11,80 (19)          |
| ≤39 años | 35,366   | 145 | 8,96 (13)        | 8,27 (12)              | 4,13 (6)            |

**Tabla 3** Características de TE en día 2 en pacientes mayores y menores de 40 años de edad

| Edad       | Edad promedio | Día 2% (N) | Promedio de embriones transferidos | EF % (N)   | DV % (N)   | Fracción-β + % (N) |
|------------|---------------|------------|------------------------------------|------------|------------|--------------------|
| ≤39 años   | 36,314        | 24,13 (35) | 1,885                              | 74,28 (26) | 25,71 (9)  | 14,28 (5)          |
| ≥40 años   | 42,222        | 16,77 (27) | 1,963                              | 74,07 (20) | 25,92 (7)  | 18,51 (5)          |
| 24-58 años | 38,887        | 20,26 (62) | P = 0,353                          | 74,19 (46) | 25,80 (16) | P = 0,332          |

DV: transferencia por desvitrificación; EF: transferencia en fresco; TE: transferencia embrionaria.

**Tabla 4** Características de TE en día 3 en pacientes mayores y menores de 40 años de edad

| Edad       | Edad promedio | Día 3 % (N) | Promedio de embriones transferidos | EF % (N)    | DV % (N)   | Fracción-β + % (N) |
|------------|---------------|-------------|------------------------------------|-------------|------------|--------------------|
| ≤39 años   | 35,691        | 55,86 (81)  | 2,086                              | 44,44 (36)  | 55,55 (45) | 28,39 (23)         |
| ≥40 años   | 43,417        | 59,62 (96)  | 2,177                              | 70,83 (68)  | 29,16 (28) | 20,83 (20)         |
| 24-58 años | 39,881        | 57,84 (177) | P = 0,312                          | 58,75 (104) | 41,24 (73) | P = 0,249          |

DV: transferencia por desvitrificación; EF: transferencia en fresco; TE: transferencia embrionaria.

**Tabla 5** Características de TE en días 5, 6 en pacientes mayores y menores de 40 años de edad

| Edad       | Edad promedio | Día 5, 6% (N) | Promedio de embriones transferidos | EF % (N)   | DV % (N)   | Fracción-β + % (N) |
|------------|---------------|---------------|------------------------------------|------------|------------|--------------------|
| ≤39 años   | 33,310        | 20,00 (29)    | 1,793                              | 31,03 (9)  | 68,96 (20) | 44,82 (13)         |
| ≥40 años   | 42,789        | 23,60 (38)    | 1,921                              | 21,05 (8)  | 78,94 (30) | 28,94 (11)         |
| 24-58 años | 38,04         | 22,22 (68)    | P = 0,312                          | 25,37 (17) | 74,26 (50) | P = 0,184          |

DV: transferencia por desvitrificación; EF: transferencia en fresco; TE: transferencia embrionaria.

**Tabla 6** Comparación en días de TE en pacientes mayores y menores de 40 años de edad

| Edad     | Día 2Fracción-β + | P     | Día 5,6Fracción-β + | P     | Día 3Fracción-β + |
|----------|-------------------|-------|---------------------|-------|-------------------|
| ≤39 años | 14,28%            | 0,024 | 44,82%              | 0,319 | 28,39%            |
| ≥40 años | 18,51%            | 0,029 | 28,94%              | 0,161 | 20,83%            |

Las TE en día 3 en mayores de 40 años, a la mayoría se le realizó ciclo en fresco (70,83%), en contraste con las pacientes < 39 años, quienes la mayoría tuvieron ciclos por DV (55,55%). Las tasas de embarazo en pacientes menores de 39 comparadas con pacientes mayores de 40 años fueron similares: 28,39% vs. 28,83%, respectivamente; con un valor de  $P=0,249$ , no estadísticamente significativo. El promedio de transferencia de número de embriones también fue similar y no estadísticamente significativo (tabla 4).

Las TE en día 5,6 en mayores de 40 años, a la mayoría se le realizó ciclo por DV (78,94%), al igual que las pacientes < 39 años, quienes la mayoría tuvieron ciclos por DV (68,96%). Las tasas de embarazo en pacientes menores de 39

comparadas con pacientes mayores de 40 años fueron de 44,82% vs. 28,94%, respectivamente; con un valor de  $P=0,184$ , no estadísticamente significativo. El promedio de transferencia de número de embriones también fue similar y no estadísticamente significativo (tabla 5).

Por último, encontramos que en pacientes < 39 años, la TE en día 5,6 se asocia a mejores tasas de embarazo en comparación de día 2 ( $P=0,024$ ), aunque no estadísticamente significativo en comparación con día 3 ( $P=0,319$ ). En pacientes >40 años, la TE en día 5,6 se asocia a mejores tasas de embarazo en comparación del día 2 ( $P=0,029$ ), aunque no estadísticamente significativo en comparación con día 3 ( $P=0,161$ ) (tabla 6).

## Discusión

De los 306 ciclos incluidos en este estudio, se incluyeron pacientes que utilizaron donación de gametos (ovodonación, donación de semen y embriodonación) en base a que estas pacientes se someten de igual forma a una transferencia embrionaria y el día en el que se deben transferir también es una variable medible de utilidad en la toma de decisiones de la conducta clínica.

Los resultados que se presentan en este estudio muestran que no hay diferencia estadísticamente significativa en cuanto al día de transferencia en pacientes mayores de 40 y menores de 39 años con gametos propios y donados. Sin embargo, sí hay mejores tasas de embarazo al realizar la transferencia en día 5, 6; en especial cuando se compara con el día 2 de transferencia embrionaria. Sería necesario investigar el mismo estudio en pacientes sin donación de gametos, pero no sería factible evaluar las tasas de embarazo en pacientes mayores de 45 años, motivo por el cual fue necesario incluirlas en el presente estudio.

## Conclusiones

Este estudio es de importancia para los ciclos de reproducción de alta complejidad que se realizan en México, ya que auxilia en orientar la decisión de transferir en qué día; ya que se demuestra que no hay diferencia por edad en cuanto al día en el que se decida realizar la TE. Sin embargo, sí es importante mencionar que el día 5 o 6 siguen siendo los días con mejores tasas de embarazo y por lo tanto los ideales para realizar una TE, sin importar la edad de la paciente.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## Bibliografía

- Bastu, E., Celik, C., Keskin, G., Buyru, F., 2013. [Evaluation of embryo transfer time \(day 2 vs day 3\) after imposed single embryo transfer legislation: When to transfer?](#) *Journal of Obstetrics and Gynaecology* 33 (4), 387–390.
- Dar, S., Librach, C.L., Gunby, J., Bissonnette, F., Cowan, L., 2013. [Increased risk of preterm birth in singleton pregnancies after blastocyst versus Day 3 embryo transfer.](#) *Canadian ART Register analysis.* *Human Reproduction* 28 (4), 924–928.
- Fang, C., Huang, R., Li, T.T., Jia, L., Li, L.L., Lian, X.Y., 2013. [Day-2 and day-3 sequential transfer improves rate in patients with repeated IVF-embryo transfer failure: a retrospective case-control study.](#) *Reproductive Biomedicine Online* 26, 30–35.
- Li, R.R., Dong, Y.Z., Guo, Y.H., Sun, Y.P., Su, Y.C., Chen, F., 2013. [Comparative study of pregnancy outcomes between day 3 embryo transfer and day 5 blastocyst transfer in patients with progesterone elevation.](#) *Journal of International Medical Research* 41 (4), 1318–1325.
- Maxwell, S.M., Melzer-Ross, K., McCulloh, D.H., Grifo, J.A., 2015. [A comparison of pregnancy outcome between day 3 and day 5/6 embryo transfers: does day of embryo transfer really make a difference?](#) *J Assist Reprod Genet* 32, 249–254.
- Shapiro, B.S., Daneshmand, S.T., Desai, J., Garner, F.C., Aguirre, M., Hudson, C., 2016. [The risk of embryo-endometrium asynchrony increases with maternal age after ovarian stimulation and IVF.](#) *Reproductive BioMedicine Online*.
- Smith, L.P., Oskowitz, S.P., Dodge, L.E., Hacker, M.R., 2013. [Risk of ectopic pregnancy following day-5 embryo transfer compared with day-3 transfer.](#) *Reproductive Biomedicine Online* 27, 407–413.
- Xin, Z.M., Xu, B., Jin, H.X., 2012. [Day 3 embryo transfer may have better pregnancy outcomes in younger than 35-year-old patients with poor ovarian response.](#) *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 29, 1077–1081.