

***TRABAJO DE FIN DE MÁSTER***  
***en***  
***Biología y Tecnología Aplicada a la  
Reproducción Humana Asistida***

**Rescate madurativo de ciclos  
estimulados y Maduración In Vitro de  
ovocitos: ¿Son  
actualmente una alternativa real?**

Autor: Diana Maestre Mariscal

Tutor: Raquel Herrero Saura

Cotutor: Emma Muñoz Sáez

Alcobendas, Septiembre 2023

## Índice

<b>Resumen</b>	<b>3</b>
<b>Nomenclatura</b>	<b>4</b>
<b>Introducción</b>	<b>5</b>
1. Ciclo ovárico	5
2. Ciclos de Fecundación In Vitro (FIV)	6
2.1 Concepto de estimulación ovárica	6
2.2 Inducción de la ovulación	6
2.3 Madurez ovocitaria	7
3. Rescate madurativo FIV (RMFIV)	8
3.1 Perfil de paciente que puede beneficiarse	9
4. Programa de Maduración In Vitro de ovocitos (MIV)	9
4.1 Perfil de paciente que puede beneficiarse	11
<b>Objetivos</b>	<b>12</b>
<b>Materiales y métodos</b>	<b>13</b>
<b>Resultados</b>	<b>13</b>
Rescate Madurativo FIV: RMFIV	13
Maduración In Vitro de Ovocitos: MIV	20
<b>Discusión</b>	<b>28</b>
<b>Conclusiones</b>	<b>35</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>36</b>

## Resumen

El objetivo de la estimulación en los ciclos de Fecundación In Vitro (FIV) es la obtención del mayor número de ovocitos maduros, promoviendo el reclutamiento de múltiples folículos y evitando la dominancia folicular y atresia. Sin embargo, hay ciclos donde la proporción de ovocitos inmaduros recuperados es mayor a la esperada, poniendo en riesgo el ciclo.

Por este motivo surge el Rescate Madurativo FIV (RMFIV): se trata de una técnica complementaria a los ciclos de FIV para intentar aumentar su rendimiento, rescatando ovocitos que no han madurado *in vivo* y cultivándolos *in vitro*, dándoles la oportunidad de progresar a estadio Metafase II (MII). Intenta conseguir el mayor número de ovocitos posibles disponibles en el ciclo.

Siendo la estimulación ovárica de los ciclos de FIV la técnica más utilizada en los tratamientos de Reproducción Asistida, una técnica alternativa para disponer de ovocitos maduros es la Maduración In Vitro de Ovocitos (MIV). El objetivo de la MIV es la recuperación de ovocitos inmaduros, procedentes de pequeños folículos antrales, para su posterior cultivo *in vitro*, que permite que éstos maduren *ex vivo*, evitando en su totalidad o parcialmente la estimulación ovárica.

Debido al atractivo de las técnicas los esfuerzos se centran en desarrollar protocolos y medios de cultivo que permitan aumentar el rendimiento de ambas, ya que los datos reportados hasta la fecha indican una baja eficiencia, con competencia ovocitaria comprometida, que se traducen en bajas tasas de fecundación y desarrollo embrionario.

Para conocer el estado en el que se encuentran, en el presente trabajo se revisaron los últimos artículos publicados, con el fin de dar una visión global en cuanto a resultados de laboratorio y tasas clínicas. No siendo aplicadas de rutina en los laboratorios de FIV y aun siendo necesario un avance en ambas, los resultados encontrados son prometedores.

### Palabras clave

Maduración In Vitro, Rescate Madurativo FIV, madurez ovocitaria, Vesícula Germinal, Metafase I, Metafase II.

## Nomenclatura

**MIV:** Maduración In Vitro de ovocitos.

**RMFIV:** Rescate Madurativo de ovocitos en ciclos de FIV.

**FIV:** Fecundación In Vitro.

**STD-MIV:** Maduración In Vitro (de ovocitos) estándar/convencional.

**CAPA-MIV:** Maduración In Vitro (de ovocitos) con cultivo pre-madurativo de capacitación madurativa (“*Capacitation medium*”).

**GnRH:** Hormona liberadora de gonadotropina.

**FSH:** Hormona foliculoestimulante.

**LH:** Hormona luteinizante.

**E2:** Estradiol.

**COC:** Complejo cúmulo-corona-ovocito.

**SHO:** Síndrome de Hiperestimulación Ovárica.

**SOP:** Síndrome de Ovario Poliquístico.

**ROS:** Síndrome de Resistencia Ovárica

**CNP:** Péptido natriurético tipo C.

**AREG:** Anfirregulina.

**D0-VG/MI-MII:** Ovocitos inmaduros (VG/MI) que alcanzan MII en día 0 (día de punción).

**D1-VG/MI-MII:** Ovocitos inmaduros (VG/MI) que alcanzan MII en día 1 (Un día después de la punción).

**EQ1 (en día 3):** Embriones de excelente calidad (8 células, <10% fragmentación, no multinucleación, tamaño celular adecuado)

**EQ2 (en día 3):** Embriones de buena calidad (8 células, 10-25% de fragmentación, sin evidencias de multinucleación, tamaño celular adecuado para la mayoría de las células).

**PGT-A:** Test Genético Preimplantacional para Aneuploidías.

**SET:** Transferencia embrionaria única (“*single embryo transfer*”).

**DET:** Transferencia embrionaria doble (“*double embryo transfer*”).

**RNV:** Recién nacido vivo.

**TRA:** Técnicas de Reproducción Asistida.

## Introducción

### 1. El ciclo ovárico

En el momento del nacimiento, los ovocitos se encuentran detenidos en Profase I de la primera división meiótica. A partir de la pubertad, los folículos primordiales adquirirán la capacidad de comenzar su desarrollo, pasando por diferentes estados de crecimiento y maduración (folículo primario, secundario, antral y preovulatorio) hasta que el ovocito adquiere la madurez y competencia necesaria y es ovulado (16). En cada ciclo ovárico se produce el reclutamiento de numerosos folículos, de los cuales solo uno de ellos será seleccionado. El resto se perderán, entrando en atresia.

Este proceso de reclutamiento y maduración ovocitaria se produce durante la fase folicular o proliferativa del ciclo menstrual (16) y, para que tenga lugar, es necesaria una fluctuación hormonal gracias a la correcta regulación del eje hipotálamo-hipófisis-ovario (8). Las hormonas que regularán el proceso serán, principalmente, la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), la hormona foliculoestimulante (FSH), la hormona luteinizante (LH), el estradiol (E2) y la progesterona (P4). (8)

La GnRH es una hormona secretada de forma pulsátil por el hipotálamo que regula la producción de FSH y LH por parte de la hipófisis (8,16). La frecuencia y amplitud de los pulsos de GnRH, a su vez, está controlada por los niveles de E2, una hormona producida por las células de la granulosa del folículo en desarrollo (10,15).

La FSH promueve el crecimiento y maduración de ovocitos inmaduros a ovocitos secundarios maduros antes de la ovulación, mientras que la LH es responsable de la ovulación y de la estimulación de las células de la teca en producción de progesterona (8).

La fase de reclutamiento tiene lugar durante los días 1 a 4 de ciclo, gracias a la acción de la FSH. A lo largo del ciclo, uno de los folículos se rodea de más receptores para FSH y estradiol que el resto, convirtiéndose en dominante. La secreción de estrógenos e inhibina por parte del mismo ejerce un feedback negativo sobre la producción de FSH, impidiendo que el resto de los folículos continúe con su crecimiento.

La alta producción de estradiol por las células de la granulosa producirá la aparición de un pico de LH, gracias al cual se producirá la maduración y ovulación del ovocito contenido en el folículo dominante; en la trompa de Falopio, tendrá la

oportunidad de ser fecundado por un espermatozoide, formar un embrión e implantar en el útero en estadio de blastocisto (8,16).

## **2. Los ciclos de Fecundación In Vitro (FIV)**

### ***2.1 Estimulación ovárica en un ciclo de FIV***

Los ciclos de FIV consiguen evitar esta pérdida folicular mediante la administración exógena de hormonas (FSH y LH habitualmente), de modo que en cada ciclo se pueda obtener el mayor número de ovocitos de buena calidad. Tras provocar la maduración ovocitaria, se programa la aspiración folicular en el quirófano, y el ciclo de FIV comienza con la inseminación de los ovocitos recuperados. Los embriones viables resultantes se pueden transferir, congelar o biopsiar, en función de la planificación previa indicada en consulta.

Un mayor número de ovocitos recuperados conlleva, teóricamente, la obtención de un mayor número de embriones que permitirá una mejor selección embrionaria y, por tanto, un incremento en la tasa de gestación, así como un mayor rendimiento del ciclo estimulado (ya que se pueden hacer varios ciclos de transferencia de embriones congelados) dando así un mayor número de oportunidades a la paciente que requiere de Técnicas de Reproducción Asistida (TRA) (10).

Durante el proceso de estimulación tienen lugar dos fenómenos:

- a. Se promueve el reclutamiento de múltiples folículos, que crecerán y posteriormente serán aspirados.
- b. Se evita al dominancia folicular y atresia del resto de folículos, que tendrían lugar durante un ciclo natural.

### ***2.2 Inducción de la ovulación***

El seguimiento del ciclo de FIV se realiza mediante determinaciones serológicas de los niveles de estradiol y por ecografía transvaginal, para medir el tamaño de los folículos. La inducción de la ovulación se lleva a cabo al observar al menos 3 folículos de un diámetro superior a 17 mm. Se suele utilizar la hormona gonadotropina coriónica humana (hCG), hormona biológicamente similar a la LH, o más recientemente análogos de la GnRH, en función del tipo de estimulación ovárica. A las 34-36 h se lleva a cabo la punción para la aspiración de los folículos (3).

### 2.3 Madurez ovocitaria

Durante el proceso, los ovocitos detenidos en Profase I (Vesícula Germinal) deberán haber madurado y completado la primera división meiótica, progresando a estadio de MII (3,15). Sin embargo, no todos los ovocitos obtenidos tras la aspiración folicular son maduros. Los estadios madurativos en los que se encuentran los ovocitos de los ciclos de FIV pueden ser:

- Vesícula Germinal o VG: se caracterizan por tener un núcleo bien definido, grande y redondeado denominado vesícula germinal, que le otorga su nombre. En este momento el ovocito se encuentra en estadio de Profase I (9).
- Metafase I o MI: en este momento el ovocito no presenta ni vesícula germinal, ya que se ha producido su rotura, ni corpúsculo polar, debido a que aún no se ha completado la primera división meiótica (9). El paso de VG a MI requiere unas 31-33 horas (17).
- Metafase II o MII: cuando el ovocito se encuentra en este estadio se le denomina ovocito maduro. Se caracteriza por la presencia de corpúsculo polar, indicativo de que se ha producido la primera división meiótica (9). El ovocito necesita de 3-5 horas para completar la maduración y pasar de MI a MII (17).

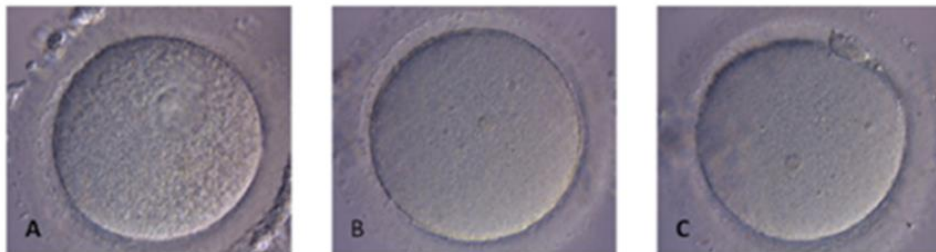


Ilustración 1. Ovocito en distintos estadios. A. Vesícula Germinal. B. Metafase I. C. Metafase II.

Esta maduración nuclear, de VG a MII, tiene que llevar asociada una maduración citoplasmática (reorganización de orgánulos que almacenan ARNm, proteínas y factores de transcripción) que permitirán que el citoplasma del ovocito se prepare para la fecundación y el desarrollo embrionario posteriores (9,12), debiendo llevarse a cabo ambos procesos de forma sincrónica (7,12,15).

Por otro lado, en los ciclos de FIV convencionales no siempre los ovocitos obtenidos presentan el estadio madurativo adecuado, y se deben descartar. Actualmente, aproximadamente el 70-85% de los ovocitos recuperados son maduros y pueden ser

utilizados para su posterior inseminación, pero existen casos en los que dicha proporción es menor. En el caso de pacientes normo-respondedoras, el hecho de tener algún ovocito inmaduro no suele presentar un problema; pero en aquellas mujeres con la reserva ovárica comprometida, puede ser un factor determinante para el éxito del ciclo (3,5). La duda que se plantea en los laboratorios de FIV es si dejando estos óvulos un tiempo en el laboratorio para que maduren (RMFIV) las posibilidades de dar lugar a un nacido sano son las mismas que las de los que lo hicieron en el intervalo de tiempo correcto.

### **3. Rescate Madurativo FIV: RMFIV**

El RMFIV en este trabajo se define como el rescate de ovocitos inmaduros de ciclos estimulados con protocolos estándar de gonadotropinas o similares y con un inductor de la ovulación, como hCG u otro. Los ovocitos inmaduros tras la decumulación de las células de la granulosa (VG o MI) se dejan en cultivo un tiempo para darles la oportunidad de progresar a estadio MII y poder ser utilizados en dicho ciclo (9).

No se conoce el motivo por el que estos ovocitos están presentes en este tipo de ciclos, pero parece deberse a múltiples factores que dan lugar a una asincronía en la maduración de ovocitos de la misma cohorte, a una respuesta folicular anormal a la estimulación y/o a defectos en la maduración nuclear y citoplasmática (3,5,9).

Aproximadamente el 18% de las pacientes tienen 3 o más ovocitos inmaduros durante un ciclo de FIV y el 15-30% de los ovocitos recuperados son inmaduros, aumentando a un 50% o más en pacientes con edad avanzada, baja respuesta ovárica (BR) o Síndrome de Ovario Poliquístico (SOP) (5,9).

En las clínicas en las que se lleva a cabo la RMFIV destaca su aplicación en ciclos en los que el número de ovocitos inmaduros rescatados es mayor al 30% (17).

Uno de los problemas que existe a la hora de establecer conclusiones válidas con la aplicación de esta técnica es que ha recibido diferentes denominaciones y se ha realizado con diferentes metodologías, de modo que los resultados no son homogéneos (17).

A su vez, parece no existir un consenso en cuanto al término que se le da a esta técnica, pudiendo encontrar en la literatura diferentes formas de llamarla, entre las que se encuentran “rescate por maduración espontánea”, “maduración de ovocitos inmaduros de ciclos estimulados” y “maduración *in vitro* extendida”, entre otras.



### ***3.1 Perfil de paciente que puede beneficiarse***

a. Pacientes de edad materna avanzada: tanto la calidad como la reserva ovocitaria disminuyen con la edad, encontrándose además recuperaciones superiores de ovocitos inmaduros en pacientes de edad avanzada (5,9).

b. Pacientes Bajo-respondedoras: la mayoría de las mujeres que se encuentran dentro de este grupo son pacientes con una baja reserva ovárica, aunque también engloba a mujeres con baja respuesta inesperada (5,9).

c. Pacientes con Síndrome de Ovario Poliquístico (SOP): en este tipo de pacientes, cuando la técnica de elección es el FIV convencional con estimulación previa, el número de ovocitos maduros obtenidos en punción puede llegar a ser menor del 50% (9).

d. En general, ciclos donde la proporción de ovocitos inmaduros es lo suficientemente importante como para que los resultados se vean comprometidos al partir de un número bajo de ovocitos maduros.

## **4. Maduración In Vitro de Ovocitos (MIV)**

La Maduración In Vitro de ovocitos (MIV) se define como “la maduración de complejos cúmulo-corona-ovocito (COCs) inmaduros cultivados *in vitro* procedentes de pequeños folículos antrales” que se obtienen sin estimulación ovárica previa o con mínima estimulación. Tras la aspiración, lo que se obtendrán serán en su mayoría ovocitos en estadio de Vesícula Germinal (VG) o Metafase I (MI) que serán cultivados en medio de cultivo para MIV, promoviendo su desarrollo y maduración hasta estadio de Metafase II (MII) (7). Se trata de una técnica segura y con buena relación coste-efectividad, siendo además una técnica más cómoda y respetuosa con las pacientes (7).

Debido a la ausencia total o parcial de medicación administrada durante el proceso, surge como una alternativa a la FIV convencional en mujeres con alto riesgo de Síndrome de Hiperestimulación Ovárica (5,7).

En 2021, la *American Society for Reproductive Medicine* (ASRM) escribe un comunicado considerando que el programa de Maduración In Vitro debe considerarse como una Técnica de Reproducción Asistida más, abandonando el estatus de protocolo experimental (14).

Aunque en su primera definición la MIV solo contemplaba la maduración *in vitro* de VG, sin exposición a gonadotropinas ni hCG o similares, actualmente existen diferentes protocolos:

a. Maduración *in vitro* de VG, sin exposición a hCG o a LH, con punción programada en función del tamaño folicular (al alcanzar los 10 mm de diámetro, no debiendo superar los 13 mm).

b. Estimulación mínima de FSH durante 3-6 días, punción entre los días 7-10. Sin *trigger* de hCG o similar.

c. Empleo de *trigger* de hCG en una sola dosis (1.000 UI), con punción a las 36 horas. Sin exposición previa a FSH.

d. Estimulación con FSH y *trigger* de hCG en día 6 de estimulación, con punción a las 36 horas.

La punción se programa cuando los folículos alcanzan un diámetro de 10 mm, no debiendo superar estos los 13 mm. En algunos casos también se programa la punción teniendo en cuenta el grosor endometrial (debiendo ser mayor de 5 mm), mientras que en otros protocolos éste no se tiene en cuenta (14).

Uno de los problemas que presenta el cultivo *in vitro* de ovocitos es la falta de sincronización entre la maduración nuclear y citoplásmica, imprescindible para la correcta fecundación y desarrollo pre y post-implantatorio (7).

En los últimos años se han conseguido mejorar las tasas de éxito introduciendo el uso de nuevas estrategias, entre las que se encuentra la introducción de un cultivo pre-madurativo.

Este cultivo previo a la Maduración In Vitro intenta imitar el microambiente que tiene lugar *in vivo*, de modo que, en la actualidad, en función del tipo de cultivo que se utiliza, se podría decir que existen dos grupos (7):

1. Cultivo único: cultivo de COCs/VG/MI en medio de MIV.
2. Cultivo secuencial: cultivo de COCs/VG/MI en medio de pre-madurativo + Posterior cultivo en medio de MIV.

El objetivo del cultivo en medio pre-MIV o pre-madurativo es inhibir la activación meiótica espontánea y mantener las uniones comunicantes (GAP) entre el ovocito y las células del cúmulo, promoviendo la adquisición de maduración citoplasmática, mientras que el posterior cultivo en medio MIV induce la reanudación de la meiosis y la posterior maduración nuclear (7). Dentro de los estudios realizados hasta la fecha con cultivo de pre-MIV destaca el uso de péptido natriurético tipo C (CNP) y anfirregulina (AREG) en la segunda etapa de cultivo (7).

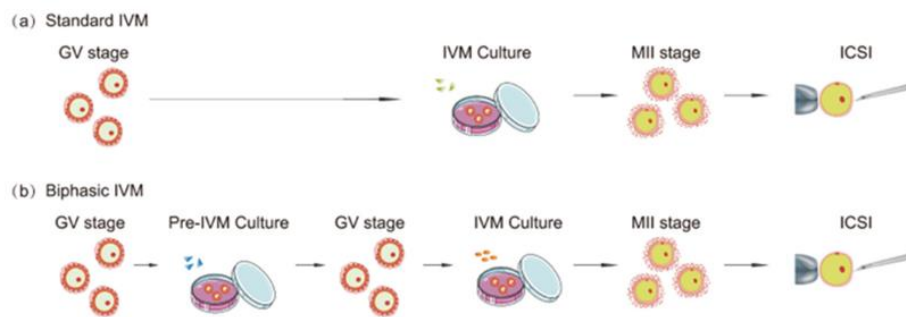


Ilustración 1. Sistema de cultivo MIV estándar y MIV bifásica (CAPA-IVM). a. MIV estándar. b. MIV bifásica. (Gong, X. et al, 2022).

#### 4.1 Perfil de paciente que puede beneficiarse

En cuanto al tipo de paciente en el que actualmente se aplica la MIV en clínica nos encontramos:

a. Pacientes con riesgo de Síndrome de Hiperestimulación Ovárica: se trata de una de las complicaciones más graves de los ciclos de FIV y está asociado a una alta respuesta derivada de la estimulación e inducción de la ovulación con hCG. Su manifestación más grave implica la liberación de líquido de los ovarios a la cavidad abdominal y pulmonar, requiriendo ingreso hospitalario. En este tipo de paciente la recuperación ovocitaria es superior a 15 ovocitos (6).

b. Pacientes con Síndrome de Ovario Poliquístico (SOP): en este tipo de pacientes el riesgo de SHO es elevado, debido al alto recuento de folículos antrales (AFC), característico del Síndrome. Sin embargo, muchas veces la primera línea de tratamiento para infertilidad no funciona, teniendo que someterse a un ciclo de FIV con estimulación ovárica (3).

c. Pacientes con Síndrome de Resistencia Ovárica (ROS): el ROS se produce generalmente por mutaciones en el receptor de la FSH, por lo que este tipo de paciente no responde a la FSH ni de forma endógena ni exógena. Al no responder a ella, esto se manifiesta con infertilidad, que no puede ser tratada con una estimulación convencional debido a la resistencia, por lo que generalmente se trata de pacientes que se llevan a donación de ovocitos (3).

d. Preservación de la fertilidad por motivo oncológico: en el que se pueden aplicar diferentes técnicas como *Random Start MIV*, uso de corteza ovárica, trasplante ovárico o cultivo de folículos, lo cual lleva en todos los casos a la obtención de ovocitos inmaduros que pueden someterse a MIV (3).

En el caso de pacientes oncológicas la preservación a través de Maduración In Vitro puede ser necesaria, generalmente, por dos motivos:

1. Presencia de tumores sensibles a estrógenos, en los cuales la situación se complicaría si se llevase a cabo una estimulación previa (3,14).

2. Pacientes con tiempo limitado: en algunas pacientes los tratamientos contra el cáncer tienen que aplicarse en un periodo corto de tiempo desde su detección, siendo estos muy agresivos y gonadotóxicos, por lo que el uso de MIV puede ser una alternativa en este caso (14).

## **Objetivos**

En este trabajo se han revisado los últimos artículos publicados acerca del programa de rescate madurativo de los ciclos de FIV estimulados (RMFIV), así como los de MIV, con el fin de dar una visión global en cuanto a resultados de laboratorio y tasas clínicas.

Los objetivos del presente trabajo son:

1. Revisión de resultados de laboratorio y clínicos de los ciclos de RMFIV.
2. Actualización de resultados de laboratorio y clínicos de los ciclos de MIV.

## Materiales y métodos

Para la realización del presente trabajo se realizó una búsqueda bibliográfica en las bases de datos PubMed, Medline, Scopus y Web of Science.

La primera búsqueda bibliográfica incluyó únicamente Revisiones Bibliográficas publicadas entre los años 2013-2023 sobre los temas de interés. Tras esta primera búsqueda bibliográfica se realizó una segunda, sobre estudios y revisiones bibliográficas publicados entre 2018-2023. Se excluyeron aquellos que no tenían acceso abierto.

Para la búsqueda bibliográfica se utilizaron las palabras clave “IVM”, “*In Vitro Maturation*”, “*immature oocytes*”, “*unstimulated cycles*”, “*rescue IVM*”, “*stimulated cycles*”; “PCOS”, “OHSS” y “*sibling oocytes*”, principalmente. Se empleó el uso de Operadores Booleanos (AND, OR, NOT) para acotar la búsqueda.

Fueron excluidos aquellos trabajos que, aun tratando el tema de interés, no reportaban tasas necesarias para la comparativa analítica de los mismos.

## Resultados

### 1. Rescate Madurativo FIV: RMFIV

Los estudios incluidos en la presente revisión presentan diferentes objetivos, por lo que el análisis de sus resultados debe hacerse tanto a nivel individual como comparativo. En la Tabla 1 se muestran las características principales de cada uno de ellos. El **grupo control** en todos los casos es el formado por los ovocitos MII obtenidos tras la decumulación de los COCs, y que por tanto no necesitaron tiempo adicional para madurar.

	Objetivo	Ciclos	Ovocitos	Medio cultivo	Tiempo cultivo
<b>Escrich et al. (2018)</b>	. Estudio <b>prospectivo</b> . Evalúa resultados clínicos y de laboratorio de VG rescatados <i>in vitro</i> comparados con los MII	. 17 pacientes con ciclos con 6 o más MII y 4 o más VG. Se realiza PGT-A en grupo estudio	197 ovocitos 80 MII 96 VG	Medio de cocultivo (CCM, Vitrolife)	24 horas

<b>Faramarzi et al. (2018)</b>	Estudio <b>retrospectivo</b> . Compara morfofocinética de VG madurados <i>in vitro</i> vs MII	310 pacientes con al menos 1 MII y 1 VG en día de punción	315 MII 620 VG	Blastocyst (G2, Vitrolife) suplementado con hMG	24 horas
<b>Avci et al. (2020)</b>	Estudio <b>retrospectivo</b> . Compara fecundación y desarrollo temprano embrionario de ovocitos VG/MI madurados <i>in vitro</i> vs MII	259 ciclos con al menos un ovocito inmaduro	2425 ovocitos 292 D0-MI-MII 104 D1-VG-MII, 231 D1-MI-MII y 1798 MII	Medio de Fertilización G-IVF-Vitrolife	2-4 horas D0-MI-MII y MII 20-22 horas D1-VG/MI-MII
<b>Mandelbaum et al. (2021)</b>	Estudio <b>retrospectivo</b> . Evalúa qué tipo de paciente puede beneficiarse de ICSI de ovocitos VG/MI rescatados por cultivo <i>in vitro</i>	889 ciclos, al menos un ovocito MII y un ovocito VG/MI llevados a ICSI	10817 ovocitos totales, 3137 VG/MI	Medio CSCM-C con HSA	6 horas ovocitos D0-VG/MI-MII 20-22 horas ovocitos D1-VG/MI-MII
<b>Moon et al. (2022)</b>	Estudio <b>retrospectivo</b> . Evalúa si los ovocitos MI rescatados <i>in vitro</i> tienen la misma competencia de desarrollo que sus ovocitos hermanos MII	1124 ciclos de 800 pacientes, al menos 1 ovocito MII y 1 ovocito MI-MII llevados a ICSI	7865 MII 2369 MI-MII	SAGE, medio de fertilización	2-4 horas ciclos con <50% inmaduros Hasta 6 horas ciclos con >50% ovocitos inmaduros
<b>Elkhatib et al. (2023)</b>	Estudio <b>observacional retrospectivo</b> . Evalúa qué pacientes pueden beneficiarse de ICSI de ovocitos inmaduros recuperados en ciclo estimulado y rescatados <i>in vitro</i>	390 pacientes de ciclos de FIV/ICSI + PGT-A con al menos 1 VG/MI rescatado	698 COCs a FIV 4751 ICSI: 2911 MII 1840 VG/MI	Global Total LP de fertilización (Cooper Surgical)	20-28 horas

Tabla 1. Resumen de características principales de los estudios analizados de RMFIV. Objetivos, número/tipo de ciclos, ovocitos, medio de cultivo y tiempo de cultivo empleados. MII=Metafase II, MI=Metafase I, VG=Vesícula germinal, HSA=albúmina sérica humana, PGT-A=test genético preimplantacional para aneuploidías, D0-MI-MII=Ovocitos MI que alcanzaron estadio MII en día 0, D1-GV/MI-MII=Ovocitos VG/MI que alcanzaron MII tras un día de cultivo (en día 1).

### Tasa de maduración ovocitaria

Tal y como se muestra en la tabla 2, la tasa de maduración ovocitaria en día 1 (D1) es la más reportada, con valores que oscilan entre el 47,6% al 69,8%. Los artículos donde se dejan madurar los ovocitos mayoritariamente en día 0 (D0) no reportan datos de maduración.

Gracias al RMFIV el número de ovocitos MII disponibles por paciente aumentó de  $4,7 \pm 1,6$  a  $8,6 \pm 3,3$  (aumento por paciente de 3,9 MII;  $p < 0,05$ ) (Escrich et al., 2018).

	Maduración (%)			Fecundación (%)			División 2 células (%)		
	MII	VG/MI-MII	P valor	MII	VG/MI	P valor	MI I	VG/MI	P valor
<b>Escrich et al. (2018)</b>	N/A	69.8 D1-VG-MII	N/A	75	64.2 D1-VG	-	95	81.4 D1-VG-MII	-
<b>Faramarzi et al. (2018)</b>	N/A	66.29 D1-VG-MII	N/A	69.20	53.04 D1-VG-MII	-	N/A	N/A	N/A
<b>Avci et al. (2020)</b>	N/A	N/A	N/A	59.5	30.1 D0-MII 39 D1-MI-MII 51.9 D1-VG-MII	<0.001	90.5	71.6 D0-MII 51.5 D1-MI-MII 61.1 D1-VG-MII	<0.001
<b>Mandelbaum et al. (2021)</b>	N/A	60.9 TOTAL 13.3 D0-MII 29.6 D1-MI-MII 18 D1-VG-MII	N/A	73	61 D0-MII 65 D1-MI-MII 65 D1-VG-MII	<0.001	80	75 D0-MII 54 D1-MI-MII 56 D1-VG-MII	0.047 <0.001 1 <0.001
<b>Moon et al. (2022)</b>	N/A	N/A	N/A	75.9	56.1 D0-MI-MII	<0.001	N/A	N/A	N/A
<b>Elkhatib et al. (2023)</b>	N/A	49.45 D1-VG/MI-MII	N/A	69.5	55.9 D1-VG/MI-MII	<0.001	N/A	N/A	N/A

Tabla 2. Tasas de maduración, fecundación y división a dos células de ovocitos Metafase II (MII) y ovocitos de RMFIV (VG/MI) de los estudios incluidos. D0-MII=ovocitos inmaduros (no se especifica estadio inicial) que alcanzaron MII en día 0, D0-VG/MI-MII=ovocitos VG/MI que alcanzaron estadio MII en día 0, D1-VG/MI-MII=ovocitos VG/MI que alcanzaron estadio MII en día 1. Significación estadística cuando  $p < 0.05$ .

### Tasa de fecundación

Los resultados de las tasas de fecundación se muestran en la Tabla 2. En todos los estudios las diferencias son significativas cuando se comparan los resultados del grupo control (MII) con respecto a los ovocitos que maduran *in vitro*. Cuando se tiene en cuenta el tiempo de maduración (D0 o D1) y el estadio madurativo inicial (VG o MI), se observa que los resultados siguen siendo estadísticamente diferentes, excepto en el artículo de Avci et al. (2020), donde la tasa de D1-VG-MII es similar al grupo control (51,9% vs 59,5% respectivamente,  $p=0,12$ ). (Avci et al, 2020).

### *División a 2 células*

Tal y como muestra la tabla 2, los estudios realizados encuentran una tasa significativamente menor de división a dos células, y por tanto mayor bloqueo en cigoto, en los ovocitos madurados *in vitro* con respecto al grupo control. Sin embargo, cuando se comparan los grupos de maduración entre sí, se observa que en los ovocitos madurados *in vitro* en día 0, tanto las tasas de división a 2 células como de blastulación son mayores a las de los ovocitos que maduran en día 1 (75% vs 55%, p-valor <0,001 y 41% vs 11%, p-valor <0,001, respectivamente) (Mandelbaum et al., 2021). Avci et al. (2020) estudian la tasa de división a dos células en función del estado madurativo inicial de los ovocitos y no únicamente al tiempo que tardan en madurar; solamente encuentran diferencias estadísticas entre los grupos D0-MI-MII (71,6%) y D1-MI-MII (51,5%) (p-valor < 0,05). (Avci et al, 2020).

Durante el desarrollo en día 1 a 3 Faramarzi et al. (2018) encontraron diferencias significativas entre la tasa de arresto en el desarrollo de ovocitos de RMFIV comparado con ovocitos MII (31,7% vs 5,5%, p-valor <0.001). (Faramarzi et al., 2018).

### *Tasa de llegada a blastocisto*

Al comparar la tasa de llegada a blastocisto entre el grupo control y el de estudio, se puede observar que, en todos los casos, los valores del primero son significativamente mayores (Tabla 3).

	Blastocisto (%)			Euploidía (%)		
	MII	VG/MI	P valor	MII	VG/MI	P-valor
<b>Escrich et al. (2018)</b>	65	44.2 D1-VG-MII	-	-	50 D1-VG-MII	-
<b>Faramarzi et al. (2018)</b>	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
<b>Avci et al. (2020)</b>	23.6	22.7 D0-MII 7.7 D1-MI-MII 7.4 D1-VG-MII	<0.001	N/A	N/A	N/A
<b>Mandelbaum et al. (2021)</b>	50	41 D0-MII 10 D1-MI-MII 13 D1-VG-MII	0.024 <0.001 <0.001	N/A	N/A	N/A
<b>Moon et al. (2022)</b>	53.8	23.9 D0-MI-MII	<0.001	49.2	34.7 D0-MI-MII	<0.001
<b>Elkhatib et al. (2023)</b>	N/A	N/A	N/A	46.3	39 D1-VG/MI-MII	0.163

Tabla 3. Tasa de llegada a blastocisto y de euploidía de ovocitos Metafase II (MII) y ovocitos de RMFIV (VG/MI) de los estudios incluidos. D0-MII=ovocitos inmaduros (no se especifica estadio inicial) que alcanzaron MII en día 0, D0-VG/MI-MII=ovocitos VG/MI que alcanzaron estadio MII en día 0, D1-VG/MI-MII=ovocitos VG/MI que alcanzaron estadio MII en día 1. Significación estadística cuando p-valor<0.05.



La mayor tasa de llegada a blastocisto se dio en el estudio de Escrich et al. (2018) que, por el contrario, solo incluye en su estudio a ovocitos en estadio inicial de VG (Tabla 3).

Aunque en todos los casos los ovocitos madurados *in vitro* del estudio de Mandelbaum et al. (2021) tienen un peor potencial de llegada a blastocisto que los madurados *in vivo* (MII) se observó una mejoría en los resultados cuando estos pertenecían a cohortes con mayor número de ovocitos inmaduros recuperados; para medir esta variable se establecieron dos grupos diferentes en cuanto al porcentaje de ovocitos maduros recuperados tras punción, diferenciándose dos grupos: Grupo 1 (0-33% MII) y Grupo 2 (34-100% MII).

De este modo se observó que la tasa de llegada a blastocisto del Grupo 1 era significativamente mejor que la de los ovocitos pertenecientes al grupo 2 (28% vs 13%, p-valor=0,03).

Parece ser que la edad materna es una variable a tener en cuenta con respecto a la proporción de ovocitos inmaduros de los ciclos de FIV: así, un 26,6% de los ciclos de pacientes con edad igual o superior a 40 años presentan ovocitos inmaduros, frente a un 8,5% de los que corresponden a grupos de menor edad. Aunque la tasa de división a dos células y blastocisto no difería con la edad, el uso de embriones en división temprana derivado de ovocitos inmaduros fue mayor en mujeres con edad igual o superior a 40 años comparado con menores de 40 años (41,9% vs 33,5%, p=0,031). (Mandelbaum et al., 2021).

### ***Tasa de euploidía***

Al comparar la euploidía entre los blastocistos derivados de ovocitos MII (grupo control) y los procedentes de RMFIV, existen discrepancias en los resultados (Tabla 3). Mientras Moon et al. (2022) sí encuentran una mayor tasa de aneuploidía en ovocitos madurados *in vitro*, Elkhatib et al. (2023) no observan diferencias. Aunque en el estudio de Escrich et al. (2018) no se realizó Test Genético Preimplantacional para Aneuploidías (PGT-A) a embriones procedentes de ovocitos MII, el porcentaje de euploidía fue numéricamente superior al de los estudios anteriormente mencionados.

Elkhatib et al. (2023), por otro lado, también estudian la relación entre la euploidía y el estado madurativo inicial de los ovocitos rescatados, diferenciando entre los

procedentes de VG y de MI y comparando ambos grupos entre sí. En este caso, de nuevo, no encuentran una diferencia significativa entre el porcentaje de euploides encontrados de ambos grupos (38,1% MI-MII vs 39,6% VG-MII, p-valor <0,88). En el mismo estudio se concluye que las pacientes con baja proporción de ovocitos MII el día de punción (<34%), mayores de 37 años, con baja recuperación ovocitaria (<10 ovocitos) y peores tasas de fecundación (<60%) son aquellas en las que mayor proporción de blastocistos derivados de D1-MII se biopsiaron, con una contribución mayor o igual al 50% de la cohorte de blastocistos biopsiable total. (Elkhatib et al., 2023).

### *Variables morfocinéticas*

Los estudios de Escrich et al. (2018) y Faramarzi et al. (2018) coinciden al no encontrar diferencias significativas en los tiempos de división celular de t5-t8. En el primero, tampoco se encuentran diferencias significativas en las variables 2PB, PNA, PNF y t2-t4, al igual que en el tiempo de formación de la mórula (que no se describe en el caso del segundo estudio) (Tabla 4).

Horas	Escrich et al. (2018)			Faramarzi et al. (2018)		
	MII	RMFIV	P valor	MII	RMFIV	P valor
<b>2PB</b>	3.8 ± 0.2	3.9 ± 0.2	Ns	2.21 ± 0.41	2.35 ± 0.31	<0.001
<b>PNA</b>	9.8 ± 0.4	9.1 ± 0.5	Ns	7.21 ± 2.37	8.25 ± 3.15	0.017
<b>PNF</b>	26.4 ± 0.4	28.4 ± 1.7	Ns	22.34 ± 4.16	24.38 ± 5	<0.001
<b>T2</b>	28.9 ± 0.5	28.4 ± 0.5	Ns	23.43 ± 3.06	24.58 ± 2.46	<0.001
<b>T3</b>	40.6 ± 0.8	41.4 ± 1.4	Ns	35.38 ± 9.01	34.58 ± 9.39	<0.001
<b>T4</b>	44.9 ± 1.2	43.6 ± 1.9	Ns	40.06 ± 4.51	42.37 ± 3.09	<0.001
<b>T5</b>	57.4 ± 1.4	58.1 ± 2.2	Ns	47.42 ± 6.19	48.06 ± 6	0.28
<b>T6</b>	61.3 ± 1.7	60.6 ± 2.3	Ns	51.25 ± 5.39	51.04 ± 5.01	0.88
<b>T7</b>	35 ± 2.5	65.5 ± 2.6	Ns	53.06 ± 6.14	54.14 ± 6.18	0.74
<b>T8</b>	68.2 ± 2.5	66.2 ± 2.5	Ns	62,46 ± 11.32	62 ± 11.58	0.12
<b>TM</b>	100.1 ± 8.2	89.4 ± 3	Ns	-	-	-

Tabla 4. Comparación de tiempos de división temprana (en horas) entre grupos de ovocitos madurados *in vivo* e *in vitro* de los estudios publicados por Escrich et al. (2018) y Faramarzi et al. (2018). Los resultados se describen como: 2PB=t extrusión 2 corpúsculo polar, PNA=t aparición de pronúcleos, PNF=t desaparición de pronúcleos, t2-t8=tiempo de división a 2-8 células, TM=tiempo de formación de la mórula. Ns=no significativo, no se reporta p-valor. Significación estadística cuando p-valor<0.05.

Sin embargo, los resultados de Faramarzi et al. (2018) difieren de estos, ya que sí encuentran diferencias en las variables morfocinéticas anteriormente descritas, siendo mayor el tiempo que requieren los ovocitos madurados *in vivo* para 2PB, PNA, PNF y dividirse a estadio de 2, 3 y 4 células (Tabla 4). (Faramarzi et al., 2018).

El grupo de Faramarzi encuentra diferencias significativas a su vez en la tasa de fusión celular tras división, división irregular y asimetría en blastómeros entre los grupos MII y D1-VG-MII (27,8% vs 51,6%, p-valor <0,001; 14% vs 25,7%, p-valor=0,003 y 5,5% vs 16,1%, p-valor <0,001, respectivamente). (Faramarzi et al., 2018).

## Resultados clínicos

### Descriptiva de resultados clínicos

**Moon et al. (2022)** Se transfirieron un total de 27 blastocistos D5-7 euploides de ovocitos RMFIV (vs 379 MII)

- 74,1% tasa de embarazo (vs 65,7% de MII, p-valor 0,41)
- 5% tasa de aborto (vs 6,41% MII, p-valor 1)
- 70% tasa de recién nacido vivo (vs 61,5% MII, p-valor 1)

Se transfirieron un total de 17 blastocistos euploides de ovocitos RMFIV:

**Elkhatib et al. (2023)**

- 3 transferencias embrionarias únicas (SET): 1 RNV + 1 aborto.
- 2 transferencias embrionarias dobles (DET) (RMFIV): 1 embarazo clínico (de 1 saco)
- 9 DET (1 RMFIV + 1 MII): 3 no embarazo + 1 aborto + 1 embarazo de 2 sacos + 5 recién nacidos vivos (RNV) (único) → 2 RNV de MII, 1 RNV de RMFIV. Quedan 2 por confirmar.

Se realizó transferencias de blastocisto euploide RMFIV a 3 pacientes:

**Esrich et al. (2018)**

- Paciente 1: Un SET. No embarazo.
- Paciente 2: 1º SET resultó en RNV, 2º transferencia no embarazo.
- Paciente 3: Un SET, resultó en RNV.

Se transfirieron un total de 13 embriones D3 y 16 embriones D5 RMFIV (vs 218 MII)

**Avci et al. (2020)**

- 48,28% tasa de implantación (vs 40,4% de MII)

*Tabla 5. Resumen de resultados clínicos de tasa de implantación, embarazo, aborto y recién nacido vivo de ovocitos MII y de ovocitos obtenidos por Rescate Madurativo FIV (RMFIV) de los estudios incluidos. SET=transferencia embrionaria única, DET=transferencia embrionaria doble, RNV=recién nacido vivo.*

Debido a la prioridad de transferir embriones MII antes que embriones procedentes de ovocitos rescatados los resultados clínicos de los estudios sólo pueden considerarse a nivel descriptivo, ya que los tamaños muestrales no son suficientemente grandes como para poder establecer una comparativa.

## 2. Maduración In Vitro: MIV

Dado que las publicaciones de MIV son muy extensas y heterogéneas, la búsqueda bibliográfica de este trabajo se ha centrado en los estudios publicados donde se compara la efectividad de la MIV estándar (STD-MIV) frente a la inclusión de un medio pre-madurativo (CAPA-MIV) como paso previo a la STD-MIV. Debido a la novedad de la aplicación de la técnica en humanos, sólo se han podido incluir en la revisión tres estudios de un mismo grupo investigador (Tabla 6).

En la Tabla 6 se muestran las características de cada artículo, en cuanto al objetivo del estudio, el número de ciclos y COCs, el medio de cultivo utilizado y el tiempo de cultivo.

	Objetivo	Ciclos	COCs	Medio cultivo	Tiempo cultivo
Sánchez et al. (2017)	<p>Estudio <b>prospectivo</b>. Evalúa si existe una mejoría en competencia ovocitaria de pequeños folículos antrales con uso de maduración bifásica (CAPA-MIV) comparado con MIV convencional en pacientes con SOP.</p> <p>Dos estudios: 1. Ovocitos hermanos para comparar CAPA-MIV vs STD-MIV 2. Determinación de tiempo de cultivo</p>	<p><b>Estudio 1:</b> 15 pacientes, COCs aleatorizados a grupo control (STD-MIV) y grupo de estudio (CAPA-MIV) de la <b>misma cohorte</b>.</p> <p><b>Estudio 2:</b> 15 donantes, determinar el tiempo óptimo de cultivo CAPA-MIV (cultivo 24 horas vs 48 horas).</p> <p>En ambos grupos estimulación con hMG 3-5 días (folículos &gt;6mm y 10 mm), punción 42 horas después de última dosis, sin hCG.</p>	<p><b>Estudio 1:</b> <b>Grupo control:</b> 264 COCs (STD-MIV) <b>Grupo estudio:</b> 117 (CAPA-MIV)</p> <p><b>Estudio 2:</b> 63 COCs</p>	<p><b>Grupo control:</b> Medio MIV suplementado con hMG, hCG y HSA.</p> <p><b>Grupo estudio:</b> 1. <u>Pre-cultivo:</u> Medio con FSHr, insulina, E2, HSA y CNP. 2. <u>Medio MIV</u> suplementado con insulina, E2, AREG y FSHr.</p>	<p><b>Estudio 1:</b> <b>Grupo control:</b> 30 horas. <b>Grupo estudio:</b> 1. <u>Pre-cultivo:</u> 24 horas. 2. <u>Medio MIV:</u> 30 horas.</p> <p><b>Estudio 2:</b> 1. <u>Pre-cultivo:</u> 24 vs 48 horas. 2. <u>Medio IVM:</u> 30 horas.</p>

<p><b>Sánchez et al. (2019)</b></p>	<p>Estudio <b>prospectivo</b>. Estudia la eficacia de MIV bifásica comparada con MIV estándar en pequeños folículos antrales (&lt;6mm) en pacientes con SOP</p>	<p>40 pacientes, 3 días de estimulación, 450 UI de FSH total y punción a las 42-46 horas de la última dosis, sin hCG. Los ovocitos se aleatorizaron a grupo CAPA-MIV (grupo de estudio) y STD-MIV (grupo control) y comparan resultados de la misma cohorte.</p>	<p><b>Grupo control:</b> 238 (STD-MIV)  <b>Grupo estudio:</b> 305 (CAPA-MIV)  Se separan por tamaño a la hora de cultivar COCs (&lt;6 mm y ≥6 mm).</p>	<p><b>Grupo control:</b> <u>Medio MIV</u> suplementado con FSHr, hCG, hormona de crecimiento y HSA  <b>Grupo de estudio:</b> 1. <u>Pre-cultivo:</u> Medio CAPA suplementado con FSHr, Insulina, E2, HSA y CNP 2. <u>Medio MIV</u> con insulina, E2, AREG y FSH.</p>	<p><b>Grupo control:</b> 30-32 h  <b>Grupo estudio:</b> 1. Pre-cultivo: 24 h 2. Medio MIV: 30 h.</p>
<p><b>Vuong et al. (2020b)</b></p>	<p>Estudio <b>prospectivo</b>. Estudia la eficacia de MIV bifásica comparada con MIV folículos antrales en pacientes con SOP</p>	<p>80 mujeres aleatorizadas (estimulación máximo 3 días FSHr/hMG en función de tamaño de folículos observado (&gt;8mm), sin hCG, punción 42-46 horas tras última dosis a STD-MIV (grupo control, n=20) y CAPA-MIV (grupo de estudio, n=20).</p>	<p><b>Grupo control:</b> mediana de 16,5 por paciente (40 pacientes) (STD-MIV)  <b>Grupo estudio:</b> mediana de 17,5 por paciente (40 pacientes) (CAPA-MIV)</p>	<p><b>Grupo control:</b> Medio MIV con FSHr, hCG, hormona de crecimiento y HSA.  <b>Grupo de estudio:</b> 1. <u>Pre-cultivo:</u> Medio CAPA con FSHr, Insulina, E2, HSA y CNP 2. <u>Medio MIV</u> con insulina, E2, AREG y FSHr.</p>	<p><b>Grupo control:</b> 30-32 h  <b>Grupo estudio:</b> 1. Pre-cultivo: 24 h 2. Medio MIV: 30 h</p>
<p><b>Vuong et al. (2020a)</b></p>	<p><b>Ensayo clínico de no inferioridad (10%),</b> no ciego, para evaluar resultados de CAPA-MIV frente a de ciclos estimulados de FIV (ICSI en ambos grupos) en tasa de recién nacido vivo en mujeres con alto AFC.</p>	<p>546 pacientes con AFC, aleatorizadas a grupo control-FIV (273) y grupo de estudio-CAPA (273). Transferencia de embriones congelados, D3.</p>	<p><b>Grupo control:</b> 273 pacientes (FIV)  <b>Grupo estudio:</b> 273 pacientes (CAPA-MIV)</p>	<p><b>Grupo estudio:</b> 1. <u>Pre-cultivo:</u> Medio con FSHr, insulina, E2, HSA y CNP. 2. <u>Medio MIV</u> suplementado con insulina, E2, AREG y FSHr.</p>	<p><b>Grupo estudio:</b> 1. <u>Pre-cultivo:</u> 24 horas. 2. <u>Cultivo MIV:</u> 30 horas.</p>

Tabla 6. Resumen de características principales de los estudios analizados de MIV/CAPA-MIV objetivos, tipo de ciclos, número de complejos cúmulo-corona-ovocito (COCs), medio de cultivo y tiempo de cultivo empleados. FSHr=FSH recombinante, E2=estradiol, HSA=albúmina sérica humana, CNP=péptido natriurético tipo C, AREG=anfirregulina, hMG=gonadotropina menopáusica humana, hCG=gonadotropina coriónica humana.

Los mismos autores, además, publican un ensayo clínico de no inferioridad que compara la eficacia de la CAPA-MIV frente a los resultados obtenidos en un ciclo de FIV convencional con estimulación, y que también se ha incluido en la revisión bibliográfica.

Del análisis de los resultados deriva:

1. STD-MIV (grupo control) vs CAPA-MIV (grupo de estudio).
2. FIV (grupo control) vs CAPA-MIV (grupo de estudio).

### 1. STD-MIV vs CAPA-MIV

	Maduración (%)			VG mantenidas en arresto (%)		
	STD-IVM	CAPA-IVM	P-valor	STD-IVM	CAPA-IVM	P-valor
Sánchez et al. (2017)	48	70	0.0001	-	-	-
Sánchez et al. (2019)	47.9	62	0.034	34	17	<0.0001
Vuong et al. (2020b)	49	63.6	<0.001	-	-	-

Tabla 7. Tasas de maduración (%) y porcentaje de Vesículas Germinales (VG) que se consiguieron mantener en arresto en el grupo control (STD-MIV) y grupo de estudio (CAPA-MIV) de los artículos publicados por Sánchez et al. (2017), Sánchez et al. (2019) y Vuong et al. (2020b). Significación estadística cuando  $p$ -valor<0.05.

#### *Tasa de maduración*

Todos los estudios encontraron diferencias significativas al comparar la tasa de maduración de Maduración In Vitro estándar (STD-MIV) y Maduración In Vitro con medio pre-madurativo (CAPA-MIV) (Tabla 7). Esta significancia estadística a favor de CAPA-MIV se mantuvo independientemente de si el tamaño de los folículos era mayor o menor de 6 mm (Vuong et al., 2020b).

En el estudio de Sánchez et al. (2019) se observa un número significativamente mayor de VG que no consiguen completar su maduración en el grupo STD-MIV frente al grupo CAPA-MIV (Tabla 7).

#### *Tasa de fecundación y desarrollo embrionario*

En cuanto a la **tasa de fecundación**, no se encontraron diferencias significativas entre STD-MIV y CAPA-MIV (Tabla 8).

**Desarrollo embrionario D3:** La tasa de embriones de buena calidad en D3 (Q1+Q2) por ovocito fecundado es similar en ambos grupos. Sin embargo, cuando se calcula en función del número de COCs obtenido, los resultados presentan significancia estadística a favor del grupo de estudio (CAPA-IVM). (Sánchez et al., 2017; Sánchez et al., 2019) (Tabla 8).

Por otro lado, el número de embriones vitrificados en D3 en el grupo CAPA-MIV fue, a su vez, significativamente mayor que en el grupo STD-MIV (Tabla 8).

	Fecundación (%)			EQ1 + EQ2 D3 (%) Por ovocito fecundado			EQ1 + EQ2 D3 (%) Por COC			Embriones D3 vitrificados (media) De buena calidad		
	STD-IVM	CAPA-IVM	P valor	STD-IVM	CAP A-IVM	P valor	STD-IVM	CAPA-MIV	P valor	STD-IVM	CAPA-MIV	P valor
Sánchez et al. (2017)	31	53	>0.05	-	-	-	23	43	0.0006	-	-	-
Sánchez et al. (2019)	78.1	85.7	0.244	30.3	43.8	0.051	11.7	24	0.018	2.2±0.2	4.2±0.5	0.0002
Vuong et al. (2020b)	84.5	84	0.8	35.4	37.5	0.6	12.7	18.9	0.11	1.3±1.9*	2.5±2.5*	0.02*

Tabla 8. Tasas de fecundación, embrión de calidad 1 y 2 (EQ1 + EQ2) en día 3 por ovocito fecundado, EQ1+EQ2 en día 3 por complejo cúmulo-corona-ovocito (COC) y media por paciente de embriones en día 3 vitrificados de buena calidad obtenidas en el grupo control (MIV) y en el grupo de estudio (CAPA-MIV) de los estudios de Sánchez et al. (2017), Sánchez et al. (2019) y Vuong et al. (2020b). Significación estadística cuando p-valor<0.05. \*Embriones D3 vitrificados tras primera transferencia embrionaria única.

**Desarrollo embrionario a blastocisto:** En los estudios realizados por el grupo de Sánchez et al. las transferencias embrionarias se realizan en D3, así como la criopreservación embrionaria. Por tanto, no se disponen de datos al respecto. Sin embargo, el artículo de Sánchez del 2017 sí que extienden el cultivo de los embriones del grupo CAPA-MIV a día 5, observando una tasa de blastocisto de calidad 1 (EQ1) del 18%. Por otro lado, se realiza biopsia de trofotodermo y análisis genético por Secuenciación de Nueva Generación (NGS) a 20 blastocistos, obteniendo un 85% de tasa de euploidía.

### ***Influencia del tiempo de cultivo***

Uno de los objetivos del primer trabajo del grupo fue determinar el tiempo de cultivo en el medio de pre-maduración: 63 COCs procedentes de donantes de ovocitos se

distribuyeron en dos grupos: uno se cultivó durante 24 horas y el otro durante 48. (Sánchez et al., 2017). Los resultados que obtuvieron fueron que el arresto meiótico se conseguía en el 100% de los COCs, independientemente del tiempo de cultivo, siempre y cuando estuviesen intactos. De hecho, la eficiencia del pre-cultivo disminuía cuando los ovocitos no estaban totalmente cubiertos por células del cúmulo (83% y 75%, a 24 y 48 horas respectivamente). Tampoco se encontraron diferencias significativas en cuanto a tasa de maduración, fecundación, embriones D3 de buena calidad, de calidad 1 (EQ1) ni blastocistos de calidad Q1. Por lo tanto, se estableció un tiempo de pre-cultivo de 24 horas, que fue el que se ha utilizado en la metodología de los artículos posteriores.

### Resultados clínicos

	Tasa de implantación (%)			Tasa de gestación (%)			Tasa de aborto (%)			Tasa recién nacido vivo (RNV) (%)		
	STD - IVM	CAPA-IVM	P valor	STD - IVM	CAPA-IVM	P valor	STD - IVM	CAPA-IVM	P valor	STD - IVM	CAPA-IVM	P valor
Sánchez et al. (2017)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sánchez et al. (2019)	-	-	-	35 (7/20)	58 (11/19)	-	-	-	-	-	-	-
Vuong et al. (2020b)	26.9	42.1	0.09	37.5	60	0.06	2.5	10	0.39	32.5 (13)	47.5 (19)	0.37

Tabla 9. Tasas de implantación, gestación, aborto y recién nacido vivo (RNV) obtenidas en el grupo control (STD-MIV) y grupo de estudio (CAPA-MIV) de los artículos publicados por Sánchez et al. (2017), Sánchez et al. (2019) y Vuong et al. (2020b). Significación estadística cuando p-valor<0.05.

Los resultados clínicos son los que se muestran en la Tabla 9. Como se puede observar, solamente dos artículos publican datos de tasa de gestación, y uno de implantación, aborto y RNV. Los resultados no son significativamente diferentes cuando se compara el grupo control frente al grupo de estudio. El estudio de Vuong et al. (2020b) incluye 77 transferencias, con un total de 158 embriones transferidos de los cuales 78 pertenecen al grupo STD-MIV y 80 al CAPA-MIV. El 9% de las transferencias fueron de un embrión, el 77% de dos, y el 14,2% de tres. Todas ellas fueron transferencias puras.

## 2. FIV vs CAPA-IVM

Debido a los resultados de los estudios realizados por el grupo, que mostraron una mejoría en tasas de laboratorio derivadas del uso de medio pre-madurativo de cultivo, Vuong et



al. (2020a) llevaron a cabo un ensayo clínico para estudiar la no-inferioridad de la CAPA-MIV frente a ciclos de FIV convencionales.

El objetivo del estudio era conocer si esta mejoría era suficiente o no para poder considerar la CAPA-MIV como una alternativa a los ciclos de FIV convencionales en pacientes con alto recuento de folículos antrales (AFC). La elección del tipo de estudio (de no inferioridad) se basó en la premisa de que los resultados obtenidos hasta el momento en MIV no consiguen igualar a los de FIV, pero que sin embargo este tipo de técnica puede suponer un beneficio para un determinado grupo de pacientes.

Para ello, establecieron un margen de no inferioridad del -10% para estudiar resultados de tasas clínicas. Se calcularon diferencias totales entre grupos y los márgenes superiores e inferiores a dichas diferencias (grupo de estudio-grupo control). Se considera:

1. **Inferioridad:** cuando el margen inferior alcanza -10 y el superior es  $<0$ .
2. **No demostración ni de inferioridad ni de no inferioridad:** cuando el margen inferior alcanza -10 y el superior es  $\geq 0$ .
3. **No inferioridad:** ni el margen inferior ni el superior alcanza -10.

En el estudio se incluyeron 273 pacientes en el grupo control (FIV) y 273 en el grupo de estudio (CAPA-IVM).

#### **Tratamientos:**

1. **Grupo control (FIV):** estimulación con protocolo de antagonistas de GnRH y gonadotropina menopáusica humana (hMG) en dosis de 150-225 UI/día, en función de la edad e índice de masa corporal (IMC). La ovulación se desencadenó cuando al menos dos folículos superaron los 17 mm, con *trigger* de 0,2 mg de Triptorelina (análogo de la GnRH) y se programó la punción a las 36 horas.
2. **Grupo de estudio (CAPA-MIV):** administración de 150 UI/día de hMG durante dos días, comenzando en día 2-3 del ciclo en mujeres con ciclos menstruales normales ( $<35$  días de ciclo) y 5 días después de 2 semanas de anticonceptivos en mujeres con ciclos menstruales anormales ( $>35$  días, 4-9 ciclos menstruales por año o amenorrea). La punción se programó 42 horas de la última dosis, sin *trigger*.

## Resultados clínicos

Se transfirieron un total de 1037 embriones congelados en D3, 528 del grupo control y 509 del grupo de estudio.

Al comparar los resultados entre los grupos el margen inferior de la **tasa de gestación y tasa de recién nacido vivo** excedió de -10, pero el superior fue >0, por lo que no se pudo concluir que existiese inferioridad o no inferioridad de CAPA-MIV frente a los ciclos de FIV.

Sin embargo, si se confirmó inferioridad en cuanto a **tasa de gestación acumulada** a los 6 meses y a los 12 meses (Tabla 10). Para el resto de las variables se confirmó la no inferioridad de CAPA-MIV frente a los ciclos de FIV. Además, no se observó incidencia de SHO en el grupo de estudio (CAPA-MIV) pero sí en el grupo control (FIV), en dos pacientes (0,17%, p-valor=0,48).

	CAPA-MIV	FIV	Diferencia entre grupos (IC 95%)
<b>Recién nacido vivo, n (%)</b>	96 (35.2)	118 (43.2)	-8.1 (-16.6, 0.5)
<b>Embriones transferidos</b>	509	528	-
<b>SET, n (%)</b>	23 (8.6)	6 (2.2)	-
<b>DET, n (%)</b>	243 (91,4)	261 (97,8)	-
<b>Implantación, n (%)</b>	177 (34.8)	206 (39)	-4.2 (-10.3, 1.8)
<b>Gestación, n (%)</b>	104 (38.1)	126 (46.2)	-8.1 (-16.7, 0.6)
<b>Tasa de gestación acumulada 6 meses, n (%)</b>	96 (35.2)	133 (48.7)	-13.5 (-22.1, -5)*
<b>Tasa de gestación acumulada 12 meses, n (%)</b>	120 (44)	171 (62.6)	-18.7 (-27.3, -10.1)*
<b>Pérdida temprana, n (%)</b>	30 (11)	27 (9.9)	1.1 (-4.4, 6.6)
<b>Anormalidad congénita, n (%)</b>	0	0	-
<b>Cuidados intensivos neonatales, n (%)</b>	5 (1,8)	7 (2,6)	-0.7 (0.23, 2.22)

Tabla 10. Resultado de tasas clínicas de CAPA-MIV y FIV y la diferencia entre ellas (diferencia entre grupos) del estudio de Vuong et al. (2020a) tras primera transferencia embrionaria. Los resultados se muestran en n=número de pacientes, %=porcentaje de pacientes. IC=Intervalo de confianza. \*Inferioridad.

### Resultados de laboratorio

En el estudio se compararon resultados de laboratorio obtenidos en ambos grupos (Tabla 11).

Se observó en casi todas las variables una inferioridad con significancia estadística del grupo de estudio frente al grupo control. Las variables en las que no se encontró diferencia fueron el número de ciclos sin ovocitos recuperados, sin ovocitos MII y sin embriones disponibles (Tabla 11).

	CAPA-MIV	FIV	Diferencia entre grupos (IC 95%)
<b>X Ovocitos recuperados</b>	14.1±8	19.7±8.6	-5.5 (-6.9, -4.1)*
<b>X Ovocitos MII</b>	8.9±5.4	15.6±7.4	-6.7(-7.8, -5.6)*
<b>Tasa de maduración (%)</b>	64.3±17.4	79.3±16.2	-15.1(-17.9, -12.2)*
<b>X Ovocitos fecundados</b>	7.3±4.6	13.6±6.6	-6.3(-7.3, -5.4)*
<b>X Embriones division 2 céls</b>	4.8±3.4	10.8±5.7	-6(-6.8, -5.2)*
<b>X Embriones calidad Q1</b>	3.2±2.7	7.9±5.1	-4.7(-5.4, -4)*
<b>X Embriones congelables D3</b>	4±2.6	7.9±5.1	-4.7(-5.4, -4)*
<b>Ciclos sin ovocitos recuperados, n</b>	1	3	-0.7(-2.5, -1.1)
<b>Ciclos sin ovocitos MII, n</b>	1	3	-0.7(-2.5, -1.1)
<b>Ciclos sin embriones, n</b>	5	2	1.1(-1.2, -3.4)

Tabla 11. Resultado de tasas de laboratorio de CAPA-MIV y Fecundación In Vitro (FIV) y la diferencia entre ellas (diferencia entre grupos) del estudio de Vuong et al. (2020a). Los resultados se muestran en X=media, n=número de ciclos y %. IC=Intervalo de confianza. \*Significación estadística.

## Discusión

### Rescate Madurativo FIV: RMFIV

En los ciclos de FIV la incidencia de bajo respondedoras es de aproximadamente el 9-24%, siendo las principales causas la edad materna avanzada y/o baja reserva ovárica. Aun existiendo factores predictores de la respuesta a la estimulación (como la hormona antimulleriana o alto recuento de folículos antrales), que permiten adecuar el protocolo en función de la capacidad de respuesta, muchas veces los resultados no son los esperados, obteniéndose un bajo número de ovocitos maduros (MII) en el ciclo.

Este tipo de respuesta lleva muchas veces a uno de los problemas que existen en los ciclos de reproducción asistida: la cancelación del ciclo. Por ello, aumentar el número de ovocitos MII disponibles en el ciclo podría aumentar las posibilidades de éxito de éste, motivo por el que surge el RMFIV.

En los estudios analizados en el presente trabajo las tasas de maduración ovocitaria de RMFIV **tras un día de cultivo** oscilan entre el 47,6% y 69,8% y en el estudio de Escrich et al. (2018) se reporta un aumento por paciente de 3,9 ovocitos MII disponibles.

Sin embargo, tanto la tasa de fecundación, como la de bloqueo embrionario en D2 y D3 de desarrollo, así como la tasa de blastocisto son, en general, significativamente inferiores en los ovocitos madurados *in vitro*, por lo que la maduración nuclear solamente no basta para mejorar el rendimiento del ciclo.

Para que la fecundación tenga lugar el ovocito debe haber madurado de forma correcta, ya que los ovocitos inmaduros a nivel citoplásmico no responden a la señal de activación procedente del espermatozoide (necesaria para la fecundación) y presentan una mayor fragilidad de la membrana plasmática, que puede verse altamente dañada al realizarse el ICSI (11,13). Además, aumentar el tiempo de cultivo de los ovocitos para que progresen a estadio MII también se ha relacionado con cambios en el patrón de iones de calcio ( $Ca^{2+}$ ) durante la fecundación, debido a una incorrecta regulación de este por parte del retículo endoplásmico, que puede estar asociada a una degradación ovocitaria por dicho aumento en el cultivo, que a su vez puede afectar al posterior desarrollo (3,11). También se afecta a la producción de ATP mitocondrial, debido a un estrés oxidativo (3).

Cuando el folículo alcanza el estadio de folículo antral éste ya tiene la capacidad innata de progresar de VG a MII, aun no habiéndose completado de forma correcta su maduración, motivo por el cual debe mantenerse en arresto meiótico hasta finalizar su desarrollo, que solo es posible gracias a la comunicación de éste con las células del cúmulo y de la granulosa.

Al no poderse conocer el estadio madurativo citoplasmático del ovocito, no es posible distinguir entre los ovocitos que han extruido el primer corpúsculo polar de forma espontánea tras la decumulación y los que lo han hecho tras finalizar su maduración.

Los resultados obtenidos muestran, además, que cuando se tiene en cuenta el tiempo de maduración (D0 o D1) y/o el estadio madurativo inicial (VG o MI), la tasa de fecundación sigue siendo estadísticamente mayor en el grupo control.

En cuanto a la división embrionaria temprana, los ovocitos RMFIV fecundados presentaron significativamente un mayor bloqueo en estadio de cigoto y una tasa más baja de desarrollo a D3 cuando se comparó con el grupo control. Los resultados muestran que cuando la maduración se realiza en día 0, hay mayor tasa de división tras fecundación que cuando ocurre en día 1 (Avci et al., 2020; Mandelbaum et al., 2021). *In vivo*, los ovocitos MI necesitan de 3-5 horas para alcanzar el estadio de MII, mientras que las VG necesitan un tiempo de 34-38 horas. Esto podría explicar por qué los ovocitos MI que consiguen completar la primera división meiótica en día 0 presentan una mayor competencia que aquellos que lo hacen en día 1, pudiendo tener los segundos un mecanismo defectuoso de maduración que reduzca su competencia y se traduzca en un mayor bloqueo durante el desarrollo.

La tasa de blastocisto también resulta estadísticamente menor en el grupo RMFIV que la de los ovocitos MII (grupo control), que vieron una mejoría cuando se trataba de ovocitos que consiguieron madurar *in vitro* en día 0 frente a los que lo hicieron en día 1 (Mandelbaum et al., 2021). Además, Mandelbaum et al. (2021) observaron un mayor potencial de llegada a blastocisto de ovocitos rescatados pertenecientes a cohortes donde la proporción de ovocitos MII en punción fue baja (de 0-33%), siendo las mujeres de edad igual o superior a 40 años aquellas en las que más ciclos de este tipo se reportaron. Aunque no se observó diferencia en tasa de llegada a blastocisto con la edad, esto se traduce en una mayor proporción de blastocistos derivados de ovocitos inmaduros rescatados en este

tipo de mujeres comparado con las de menos de 40 años, resultado en sintonía con los resultados de Elkhatab et al. (2023), que concluyen que aquellas pacientes en la que se produce un mayor aumento de blastocisto biopsiable procedente de ovocitos RMFIV ( $\geq 50\%$ ) son aquellas mayores de 37 años, que obtuvieron una baja proporción de ovocitos MII el día de punción ( $< 34\%$ ), con bajo número de ovocitos recuperados ( $< 10$  ovocitos) e inferiores tasas de fecundación ( $< 60\%$ ).

Puede que aquellos ciclos en los que la proporción de ovocitos inmaduros recuperados es mayor, sean ciclos en los que éstos no han tenido tiempo suficiente para madurar *in vivo* y dicho tiempo se vea compensado con su cultivo *in vitro*, frente a aquellos con mayor proporción de maduros en los que los inmaduros puede que no hayan conseguido alcanzar el estadio de MII *in vivo* debido a un menor potencial de desarrollo intrínseco. Además, se ha observado que los ovocitos MII pertenecientes a cohortes ovocitarias con alta proporción de inmaduros presentan un menor potencial de desarrollo que los que presentan una menor proporción, por lo que poder aumentar el número de ovocitos disponibles MII, en estos ciclos, supondría un gran beneficio para la paciente (11).

En cuanto a la cinética de división embrionaria, si bien los tiempos de división fueron comparables a los de ovocitos MII desde estadio de 4 células a tiempo de formación de la mórula (Escrich et al., 2018; Faramarzi et al., 2018) el grupo de Faramarzi encontró un retraso en los tiempos desde la extrusión del segundo corpúsculo polar (2PB) a tiempo de división a 4 células ( $t_4$ ) en embriones procedentes de ovocitos rescatados, una mayor tasa de fusión celular tras división, divisiones irregulares y asimetría en blastómeros, pudiendo indicar un desarrollo comprometido del blastocisto durante las primeras etapas (dependientes de genes maternos) que tras la activación genómica del embrión consigue igualarse al de los blastocistos procedentes de ovocitos MII.

En cuanto al posible aumento o no de aneuploidías derivadas del uso de la técnica los datos reportados no son suficientes como para poder sacar una conclusión, observándose tasas de embriones euploides de 34,7% a 50% y no pareciendo existir diferencias entre el estadio madurativo inicial de los ovocitos rescatados (Escrich et al., 2018; Elkhatab et al., 2021; Moon et al., 2022). De nuevo, y debido a que se prioriza la transferencia de embriones procedentes de ovocitos MII a ovocitos rescatados *in vitro*, solo Moon et al. (2020) analizan los resultados obtenidos relacionados con tasas clínicas,

no encontrando diferencias significativas en tasa de embarazo, pérdida ni recién nacido vivo, aunque el tamaño muestral no es lo suficientemente grande como para poder considerarlo como concluyente.

Sin embargo, aunque no se puedan analizar los resultados desde un punto de vista analítico, a día de hoy gracias al RMFIV las pacientes de estudio han conseguido 22 recién nacidos vivos en total (más 2 posibles por confirmar procedencia y 3 embarazos en curso en momento de publicación) gracias a la transferencia de 48 embriones euploides procedentes de ovocitos inmaduros rescatados.

### **Maduración In Vitro: MIV**

La Maduración In Vitro de ovocitos es una Técnica de Reproducción Asistida que no es realizada de rutina en los laboratorios de FIV. Sin embargo, desde su primera descripción en humanos (Edwards, 1965) ha existido un interés creciente en ella.

Actualmente, los principales esfuerzos se centran en poder encontrar un medio de cultivo que imite de forma lo más parecida posible las condiciones en las que se encuentra el ovocito *in vivo*. Durante mucho tiempo los medios utilizados para MIV se basaban en el uso de gonadotropinas para favorecer el crecimiento de los ovocitos y su maduración. Sin embargo, cuando el folículo alcanza el estadio de folículo antral, como se menciona en párrafos anteriores, éste ya tiene la capacidad innata de poder progresar de VG a MII, aun no habiéndose completado de forma correcta su maduración citoplasmática. Por este motivo, *in vivo*, se mantiene en arresto meiótico mientras el ovocito continúa madurando, siendo responsable de dicho arresto meiótico un nivel elevado de adenosín monofosfato cíclico (AMPC) en el ovocito.

En base a dicho mecanismo (y a estudios realizados en animales que muestran buenos resultados) la línea de investigación más reciente consiste en la introducción de un medio de pre-cultivo, anterior al cultivo en medio de MIV, que mantenga a los ovocitos en arresto meiótico para conseguir una sincronización de la maduración nuclear y citoplasmática de este. El último compuesto probado en humanos en el medio pre-madurativo incluye el uso de péptido natriurético tipo C (CNP).

Debido a la novedad de su aplicación, los estudios incluidos en la revisión han sido llevados a cabo por el mismo grupo investigador. Si bien la potencia de los resultados

es mayor, al ser estudios prospectivos, se necesitan más publicaciones realizadas por otros grupos que constaten o no estos datos.

En el primer estudio llevado a cabo por el grupo (Sánchez et al., 2017) se estudió si el tiempo de cultivo afectaba o no a los resultados obtenidos, cultivando complejos cúmulo-corona-ovocito durante 24 horas y 48 horas y observando que, en ambos casos, el uso de CNP en el cultivo pre-madurativo (CAPA-MIV) mejora la eficiencia de la maduración *in vitro*. Para estudios posteriores, por tanto, se definió el tiempo de cultivo de 24h. Dicha eficiencia, sin embargo, disminuye cuando los ovocitos están parcialmente decumulados, debido probablemente a la relación entre las células de la granulosa y el mecanismo de acción del CNP.

El CNP es un péptido secretado por las células de la granulosa mural que se une a su receptor (NPR2) en la superficie de las células del cúmulo, induciendo la expresión de guanosín monofosfato cíclico (GMPc) que será posteriormente transportado al interior del ovocito gracias a uniones de tipo GAP. Este GMPc inhibe la activación de la fosfodiesterasa 3 (PDE3A) cuya función es la degradación de AMPc dentro del ovocito, permitiendo que los niveles de AMPc se mantengan estables (7).

Gracias a la introducción de dicho cultivo pre-madurativo (CAPA-MIV) la tasa de maduración de los ovocitos mejora significativamente respecto a la obtenida con el cultivo de MIV convencional independientemente del tamaño del folículo antral de procedencia (Vuong et al., 2020b). Este aumento en el número de ovocitos disponibles se traduce en un mayor número de embriones de calidad 1 y 2 y, por tanto, un mayor número de embriones disponibles para vitrificación en día 3 de desarrollo.

Sin embargo, dicho cultivo pre-madurativo no parece mejorar la competencia ovocitaria una vez el ovocito alcanza el estadio de MII, no observándose diferencias significativas en tasa de fecundación ni de embriones de buena calidad por ovocito fecundado. Por otro lado, el grupo que ha estudiado el efecto de esta novedosa técnica, en la gran mayoría de los casos, cultiva los embriones únicamente hasta día 3, existiendo ausencia de datos relacionados con el desarrollo de blastocistos derivados ésta. Debido a ello no se han podido realizar suficientes análisis genéticos de embriones que informen sobre su seguridad en este sentido.

El único análisis realizado se llevó a cabo en el estudio Sánchez et al. (2017). Aunque en este caso la proporción de embriones normales es elevada (17/20) y



comparable a la de embriones procedentes de ciclos de FIV convencionales, el tamaño muestral no es suficientemente grande como para poder afirmar que la técnica no tenga una influencia en el índice de aneuploidías embrionarias. Además, la ausencia de datos procedentes del grupo control dificulta la interpretación de los resultados.

Al comparar las tasas de éxito de la CAPA-MIV frente a un ciclo de FIV convencional, tanto en resultados de laboratorio como clínicos, se observa un peor pronóstico de los resultados en CAPA-MIV. El grupo llevó a cabo un ensayo clínico de no inferioridad que, asumiendo que los resultados de la Maduración In Vitro no consiguen igualarse a los de los obtenidos con ciclos de FIV, considera una diferencia mayor a la debida o "asumible" entre ambas técnicas de un -10% de efectividad de la CAPA-MIV frente al ciclo de FIV.

Durante el análisis de los resultados obtenidos en el ensayo clínico no se pudo confirmar la inferioridad o no inferioridad de la tasa de gestación y recién nacido vivo, pero sí se confirmó la inferioridad de la tasa de gestación acumulada a los 6 meses y a los 12 meses desde la primera transferencia embrionaria. En el artículo se reportan peores tasas de laboratorio de los ovocitos y embriones procedentes de CAPA-MIV, por lo que estos resultados pueden derivar de la menor cantidad final de embriones disponibles en este grupo para su transferencia y/o de una calidad embrionaria comprometida.

El hecho de que la transferencia embrionaria se realizase en día 3 de desarrollo (embriones congelados) y en ausencia de análisis genético limita los resultados de los estudios, ya que no se conoce el potencial implantatorio y de desarrollo de embriones viables, en ambos casos, pudiendo sesgar los resultados. Además, muchas de las transferencias realizadas fueron de dos embriones, práctica que a día de hoy se evita, siempre que sea posible, debido al alto riesgo de embarazo múltiple y los riesgos que éste lleva consigo.

Todos los estudios llevados a cabo por el grupo se realizaron en pacientes con Síndrome de Ovario Poliquístico (SOP) y/o alto recuento de folículos antrales (AFC), que presentan un alto riesgo de Síndrome de Hiperestimulación Ovárica, pudiendo este presentarse durante la estimulación (SHO temprano, causado por el *trigger* de hCG) o por gestación (SHO tardío, causado por un aumento de hCG endógena tras la implantación).

Actualmente, y tal y como se muestra en el estudio de Vuong et al. (2020a) la incidencia de SHO es baja, y puede evitarse en pacientes de riesgo al prescindir de *trigger*

de hCG y/o vitrificando todos los embriones obtenidos durante el ciclo de estimulación y realizando una transferencia en un segundo ciclo, en diferido.

Sin embargo, todavía existe un perfil de paciente en el que la MIV puede llegar a ofrecer un gran beneficio: pacientes con Síndrome de Resistencia Ovárica (ROS) y oncológicas. Ya que aparentemente los resultados mejoran incluyendo el medio pre-madurativo se necesitarían nuevos estudios para este perfil de paciente, ya que al haber sido todos realizados en pacientes con SOP y/o alto AFC los resultados podrían no extrapolarse.

En las pacientes con ROS no existe una respuesta a la estimulación con FSH, por lo que los ciclos de FIV no pueden ser en la mayoría de los casos una vía de tratamiento. Por otro lado, en pacientes oncológicas que quieren preservar su fertilidad, la MIV puede ser una alternativa en caso de ausencia de tiempo suficiente para un protocolo de estimulación antes del tratamiento oncológico y/o en caso de tumores hormonodependientes, en los que el uso de gonadotropinas puede agravar la situación.

Es por ello por lo que la mejoría que parece ofrecer el CAPA-MIV frente a la MIV convencional puede resultar, en estos casos, esperanzadora.

## Conclusiones

1. La tasa de maduración ovocitaria en día 1 de los ovocitos RMFIV oscila entre el 48-69%, por lo que podría ser una opción para mejorar el rendimiento de los tratamientos.

2. Sin embargo, los ovocitos procedentes de RMFIV presentan menor tasa de fecundación y potencial de desarrollo embrionario que los ovocitos MII de la misma cohorte.

3. El perfil de paciente en el que se encuentra un mayor beneficio del RMFIV son pacientes con edad materna avanzada (>37-40 años), con bajo número de ovocitos en punción (<10), baja proporción de ovocitos MII rescatados (<34%) y baja tasa de fecundación (<60%).

4. El cultivo pre-madurativo con CNP (CAPA-MIV) consigue mantener al ovocito en arresto meiótico, promoviendo su crecimiento y mejorando los resultados de maduración ovocitaria y embriones disponibles de buena calidad en día 3 (D3) con respecto a la MIV convencional.

5. Siendo la incidencia de SHO (SOP presenta alto riesgo) en ciclos de FIV muy reducida y las tasas de éxito de MIV peores a las de ciclos de FIV convencionales el perfil de paciente que actualmente puede ver mayor beneficio de la aplicación de la técnica parece ser pacientes con ROS u oncológicas.

6. Los beneficios reportados de los medios pre-madurativos de MIV podrían aplicarse a la RMFIV para intentar mejorar la competencia de los ovocitos inmaduros obtenidos tras estimulación, ya que los medios empleados en la actualidad son medios generales de crecimiento.

## Bibliografía

1. Alcoba, D., Pimentel, A., Brum, I. y Corleta, H. (2015). *Developmental potential of in vitro or in vivo matured oocytes*. *Zygote*, 23. 93-98. <https://doi.org/10.1017/S0967199413000233>
2. Avci, B., Kasapoglu, I., Cakir, C., Ozbay, A., Ata, B. y Uncu, G. (2020). *Fertilisation and early embryonic development of immature and rescue in vitro-matured sibling oocytes*. *Human Fertility*, 25:1. 107-116. <https://doi.org/10.1080/14647273.2020.1714085>
3. Elkhatib, I., Nogueira, D., Bayram, A., Abdala, A., Del Gallego, R., Melado, L., De Munck, N., Lawrenz, B. y Fatemi, H. (2023). *How to identify patients who would benefit from delayed-matured oocytes insemination: a sibling oocyte and ploidy outcome study*. *Human Reproduction*. 1-11. <https://doi.org/10.1093/humrep/dead129>.
- 4 Escrich, L., Galiana, Y., Grau, N., Insua, F., Soler, N., Pellicer, A. y Escribá, M.J. (2018) *Do immature and mature sibling oocytes recovered from stimulated cycles have the same reproductive potential?* *Reproductive BioMedicine Online*, 37. 667-676. <https://doi.org/10.1016/j>
5. Faramarzi, A., Khalili, M., Ashourzadeh, S y Palmerini, M. (2018). *Does rescue in vitro maturation of germinal vesicle stage oocytes impair embryo morphokinetics development?* *Zygote*, 26. 430-434. <https://doi.org/10.1017/S0967199418000515>.
6. Fleming, R., Seifer, D., Frattarelli, J. y Ruman, J. (2015). *Assessing ovarian response: antral follicle count versus anti-Müllerian hormone*. *Reproductive BioMedicine Online*, 31. 486-496. <https://dx.doi.org/10.1016/j.rbmo.2015.06.015>.
7. Gong, X., Li, H. y Zhao, Y. (2022). *The Improvement and Clinical Application of Human Oocyte In Vitro Maturation (IVM)*. *Reproductive Sciences*, 29. 2127-2135. <https://doi.org/10.1007/s43032-021-00613-3>.
8. Holesh JE, Bass AN, Lord M. Physiology, Ovulation. [Updated 2023 May 1]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441996/>

9. Jie, H., Zhao, M., Alqawasmeh, O., Pui Shan Chan, C., Lee, T., Li, T. y Yiu Leung Chan, D. (2021). *In vitro rescue immature oocytes – a literature review. Human Fertility*. 1-11. <https://doi.org/10.1080/14647273.2021.1876932>.

10. La Marca, A. y Capuzzo, M. (2019) *Use of progestins to inhibit spontaneous ovulation during ovarian stimulation: the beginning of a new era? Reproductive BioMedicine Online*, 39. 321-331. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2019.03.212>.

11. Mandelbaum, R., Awadalla, M., Smith, M., Violette, C., Klooster, B., Danis, R., McGinnis, L., Ho, J., Bendikson, K., Paulson, R. y Ahmady, A. (2021). *Developmental potential of immature human oocytes aspirated after controlled ovarian stimulation. Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 38. 2291-2299. <https://doi.org/10.1007/s10815-021-02253-7>.

12. Mao, L., Lou, H., Lou, Y., Wang, N. y Jin, F (2014). *Behaviour of cytoplasmic organelles and cytoskeleton during oocyte maturation. Reproductive BioMedicine Online*, 28. 284-299. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rbmo.2013.10.016>.

13. Moon, J., Zhao, Q., Zhang, J., Reddy, V., Cheng, Y., Chang, N., Dasig, J., Nel-Themaat, L., Behr, B. y Yu, B. (2022). *The developmental competence of human metaphase I oocytes with delayed maturation in vitro. Fertility and Sterility*, 119. 690-696. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2022.12.033>.

14. Practice Committees of the American Society for Reproductive Medicine, the Society of Reproductive Biologists and Technologists, and the Society for Assisted Reproductive Technology. (2021). *In vitro maturation: a committee opinion. Fertility and Sterility*, 115. 298-304. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.11.018>.

15. Quaas, A. (2021). *Triggering change in stimulation protocols: a matter of oocyte maturation and beyond. Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 38. 1285-1287. <https://doi.org/10.1007/s10815-021-02223-z>.

16. Reed BG, Carr BR. The Normal Menstrual Cycle and the Control of Ovulation. [Updated 2018 Aug 5]. In: Feingold KR, Anawalt B, Blackman MR, et al., editors. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279054/>

17. Sacha. C., Kaser, D., Farland, L., Srouji, S., Missmer, S. y Racowsky, C. (2018). *The effect of short-term exposure of cumulus-oocyte complexes to in vitro*

*maturation medium on yield of mature oocytes and usable embryos in stimulated cycles. Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 35. 841-849. <https://doi.org/10.1007/s10815-018-1155-z>.*

18. Sanchez, F., Le, A., Ho, V., Romero, S., Van Ranst, H., De Vos, M., Gilchrist, R., Ho, T., Vuong, L. y Smitz, J. (2019). *Biphasic in vitro maturation (CAPA-IVM) specifically improves the developmental capacity of oocytes from small antral follicles. Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 36. 2135-2144. <https://doi.org/10.1007/s10815-019-01551-5>.*

19. Sánchez, F., Lolicato, F., Romero, S., De Vos, M., Van Ranst, H., Verheyen, G., Anckaert, E. y Smitz, J.E.J. (2017) *An improved IVM method for cumulus-oocyte complexes from small follicles in polycystic ovary syndrome patients enhances oocyte competence and embryo yield. Human Reproduction, 32. 2056-2068. <https://doi.org/10.1093/humrep/dex262>*

20. Vuong, L. N., Ho, V.N.A., Ho, T. M., Dang, V. Q., Phung, T. H., Giang, N. H., Le, A. H., Pham, T. D., Wang, R., Smitz, J., Gilchrist, R. B., Norman, R. J. y Mol, B. W. (2020, a) *In-vitro maturation of oocytes versus conventional IVF in women with infertility and a high antral follicle count: a randomized non-inferiority controlled trial. Human Reproduction, 35. 2537-2547. <https://doi.org/10.1093/humrep/deaa240>* (b)

21. Vuong, L.N., Le, A.H., Ho, V.N.A., Pham, T.D., Sanchez, F., Romero, S., De Vos, M., Ho, T.M., Gilchrist, R.B. y Smitz, J. (2020, b) *Live births after oocyte in vitro maturation with a prematuration step in women with polycystic ovary syndrome. Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 37. 347-357. <https://doi.org/10.1007/s10815-019-01677-6>* (a)