

Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey
Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud



“Asociación del MitoSure con tasa de embarazo en pacientes sometidas a
fertilización in vitro”

presentada por

Rodolfo José González Hovelman

para obtener el grado de

Especialidad en Ginecología y Obstetricia

Programa Multicéntrico de Especialidades Médicas

Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud - Secretaría de Salud del Estado
de Nuevo León

Monterrey, Nuevo León, 15 de noviembre de 2023

DEDICATORIA

Le dedico este trabajo a mis compañeros de residencia, a todos los maestros que influyeron en mi formación profesional y principalmente a mis padres y hermana por todo su apoyo, este logro es de ustedes.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Dra. Celina Salas por su guía y apoyo, así como a todo el personal de CREASIS, a mis maestros, mentores y a mi familia.

LISTADO DE ABREVIATURAS

TRA	Tecnologías de Reproducción Asistida
FIV	Fertilización In Vitro
ICSI	Inyección Intracitoplasmática Espermática
FSH	Hormona Foliculo Estimulante
LH	Hormona Luteinizante
GnRHa	Análogo de Hormona Liberadora de Gonadotropina
B-hCG	Gonadotropina Coriónica Humana
PGT-A	Prueba Genética de Preimplantación para la Aneuploidía
ADNmt	Àcido Desoxirribonucleico Mitocondrial

Índice

Índice de tablas	7
Resumen.....	8
Capítulo 1 – Planteamiento del problema.....	10
Capítulo 2 – Marco Teórico	14
Capítulo 3 – Metodología	24
Capítulo 4 – Resultados	35
Capítulo 5- Análisis y discusión de resultados.....	40
Capítulo 6 – Conclusión	45
Referencias.....	46
Anexos	46
Curriculum vitae del autor	53

Índice de tablas y figuras

<i>Tabla 1. Características y desenlaces de los pacientes y embriones.....</i>	35
<i>Tabla 2. Asociación entre MitoSure y embarazo bioquímico.</i>	36
<i>Tabla 3. Asociación entre MitoSure y edad materna.</i>	36
<i>Tabla 4. Asociación entre MitoSure y edad embrionaria.</i>	37
<i>Tabla 5. Tasa de embarazo bioquímica según un corte de MitoSure de 2.</i>	37
<i>Tabla 6. Tasa de embarazo bioquímica según un corte de MitoSure de 2 de acuerdo con la edad materna.....</i>	38
<i>Figura 1. Curva ROC para el rendimiento diagnóstico del MitoSure asociado con un embarazo bioquímico.....</i>	39

Resumen

Introducción: El MitoSure de un embrión es un número creado durante la prueba de ADN mitocondrial. La cantidad de ADN mitocondrial de un embrión cromosómicamente normal está relacionada con un estado de energía, que afecta la capacidad del embrión para implantarse en el útero. Algunos estudios iniciales han demostrado que un mayor contenido de ADN mitocondrial en un embrión indica un bajo nivel de energía y, por tanto, una menor probabilidad de implantación. La puntuación mitocondrial, o MitoSure, es un valor que representa el contenido de ADN mitocondrial normalizado en un embrión. El valor predictivo de esta prueba todavía se considera experimental. Sin embargo, existen discrepancias en la literatura acerca del papel predictor del MitoSure sobre la implantación del blastocisto y los desenlaces obstétricos. Existen también otras variables que pueden influir sobre los desenlaces y que pueden tener un impacto sobre el score mitocondrial, como la edad materna o el día de biopsia del blastocisto.

Objetivo: Documentar la asociación del MitoSure con la tasa de embarazo en pacientes que reciben fertilización in vitro (embarazo bioquímico).

Métodos: Se trató de un estudio transversal observacional, retrospectivo, donde se compararon las tasas de embarazo bioquímico de blastocistos euploides con índice de MitoSure mayor y menor a 2. Se incluyeron en el estudio pacientes que acudieron al Centro de Reproducción Asistida de San Pedro (CREASIS) entre septiembre de 2020 a julio de 2023 y que obtuvieron un blastocisto euploide el cual fue biopsiado en día 5 y día 6, cuyo índice de MitoSure y prueba bioquímica del embarazo eran conocidas y se encontraban consignadas en el expediente clínico de la paciente.

En este estudio, un criterio de selección es que el MitoSure de los blastocistos transferidos a la paciente fueran conocidos, por ende, todos los blastocistos incluidos en este estudio fueron analizados utilizando un kit de PGT-A de Progenesis. Se documentaron variables obstétricas y perinatales asociadas con el procedimiento de biología de la reproducción y reproducción asistida que se lleva a cabo. Los datos más importantes para el estudio fueron la edad materna, el MitoSure y los desenlaces obstétricos, principalmente, el embarazo bioquímico, variable que se operacionaliza más adelante.

Resultados: Se incluyeron 158 pacientes, 51.3% con edad igual o mayor a 35 años. La edad embrionaria fue de 5 días en 115 (72.8%) y 6 días en 43 (27.2%). Se presentó un embarazo bioquímico en 90 (57%) pacientes. La mediana de MitoSure fue de 1.26 (0.9-1.76). Se encontró de manera significativa un menor MitoSure en pacientes que presentaron un embarazo bioquímico (1.17 vs. 1.44, $P=0.018$). Hubo una tendencia a mayor puntaje de MitoSure asociado con menor edad embrionaria, aunque no se demostró estadísticamente (1.4 vs. 1.04, $P=0.055$) y no se asoció con la edad materna. Se encontró mayor tasa de embarazo en pacientes con MitoSure menor a 2 (63.8% vs. 29%, $P<0.001$). Se encontró el mismo hallazgo en blastocistos con una edad de 5 días (62.2% vs. 32%, $P=0.007$) y de 6 días (67.6% vs. 16.7%, $P=0.028$). Un puntaje de 2 tuvo una sensibilidad de 32.4% y especificidad de 22.4% para la presencia de embarazo bioquímico.

Conclusión: Como conclusión, encontramos en nuestro estudio que un mayor puntaje de MitoSure se asoció con la ausencia de embarazo bioquímico, mientras que un puntaje más bajo se asoció con mayor tasa de embarazo bioquímico.

Capítulo 1 – Planteamiento del problema

La infertilidad entre las parejas es un problema importante hoy en día. Se ha reportado que una de cada siete parejas tiende a ser infértil (1), y una encuesta reciente estimó que alrededor de 48.5 millones de parejas se vieron afectadas por la infertilidad en los últimos años (2).

La fertilización in vitro (FIV) es un método popular para tratar a parejas infértiles. La FIV es un complejo procedimiento de reproducción médicamente asistida que ha ido mejorando desde el primer embarazo logrado mediante este método en 1979 (3). El procedimiento de FIV se ejecuta en los siguientes pasos: se recolectan ovocitos y espermatozoides de las parejas por separado para la fertilización, se fertilizan espermatozoides y ovocitos in vitro, se siguen metodologías de fertilización asistida, por ejemplo, se lleva a cabo la inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), se transfiere el embrión al útero de la mujer, se espera 2 semanas y se hace una prueba de embarazo (4).

En la práctica del tratamiento de FIV, a menudo se aplica la regla general de que la recolección de más de un ovocito para la fertilización puede dar como resultado una mayor tasa de éxito de la fertilización. Para obtener múltiples ovocitos sanos, a menudo se recetan estimulantes ovulatorios como la hormona folículo estimulante (FSH), el clomifeno y el análogo de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) (3,4).

Aunque el tratamiento de FIV ha transcurrido más de 30 años desde su invención, según los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de Estados Unidos (CDC), la tasa general de embarazo varía principalmente entre el 25 y el 35% (3). Hay una serie de factores que influyen en el resultado del embarazo en las pacientes de FIV, como la edad, el nivel de la hormona luteinizante (LH) y el nivel de FSH. Es necesario considerar todos los factores que influyen para brindar un asesoramiento óptimo e informado en relación con el caso individual de una pareja al iniciar un tratamiento de FIV (5).

La falta de métodos eficaces para pronosticar parejas infértiles podría ser una de las razones de una tasa de éxito tan baja. Algunos estudios han intentado diseñar modelos óptimos de toma de decisiones utilizando datos de los registros de pacientes de FIV (6,7). Estos modelos sofisticados identificarían los factores contribuyentes y sus impactos, y extraerían la tendencia en el tratamiento de FIV que de otro modo pasaría desapercibida para los médicos y clínicos. El conocimiento adquirido con dichos modelos ayudará a los médicos a diseñar planes de tratamiento para aumentar la tasa de éxito de cada pareja infértil. Sin embargo, los estudios existentes en la literatura consideraron sólo un número limitado y fijo de atributos para predecir el resultado del embarazo (3). Para un análisis eficaz y asesoramiento al paciente, se requiere un método automatizado que prediga las parejas infértiles mediante el análisis de los factores (atributos), por ejemplo, FSH, calidad del espermatozoides, tasa de fertilización, tasa de escisión, calidad del embrión y número de embriones transferidos (4).

Una de las claves para maximizar la eficiencia de la fertilización in vitro es la determinación de qué embriones tienen mayor probabilidad de implantación. Este es el propósito de la evaluación morfológica, la evaluación en intervalos de tiempo del crecimiento embrionario e incluso las pruebas genéticas previas a la implantación para detectar aneuploidías (PGT-A) (8).

Algunos autores han sugerido que la cuantificación del ácido desoxirribonucleico mitocondrial (ADNmt) tiene un buen valor predictivo del potencial de implantación (9,10). En uno de estos informes, los investigadores identificaron un valor límite de ADNmt que predijo un 0% de implantaciones (10). Este es un hallazgo notable, pero lo que es aún más notable es que se encontró que mayores cantidades de ADNmt estaban asociadas con un menor potencial de implantación. Estos hallazgos parecen contradecir la observación previamente informada de que una mayor actividad metabólica del embrión se correlaciona con un mejor potencial de implantación (11). Esto se considera lógico considerando la premisa de que los embriones que se desarrollan más rápido tienen más probabilidades de tener un mayor potencial de implantación y una mayor actividad metabólica. Si una mayor actividad metabólica se asocia con mayores tasas de implantación y si las mitocondrias son responsables del metabolismo, entonces se debería esperar que más, en lugar de menos, mitocondrias (medidas mediante la cuantificación del ADNmt) sean beneficiosas. Además, la alta variabilidad en las mediciones del ADNmt parece contradecir la observación de que la replicación mitocondrial no comienza hasta después de la implantación (12). Por este motivo, vale la pena llevar a cabo estudios que permitan delimitar la relación que existe entre scores mitocondriales como el MitoSure, sobre la tasa de implantación y embarazo, así como asociarlo con otras variables que pueden influir, como la edad o el día de la toma de biopsia del blastocisto.

Objetivos e hipótesis de la investigación

Objetivo Principal

- Documentar la asociación del MitoSure con la tasa de embarazo en pacientes que reciben fertilización in vitro (embarazo bioquímico).

Objetivos Secundarios

- Comparar el índice de MitoSure en blastocistos euploides biopsiados en día 5 y día 6
- Comparar el índice de MitoSure en blastocistos euploides según la edad de la paciente
- Comparar la tasa de embarazo bioquímico en blastocistos euploides biopsiados en día 5 con índice de MitoSure mayor y menor a 2
- Comparar la tasa de embarazo bioquímico en blastocistos euploides biopsiados en día 6 con índice de MitoSure mayor y menor a 2

Hipótesis

- Hipótesis alterna: Los blastocistos con MitoSure menor a 2 presentan una tasa de embarazo bioquímico mayor los blastocistos con MitoSure mayor a 2.
- Hipótesis nula: Los blastocistos con MitoSure menor a 2 presentan una tasa de embarazo bioquímico igual o menor que los blastocistos con MitoSure mayor a 2.

Capítulo 2 – Marco Teórico

Antecedentes

Las técnicas que implican la manipulación de ovocitos fuera del cuerpo se denominan tecnología de reproducción asistida (ART), siendo la fertilización in vitro (FIV) la forma más común. El término "in vitro" significa fuera de un organismo vivo, ya que los ovocitos maduran in vivo en el ovario y los embriones se desarrollan hasta convertirse en embarazo en el útero, pero los ovocitos se fertilizan en una placa de Petri. Robert Edwards y Patrick Steptoe reportaron el primer nacimiento vivo mediante FIV en julio de 1978 en Inglaterra. Este logro le valió posteriormente al Dr. Edwards el Premio Nobel de Medicina en 2010 (13).

Desde este importante avance en el tratamiento de la infertilidad, el campo de la endocrinología reproductiva/infertilidad ha progresado rápidamente, y la FIV ahora representa el 1.6% y el 4.5% de todos los nacimientos vivos en los Estados Unidos y Europa, respectivamente (14). Inicialmente desarrollada como una forma de evitar la enfermedad tubárica irreparable, la FIV ahora se aplica ampliamente para el tratamiento de la infertilidad debida a una variedad de causas, incluida la endometriosis, el factor masculino y la infertilidad inexplicable. Las mujeres que no pueden utilizar sus propios ovocitos debido a una insuficiencia ovárica primaria o una disminución del número de ovocitos relacionada con la edad ahora pueden quedar embarazadas con éxito utilizando la FIV con ovocitos de donantes (14).

Aproximadamente entre el 25% y el 35% de las mujeres infértiles padecen enfermedad tuboperitoneal, siendo la enfermedad inflamatoria pélvica la causa más común de daño tubárico (15). La enfermedad inflamatoria pélvica suele ser el resultado de infecciones por *Chlamydia trachomatis*. Las infecciones bacterianas pueden provocar oclusión tubárica o adherencias peritubulares que hacen improbable la fertilización in vivo. La FIV evita el daño tubárico transfiriendo embriones directamente al útero (16).

La endometriosis, una enfermedad inflamatoria crónica definida por la presencia de tejido endometrial fuera de la cavidad uterina, es significativamente más prevalente en mujeres con infertilidad en comparación con aquellas que no la tienen (17). Los mecanismos por los que la endometriosis causa infertilidad aún no se comprenden completamente, pero se ha demostrado que en mujeres con endometriosis se han descrito adherencias pélvicas, inflamación intraperitoneal crónica, alteraciones de la foliculogénesis y disminución de la implantación de embriones. Se ha descubierto que la cirugía laparoscópica aumenta la tasa de embarazo del 4.7% al 30.7%, lo que indica la importancia de restaurar la anatomía pélvica normal para un embarazo espontáneo. Desafortunadamente, las mujeres con endometriosis tienen una tasa de éxito significativamente menor con la FIV en comparación con otras causas de infertilidad, y una enfermedad más avanzada se correlaciona con resultados inferiores (18).

La mala calidad del semen es la única causa de infertilidad en el 20% de las parejas y contribuye a los problemas de fertilidad en otro 20%. La disminución del recuento, la motilidad o la morfología (forma de los espermatozoides) de los espermatozoides se puede tratar con éxito

médica o quirúrgicamente en aproximadamente el 50% de los hombres. La inseminación intrauterina también puede aumentar las tasas de embarazo en parejas en las que el hombre tiene una cantidad baja de espermatozoides móviles. Si dichos tratamientos fallan, se puede utilizar la FIV con o sin inyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI). Los espermatozoides extraídos del testículo o epidídimo en casos de azoospermia obstructiva o hipofunción testicular sólo pueden utilizarse en un ciclo de FIV con ICSI ya que los espermatozoides no han pasado por el proceso final de maduración in vivo que les permita fecundar un ovocito (17).

Las mujeres que no pueden producir sus propios ovocitos debido a insuficiencia ovárica prematura o a una reserva ovárica disminuida pueden quedar embarazadas con ovocitos o embriones de donante. La FIV no puede superar el impacto de la edad en la función y la fertilización de los ovocitos, por lo que muchas mujeres de 30 años o más utilizarán ovocitos de donantes. Estos ovocitos se han extraído de una mujer más joven (normalmente de menos de 30 años) y se congelan para uso futuro o se utilizan en un ciclo de FIV en fresco (17).

La FIV también se utiliza en mujeres que desean preservar su fertilidad. Las mujeres con cáncer u otras enfermedades pueden necesitar someterse a tratamientos gonadotóxicos que suponen una amenaza para la función ovárica. Estas mujeres pueden criopreservar ovocitos o embriones antes de la quimioterapia o la radiación, que luego pueden transferirse en el futuro (18).

La criopreservación de ovocitos también es una opción viable para las mujeres que desean retrasar la maternidad. Está bien establecido que la fertilidad de las mujeres disminuye

drásticamente en la cuarta década de la vida. Esta caída en la fecundabilidad es el resultado de una disminución tanto en la cantidad como en la calidad de los ovocitos. Las mujeres que no estén interesadas en quedar embarazadas en un futuro próximo pueden criopreservar los ovocitos para utilizarlos en el futuro (19).

El ciclo de FIV comienza con la estimulación ovárica. Se han utilizado múltiples protocolos, incluida la ausencia de estimulación a diversos niveles de estimulación ovárica utilizando citrato de clomifeno, letrozol y gonadotropinas exógenas (FSH y LH). En los ciclos de FIV, se utilizan análogos de la GnRH para eliminar el aumento de LH de la mujer, lo que permite a los médicos cronometrar la recuperación de los ovocitos. El crecimiento folicular se controla mediante ecografía transvaginal y los niveles sanguíneos de E2 ayudan a determinar cualquier cambio indicado en el protocolo de estimulación (20).

En la FIV de ciclo natural, el ovocito se recupera antes de que se produzca el pico de LH a mitad del ciclo, o se utiliza un antagonista de GnRH para prevenir la liberación de LH. Cuando el folículo principal alcanza un tamaño maduro, se administra gonadotropina coriónica humana (hCG) como sustituto del aumento de LH. La tasa de embarazo es de aproximadamente el 8% por ciclo con una tasa acumulativa del 21% después de tres ciclos, con tasas de hasta el 44% en parejas con infertilidad por factor masculino. La FIV de ciclo natural no se realiza comúnmente debido a la tasa más baja de embarazo clínico (21).

La estimulación ovárica se realiza en la gran mayoría de los ciclos de FIV, de modo que se recuperan aproximadamente de 10 a 20 ovocitos. Hay dos protocolos principales; agonista lúteo largo de GnRH o un ciclo de antagonista de GnRH. El protocolo agonista lúteo largo de GnRH comienza con la administración de 0.1 mg de agonista de GnRH al día a partir del día 21 del ciclo del mes anterior. Esto desactiva la secreción hipofisaria de LH (y FSH) durante la estimulación ovárica, y el agonista de GnRH continúa hasta la inyección de hCG. Las gonadotropinas se inyectan en dosis que oscilan entre 75 y 450 UI diarias a partir del día 2 del ciclo con ajustes de dosis según el desarrollo folicular y los niveles de estradiol. La inyección de hCG se administra cuando al menos tres folículos alcanzan un tamaño de 18 mm. El protocolo del antagonista de GnRH implica la administración de gonadotropinas diarias (75 a 450 UI) a partir del día 2 o 3 del ciclo. El antagonista de GnRH se inicia para bloquear el pico endógeno de LH cuando el diámetro folicular principal alcanza los 14 mm o en el sexto día de gestación ovárica. Cuando alcanzan al menos tres folículos, se administra el disparo de hCG. El protocolo de estimulación mínima utiliza citrato de clomifeno, un modulador selectivo del receptor de estrógeno o letrozol, un inhibidor de la aromataasa, con o sin gonadotropinas. Al disminuir o eliminar la estimulación con gonadotropinas, se reduce el coste para la pareja. El protocolo de estimulación mínima está ganando más apoyo a medida que los estudios han encontrado que, si bien la tasa de nacidos vivos disminuye ligeramente en comparación con el protocolo largo de agonista de GnRH (49% frente a 63%), hay tasas significativamente más bajas de síndrome de hiperestimulación ovárica y embarazos múltiples (22,23).

Independientemente del protocolo de estimulación, los ovocitos maduros se recuperan entre 34 y 36 horas después de la administración de hCG. La recuperación de ovocitos se realiza

mediante aspiración transvaginal guiada por ecografía y sedación intravenosa. Los ovarios se visualizan mediante una sonda de ultrasonido vaginal y una guía de aguja adjunta ayuda al médico a dirigir la aguja hacia cada folículo y aspirar el ovocito y el líquido folicular. La inseminación o ICSI se utiliza para fertilizar los ovocitos. La muestra de semen se prepara aislando los espermatozoides mediante centrifugación de densidad y lavándolos en medios con una alta concentración de proteínas para promover la capacitación, proceso necesario para que los espermatozoides se vuelvan fertilizables. Se incuban de cincuenta a cien mil espermatozoides con un ovocito durante 12 a 18 horas. La infertilidad por factor masculino puede requerir ICSI, donde un espermatozoide inmovilizado se inyecta directamente en el ovocito. Esto evita la necesidad de que los espermatozoides penetren en la zona pelúcida, la matriz glicoproteica que rodea al ovocito (20).

Los embriones fertilizados se transfieren en la etapa de escisión (3 días después de la fertilización) o en la etapa de blastocisto (5 días después de la fertilización). La transferencia en etapa de blastocisto ofrece mayor número de nacimientos vivos por ciclo y se logra con un menor número de embriones y, por lo tanto, tasas más bajas de gestación múltiple (24). Sin embargo, la desventaja de la transferencia en etapa de blastocisto es que puede haber menos embriones disponibles para la transferencia debido a la pérdida de embriones que no sobrevivieron en cultivo hasta el día 5. Los embriones se transfieren bajo guía ecográfica transabdominal al útero mediante un catéter que pasa a través del cuello uterino. Los embriones se colocan a 1 o 2 cm del fondo uterino. Después de la transferencia, el catéter se revisa bajo el microscopio para garantizar que no queden embriones retenidos en el catéter y que todos los embriones se hayan colocado

exitosamente en el útero. La cantidad de embriones transferidos dependerá del estadio del embrión, la calidad del embrión, la edad materna y la preferencia de la paciente (24).

La Sociedad Estadounidense de Medicina Reproductiva recomienda no transferir más de dos blastocistos en mujeres de 37 años o menos, no más de tres blastocistos en mujeres de 38 a 40 años y en mujeres de 41 a 42 años. Se puede transferir una mayor cantidad de embriones en etapa de escisión debido a la menor probabilidad de implantación exitosa; no más de dos embriones en mujeres menores de 35 años, no más de tres embriones en mujeres de 35 a 37 años, no más de cuatro embriones en mujeres de 38 a 40 años y en mujeres de 41 a 42 años, cinco o menos embriones. Para optimizar la implantación del embrión y la continuación del embarazo, la suplementación con progesterona se inicia el día de la extracción de ovocitos o de la transferencia de embriones. Los embriones sobrantes de buena calidad se criopreservan para uso futuro (25).

Un porcentaje significativo de embriones morfológica y cromosómicamente normales no logran implantarse. Un factor importante que contribuye a la viabilidad del embrión es un suministro adecuado de energía. La mayor parte de la energía celular se deriva de las mitocondrias, y aunque el contenido de ADNmt y la síntesis de trifosfato de adenosina (ATP) están bien correlacionados en las células somáticas, este no es el caso de los ovocitos y los embriones. La función de las mitocondrias en el desarrollo humano temprano se ha convertido recientemente en tema de varios estudios clínicos y básicos (26). Sin embargo, hasta la fecha, todos los análisis del contenido mitocondrial de los ovocitos en términos de número de copias de ADNmt se han basado en la premisa de que el ovocito contiene sólo uno o dos genomas (27).

El ADN mitocondrial se acumula en el ovocito maduro y se expande de 10 copias por célula germinal primordial a 105 copias en la etapa de metafase II (28). Basándose en modelos de ratón, se ha alegado que no se produce ninguna replicación adicional del ADNmt entre la fertilización y las primeras etapas posteriores a la implantación (7).

Como resultado, la cantidad total de ADNmt debe dividirse entre las células durante la división embrionaria y, por lo tanto, para el día 6 de desarrollo cada célula embrionaria debe contener muy pocas copias de ADNmt. La enorme cantidad de ADNmt almacenado en el ovocito y el hecho de que no se replica antes de la implantación, han llevado a la creencia generalizada de que el contenido de ADNmt en los ovocitos se correlaciona positivamente tanto con la fertilización como con la viabilidad del embrión, lo que significa que podría usarse como potencial biomarcador (29-31).

En humanos y otras especies de mamíferos, la evidencia acumulada sugiere que existe una relación entre el contenido de ADNmt de los ovocitos y el éxito de la fertilización, conectando así el contenido de ADNmt en ovocitos no fertilizados con el fracaso de la fertilización (30,32,33). Estos estudios no pueden concluir si un número menor de copias de ADNmt es la causa o el efecto del fracaso de la fertilización. Otros estudios han demostrado que esta relación no es tan directa como se indicó anteriormente, lo que sugiere que ni el número de copias del ADNmt ni los rangos de cantidades de ADNmt son diferentes entre embriones viables y no viables (34,35).

Justificación

Existe una tendencia hacia un desempeño totalmente automatizado de la FIV apuntando a la suma de sus aspectos funcionales, desde la evaluación de la pareja subfétil hasta los procedimientos embriológicos e intervenciones médicas. En este contexto, se han propuesto varias tecnologías y, aunque todavía no están completamente establecidas como enfoques confiables en el manejo clínico de la infertilidad, el interés está creciendo rápidamente. Por ejemplo, Meseguer et al. recientemente describieron la automatización del proceso de FIV y más concretamente en la selección de espermatozoides, manipulación de ovocitos y selección de medios de cultivo y embriones a transferir (36). En general, se acepta que, aparte de las tecnologías embriológicas en desarrollo, la predicción del resultado de la FIV sería el segundo logro más importante en reproducción asistida, detrás de un ciclo de FIV exitoso que dé como resultado un nacimiento vivo. Desde 1986 se han propuesto numerosos métodos en un intento de desarrollar un sistema funcional. Los métodos estadísticos más recientes y otras técnicas más nuevas han contribuido de manera significativa (37-39).

Un MitoSure de un embrión es un número creado durante la prueba de ADN mitocondrial. Las mitocondrias son estructuras dentro de las células que desempeñan un papel esencial en la producción de energía. Tienen su propio ADN, conocido como ADN mitocondrial. La cantidad de ADN mitocondrial de un embrión cromosómicamente normal está relacionada con un estado de energía, que afecta la capacidad del embrión para implantarse en el útero. Se requiere la función

mitocondrial, la expresión de genes de ADN mitocondrial y la energía para sufrir las divisiones celulares necesarias para formar un embrión de alta calidad. Algunos estudios iniciales han demostrado que un mayor contenido de ADN mitocondrial en un embrión indica un bajo nivel de energía y, por tanto, una menor probabilidad de implantación. La puntuación mitocondrial, o MitoSure, es un valor que representa el contenido de ADN mitocondrial normalizado en un embrión. El valor predictivo de esta prueba todavía se considera experimental.

Progenesis es el laboratorio que desarrolló MitoSure como biomarcador potencial para la selección de blastocistos en FIV. Grandes cantidades de mtDNA pueden ser un indicador de retraso en el desarrollo y fallo en la implantación. Progenesis propone que un contenido mitocondrial alto se define como una puntuación de MitoSure superior a 2. Estos blastocistos con un contenido mitocondrial alto tardan en promedio 12.45 horas más en desarrollarse que aquellos con una puntuación de MitoSure menor a 2 y un contenido mitocondrial más bajo está asociado con euploidía y blastulación. (57)

Existen discrepancias en la literatura acerca del papel predictor del MitoSure sobre los desenlaces obstétricos. Existen también otras variables que pueden influir sobre los desenlaces y que pueden tener un impacto sobre el score mitocondrial, como la edad materna o el día de biopsia del blastocisto. Debido a ello, se requieren más estudios que delimiten el papel de esta herramienta, en el contexto de otras variables que pueden influir también sobre los desenlaces obstétricos, con la finalidad de utilizarlas en la práctica durante la toma de decisiones, así como el manejo médico-obstétrico que se ofrece a las pacientes.

Capítulo 3 – Metodología

Diseño del estudio

Se trató de un estudio de transversal observacional, retrospectivo, donde se compararán las tasas de embarazo bioquímico de blastocistos euploides con índice de MitoSure mayor y menor a 2.

Clasificación del estudio:	Original.
Tipo de investigación:	Observacional.
Tipo de análisis:	Comparativo.
Con relación al tiempo:	Transversal, retrospectivo.
Papel del investigador:	No-experimental.

Metodología del estudio

Descripción de la población

Se incluyeron en el estudio pacientes que acudieron al Centro de Reproducción Asistida de San Pedro (CREASIS) entre septiembre de 2020 a julio de 2023 y que obtuvieron un blastocisto euploide el cual fue biopsiado en día 5 y día 6, cuyo índice de MitoSure y prueba bioquímica del embarazo eran conocidas y se encontraban consignadas en el expediente clínico de la paciente.

Lugar donde se realizó el estudio

Centro de Reproducción Asistida de San Pedro (CREASIS)

Tamaño de la muestra y selección de los participantes

Para motivo de este estudio, se incluyeron todos las pacientes y sus respectivos embriones que cumplieron los criterios de selección de septiembre de 2020 a julio de 2023. Se recabó la información de 158 pacientes en la que se realizó una transferencia embrionaria de blastocistos euploides biopsiados en día 5 y día 6 y estudiados mediante PGT-A y obtenidos mediante FIV/ICSI en el Centro de Reproducción Asistida de San Pedro de Septiembre de 2020 a Julio de 2023 y cuyos resultados se encontraban consignados en el expediente clínico.

Obtención de la información

Se obtuvo la información del expediente clínico del paciente. Se documentaron variables obstétricas y perinatales asociadas con el procedimiento de biología de la reproducción y reproducción asistida que se lleva a cabo. Los datos más importantes para el estudio fueron la edad materna, el MitoSure y los desenlaces obstétricos, principalmente, el embarazo bioquímico, variable que se operacionaliza más adelante.

Instrumento de recolección de datos

Se utilizó el programa Microsoft Excel 2020 para la toma y recolección de datos.

Criterios de selección

Criterios de inclusión

- Expedientes con información de embriones tomados de pacientes sometidas a transferencia embrionaria de blastocistos obtenidos por FIV/ICSI
- Embriones de biopsiados en día 5 y día 6
- Pacientes en las que se haya calculado o se pueda calcular el MitoSure
- Paciente que hayan autorizado el uso información del expediente clínico con fines de investigación del Centro de Reproducción Asistida de San Pedro (CREASIS).
- Pacientes que hayan firmado el consentimiento informado autorizando el uso de su información para esta investigación

Criterios de exclusión

- Pacientes cuya prueba cuantitativa de hCG no haya sido realizada en el Centro de Reproducción Asistida de San Pedro (CREASIS).
- Embriones de pacientes sometidos a pruebas genéticas de implantación por reordenamientos cromosómicas estructurales (PGT-SR) ó enfermedades monogénicas (PGT-M).
- Embriones con resultados de aneuploidía obtenidos en el estudio de PGT-A.
- Pacientes que no cuenten con consentimiento informado autorizando el uso de datos con fines académicos y de investigación médica.

Definición de variables

Información General				
Variable	Definición conceptual	Definición Operacional	Escala de Medición	Valor
Edad materna	La edad materna avanzada, en un sentido amplio, es el caso de una mujer que se encuentra en una etapa de reproducción de mayor edad, aunque existen varias definiciones de edad y etapa de reproducción específicas.	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el momento de consulta	Numérica	Continua en años
Día de biopsia de blastocisto	La biopsia de blastocisto es un método de disección de	Día en el cual el blastocisto fue biopsiado	Categórica dicotómica	Día 5 Día 6

	<p>células de trofoblasto (TE) de blastocistos, que generalmente se realiza el día 5 o 6.</p>			
MitoSure	<p>MitoSure es un biomarcador mitocondrial desarrollado por Progenesis que nos da un indicador del estado energético de un embrión. MitoSure nos permite seleccionar aquellos embriones con mayores probabilidades de</p>	<p>Puntaje de score mitocondrial calculado.</p>	<p>Cuantitativa continua</p>	<p>Numérico</p>

	implantación y, por tanto, con mayor probabilidad de resultar en un embarazo viable mediante FIV/PGS.			
Embarazo bioquímico por B-HCG cualitativa	Un embarazo bioquímico, también conocido como embarazo químico, es un aborto espontáneo muy temprano que ocurre cuando un embrión deja de desarrollarse antes de la quinta semana de gestación, aproximadamente	Biomarcador para identificar embarazo bioquímico. Se documentará si tuvo resultado positivo o negativo.	Cuantitativa continua	0 = No 1 = Sí

	al mismo tiempo que la mujer espera su período menstrual.			
Ploidía embrionaria	El estado de ploidía se evalúa mediante pruebas genéticas previas a la implantación para detectar aneuploidía (PGT-A), que especifican con precisión el número de cromosomas en las células embrionarias de las que se realiza una biopsia.	Se documentaría el tipo de ploidía embrionaria detectada por PGT-A	Categórica nominal	Euploide Aneuploide Mosaico No determinado

Manejo de datos

Los datos fueron obtenidos y manejados sólo por parte de los investigadores de los estudios. Se buscó la mayor confidencialidad posible de los datos. No se recopilaron datos identificadores del paciente, como nombre, registro, dirección, correo electrónico, teléfono, entre otros. A cada embrión y paciente se le asignó un folio único para la identificación de cada caso incluido en el estudio. Los datos fueron manejados en una base de datos de Excel 2020 de Microsoft Office.

Análisis estadístico

La distribución de las variables continuas fue explorada con la prueba de Kolmogorov-Smirnov, las variables paramétricas fueron descritas con medias y desviación estándar, las variables no paramétricas fueron descritas con medianas y rangos intercuartiles. Las variables categóricas fueron descritas con frecuencias y porcentajes. Se realizó la comparación de las variables cualitativas por medio de una prueba de chi cuadrada de Pearson o test exacto de Fisher. Las variables cuantitativas se compararon con la prueba de t de Student para muestras independientes o Mann-Whitney, de acuerdo con el tipo de distribución de las variables. La recolección de datos se realizó en una base de datos MS Excel 2020. El análisis estadístico se realizó en el paquete estadístico SPSS versión 25.

Aspectos éticos

Clasificación de la investigación.

De acuerdo con el Reglamento de la ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, en su título segundo, capítulo I, Artículo 17, Sección I, este trabajo se consideró una investigación sin riesgo, debido a su naturaleza retrospectiva.

Revisión por Comité de Ética

El equipo de investigación se comprometió a tener el protocolo actualizados y con la aprobación del comité de ética antes de llevar a cabo el estudio.

Conducta ética en el estudio

El equipo de investigación se rigió mediante la Declaración de Helsinki, promulgada por la Asociación Médica Mundial. Se tomaron los principios éticos de la mencionada declaración como base y fundamento en el diseño y aplicación del presente estudio. Los principios de respeto y autodeterminación forman los pilares éticos de nuestro protocolo.

Riesgos previsibles y probables

Ninguno.

Archivo confidencial de la investigación

La información recabada de cada participante encuestado fue guardada en un archivo de Excel encriptado, teniendo acceso a ellos solamente el personal investigador. Esto se estipuló en el apartado de “Manejo de datos”.

Diseminación de Datos y Publicación

Al tener los resultados del estudio, se pudieron compartir los datos a las personas interesadas y se buscará divulgar la información por medio de una tesis para obtención de grado de especialidad, en algún trabajo para congreso científico médico, y como una publicación científica.

Capítulo 4 – Resultados

Se incluyeron a un total de 158 pacientes, que tuvieron una media de 34.5 ± 3.9 años. Del total de las madres, 77 (48.7%) tuvieron una edad menor a 35 años y el resto (51.3%) una edad igual o mayor a 35 años. La edad embrionaria fue de 5 días en 115 (72.8%) y 6 días en 43 (27.2%). Se presentó un embarazo bioquímico (por gonadotropina coriónica humana) en 90 (57%) pacientes. La mediana de MitoSure fue de 1.26 (0.9-1.76) (Tabla 1).

Tabla 1. Características y desenlaces de los pacientes y embriones.

Variable	
Edad materna (años)	34.5 ± 3.9
<35 años	77 (48.7%)
≥35 años	81 (51.3%)
Edad embrionaria	-
5 días	115 (72.8%)
6 días	43 (27.2%)
Embarazo bioquímico	-
Sí	90 (57%)
No	68 (43%)
MitoSure	1.26 (0.9-1.76)

Se encontró de manera significativa un menor MitoSure en pacientes que presentaron un embarazo bioquímico (1.17 vs. 1.44, P=0.018) (Tabla 2).

Tabla 2. Asociación entre MitoSure y embarazo bioquímico.

Variable	Embarazo bioquímico		P
	Sí	No	
MitoSure	1.17 (0.9-1.53)	1.44 (0.91-2.16)	0.018

No se encontró una asociación entre el MitoSure y la edad materna (Tabla 3).

Tabla 3. Asociación entre MitoSure y edad materna.

Variable	Edad materna		P
	<35 años	≥35 años	
MitoSure	1.4 (0.9-1.85)	1.17 (0.9-1.71)	0.456

Hubo una tendencia a mayor puntaje de MitoSure asociado con menor edad embrionaria, aunque no se demostró estadísticamente (1.4 vs. 1.04, P=0.055) (Tabla 4).

Tabla 4. Asociación entre MitoSure y edad embrionaria.

Variable	Edad embrionaria		P
	5 días	6 días	
MitoSure	1.4 (0.93-1.85)	1.04 (0.77-1.67)	0.055

Se realizó un análisis de un corte de MitoSure de 2 con la tasa de embarazo. Se encontró mayor tasa de embarazo en pacientes con MitoSure menor a 2 (63.8% vs. 29%, P<0.001). Se encontró el mismo hallazgo en blastocistos con una edad de 5 días (62.2% vs. 32%, P=0.007) y de 6 días (67.6% vs. 16.7%, P=0.028) (Tabla 5).

Tabla 5. Tasa de embarazo bioquímica según un corte de MitoSure de 2.

Variable	MitoSure		P
	>2	<2	
Tasa de embarazo bioquímico	-		
Global	9 (29%)	81 (63.8%)	<0.001
Blastocistos biopsiados día 5	8 (32%)	56 (62.2%)	0.007
Blastocistos biopsiados día 6	1 (16.7%)	25 (67.6%)	0.028

Al momento de comparar la tasa de embarazo por corte de MitoSure de 2 con la edad materna, no encontramos una asociación estadísticamente significativa con las pacientes con edad menor a 35 años, pero si fue significativo en pacientes con una edad igual o mayor a 35 años, con un MitoSure menor a 2 asociado con mayor tasa de embarazo (68.8% vs. 17.6%, $P < 0.001$) (Tabla 6).

Tabla 6. Tasa de embarazo bioquímica según un corte de MitoSure de 2 de acuerdo con la edad materna.

Variable	MitoSure		P
	>2	<2	
Tasa de embarazo bioquímico	-		
Edad materna <35 años	6 (42.9%)	37 (58.7%)	0.216
Edad materna \geq 35 años	3 (17.6%)	44 (68.8%)	<0.001

Se realizó un análisis por curvas ROC para valorar el rendimiento diagnóstico del MitoSure para el desarrollo de embarazo bioquímico, presentando un área bajo la curva de 0.615 (IC 95% 0.522-0.707; P=0.014), lo que se traduce a una prueba con rendimiento aceptable, pero no muy bueno. Un puntaje de 2 tuvo una sensibilidad de 32.4% y especificidad de 22.4% para la presencia de embarazo bioquímico.

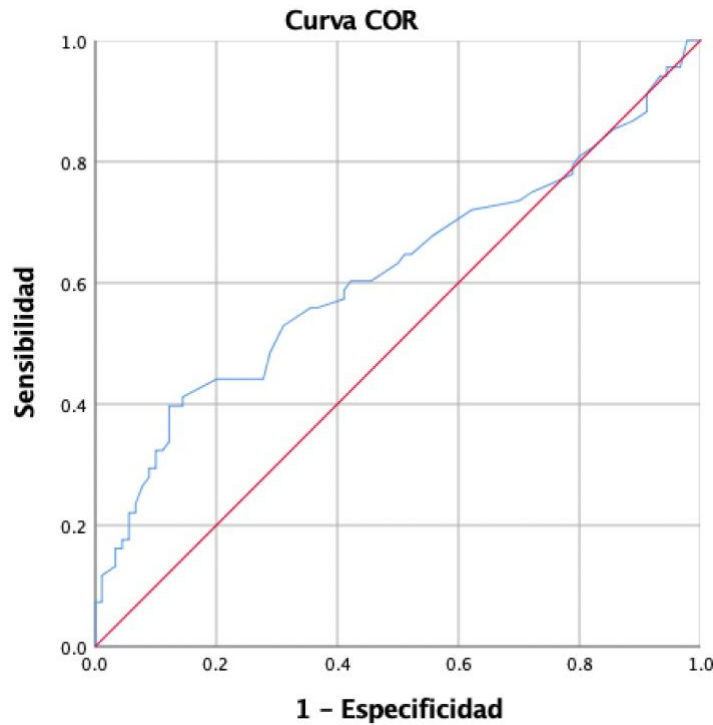


Figura 1. Curva ROC para el rendimiento diagnóstico del MitoSure asociado con un embarazo bioquímico.

Capítulo 5- Análisis y discusión de los resultados

Durante una biopsia de trofotodermo, los núcleos y las células individuales no son visibles. El embriólogo que realiza la biopsia puede controlar la cantidad total de citoplasma que se extrae del embrión, pero sólo puede estimar el número total de células de la biopsia. Un embrión que se desarrolla más rápido contiene más células (más pequeñas), y uno que se desarrolla más lentamente contiene menos células (más grandes). Por lo tanto, biopsias del mismo tamaño en diferentes embriones contienen diferentes números de células y diferentes números de copias de ADN nuclear. Una biopsia puede contener 5 células, mientras que una biopsia del mismo tamaño en un blastocisto con blastómeros más pequeños puede contener 10 células. Incluso si el tamaño total de la biopsia es el mismo y el contenido de ADN mitocondrial es el mismo, la proporción de ADN mitocondrial a ADN nuclear será, no obstante, dos veces mayor en la biopsia con 5 células, en lugar de 10 células. Los embriones con una tasa de escisión celular más rápida tienen células más pequeñas, más copias de ADN nuclear y una proporción más baja de ADN mitocondrial/ADN nuclear. Por el contrario, una tasa más lenta de división celular dará como resultado células de trofotodermo más grandes y una proporción más alta de ADN mitocondrial/ADN nuclear. Por lo tanto, los hallazgos de que una mayor actividad metabólica (40) y una menor proporción de ADN mitocondrial/ADN nuclear (41, 42) están asociados con un mayor potencial de implantación son consistentes.

En humanos y otras especies de mamíferos, la evidencia acumulada sugiere que existe una relación entre el contenido de ADN mitocondrial de los ovocitos y el éxito de la fertilización, conectando así el contenido de ADN mitocondrial en ovocitos no fertilizados con el fracaso de la

fertilización (43-45). Estos estudios no pueden concluir si un número menor de copias de ADN mitocondrial es la causa o el efecto del fracaso de la fertilización. Otros estudios han demostrado que esta relación no es tan directa como se indicó anteriormente, lo que sugiere que ni el número de copias de ADN mitocondrial ni los rangos de cantidades de ADN mitocondrial son diferentes entre embriones viables y no viables (46,47). Por ello, nosotros llevamos a cabo un estudio con el objetivo de documentar la asociación del MitoSure con la tasa de embarazo en pacientes que reciben fertilización in vitro (embarazo bioquímico).

Se incluyeron 158 pacientes, 51.3% con una edad igual o mayor a 35 años. La mayoría de los embriones fueron biopsiados el día 5 (72.8%). Se documentó embarazo bioquímico en 57% pacientes. Como hallazgos relevantes, encontramos que un mayor puntaje de MitoSure se asoció con la ausencia de embarazo bioquímico. Al elegir un corte de 2 puntos del MitoSure, se encontró que un puntaje menor se asociaba con mayor tasa de embarazos bioquímicos. A pesar de no encontrar que el MitoSure se asociara con la edad materna, en pacientes mayores de 35 años, tuvo una mayor relevancia estadística el uso del MitoSure, para la identificación de embarazo bioquímico.

Demostramos que un MitoSure más elevado en embriones euploides es indicativo de una menor viabilidad embrionaria en términos de potencial de implantación, medido en nuestro caso por medio de la hCG. Este puntaje es semejante al número de mitocondrias en el ovocito (48). Se ha propuesto un número umbral, que se asocia con el desarrollo embrionario después de la fertilización, para los ovocitos MII (44,49). En general, se cree que las mitocondrias en los embriones tempranos apoyan el desarrollo embrionario hasta la etapa de blastocisto, después de la

cual la glucólisis se vuelve cada vez más importante para generación de energía (50). Debemos tener en cuenta que a pesar de la abundancia de mitocondrias en los ovocitos de los mamíferos la morfología de estas mitocondrias es diferente a la de los tejidos adultos. Estas mitocondrias tienen muy pocas crestas, lo que sugiere que tienen poca capacidad de fosforilación oxidativa. Las crestas son invaginaciones de la membrana interna, en las que se acoplan complejos proteicos de fosforilación oxidativa multiméricos, por lo que el área de la membrana mitocondrial interna es proporcional a la capacidad de fosforilación oxidativa de las mitocondrias. Las crestas son más abundantes en las mitocondrias contenidas en los tejidos somáticos debido a las mayores demandas energéticas de estas células (51).

Los embriones sanos dividen la cantidad total de ADN mitocondrial presente por igual entre todas las células presentes durante la división. Díez-Juan et al documentaron una reducción significativa en el número relativo de copias de ADN mitocondrial en embriones implantados en la etapa de blastocisto en comparación con blastómeros individuales de embriones implantados. Además, en los embriones que experimentan estrés energético, la biogénesis del ADN mitocondrial aumenta durante el desarrollo temprano, compensando la reducción del ADN mitocondrial causada por la división celular. Los autores no encontraron diferencias significativas en el número de copias de ADN mitocondrial en blastocistos no implantados versus embriones de día 3, lo cual significa que la mayor cantidad de ADN mitocondrial en embriones euploides con escaso potencial de implantación podría ser una indicación de que tienen una cantidad reducida de combustible metabólico durante la maduración de los ovocitos, lo que podría reflejarse en reservas energéticas reducidas. Esto concuerda con el concepto de que el número de copias del ADN

mitocondrial y el contenido de ATP en el ovocito no están directamente relacionados (53). Esta puede ser la relación por la cual en nuestro estudio encontramos resultados similares.

Neally et al. realizaron un estudio para explorar las relaciones entre MitoSure de embriones euploides, embarazo y nacidos vivos. Los autores encontraron una diferencia significativa en MitoSure entre los biopsiados el día 5 frente al día 6. Aunque en nuestro estudio no encontramos la misma asociación de manera significativa, encontramos una tendencia similar, con menores MitoSure en embriones biopsiados el 6to día. Encontraron que cuando las transferencias se estratificaron según los valores de MitoSure, existe un impacto en la tasa de nacidos vivos. El aumento de MitoSure se asoció con un retraso en el desarrollo del embrión hasta llegar al blastocisto. De acuerdo con estos hallazgos, ellos concluyeron que el seleccionar entre blastocistos euploides congelados del día 6 para la transferencia, la priorización de embriones con MitoSure menor puede ser valiosa para aumentar las posibilidades de un parto exitoso (54). A pesar de que los hallazgos son más aplicables para nacidos vivos de acuerdo con sus datos, nosotros encontramos una tendencia similar para la obtención de una prueba de embarazo positiva.

Ogur et al. buscaron determinar si existe una asociación entre el contenido de ADN mitocondrial y la edad materna, el día de la biopsia y los resultados de la implantación en embriones euploides, similar a nuestro estudio. Observaron que los embriones euploides en el grupo de edad ≥ 40 tenían más probabilidades de tener mayores cantidades de copias de ADN mitocondrial, y los embriones de las biopsias del día 6 presentaron puntajes más altos en comparación con las del día 5. Además, se vio que los embriones implantados tenían más probabilidades de tener valores MitoSure más bajos en comparación con aquellos que no

implantaron, sin embargo, no se observaron umbrales definibles para una implantación exitosa y aún se implantaron embriones con valores altos de MitoSure (55). Esto puede ser una justificación de la cual nosotros no encontramos que el MitoSure tuviera un buen rendimiento diagnóstico para la identificación de un embarazo bioquímico, con valores de sensibilidad y especificidad muy bajos con el puntaje de 2, como hemos reportado.

Similarmente, Luo et al. documentaron que los embriones euploides de su estudio tenían menor ADN mitocondrial que los embriones aneuploides y en mosaico, además de que los embriones biopsiados el día 5 tenían mayor ADN mitocondrial que los biopsiados el día 6, a diferencia de los puntajes de nuestro estudio y de los demás reportes discutidos. Luo et al. no detectaron diferencias en las puntuaciones de ADN mitocondriales entre embriones derivados de ovocitos de diferentes edades maternas,, similar a lo que documentamos, y ellos reportaron que los embriones euploides con mayor contenido de ADN mitocondrial presentaron tasas de aborto espontáneo significativamente más altas y tasas de nacidos vivos más bajas, mientras que no se observaron diferencias significativas en la cohorte del mosaico (56), nuevamente relacionando una similitud indirecta con nuestros hallazgos. .

Hay que aclarar que en nuestro estudio se usó la prueba bioquímica de embarazo como marcador de implantación, no se utilizó como variable la tasa de nacido vivo, la cual resulta en una limitación importante. La razón de ello fue que documentamos los datos de un centro de reproducción asistida que documenta y registra información hasta obtener una prueba de embarazo bioquímica, el seguimiento de las pacientes se realiza fuera del centro, en múltiples consultorios particulares de los médicos tratantes, lo cual refleja limitaciones técnicas para seguimiento de

pacientes. Por ello, para futuros trabajos, se debería de considerar recabar la información individual de cada médico tratante y sus pacientes tratadas en el centro de reproducción para valorar tasa de nacido vivo y otros parámetros obstétricos y perinatales, esto con el fin de obtener un estudio más directo y significativo de la importancia y relevancia clínica del MitoSure en la práctica.

Capítulo 6 – Conclusión

Como conclusión, encontramos en nuestro estudio que un mayor puntaje de MitoSure se asoció con la ausencia de embarazo bioquímico, mientras que un puntaje más bajo se asoció con mayor tasa de embarazo bioquímico.

Un corte de MitoSure menor de 2 se relacionó con mayor tasa de embarazos bioquímicos. A pesar de no encontrar que el MitoSure se asociara con la edad materna, en pacientes mayores de 35 años, tuvo una mayor relevancia estadística el uso del MitoSure, para la identificación de embarazo bioquímico. Hubo una tendencia de mayor puntaje de MitoSure asociado con menor edad embrionaria, aunque no se demostró estadísticamente.

El MitoSure puede ser una prueba útil en la predicción del embarazo en pacientes con embriones euploides sometidos a transferencia. Sin embargo, se requiere un seguimiento mayor de las pacientes para documentar las implicaciones clínicas globales del puntaje en nuestra población.

Referencias

1. Demyttenaere K, Bonte L, Gheldof M, Vervaeke M, Meuleman C, Vanderschuerem D, D'Hooghe T. Coping style and depression level influence outcome in in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1998;69(6):1026–1033.
2. Mascarenhas MN, Flaxman SR, Boerma T, Vanderpoel S, Stevens GA. National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys. *PLoS Med*. 2012;9(12):e1001356.
3. Guh R, Wu TCJ, Weng SP. Integrating genetic algorithm and decision tree learning for assistance in predicting in vitro fertilization outcomes. *Expert Syst Appl*. 2011;38(4):4437–4449.
4. Kaur H, Krishna D, Shetty N, Krishnan S, Srinivas MS, Rao KA. Effect of pre-ovulatory single dose GnRH agonist therapy on IVF outcome in GnRH antagonist cycles; a prospective study. *J Reprod Infertil*. 2012;13(4):225–231.
5. Durairaj M, Thamilselvan P. Applications of artificial neural network for IVF data analysis and prediction. *J Eng Comput Appl Sci*. 2013;2(9):11–15.
6. Bustillo M, Stern JJ, King D, Coulam CB. Serum progesterone and estradiol concentrations in the early diagnosis of ectopic pregnancy after in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril*. 1993;59(3):668–670.
7. Hoover L, Baker A, Check JH, Lurie D, O'Shaughnessy A. Evaluation of a new embryo-grading system to predict pregnancy rates following in vitro fertilization. *Gynecol Obstet Invest*. 1995;40(3):151–157.

8. Paulson RJ. MitoScore, MitoGrade, or MitoSure: what does embryonic mitochondrial deoxyribonucleic acid quantification actually measure and is it useful?. *F S Rep.* 2022;3(1):1-2.
9. Diez-Juan A, Rubio C, Marin C, Martinez S, Al-Asmar N, Riboldi M, et al. Mitochondrial DNA content as a viability score in human euploid embryos: less is better. *Fertil Steril* 2015;104:534–41.e1.
10. Ravichandran K, McCaffrey C, Grifo J, Morales A, Perloe M, Munne S, et al. Mitochondrial DNA quantification as a tool for embryo viability assessment: retrospective analysis of data from single euploid blastocyst transfers. *Hum Reprod* 2017;32:1282–92.
11. Ferrick L, Lee YSL, Gardner DK. Metabolic activity of human blastocysts correlates with their morphokinetics, morphological grade, KIDScore and artificial intelligence ranking. *Hum Reprod* 2020;35: 2004–16.
12. Van Blerkom J. Mitochondrial function in the human oocyte and embryo and their role in developmental competence. *Mitochondrion* 2011;11: 797–813.
13. Zhao Y, Brezina P, Hsu CC, Garcia J, Brinsden PR, Wallach E. In vitro fertilization: four decades of reflections and promises. *Biochim Biophys Acta.* 2011;1810(9):843-52.
14. Sunderam S, Kissin DM, Crawford SB, Folger SG, Boulet SL, Warner L, Barfield WD. Assisted Reproductive Technology Surveillance - United States, 2015. *MMWR Surveill Summ.* 2018;67(3):1-28.
15. Ahmad G, Watson A, Vandekerckhove P, Lilford R. Techniques for pelvic surgery in subfertility. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006;(2):CD000221.
16. Abrao MS, Muzii L, Marana R. Anatomical causes of female infertility and their management. *Int J Gynaecol Obstet.* 2013;123 Suppl 2:S18-24.

17. Meuleman C, Vandenabeele B, Fieuws S, Spiessens C, Timmerman D, D'Hooghe T. High prevalence of endometriosis in infertile women with normal ovulation and normospermic partners. *Fertil Steril*. 2009;92(1):68-74.
18. Marcoux S, Maheux R, Bérubé S. Laparoscopic surgery in infertile women with minimal or mild endometriosis. Canadian Collaborative Group on Endometriosis. *N Engl J Med*. 1997;337(4):217-22.
19. O'Connor KA, Holman DJ, Wood JW. Declining fecundity and ovarian ageing in natural fertility populations. *Maturitas*. 1998;30(2):127-36.
20. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine; Practice Committee of the Society for Assisted Reproductive Technology; Practice Committee of the Society of Reproductive Biologists and Technologists. Minimum standards for practices offering assisted reproductive technologies: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2020;113(3):536-541.
21. Pelinck MJ, Vogel NE, Arts EG, Simons AH, Heineman MJ, Hoek A. Cumulative pregnancy rates after a maximum of nine cycles of modified natural cycle IVF and analysis of patient drop-out: a cohort study. *Hum Reprod*. 2007;22(9):2463-70.
22. Zhang JJ, Merhi Z, Yang M, Bodri D, Chavez-Badiola A, Repping S, van Wely M. Minimal stimulation IVF vs conventional IVF: a randomized controlled trial. *Am J Obstet Gynecol*. 2016;214(1):96.e1-8.
23. Shrestha D, La X, Feng HL. Comparison of different stimulation protocols used in in vitro fertilization: a review. *Ann Transl Med*. 2015;3(10):137.

24. Glujovsky D, Farquhar C, Quinteiro Retamar AM, Alvarez Sedo CR, Blake D. Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev.* 2016;(6):CD002118.
25. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Practice Committee of the Society for Assisted Reproductive Technology. Guidance on the limits to the number of embryos to transfer: a committee opinion. *Fertil Steril.* 2017;107(4):901-903.
26. Leese HJ. Metabolism of the preimplantation embryo: 40 years on. *Reproduction* 2012;143:417–27.
27. Piko L, Taylor KD. Amounts of mitochondrial DNA and abundance of some mitochondrial gene transcripts in early mouse embryos. *Dev Biol* 1987;123: 364–74.
28. Jansen RP, de Boer K. The bottleneck: mitochondrial imperatives in oogenesis and ovarian follicular fate. *Mol Cell Endocrinol* 1998;145:81–8.
29. Reynier P, May-Panloup P, Chretien MF, Morgan CJ, Jean M, Savagner F, et al. Mitochondrial DNA content affects the fertilizability of human oocytes. *Mol Hum Reprod* 2001;7:425–9.
30. Santos TA, El Shourbagy S, St John JC. Mitochondrial content reflects oocyte variability and fertilization outcome. *Fertil Steril* 2006;85:584–91.
31. Chappel S. The role of mitochondria from mature oocyte to viable blastocyst. *Obstet Gynecol Int* 2013;2013:183024.
32. El Shourbagy SH, Spikings EC, Freitas M, St John JC. Mitochondria directly influence fertilisation outcome in the pig. *Reproduction* 2006;131:233–45.

33. Hua S, Zhang Y, Li XC, Ma LB, Cao JW, Dai JP, et al. Effects of granulosa cell mitochondria transfer on the early development of bovine embryos in vitro. *Cloning Stem Cells* 2007;9:237–46.
34. Tamassia M, Nuttinck F, May-Panloup P, Reynier P, Heyman Y, Charpigny G, et al. In vitro embryo production efficiency in cattle and its association with oocyte adenosine triphosphate content, quantity of mitochondrial DNA, and mitochondrial DNA haplogroup. *Biol Reprod* 2004;71:697–704.
35. Chiaratti MR, Bressan FF, Ferreira CR, Caetano AR, Smith LC, Vercesi AE, et al. Embryo mitochondrial DNA depletion is reversed during early embryogenesis in cattle. *Biol Reprod* 2010;82:76–85.
36. Meseguer M, Kruhne U and Laursen S: Full in vitro fertilization laboratory mechanization: toward robotic assisted reproduction? *Fertil Steril* 2012;97(6): 1277-1286.
37. Siristatidis CS, Chrelias C, Pouliakis A, Katsimanis E and Kassanos D: Artificial neural networks in gynaecological diseases: current and potential future applications. *Med Sci Monit* 2010;16(10): RA231-236.
38. Kaufmann SJ, Eastaugh JL, Snowden S, Smye SW and Sharma V: The application of neural networks in predicting the outcome of in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1997;12(7): 1454-1457.
39. Siristatidis C, Pouliakis A, Chrelias C and Kassanos D: Artificial intelligence in IVF: a need. *Syst Biol Reprod Med* 2011;57(4): 179- 185.
40. Ferrick L, Lee YSL, Gardner DK. Metabolic activity of human blastocysts correlates with their morphokinetics, morphological grade, KIDScore and artificial intelligence ranking. *Hum Reprod* 2020;35: 2004–16.

41. Diez-Juan A, Rubio C, Marin C, Martinez S, Al-Asmar N, Riboldi M, et al. Mitochondrial DNA content as a viability score in human euploid embryos: less is better. *Fertil Steril* 2015;104:534–41.e1.
42. Ravichandran K, McCaffrey C, Grifo J, Morales A, Perloe M, Munne S, et al. Mitochondrial DNA quantification as a tool for embryo viability assessment: retrospective analysis of data from single euploid blastocyst transfers. *Hum Reprod* 2017;32:1282–92.
43. Santos TA, El Shourbagy S, St John JC. Mitochondrial content reflects oocyte variability and fertilization outcome. *Fertil Steril* 2006;85:584–91.
44. El Shourbagy SH, Spikings EC, Freitas M, St John JC. Mitochondria directly influence fertilisation outcome in the pig. *Reproduction* 2006;131:233–45.
45. Hua S, Zhang Y, Li XC, Ma LB, Cao JW, Dai JP, et al. Effects of granulosa cell mitochondria transfer on the early development of bovine embryos in vitro. *Cloning Stem Cells* 2007;9:237–46.
46. Tamassia M, Nuttinck F, May-Panloup P, Reynier P, Heyman Y, Charpigny G, et al. In vitro embryo production efficiency in cattle and its association with oocyte adenosine triphosphate content, quantity of mitochondrial DNA, and mitochondrial DNA haplogroup. *Biol Reprod* 2004;71:697–704.
47. Chiaratti MR, Bressan FF, Ferreira CR, Caetano AR, Smith LC, Vercesi AE, et al. Embryo mitochondrial DNA depletion is reversed during early embryogenesis in cattle. *Biol Reprod* 2010;82:76–85.
48. Van Blerkom J. Mitochondrial function in the human oocyte and embryo and their role in developmental competence. *Mitochondrion* 2011;11:797–813.

49. Piko L, Taylor KD. Amounts of mitochondrial DNA and abundance of some mitochondrial gene transcripts in early mouse embryos. *Dev Biol* 1987;123: 364–74.
50. Leese HJ, Conaghan J, Martin KL, Hardy K. Early human embryo metabolism. *Bioessays* 1993;15:259–64. 16. Wai T, Teoli D, Shoubridge EA. The mitochondrial DNA genetic bottleneck results from replication of a subpopulation of genomes. *Nat Genet* 2008; 40:1484–8.
51. Wai T, Ao A, Zhang X, Cyr D, Dufort D, Shoubridge EA. The role of mitochondrial DNA copy number in mammalian fertility. *Biol Reprod* 2010;83: 52–62.
52. Diez-Juan A, Rubio C, Marin C, et al. Mitochondrial DNA content as a viability score in human euploid embryos: less is better. *Fertil Steril*. 2015;104(3):534-41.e1.
53. May-Panloup P, Chretien MF, Malthiery Y, Reynier P. Mitochondrial DNA in the oocyte and the developing embryo. *Curr Top Dev Biol* 2007;77:51–83.
54. Neally T, Desai N. IS THERE A RELATIONSHIP BETWEEN MITOSCORE, CLINICAL PREGNANCY AND LIVE BIRTH RATE?. *Fert Ster*. 2023;120(4):E147.
55. Ogur C, Findikli N, Caferler J, Gultomruk M, Capar B, Griffin DK, et al. Mitochondrial DNA (mtDNA) counts correlate to maternal age, day of biopsy and implantation potential. *Reprod BioMed Online*. 2019;38(Supple 1):e26-27.
56. Luo W, Zheng YM, Hao Y, et al. Mitochondrial DNA quantification correlates with the developmental potential of human euploid blastocysts but not with that of mosaic blastocysts. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2023;23(1):447.
57. Mitosure. Research at Progenesis. Progenesis. 2023. Recuperado el 10 de octubre del 2023 de <https://www.progenesis.com/mitosure/research>