



**Facultad de
Ciencias de la Salud**
Universidad de La Laguna



RESULTADOS REPRODUCTIVOS EN PACIENTES CON ENDOMETRIOSIS TRAS APLICAR HATCHING ASISTIDO EN TRANSFERENCIA DE EMBRIONES CONGELADOS

Trabajo de Fin de Grado

Idaira María Anceaume Hernández

Ana María Hamilton López

Tutoras: Dra. Delia Rosa Báez Quintana y Dra. Raquel Blanes Zamora

Co-tutor: Enrique González Dávila

Facultad de Medicina Universidad de La Laguna

Unidad de Reproducción Humana del CHUC

Curso 2021/2022

ÍNDICE

1. LISTA DE ABREVIATURAS	2
2. RESUMEN	3
3. INTRODUCCIÓN.....	5
4. JUSTIFICACIÓN.....	12
5. HIPÓTESIS	12
6. OBJETIVOS.....	13
7. MATERIAL Y MÉTODOS.	14
8. RESULTADOS	17
9. DISCUSIÓN.....	26
10. CONCLUSIONES.....	29
11. HABILIDADES Y CONOCIMIENTOS ADQUIRIDOS	30
12. AGRADECIMIENTOS.....	31
13. BIBLIOGRAFÍA.....	32
14. ANEXO I.....	34
15. ANEXO II.....	35
16. ANEXO III.....	36

LISTA DE ABREVIATURAS

AINEs	Antiinflamatorios no esteroideos
ASRM	American Society for Reproductive Medicine
CP	Corpúsculo polar
DIU	Dispositivo intrauterino
FIV	Fertilización in vitro
FSH	Follicle-stimulating hormone (Hormona foliculoestimulante)
GnRH	Gonadotropin-releasing hormone (Hormona liberadora de gonadotropinas)
HA	Hatching asistido
ICSI	Intra cytoplasmatic sperm injection (Inyección intracitoplasmática de espermatozoides)
IMC	Índice de masa corporal
PN	Pronúcleos
RMN	Resonancia magnética nuclear
REL	Retículo endoplásmico liso
SAP	Sistema de aplicaciones y productos
SARA	Sistema de ayuda a la reproducción asistida
SCS	Servicio canario de salud
TRA	Técnica de reproducción asistida
TEC	Transferencia de embriones congelados
ZP	Zona Pelúcida

RESUMEN

Palabras clave: Hatching, endometriosis, infertilidad, FIV.

Introducción: la endometriosis es una patología de diagnóstico tardío, crónica, incapacitante y con gran repercusión en los resultados reproductivos de las mujeres que la padecen. El Hatching Asistido con láser facilita la eclosión de los embriones previo a la implantación al abrir un fragmento de la zona pelúcida.

Objetivos: comprobar la eficiencia de la técnica de HA en la mejora de la implantación en pacientes con endometriosis y observar si existe diferencia con los resultados de las pacientes sin endometriosis.

Material y métodos: estudio de casos-control en proporción 1:4 de 415 ciclos de transfer de embriones criopreservados. Se analizaron las variables: edad, IMC, día de transferencia del embrión, número de los mismos, grado de endometriosis y evolución de la enfermedad, tasa de implantación, embarazo y aborto.

Resultados y discusión: se observó una mejora en la implantación en los casos en los que se utilizó la técnica de HA, sin alcanzar significación estadística.

Conclusiones: A expensas de ampliar el número de casos se debe implementar la técnica de HA en los embriones de mujeres con endometriosis y valorar individualmente los casos sin endometriosis que se pudieran beneficiar de la misma.

ABSTRACT

Key words: Hatching, endometriosis, infertility, IVF

Introduction: Endometriosis is an incapacitating, chronic, late diagnosis pathology with great impact on women's reproductive outcome. The Laser Assisted Hatching is a technique that facilitates the embryos hatching prior implantation by opening a fragment of the zona pellucida.

Objectives: To check the efficiency of the AH technique in improving the implantation rate in patients with endometriosis and see if there is a difference with the results of patients without this pathology.

Methods: It's a case-control study in proportion 1:4 of 415 cases of transferred cryopreserved embryos. Variables such as age, BMI, number of embryos and the day they were transferred, endometriosis' degree, disease evolution and implantation, pregnancy and abortion rate were evaluated.

Results and discussion: An improvement in implantation was observed in cases where the EF technique was used, without reaching statistical significance.

Conclusions: At the expense of expanding the number of cases, HA technique should be implemented in embryos of women with endometriosis and individually assess non-endometriosis cases that could benefit from it.

INTRODUCCIÓN

La endometriosis es una enfermedad inflamatoria estrógeno-dependiente de origen desconocido que se define como la implantación y crecimiento de tejido endometrial fuera de la cavidad uterina. El ovario es el sitio predominante de presentación y le sigue, peritoneo, ligamentos uterosacros y fondo de saco de Douglas, siendo infrecuente su aparición fuera de la pelvis.

Este tejido está formado por **glándulas y estroma** funcionalmente similares al tejido endometrial uterino y, por tanto, es igualmente dependiente de los cambios hormonales que se dan durante el ciclo menstrual, produciéndose **sangrado** y desprendimiento de este con la menstruación. Estos cambios se traducen en una respuesta inflamatoria crónica, con fibrosis y posible formación de adherencias secundarias, culpables de algunos síntomas de la enfermedad.

Es muy difícil conocer con exactitud la prevalencia e incidencia de la enfermedad, pero se estima que afecta al menos a un 10-20% de la población femenina en edad fértil, especialmente entre 25 y 35 años, de cualquier etnia-raza y grupo social y que asciende al 30-50% si consideramos tan solo a mujeres en ese mismo rango de edad que presenten problemas de infertilidad-esterilidad o dolor pélvico crónico. [1]

HIPÓTESIS DEL ORIGEN DE LA ENDOMETRIOSIS

Los conocimientos actuales sobre la fisiopatología de la endometriosis son limitados y, aunque se ha demostrado cierta predisposición genética, su mecanismo de aparición y desarrollo son aún desconocidos. Diferentes teorías intentan dilucidar el origen de la enfermedad, sin embargo, no nos vamos a extender dado que ninguna ha sido refrendada con exactitud.

- **Teoría de la menstruación retrógrada o de Sampson:** que se observa en aproximadamente el 90% de las mujeres, tengan o no endometriosis. Muy discutida.
- **Teoría de la metaplasia celómica o de Meyer:** transformación metaplásica de las células del peritoneo visceral-abdominal que tienen el mismo precursor embrionario.
- **Teoría de la metástasis linfática y hematógena o de Halban:** células endometriales serían transportadas creando lesiones a distancia.

- **Teoría de la inducción:** el propio endometrio necrótico o desnaturalizado libera sustancias que activan el proceso de metaplasia celómica.
- **Teoría inmunológica:** existe déficit a nivel inmunológico que ocasiona que el organismo sea incapaz de reconocer y eliminar las células endometriósicas.
- **Teoría de las células progenitoras de la médula ósea:** las células progenitoras de la médula ósea pueden diferenciarse en tejido endometriósico, probablemente células progenitoras mesenquimales o endoteliales. Esto explicaría por qué pueden tener endometriosis pacientes sin útero u hombres con cáncer de próstata y tratamientos con dosis elevadas de estrógenos.

CLASIFICACIÓN DE LA ENDOMETRIOSIS

La extensión de la endometriosis puede variar desde unas pocas y pequeñas lesiones hasta grandes endometriomas ováricos, nódulos, fibrosis y adherencias que pueden llegar a alterar la anatomía normal de la pelvis.

Actualmente no existe una clasificación de la endometriosis que consiga correlación entre el estadio de la endometriosis, los síntomas y el pronóstico. Pese a ello, la clasificación más utilizada en la actualidad es la de la Sociedad Americana de Medicina Reproductiva (1996) (Anexo I) que tiene en cuenta la localización de lesiones, su diámetro y profundidad y la densidad de las adherencias determinadas por laparoscopia o la Enzian (Anexo II). En rasgos generales, se clasifica según su localización en endometriosis superficial y profunda

Las manifestaciones clínicas son amplias y variables, no existiendo siempre relación entre los síntomas y la extensión anatómica de la enfermedad. Podemos encontrar desde mujeres asintomáticas (15-30%) hasta formas severas y crónicas con síntomas intensos para las que no se consigue un tratamiento curativo y llega a ser invalidante, especialmente en el subgrupo de pacientes con endometriosis profunda. La clínica está dominada por el dolor en forma de dismenorrea que no cede con el tratamiento habitual, dolor pélvico crónico (70%), dispareunia, dolor de espalda o abdominal, disuria, disquecia cíclica con o sin rectorragia e **infertilidad (30-40%)**. [1,2]

DIAGNÓSTICO

Se calcula un retraso en el diagnóstico de 7 años, por lo que debemos hacer hincapié en la historia clínica tanto personal como familiar y en la exploración, donde podemos encontrar un útero en retroversión forzada y fija doloroso a la movilización y nódulos rojos, azulados o hemorrágicos en genitales externos o vagina, sobre todo en fórnix posterior o en tabique recto vaginal, que suele revelar sensibilidad dolorosa, presencia de nódulos y fibrosis. Además, masas anexiales, especialmente si los anejos están fijos al útero o a las paredes pélvicas y son dolorosos al tacto y un fondo de saco de Douglas ocupado y doloroso y ligamentos úterosacros engrosados, dolorosos y con nódulos son sugestivos de la enfermedad. La ecografía vaginal o la RMN son pruebas de imagen son de gran ayuda y de manera inespecífica y válida para la respuesta al tratamiento sobre todo la determinación del CA125. No obstante, la falta de hallazgos tampoco excluye la existencia de la enfermedad. Finalmente, hay que destacar que la laparoscopia exploratoria es el gold estándar del diagnóstico. [2]

BIOMARCADORES

Multitud de estudios exploran el potencial de biomarcadores para el diagnóstico de la endometriosis, especialmente en pacientes sintomáticas. Entre estos encontramos marcadores neuronales como el PGP 9.5, el VIP, SP, NPY, CGRP y la combinación de PGP 9.5, SP y VIP, el CA125 y miRNA. Sin embargo, en una revisión de la Cochrane [2,3,4] se confirmó que actualmente no existe ningún biomarcador de uso clínico capaz de aportarnos información diagnóstica.

TRATAMIENTO

Existen diferentes tratamientos sintomáticos que han de ajustarse a cada paciente y su situación vital. Para endometriosis leves y moderadas el tratamiento de elección suele ser médico, tratándose de terapias hormonales y analgesia. En cambio, en endometriosis profundas, dolor pélvico severo u otras complicaciones, se contempla tratamiento quirúrgico. Por el momento no existe ningún tratamiento capaz de lograr los cuatro

objetivos terapéuticos básicos: suprimir los síntomas, restaurar la fertilidad, eliminar la endometriosis visible y evitar la progresión de la enfermedad.

Podemos dividir el tratamiento de la endometriosis en:

- **Tratamiento médico:**

La terapia hormonal tiene como finalidad frenar transitoriamente la evolución de la endometriosis y reducir la sintomatología, especialmente el dolor pélvico. No obstante, el tratamiento debe ser continuo, pues sin el mismo las recurrencias alcanzan un 80%.

Estos fármacos actúan suprimiendo o reduciendo la función ovárica, disminuyendo así el dolor asociado. En términos generales, los tratamientos hormonales son igualmente eficaces, pero difieren en sus efectos secundarios y su coste.

En este grupo encontramos los progestágenos, los anticonceptivos combinados, el danazol y la gastrinona, análogos de hormonas liberadoras de gonadotropinas, el DIU de Levonorgestrel y otros como tamoxifeno, cabergolina, etc.

En cuanto al tratamiento con fármacos analgésicos, este va a depender tanto de la gravedad como persistencia e incapacitación que presente cada paciente, variando desde AINES hasta opioides e incluso la necesidad de abordaje psicológico, fisioterapéutico y un tratamiento intervencionista con bloqueos nerviosos y neuromodulación. Por otro lado, está comenzado a proponerse el uso de marihuana como opioide terapéutico para el tratamiento del dolor crónico por endometriosis.

Estos tratamientos médicos no mejoran la fertilidad y en el caso de las terapias hormonales estas han de detenerse en caso de deseo de embarazo.[5]

- **Tratamiento quirúrgico:**

Actualmente solo se justifica por el dolor, pues la cirugía disminuye la reserva ovárica en mujeres sin proyecto reproductivo resuelto [6], considerándose la preservación de la fertilidad en aquellas mujeres sin deseos reproductivos en el momento [7] o la FIV/ICSI en aquellas con deseo genésico. Además, no existen estudios suficientes que defiendan el uso de cirugía previa a TRA con el objetivo de aumentar la tasa de gestación cuando la única indicación es la esterilidad, especialmente en mujeres con endometriosis profunda [2]

Los resultados en cuanto a tasa de embarazo son peores que en mujeres sin endometriosis [8,9]

Alteración anatómica de la pelvis secundaria a las adherencias, alteraciones en la calidad ovocitaria por foliculogénesis inadecuada, compromiso de las células de la granulosa y alteraciones del ambiente intrafolicular que se traducen en una peor calidad de oocitos y, consecuentemente, embriones con menor capacidad de implantación; alteraciones en la implantación embrionaria, disminución de la reserva ovárica como consecuencia de quistes endometriósicos que afectan al parénquima ovárico sano adyacente y/o daño iatrogénico durante la cirugía, disminución de las tasas de fertilización y aumento de la tasa de abortos y la alteración del desarrollo normal del embrión y peor calidad embrionaria son razones que se han barajado como causas de la esterilidad.

En conclusión, a pesar de existir una clara asociación entre endometriosis e infertilidad, el mecanismo por el cual se produce ésta es desconocido y la explicación de una asociación causa-efecto sigue siendo muy discutida.

TRATAMIENTO DE LA ESTERILIDAD ASOCIADA A ENDOMETRIOSIS

FIV/ICSI: son técnicas destinadas a facilitar la unión de ovocitos y espermatozoides en el laboratorio, obteniendo preembriones que serán introducidos en el útero con el fin de conseguir un embarazo. Pueden realizarse mediante dos procedimientos diferentes: la FIV convencional, en la que el óvulo y el espermatozoide se unen de forma espontánea y la Microinyección Espermática o ICSI, en la que la fecundación se realiza inyectando un espermatozoide en cada óvulo. Los embriones generados pueden ser transferidos en el día +3 o +5 en estadio de blastocisto, congelándose el resto.

Se inicia con la inducción de la ovulación, que utiliza dos tipos de fármacos: análogos de GnRH, agonistas y antagonistas y gonadotropinas. Hay autores que encuentran mayor tasa de embarazo en aquellas mujeres en las que se ha usado análogos de GnRH 2 meses previos a la inducción de la ovulación. [1]

- **Donación de ovocitos:** es el último recurso en mujeres con escasa o nula reserva ovárica y/o mala calidad de los ovocitos

CRITERIOS DE CALIDAD EMBRIONARIA

Las posibilidades de gestación en la especie humana dependen tanto de la receptividad endometrial como de la calidad embrionaria, aspectos que distan mucho de estar bien estudiados.

El método más habitual y eficaz para valorar la calidad embrionaria es la utilización de parámetros morfológicos. La aplicación de otros criterios como el consumo metabólico, el análisis cromosómico y la respirometría, aunque eficaces, no acaban de alcanzar una gran implantación en los laboratorios. (Anexo III). La calidad embrionaria en día +3 A, B,C,D y en día 5 blastocisto inicial o expandido o en eclosión son actualmente las más usadas en nuestro laboratorio, siguiendo el criterio morfológico de ASEBIR, prevaleciendo la morfocinética con el uso de incubadoras time lapse como sistema de selección.

CRIOPRESERVACIÓN DE EMBRIONES

La criopreservación de embriones es la técnica complementaria más importante en los laboratorios de reproducción asistida. La capacidad de preservar los embriones desde el ciclo en fresco ha permitido el desarrollo de terapias que obvian el temido síndrome de hiperestimulación, facilita la biopsia de trofotodermo en el PGT, la preservación de la fertilidad en pacientes oncológicas, etc. La mejora de los medios y de la técnica de vitrificación, permite barajar conceptos como tasa acumulada de embarazo y, en consecuencia, el aumento de nacidos vivos.

HATCHING ASISTIDO CON LÁSER

El hatching o eclosión asistida es un método que se usa en el laboratorio de reproducción asistida que consiste perforar la zona pelúcida, membrana que rodea al óvulo durante su desarrollo hasta blastocisto, mejorando la adhesión al endometrio y por tanto la implantación.

El grosor de la ZP se ve afectado negativamente por factores como edad, tabaquismo, perfil hormonal, la vitrificación, etc., disminuyendo la tasa de implantación. Se han descrito muchos mecanismos por los que el HA pudiera mejorar la implantación:

-La superación del endurecimiento de la ZP causado por FIV/ICSI, cultivo de células o criopreservación.

-La rotura artificial de la ZP puede mejorar el intercambio hormonal y de metabolitos, además de la comunicación embrión-endometrio.

-Algunas publicaciones [10] indican que embriones sometidos a HA tienden a implantarse un día antes que los embriones no intervenidos.

Sigue habiendo gran incertidumbre sobre si el HA mejora los resultados clínicos de manera significativa o si, por el contrario, no reporta beneficio alguno. Esta duda surge de la falta de estudios que reflejen un aumento franco de las tasas de nacidos vivos y de pruebas más concluyentes sobre su efecto en las tasas de aborto espontáneo y de embarazo múltiple.

Alteri A. en 2018 afirman que la eficacia de HA en mujeres con endometriosis aumenta la tasa de implantación y embarazo frente a mujeres a las que no se realizaba dicha técnica. [11]

JUSTIFICACIÓN

La tasa de implantación embrionaria en FIV en mujeres con endometriosis es significativamente menor (9,8%) que en aquellas mujeres sin endometriosis (19,36%), siendo una de las causas a considerar el endurecimiento de la ZP de sus embriones.

Esto, unido a los efectos de la vitrificación, conlleva una menor tasa de éxito y mayor número de intentos de FIV/ICSI, generando estrés y malestar en las usuarias, así como un aumento de los gastos para la sanidad pública.

El HA consiste en el uso de un láser como herramienta para romper la zona pelúcida y facilitar la eclosión y, por tanto, la implantación embrionaria. Este proyecto evalúa si el HA supone una mejora en la tasa de implantación y embarazo en las mujeres afectas de endometriosis.

Si nuestra hipótesis y objetivos se cumplieran se prevé un ahorro de tiempo y recursos al disminuir la necesidad de varios ciclos de TRA para la consecución del embarazo y niño vivo en casa.

Una revisión sistemática [10], Carney S-K y equipo estudian si el HA plantea sus resultados en población general, sin embargo, no existen estudios suficientes que soporten su efectividad en pacientes con endometriosis. Sabiendo que muchos estudios señalan al engrosamiento de la zona pelúcida como causante de la baja tasa de implantación, y que, el HA mejora esta condición, nos ha hecho plantear este estudio.

Dado que nuestra casuística disponía de mayor número de casos de embriones congelados en las pacientes con endometriosis decidimos centrar nuestra investigación en embriones criopreservados.

HIPÓTESIS

Teorizamos que los embriones criopreservados en pacientes con endometriosis tienen una ZP endurecida, por un lado, a causa de la propia criopreservación y, por otro, -aunque no demostrado- como posible consecuencia de la endometriosis. Es por esto por lo que especulamos que el uso de la técnica de HA con láser puede mejorar la implantación embrionaria y la tasa de embarazo.

OBJETIVOS

El objetivo principal es determinar si existe una mejoría significativa en el porcentaje de implantación de embriones criopreservados de mujeres con endometriosis con el uso de la técnica de HA y si esta logra igualar la tasa de éxito de implantación de mujeres sin endometriosis. Como objetivo secundario valorar si existe un impacto sobre la tasa de aborto.

De cumplirse nuestro objetivo, debemos plantearnos si es eficiente llevar a cabo esta técnica de forma sistematizada.

MATERIAL Y MÉTODOS

DISEÑO DEL ESTUDIO

Análisis de la tasa de implantación en ciclos de transferencia de embriones congelados tras HA en mujeres con endometriosis mediante un diseño de casos-control en un tamaño muestral de 141 mujeres, donde los casos serían aquellas a las que se les aplicó el HA y las controles las que no tuvieron HA.

El estudio se fijó como 1:4 (4 controles por cada caso), con la intención de comprobar que la tasa de implantación usando HA mejora en este grupo frente al que no se le ha realizado, con una precisión del 25%, nivel de confianza del 95% y potencia del 80%. El análisis se amplió a las mujeres sin endometriosis que secuencialmente asistieron al Servicio de Reproducción Humana para la realización de FIV/ICSI.

El HA se realiza en el Servicio de Reproducción Humana del CHUC porque en octubre de 2020 se introdujo un equipo de microscopía y micromanipulador con dispositivo Láser que permite su realización. Por decisión del laboratorio se realiza de forma general a todos los embriones descongelados para transferencia.

SUJETOS DEL ESTUDIO

Mujeres en edad fértil con y sin endometriosis que se han sometido a TRA con embriones criopreservados con y sin técnica de HA.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Cumplir criterios de inclusión de las TRA en la Sanidad Pública (Decreto 06/2014 y modificado 11/2021).
- Cumplir criterios de FIV/ICSI y tener embriones criopreservados.
- Haber firmado el consentimiento informado.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- No disponer de embriones congelados.
- No cumplir los criterios de FIV/ICSI.

- Mujeres que no dispusieron de embriones por no sobrevivir a la descongelación.
- No cumplir criterios asistenciales de la Sanidad Pública.
- No firmar el consentimiento informado.

VARIABLES DE ESTUDIO

Las variables que se han considerado son:

Variable principal: Tasa de implantación.

Otras variables: Edad, IMC, edad al diagnóstico, grado de endometriosis, tratamiento previo médico o quirúrgico de la endometriosis, tipo de esterilidad, hormona antimülleriana, recuento de folículos antrales, protocolo de inducción de la ovulación, ovocitos totales y en metafase II, ovocitos fertilizados, embriones transferidos y congelados, embriones con y sin HA, ciclos previos, gestación y aborto.

RECOGIDA Y ANÁLISIS DE DATOS

Las variables previamente mencionadas fueron recogidas en Hoja Excel. Se procedió a su análisis estadístico de forma anonimizada y encriptada. Aquellas variables relacionadas con la clínica se recopilaron a través del programa SARA y SAP en el CHUC, bajo la supervisión de la investigadora principal, y se registraron en una hoja Excel para su análisis estadístico.

Las variables cuantitativas fueron resumidas utilizando media y desviación típica o mediana y rango intercuartílico dependiendo de si la variable se distribuye según una normal (test de Kolmogorov-Smirnov), mientras que las variables cualitativas fueron descritas con frecuencia y porcentaje. El coeficiente de correlación de Pearson será utilizado para medir el grado de relación entre las diferentes variables cuantitativas recogidas.

La comparación de las variables cuantitativas se ha realizado con el test de la t-student o de la U-Mann-Whitney, y ANOVA o Kruskal Wallis dependiendo de la aplicación de estadística paramétrica o no paramétrica y del número de grupos a comparar. La comparación de las variables cualitativas se realizó con el test de Chi-cuadrado o el test exacto de Fisher en valores esperados menores a cinco. Para el estudio del éxito de implantación y/o evolución en función de las diferentes variables como edad,

endometriosis, número de embriones descongelados y ciclo se ha empleado regresión logística. Los resultados mostrarán los Odds ratios y sus intervalos de confianza al 95%. La valoración del método de discriminación se ha llevado a cabo mostrando el área bajo la curva ROC, además de los valores de sensibilidad, especificidad y sus valores predictivos, positivos y negativos.

Todos los análisis fueron llevados a cabo con el SPSS v.25 (IBM SPSS Statistics) y Microsoft Excel 2016, considerando que los resultados son significativos cuando el p-valor es menor a 0,05.

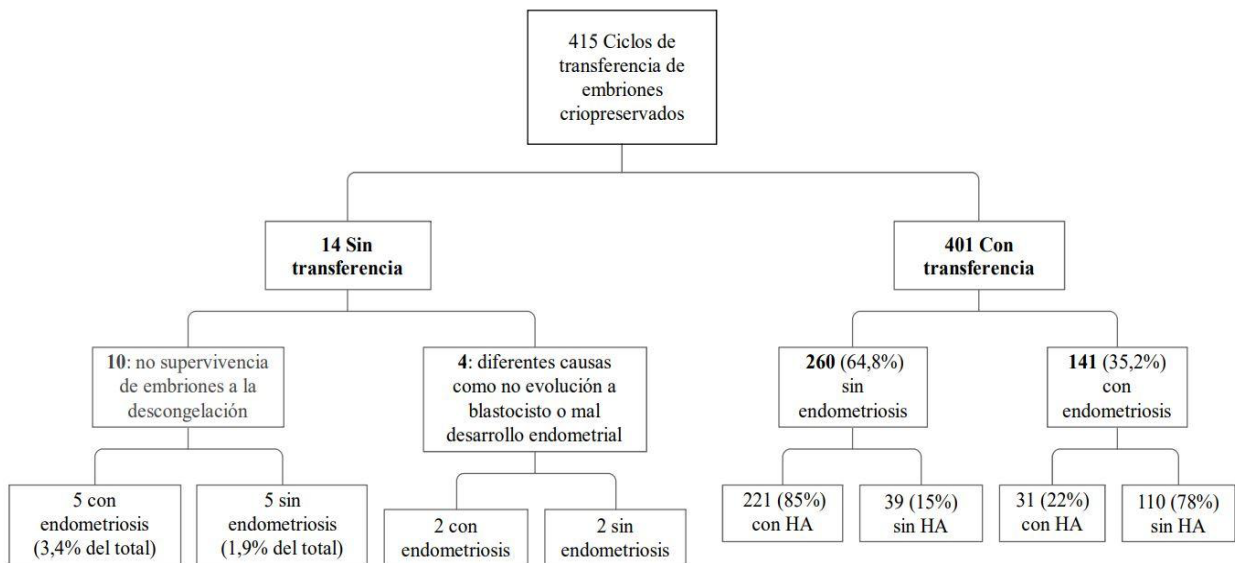
RESULTADOS

La base inicial del estudio estuvo constituida por 415 ciclos de transferencia de embriones congelados. En 10 ciclos no hubo supervivencia a la descongelación y, de estos 10, la mitad corresponden a mujeres con endometriosis (3,4% del total) y la otra mitad a no endometriosis (1,9% del total).

Adicionalmente, existen otros 4 casos, 2 en endometriosis y 2 sin endometriosis, en los que no se pudo proceder a la transferencia por diferentes causas como no evolución a blastocisto o mal desarrollo endometrial.

Finalmente, en los 401 ciclos fueron incluidos 260 casos (64,8%) sin endometriosis y 141 (35,2%) con. En el grupo con endometriosis, a 31 (22,0%) se les aplicó HA y en el grupo sin endometriosis a 221 (85,0%).

No existen diferencias significativas en la edad de las mujeres ($p = 0,300$) ni en el IMC ($p = 0,329$) entre estos dos grupos.



La tabla 1 muestra los datos de edad, IMC, causa de esterilidad y nº de ciclo de las pacientes con o sin endometriosis en función de si se les aplicó la técnica de HA o no.

La edad media es de $34,9 \pm 4,0$ años y su IMC de $24,6 \pm 3,6$ kg/m², no existiendo diferencias significativas entre ambos grupos. Con respecto a la causa de esterilidad, en el caso de mujeres con endometriosis es superior el factor femenino, no obstante, ni en el

grupo con endometriosis ni sin ella la distribución de la causa de esterilidad varió significativamente con la aplicación o no de HA ($p = 0,881$ y $p = 0,626$ respectivamente). Existe un 58,9% de mujeres sin endometriosis que se encuentra en el primer ciclo del tratamiento de infertilidad, un 29,6% en el segundo y un 11,5% en el tercer ciclo o más, no difiriendo su distribución en función de si se utiliza HA o no ($p = 0,926$). En el caso de las mujeres con endometriosis, un 73% están en el primer ciclo, 22% en el segundo y un 5% en el tercero o más, y sí existen diferencias significativas entre si se les aplicó HA o no ($p = 0,001$). En particular, en el segundo ciclo o posteriores, hay 21% sin HA frente al 48% con HA.

Tabla 1. Características demográficas de las mujeres.

	No Endometriosis (N = 260)			Endometriosis (N = 141)		
	No Hatching (N = 39)	Hatching (N = 221)	p-valor	No Hatching (N = 110)	Hatching (N = 31)	p-valor
Edad mujer (años)	34,1 ± 4,5	35,0 ± 3,9	0,200	34,9 ± 4,2	35,4 ± 3,3	0,526
IMC (kg/m ²)	24,4 ± 3,1	24,5 ± 3,7	0,912	24,9 ± 3,5	25,0 ± 3,8	0,950
Causa de infertilidad, n (%)			0,881			0,616
Femenina	18 (46,2)	112 (50,7)		89 (80,9)	24 (77,4)	
Masculina	8 (20,5)	35 (15,8)		-	-	
Mixta	11 (28,2)	60 (27,1)		19 (17,3)	7 (22,6)	
EOD	2 (5,1)	14 (6,3)		2 (1,8)	-	
Nº ciclo, n (%)			0,926			0,001
1	24 (62)	129 (58)		87 (79)	16 (52)	
2	11 (28)	66 (30)		21 (19)	10 (32)	
3 ó más	4 (10)	26 (12)		2 (2)	5 (16)	

El número de embriones congelados disponible es de $2,8 \pm 2,0$ por tratamiento, con una mediana de 2 (IQR 1; 4), variando entre 1 y 18, no existiendo diferencias significativas entre sí o no tenían endometriosis ($p = 0,423$), Fig. 1, Tabla 2. No obstante, tanto en el grupo con endometriosis como en el sin endometriosis, el número de embriones congelados es significativamente inferior en las mujeres a las que se le aplica HA ($p = 0,024$ y $p = 0,003$, respectivamente).

Figura 1. Distribución del número de embriones congelados en función de si tiene o no endometriosis.

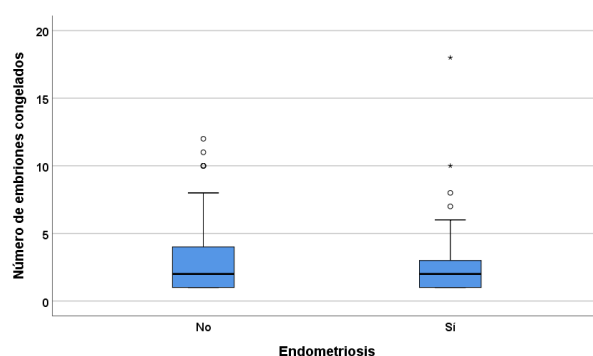


Tabla 2. Variables de laboratorio

	No Endometriosis (N = 260)			Endometriosis (N = 141)		
	No Hatching (N = 39)	Hatching (N = 221)	p-valor	No Hatching (N = 110)	Hatching (N = 31)	p-valor
Nº embriones	4,1 ± 2,8 4 (2; 6)	2,6 ± 1,8 2 (1; 3,5)	0,003 <0,001	2,8 ± 2,2 2 (1; 4)	2,1 ± 1,1 2 (1; 3)	0,024 0,187
Día de transferencia	5,0 ± 0,8 5 (5; 5)	4,8 ± 1,0 5 (5; 5)	0,362 0,869	4,1 ± 1,2 5 (3; 5)	5,0 ± 0,9 5 (5; 6)	<0,001 <0,001
Nº embriones descongelados	2,6 ± 1,5 2 (1; 4)	1,9 ± 1,3 2 (1; 2)	0,011 0,005	1,9 ± 1,0 2 (1; 2)	1,9 ± 0,7 2 (1; 2)	0,829 0,729
Nº embriones transferidos	1,0 ± 0,2 1 (1; 1)	1,3 ± 0,5 1 (1; 2)	<0,001 <0,001	1,5 ± 0,5 1 (1; 2)	1,6 ± 0,5 2 (1; 2)	0,314 0,312
Implantación, n (%)	14 (35,9)	70 (31,7)	0,584	29 (26,4)	10 (32,3)	0,505

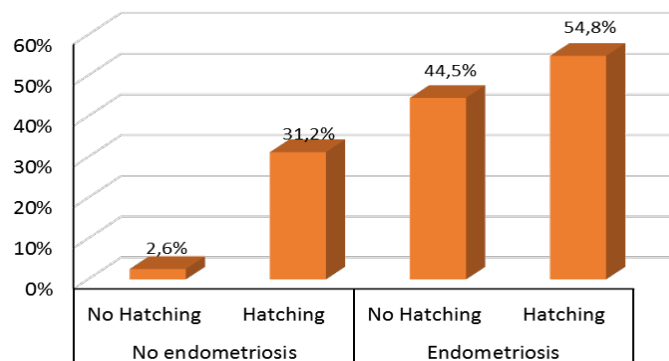
Se muestra media ± s.d.; Mediana (P₂₅; P₇₅) o n (%).

El número de embriones descongelados varía entre 1 y 11, con una media de $2,0 \pm 1,2$ y una mediana de 2,0 (IQR 1; 2), no existiendo diferencias en función del estado de endometriosis ($p = 0,562$). Si bien, en el grupo con endometriosis no existen diferencias entre las que se les aplica HA y no ($p = 0,829$), en las que no están afectas de endometriosis sí que es menor el número de embriones que se descongelan en el grupo al que se les aplica HA ($p = 0,011$). Nótese que el número de embriones descongelados en el grupo con endometriosis y en el que no tiene endometriosis y se aplica HA no difiere significativamente, solo es superior este número en el grupo con endometriosis y sin HA que ya disponía de un número superior de embriones congelados. En la mayoría de los casos, 365 (88%) el número de embriones descongelados coincide con los que sobreviven; en 39 casos (9,4%) hay una pérdida de un embrión; en 9 (2,2%) se pierden dos; y solo en 2 casos (0,5%) se pierden tres. No existen diferencias significativas con

respecto a la pérdida de embriones en función de la endometriosis ($p = 0,560$) y tampoco en función de si se aplica o no la técnica HA ($p = 0,239$).

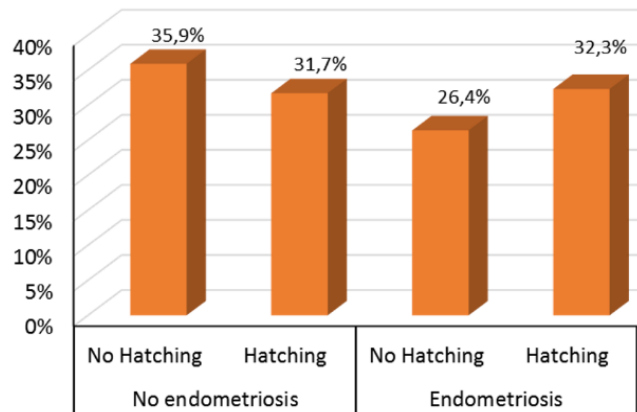
En todas las intervenciones se transfieren 1 ó 2 embriones. En el caso de la endometriosis a 66 mujeres (46,8%) se les transfieren 2 embriones frente a las mujeres sin endometriosis a las que se transfieren 2 a 70 (26,9%, $p < 0,001$). Es decir, en las mujeres con endometriosis aumenta el número de embriones transferidos y, aunque hay tendencia a ser superior cuando se aplica HA (54,8% frente a un 44,5%), no se observan diferencias significativas entre sí o no hay HA ($p = 0,312$). Solo se aplica HA en un 2,6% de las mujeres sin endometriosis a las que se le transfieren 2 embriones, frente al 31,2% de pacientes sin endometriosis y HA ($p < 0,001$). En cuanto al día en el que se transfiera el embrión, no se ha visto diferencia entre los grupos (Fig 2).

Figura 2. Porcentaje de transferencia de 2 embriones.



El análisis de la tasa de implantación no revela diferencias significativas entre aplicar HA o no tanto en las mujeres sin como con endometriosis ($p = 0,584$ y $p = 0,505$ respectivamente). Sí se observa una tendencia a mejorar este porcentaje cuando a las mujeres con endometriosis se les aplica HA, pasando del 26,4% a un 32,3%, porcentaje similar al que se obtiene en el grupo de mujeres sin endometriosis, es decir, la implantación, que sabemos es menor en mujeres con endometriosis, al aplicar HA se asemeja a aquella de las mujeres no afectas.

Figura 3. Porcentaje de implantación.



La tabla 3 muestra los porcentajes de éxito y fracaso en gestación. Sin haber diferencias significativas, llama la atención lo que está pasando en el grupo de mujeres sin endometriosis, pues todos los indicadores muestran una peor evolución en el grupo que se les aplicó la técnica HA: la tasa de aborto pasa del 2,6% al 8,6% y la tasa de éxito final pasa del 30,8% al 21,3%. Si se descuentan los casos en los que no hubo implantación, también se observa este mismo efecto: la tasa de aborto pasa del 7,1% al 27,2% con HA y la tasa de éxito final pasa del 85,7% al 67,1%.

En el caso de las mujeres con endometriosis, los resultados sí que muestran una mejor tasa de éxito final cuando se aplica HA, pasando del 1,8% al 16,1%, o sin tener en cuenta las no implantaciones, pasando del 6,9% al 50%. En el caso de la tasa de aborto, se mantiene la tendencia observada en el grupo sin endometriosis, pasando de un 7,3% al 16,1%, o descontando las no implantaciones, pasando de un 27,6% al 50%.

Tabla 3. Evolución embrionaria

Sobre el total						
	No Endometriosis (N = 260)			Endometriosis (N = 141)		
	No Hatching (N = 39)	Hatching (N = 221)	p-valor	No Hatching (N = 110)	Hatching (N = 31)	p-valor
Evolución embarazo, n (%)			0,400			0,001
No	26 (66,7)	155 (70,1)		100 (90,9)	21 (67,7)	
Aborto	1 (2,6)	19 (8,6)		8 (7,3)	5 (16,1)	
Sí (1)	11 (28,2)	43 (19,5)		2 (1,8)	5 (16,1)	
Sí (2)	1 (2,6)	4 (1,8)		-	-	
Evolución embarazo, n (%)			0,214			0,006
No	27 (69,2)	174 (78,7)		108 (98,2)	26 (83,9)	
Sí	12 (30,8)	47 (21,3)		2 (1,8)	5 (16,1)	
Sobre implantados						
	No Endometriosis (N = 84)			Endometriosis (N = 39)		
	No Hatching (N = 14)	Hatching (N = 70)	p-valor	No Hatching (N = 29)	Hatching (N = 10)	p-valor
Evolución embarazo, n (%)			0,462			<0,001
No	1 (7,1)	4 (5,7)		19 (65,5)	-	
Aborto	1 (7,1)	19 (27,2)		8 (27,6)	5 (50,0)	
Sí (1)	11 (78,7)	43 (61,4)		2 (6,9)	5 (50,0)	
Sí (2)	1 (7,1)	4 (5,7)		-	-	
Día de transferencia	5,1 ± 0,3	5,1 ± 0,6	0,978	4,2 ± 1,2	5,5 ± 0,7	<0,001
	5 (5; 5)	5 (5; 5)	0,554	5 (3; 5)	5 (5; 6)	0,004
Evolución embarazo, n (%)			0,213			0,007
No	2 (14,3)	23 (32,9)		27 (93,1)	5 (50,0)	
Sí	12 (85,7)	47 (67,1)		2 (6,9)	5 (50,0)	

Tasa de implantación

A continuación, se realiza un estudio global, sobre qué factores de los controlados podrían estar afectando a la tasa de implantación. De las 401 intervenciones en 278 (69,3%) no hay implantación frente a 123 (30,7%) que sí. De las variables controladas, solo presenta significación el número de embriones disponibles ($p = 0,030$), existiendo mayor

implantación cuanto mayor sea este número, y próxima a la significación la edad de las mujeres ($p = 0,060$): a menor edad mayor probabilidad de implantación (Tabla 4).

Tabla 4. Distribución de los diferentes factores en función de la implantación embrionaria.

	Implantación		p-valor
	No (N = 278)	Sí (N = 123)	
Edad mujer (años)	35,2 ± 4,0	34,4 ± 4,0	0,060
IMC (kg/m ²)	24,6 ± 3,6	24,6 ± 3,8	0,998
Día de transferencia	4,5 ± 1,2	4,9 ± 0,9	0,001
	5 (3; 5)	5 (5; 5)	0,019
Causa de infertilidad, n (%)			0,995
Femenina	169 (60,8)	74 (60,1)	
Masculina	30 (10,8)	13 (10,6)	
Mixta	67 (24,1)	30 (24,4)	
EOD	12 (4,3)	6 (4,9)	
Nº ciclo, n (%)			0,105
1	182 (65,5)	74 (60,2)	
2	67 (24,1)	41 (33,3)	
3 ó más	29 (10,4)	8 (6,5)	
Endometriosis, n (%)	103 (36,7)	39 (31,7)	0,365
Hatching, n (%)	172 (61,9)	80 (65,0)	0,577
Nº embriones	2,6 ± 2,0	3,1 ± 2,2	0,030
Nº embriones descongelados	2,0 ± 1,2	2,1 ± 1,4	0,503
Nº embriones transferidos	1,3 ± 0,5	1,4 ± 0,5	0,770

Evolución embrionaria

De las 401 intervenciones, 335 (83,5%) no consiguen evolución favorable frente a 66 (16,5%) que sí la consiguen. De las que no la consiguen un 17% habían conseguido la implantación. De las variables controladas, presentan significación el número de embriones disponibles ($p = 0,041$), siendo la evolución favorable cuanto mayor es ese número; la endometriosis de forma inversa ($p < 0,001$) y la técnica HA de forma directa ($p = 0,003$) (Tabla 5).

Tabla 5. Evolución embrionaria. Variables demográficas y de laboratorio

	Evolución		p-valor
	No (N = 335)	Sí (N = 66)	
Edad mujer (años)	35,1 ± 4,0	34,2 ± 3,9	0,103
IMC (kg/m ²)	24,6 ± 3,6	24,3 ± 3,7	0,657
Día de transferencia	4,6 ± 1,2	5,1 ± 0,7	<0,001
	5 (3; 5)	5 (5; 5)	0,002
Causa de infertilidad, n (%)			0,502
Femenina	207 (61,8)	36 (54,5)	
Masculina	33 (9,9)	10 (15,2)	
Mixta	81 (24,1)	16 (24,2)	
EOD	14 (4,2)	4 (6,1)	
Nº ciclo, n (%)			0,092
1	217 (64,8)	39 (59,1)	
2	84 (25,1)	24 (36,4)	
3 ó más	34 (10,1)	3 (4,5)	
Endometriosis, n (%)	134 (40,0)	7 (10,6)	<0,001
Hatching, n (%)	200 (59,7)	52 (78,8)	0,003
Nº embriones	2,7 ± 1,9	3,2 ± 2,5	0,041
Nº embriones descongelados	2,0 ± 1,2	2,2 ± 1,6	0,343
Nº embriones transferidos	1,3 ± 0,5	1,4 ± 0,5	0,861
Implantación, n (%)	57 (17,0)	66 (100)	<0,001

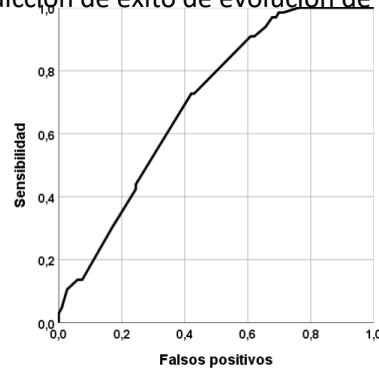
Estos factores significativos, endometriosis, HA y nº de embriones disponibles, no son suficientes para poder predecir con un alto grado de efectividad si existirá una evolución favorable. Aun así, se ha aplicado regresión logística introduciendo estos tres factores y, además, la interacción endometriosis - HA, usando el método de selección de variable Wald hacia atrás (p-out = 0,1) (Tabla 6). Esto lo que refleja es que, efectivamente, tener endometriosis produce una reducción de la probabilidad de la tasa de evolución (p<0,001), pero también indica que la probabilidad de éxito aumenta si a las mujeres con endometriosis se les aplica la técnica HA (p = 0,005).

Tabla 6. Modelo de regresión logística para la predicción del éxito.

	Coefficientes	s.e.	p-valor	Odds ratio (OR)	IC _{95%} para OR
Endometriosis = Sí	-2,521	0,737	<0,001	0,080	(0,019; 0,341)
Interacción (Endometriosis = Sí y Hatching = Sí)	2,157	0,879	0,014	8,645	(1,542; 48,449)
Nº Embriones	0,152	0,065	0,019	1,164	(1,025; 1,322)
Día de transferencia	0,420	0,182	0,021	1,522	(1,066; 2,173)
Constante	-3,764	0,987	<0,001	0,023	

El área bajo la curva ROC es 0,697 ($p < 0,001$; IC95% 0,638; 0,756). La probabilidad de corte del modelo para indicar que tenga éxito según el índice de Youden sería 0,1957, proporcionando un modelo con una sensibilidad del 72,7% y una especificidad del 57,9%. Esto es, que de los 66 que tuvieron éxito hubiera indicado que 48 lo tendrían, pero de los 335 que no lo tuvieron hubiera indicado que 141 tendrían éxito.

Figura 4. Curva ROC para el modelo de predicción de éxito de evolución de la tabla



También es posible introducir el siguiente modelo similar (Tabla 7) pero incluyendo la interacción con referencia a no endometriosis y HA. Este modelo probaría que, efectivamente, el aplicar la técnica HA en mujeres sin endometriosis está produciendo un efecto negativo sobre el éxito de la evolución.

Tabla 7. Modelo de regresión logística para la predicción del éxito

	Coefficientes	s.e.	p-valor	Odds ratio (OR)	IC _{95%} para OR
Endometriosis = Sí	-2,728	,807	0,001	0,065	(0,013; 0,318)
Hatching = Sí	2,147	,879	0,015	8,563	(1,530; 47,927)
Nº Embriones	0,141	,068	0,037	1,151	(1,009; 1,314)
Interacción (Endometriosis = No y Hatching = Sí)	-2,400	,961	0,013	0,091	(0,014; 0,597)
Día de transferencia	0,413	,182	0,023	1,511	(1,058; 2,158)
Constante	-3,485	1,081	0,001	0,031	

DISCUSIÓN

La endometriosis se considera una patología con alta incidencia a nivel mundial, afectando al 10% de la población femenina, unas 190 millones de mujeres en todo el mundo. [1]

Además de tratarse de una enfermedad crónica, progresiva en más de la mitad de los casos, e incapacitante, acarrea graves consecuencias en la reproducción. Es por ello por lo que es necesario incrementar la investigación y concienciación a nivel mundial para ofrecer un diagnóstico y tratamiento eficaz en su control y repercusión sobre la fertilidad.

Tras la búsqueda de un tratamiento que eleve las posibilidades de éxito en las técnicas de reproducción asistida, hemos decidido estudiar el HA con láser en embriones criopreservados de pacientes afectas de esta patología debido a la falta sustancial de estudios que lo respalden y para comprobar si es un método eficaz que aumente la tasa de implantación y evolución embrionaria.

A pesar de conocer que el grosor y endurecimiento de la ZP se ve aumentado tanto por la endometriosis como por la congelación embrionaria [1], es necesario realizar estudios que establezcan los grupos de mujeres que se pueden beneficiar del HA y los que no, evitando así una inversión innecesaria de recursos y tiempo e incluso iatrogenia sobre el embrión.

En cuanto a los parámetros demográficos, tanto la edad como el IMC son variables condicionales en el SCS a la hora de seleccionar a las pacientes que serán sometidas o no a técnicas de reproducción asistida, por lo que es lógico que en el desarrollo de este estudio se halle como condición no significativa pues se encuentra sesgada por los requisitos necesarios para ser admitidas en dicho programa.

Otro parámetro que creemos condicional según numerosas revisiones y el conocimiento adquirido del desarrollo de la endometriosis son los años de evolución desde el diagnóstico de la patología que, como ya hemos descrito, es tardío, hasta el momento en el que se inician las TRA. [1] En nuestra población ha tenido una media de evolución de 4,5 años, hecho que desconocíamos pues viendo los resultados de tasa de embarazo y aborto existía la creencia de que este periodo sería más amplio y podría ser uno de los

motivos de malos resultados. Pese a ello, recalcar que no es un ítem suficientemente fiable pues como mencionamos, el retraso diagnóstico es de 7 años.

Sumado a esto, hemos observado y analizado la gradación de la patología endometriósica clasificada según la ASRM, [Anexo I] objetivando una media de 3,21 en el grado de endometriosis, reconociendo el mal pronóstico reproductivo solo con esta variable. Hay que destacar que no hemos encontrado correlación significativa entre los años evolutivos de la enfermedad y grado de la misma, ya que observamos grados elevados de la enfermedad (3º grado de 4 existentes) y tan solo unos 4 años desde el diagnóstico. Esto podría indicarnos dos cosas, o no hay relación estrecha entre los años que lleve la paciente con la enfermedad y el curso evolutivo de la misma, o, lo más probable según estudios y nuestros conocimientos y revisiones, existe un gravísimo retraso en su detección, con consecuencias nefastas para la calidad de vida y la reproducción.

Otro factor concomitante en la evolución de la enfermedad es el tratamiento de la misma: paliar su sintomatología dominada por el dolor lleva a los profesionales a indicar tratamientos analgésicos u hormonales. [6] El tratamiento quirúrgico tiene la finalidad de extirpar la enfermedad parcial o totalmente, por lo que hemos estudiado la incidencia de esta última opción y si existe conexión entre ello y el resultado reproductivo [2]. En el estudio se advierte una falta sustancial de diferencia entre los 85 casos en los que las pacientes fueron intervenidas quirúrgicamente, de las cuales 61 no se quedaron embarazadas y 24 sí (71,76% y 24,7% respectivamente) y los 62 casos en los que no fueron intervenidas, obteniendo un resultado de negativo de embarazo en 47 casos y positivo en 15 (75,8% y 24,19% respectivamente), no observando disparidad en el desenlace del TRA.

Hemos desarrollado y expuesto los criterios de calidad embrionaria basándonos en los propuestos por ASEBIR [13], centrados en el día del desarrollo embrionario en el que se hace la transferencia, llegando a la conclusión de que no existe diferencia significativa en el día de transferencia embrionaria en los distintos grupos, realizándose en ambos mayoritariamente entre el día +3 y +5. Este hecho lo podemos achacar a que se considera que un embrión cultivado in vitro con buen pronóstico de implantación alcanza el estadio de blastocisto en D+5 o D+6. Las ventajas de la transferencia de embriones en estadio de blastocisto son varias, como mejor selección embrionaria, mejor sincronía entre el estadio embrionario y el ambiente uterino, y menor contractilidad uterina en el momento de la

transferencia, aunque otros autores refieren también una mayor incidencia de gemelos monocigóticos, mayores riesgos obstétricos y perinatales y mayores riesgos epigenéticos. Los datos publicados en la revisión de Cochrane de Carney S-K y equipo [10] muestran que las tasas de nacido vivo son mejores que las que se consiguen con embriones en estadios más tempranos, aunque la tasa de embarazo clínico acumulada con la descongelación es significativamente más alta en D+2-D+3 que en D+5-D+6, pero probablemente debido a que en estadios tempranos se congela con más frecuencia y hay menos cancelaciones de las transferencias. Por consiguiente, consideramos que el procedimiento realizado en nuestro servicio está dentro de las líneas marcadas como correctas por organismos como ASEBIR. [13]

Además, debe señalarse que el número de embriones congelados disponibles no presenta diferencias significativas entre el grupo endometriosis y no endometriosis, pero sí entre los grupos a los que se les aplicó hatching o no, siendo menor en las primeras. Esto se debe probablemente a que a las mujeres a las que se les aplica HA tienen mayor patología de base y más intentos previos de TRA (existe mayores tasas de HA a partir del 2º ciclo).

En relación con la problemática expuesta, el estudio estadístico realizado ha reflejado que, en cuanto a las mujeres sin endometriosis se trata, aquellas a las que se les realizó HA presentan peores resultados que aquellas sin HA. Esto nos haría plantear que se debe detener este proceso en dicho grupo, sin embargo, hay que tener en cuenta las particularidades de las usuarias con las que se ha trabajado. Sucede que, a aquellas pacientes sin endometriosis a las que se les indica el HA suelen presentar numerosos intentos previos fallidos de TRA, pobre calidad embrionaria y/u otras patologías concomitantes, es decir, es un grupo que presenta ya de por sí factores de mal pronóstico que influenciaron en los resultados finales recogidos. Dicho de otro modo, los malos resultados no se deben a que la técnica sea perjudicial, sino a otras causas que condicionan el mal pronóstico. También hay que tener en cuenta que el grupo de estas pacientes sin HA fue menor comparado con no endometriosis con HA y, por ello, hemos de ampliar este estudio para poder extraer conclusiones más precisas respecto a la efectividad o no del HA en ella.

Simultáneamente, y coincidiendo con el tema principal del estudio, se analizaron las diferentes tasas de implantación y aborto en mujeres con endometriosis, con y sin HA. En primer lugar, en cuanto a la implantación, se recogió una diferencia del 5,9%, a favor

de los casos en los que se empleó la técnica HA (26,4% y 32,3%). Esto, a pesar de no ser estadísticamente significativo, en la práctica clínica supone una gran mejoría que justifica el mantenimiento del uso de la técnica en estas pacientes. En segundo lugar, se encontró un aumento de los abortos del 8,8% (7,3% - 16,1%), que nos preocupa, pero al igual que con el grupo anterior, puede justificarse con el mal pronóstico de base de los casos. A pesar de lo anterior, hay que destacar que los resultados muestran una mejor tasa de éxito final cuando se aplica Hatching, aumentando un 14,3% (del 1,8% al 16,1%).

CONCLUSIONES

1. A pesar de conocer que el IMC y la edad son factores clave en los resultados de una TRA, en este estudio, debido a los requisitos del servicio donde se ha realizado, no son determinantes pues están sujetas a baremos estrictos para poder ser seleccionadas para este tipo de tratamiento.
2. El tiempo de evolución de la enfermedad no es una variable totalmente valorable por el hecho de ser, la endometriosis, una enfermedad de diagnóstico tardío.
3. En cuanto al grado de la misma, se observa un predominio de grados superiores de la enfermedad, y, por lo tanto, más graves, que juegan un papel importante en los resultados del FIV/ICSI.
4. El tratamiento quirúrgico de la endometriosis previo al TRA no ha demostrado mejorar la tasa de embarazo en este estudio, por lo que no se justifica su realización con fines reproductivos y debe evitarse. Esto tiene como excepción los casos donde un equipo multidisciplinar basado en la evidencia e individualización de la patología así lo considere.
5. Los embriones se transfieren, de media, en el día 5, cumpliendo con los criterios de ASEBIR, por lo que no hay necesidad de cambio.
6. No existe diferencia significativa en el número de embriones disponibles entre los grupos de endometriosis y no endometriosis, pero sí entre el grupo HA y no HA, siendo menor en el primero.
7. La tasa de implantación en mujeres con endometriosis se ve claramente disminuidas frente a la de las mujeres sin dicha patología y se han logrado elevar con la técnica de HA.

8. A pesar de existir una mayor tasa de aborto en el grupo sometido a HA, esto está justificado por el perfil de este, no siendo valorable y necesitándose ampliar el estudio a otros grupos.
9. Finalmente, y como pregunta principal y objetivo de este estudio nos planteamos la siguiente pregunta: ¿es eficiente realizar la rotura de la ZP en embriones criopreservados mediante Hatching Asistido por láser previo a realizar una técnica de reproducción asistida de forma sistemática en las mujeres con endometriosis?: sí, es eficiente y además necesario para optimizar resultados.
10. ¿Se debe implementar en las mujeres que no sufran endometriosis?; depende. Depende del caso y debe ser valorado por profesionales que analicen cada caso como único. Hay falta de evidencia por lo que se recomienda ampliar el estudio.

HABILIDADES Y CONOCIMIENTOS ADQUIRIDOS

- Nos ha permitido interiorizar y ampliar nuestros conocimientos previos acerca de los procesos fisiológicos y bioquímicos implicados en la reproducción humana.
- Hemos tenido la oportunidad de conocer y profundizar acerca de la endometriosis y sus misterios y la repercusión que tiene sobre tantas mujeres.
- Hemos aprendido sobre las técnicas de reproducción asistida y concretamente los protocolos y técnicas llevadas a cabo en la Unidad de Reproducción Asistida del CHUC.
- Hemos desarrollado nuestra capacidad de comunicación y trabajo en equipo, siendo capaces de organizarnos y coordinarnos de manera que el trabajo fluya de manera fácil y satisfactoria. Además, hemos sido capaces de enfrentarnos a las dificultades y adversidades, superándolas sin que afectaran a la calidad del trabajo ni a nuestra relación.
- Hemos tenido la oportunidad de aplicar aquellos conocimientos y habilidades relacionadas con el método científico y la investigación.
- Comprender y realizar una búsqueda correcta de bibliografía en páginas de mayor renombre y fiabilidad como PubMed o Cochrane, aprendiendo a distinguir y seleccionar entre tantos artículos los necesarios para el desarrollo de nuestro trabajo.
- Hemos aplicado nuestra capacidad de comprensión, selección y síntesis de la gran cantidad de información estudiada y manejada.

AGRADECIMIENTOS

A nuestras tutoras, la Dra. Delia Rosa Báez Quintana y la Dra. Raquel Blanes Zamora, por su ayuda, paciencia y dedicación, quienes con sus conocimientos y apoyo nos han guiado a través de cada una de las etapas de este proyecto. Por habernos brindado la oportunidad de realizar el mismo y aprender de él.

Al departamento de Obstetricia y Ginecología del CHUC que nos ha permitido realizar este trabajo, brindándonos todos los recursos y herramientas que fueron necesarios para llevar a cabo el proceso de investigación.

A Enrique Francisco González Dávila, por dedicarnos parte de su tiempo y ayudarnos a realizar el análisis estadístico de los datos. No se hubiese podido llegar a estos resultados de no haber sido por su incondicional ayuda.

A Jonay González Pérez por habernos proporcionado su tiempo y ayuda de forma desinteresada.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 - Ministerio de sanidad SS e. I, editor. Guía de atención a las mujeres con endometriosis en el Sistema Nacional de Salud (SNS) [Internet]. 2013 [citado 2022]. Disponible en:
<https://www.sanidad.gob.es/organizacion/sns/planCalidadSNS/pdf/equidad/ENDOMETRIOSIS.pdf>
- 2 - ESHRE Endometriosis Guideline Development Group. Guideline Endometriosis - 2022 [Internet]. 2022. [citado 2022] Disponible en: <https://www.eshre.eu/Guidelines-and-Legal/Guidelines/Endometriosis-guideline>
- 3- Gupta D, Hull ML, Fraser I, Miller L, Bossuyt PMM, Johnson N, et al. Endometrial biomarkers for the non-invasive diagnosis of endometriosis. Cochrane Database Syst Rev [Internet]. 2016;4(4):CD012165. Disponible en:
<http://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD012165>
- 4 - Nisenblat V, Bossuyt PMM, Shaikh R, Farquhar C, Jordan V, Scheffers CS, et al. Blood biomarkers for the non-invasive diagnosis of endometriosis. Cochrane Database Syst Rev [Internet]. 2016;2016(5):CD012179. Disponible en:
<http://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD012179>
- 5 - Leyland N, Casper R, Laberge P, Singh SS. Endometriosis: Diagnosis and Management. JOGC. 2010;32(7):36.
- 6 - Romanski PA, Brady PC, Farland LV, Thomas AM, Hornstein MD. The effect of endometriosis on the antimüllerian hormone level in the infertile population. J Assist Reprod Genet [Internet]. 2019;36(6):1179–84. Disponible en:
<http://dx.doi.org/10.1007/s10815-019-01450-9>
- 7 - Garavaglia E, Sala C, Taccagni G, Traglia M, Barbieri C, Ferrari S, et al. Fertility preservation in endometriosis patients: Anti-Müllerian hormone is a reliable marker of the ovarian follicle density. Front Surg [Internet]. 2017;4:40. Disponible en:
<http://dx.doi.org/10.3389/fsurg.2017.00040>
- 8 - Raffi F, Metwally M, Amer S. The impact of the excision of ovarian endometrioma on ovarian reserve: a systematic review and meta-analysis. J Clin Endocrinol Metab 2012;97(9):3146-54.

- 9 - Santulli P, Somigliana E, Bourdon M, Maignien C, Marcellin L, Gayet V, et al. Traitement conservateur des endométrioses chez les patientes prises en charge en FIV. *J Gynecol Obstet Hum Reprod* [Internet]. 2017;46(3):203–9. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2468784717300302>
- 10 - Carney S-K, Das S, Blake D, Farquhar C, Seif MMW, Nelson L. Assisted hatching on assisted conception (in vitro fertilisation (IVF) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI). *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2012 [citado 2022];12(12):CD001894. Disponible en: <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD001894.pub5/full>
- 11 - Alteri A, Viganò P, Maizar AA, Jovine L, Giacomini E, Rubino P. Revisiting embryo assisted hatching approaches: a systematic review of the current protocols. *J Assist Reprod Genet* [Internet]. 2018;35(3):367–91. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s10815-018-1118-4>
- 12 - Montero Fonseca J, Campos Sánchez S, Herrera Pérez JC. Endometriosis. *Rev.méd.sinerg.* [Internet]. 2021 [citado 2022];6(5):e677. Disponible en: <https://revistamedicasinergia.com/index.php/rms/article/view/677>
- 13 - Criterios ASEBIR de Valoración Morfológica de Oocitos, Embriones Tempranos y Blastocistos Humanos [Internet]. Asebir.com. [citado 2022]. Disponible en: <https://asebir.com/cuadernos-asebir/criterios-asebir-de-valoracion-morfologica-de-oocitos-embriones-tempranos-y-blastocistos-humanos/>

ANEXO I: CLASIFICACIÓN DE LA ENDOMETRIOSIS SEGÚN LA SOCIEDAD AMERICANA DE MEDICINA REPRODUCTIVA

- **Estadio I / Mínima:** Implantes aislados y sin adherencias.
- **Estadio II / Leve:** Implantes superficiales menores de 5 cm. Adheridos o diseminados sobre la superficie del peritoneo y ovarios.
- **Estadio III / Moderada:** Implantes múltiples superficiales o invasivos. Adherencias alrededor de las trompas o periováricas, que pueden ser evidentes
- **Estadio IV / Severa:** Implantes múltiples, superficiales y profundos que incluyen grandes endometriomas ováricos. Usualmente se observan adherencias membranosas extensas. [1]



AMERICAN SOCIETY FOR REPRODUCTIVE MEDICINE REVISED CLASSIFICATION OF ENDOMETRIOSIS

Patient's Name _____ Date _____

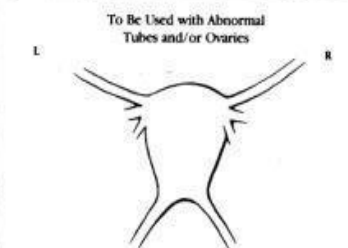
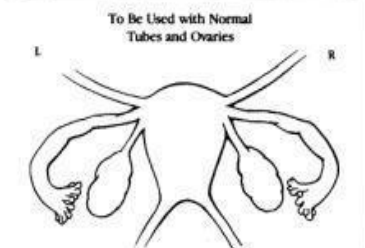
Stage I (Minimal) - 1-5
 Stage II (Mild) - 6-15
 Stage III (Moderate) - 16-40
 Stage IV (Severe) - >40
 Total _____

Laparoscopy _____ Laparotomy _____ Photography _____
 Recommended Treatment _____
 Prognosis _____

PERITONEUM	ENDOMETRIOSIS	< 1cm	1-3cm	> 3cm
	Superficial	1	2	4
Deep	2	4	6	
OVARY	R Superficial	1	2	4
	Deep	4	16	20
	L Superficial	1	2	4
	Deep	4	16	20
POSTERIOR CULDESAC OBLITERATION	Partial	4		40
	Complete			
OVARY	ADHESIONS	< 1/3 Enclosure	1/3-2/3 Enclosure	> 2/3 Enclosure
	R Filmy	1	2	4
	Dense	4	8	16
	L Filmy	1	2	4
Dense	4	8	16	
TUBE	R Filmy	1	2	4
	Dense	4*	8*	16
	L Filmy	1	2	4
	Dense	4*	8*	16

*If the fimbriated end of the fallopian tube is completely enclosed, change the point assignment to 16.
 Denote appearance of superficial implant types as red (R), red, red-pink, flame-like, vesicular blots, clear vesicles, white (W), opacifications, peritoneal defects, yellow-brown, or black (B) black, hemosiderin deposits, blue). Denote percent of total described as R___%, W___% and B___%. Total should equal 100%.

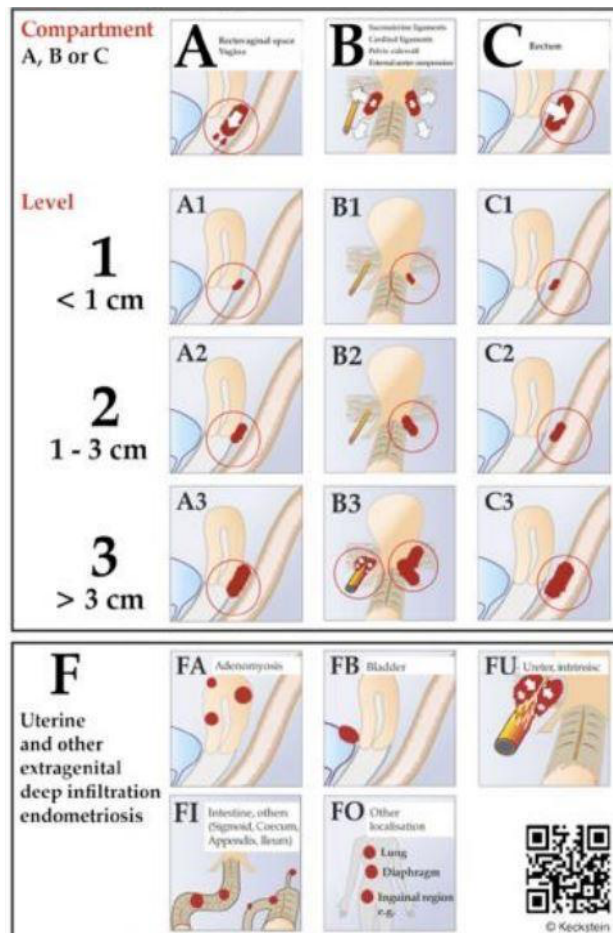
Additional Endometriosis: _____ Associated Pathology: _____



ANEXO II: CLASIFICACIÓN ENZIAN DE LA ENDOMETRIOSIS

Describe la endometriosis infiltrativa profunda y la afectación de estructuras retroperitoneales. Fue simplificada en 2011 y actualmente divide las estructuras retroperitoneales en tres compartimentos: (a) septum rectovaginal y vagina, (b) ligamento sacrouterino, ligamentos cardinales, paredes pélvicas y (c) colon sigmoides y recto. A cada compartimento se le asigna una severidad de acuerdo a la profundidad de la invasión: (grado 1) < 1cm, (grado 2) 1-3 cm, y (grado 3) >3 cm. Finalmente se utiliza la letra F para asignar la presencia de lesiones en otras localizaciones de la siguiente forma: (FA) adenomiosis, (FB) infiltración profunda de la vejiga, (FU) infiltración intrínseca del uréter, (FI) infiltración del intestino (craneal a la unión rectosigmoidea), (FO) infiltración a otros órganos.

Este sistema es meramente descriptivo y no toma en cuenta el dolor o la infertilidad, pero sí presenta correlación con los síntomas clínicos reportados, especialmente con la presencia de dolor abdominal, dismenorrea y síntomas intestinales. [12]



ANEXO III: CRITERIOS ASEBIR DE CALIDAD EMBRIONARIA [13]

Valoración morfológica del oocito. D+0

Recomendamos la observación de la zona pelúcida en este estadio.

Desfavorables:

- Acumulaciones de REL.
- Granulosidad central.
- 1erCP gigante ($>30\mu\text{m}$).
- Vacuolización excesiva.
- Oocitos gigantes: No se deben utilizar.

Valoración morfológica del cigoto. D+1

Favorables:

- La presencia de halo.
- División temprana.

Desfavorables:

- Cualquier estado diferente de 2PN + 2CP.
- Un solo precursor nucleolar en alguno de los PN.
- Pronúcleos separados o de tamaño desigual.
- División directa a 3 células (si se dispone de tecnología Time-Lapse).

Descartar:

- 1PN + 1CP.
- 2PN + 1CP.
- Más de 2PN.

Valoración morfológica en D+2 y en D+3

Favorables:

- En caso de observación de un número de células diferente de 2, 4 u 8, debe haber 2 patrones de tamaño celular, correspondientes a una asincronía en la división, pero no a una división asimétrica.
- Presencia de uninucleación en todas las células.

- Inicio de adhesión, siempre que aparezca en D+3 y cuando el embrión tenga 7 u 8 células. Evaluar según protocolo de cultivo.

Desfavorables:

- Inicio de adhesión o de compactación en D+2. Evaluar según protocolo de cultivo.
- Compactación muy avanzada en D+3. Evaluar según protocolo de cultivo.
- 3 células del mismo tamaño en D+2.
- Aquellos embriones con >2 anomalías características de la categoría D, o que no hayan realizado una división celular en 24 horas.

Parámetros evaluados en el estadio de D+4

Favorables:

- Embrión óptimo es el que está compactado o compactando y que ha iniciado la 4ª ronda de divisiones mitóticas (>8 células).
- La compactación debe comprender el total del volumen del embrión.

Desfavorables: Embrión con ≤ 8 células sin signos de compactación o con compactación <50% del embrión.

Parámetros evaluados en los estadios de D+5 y D+6

Favorables:

- Calidad A y B de los embriones en D+3 si no se hacen observaciones en D+4.
- Compactación en mórula en D+4.
- Signos de eclosión.

Desfavorables: Aparición del blastocisto en D+7.